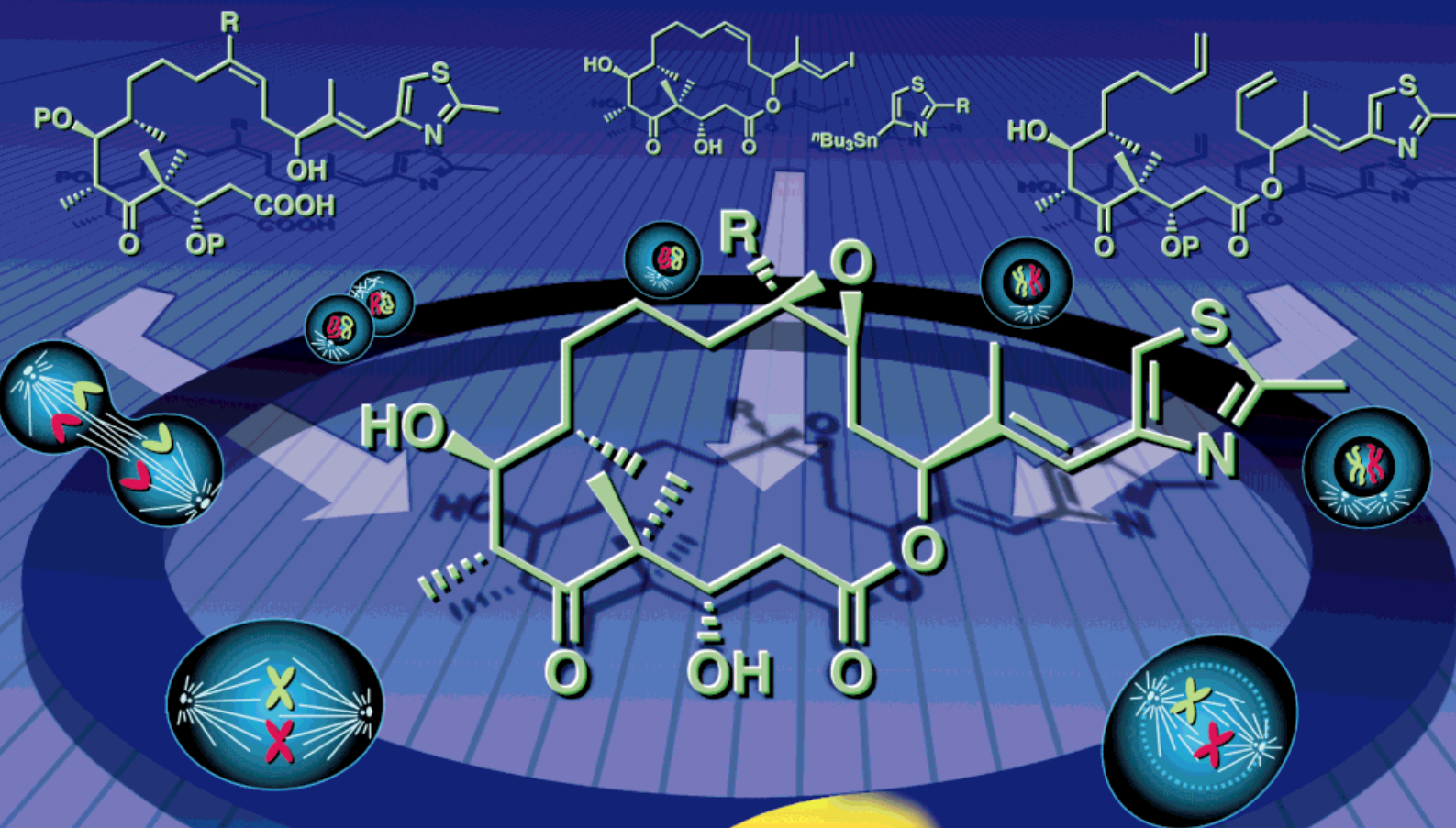


EPOTHILONES



CELL DEATH

Chemie und Biologie der Epothilone**

Kyriacos C. Nicolaou,* Frank Roschangar und Dionisios Vourloumis

Professor Elias J. Corey zum 70. Geburtstag gewidmet

Im Juli 1996 erschien ein Beitrag in der *Angewandten Chemie*, in dem die Strukturen der Epothilone A und B beschrieben wurden, einer bemerkenswerten Klasse antitumorwirksamer Naturstoffe. Dieser Beitrag wurde zum Meilenstein in der Geschichte der Epothilone, die Ende der 80er Jahre mit deren Isolierung aus Myxobakterien begann und mit der Entdeckung ihrer Wirkungsweise gegen Tumorzellen, die der von Taxol ähnelt,

in den frühen 90er Jahren hohe Bedeutung erlangte. Ihr einzigartiges Potential als Tumorchemikalien veranlaßte einen intensiven Wettstreit um ihre Totalsynthese, strukturelle Modifizierungen und biologische Untersuchungen. Bei einer Vielzahl natürlicher Epothilone und ihrer Analoga wurde festgestellt, daß sie Taxol hinsichtlich ihrer Wirksamkeit gegen Arzneimittel-resistente Tumorzellen überlegen sind und auch gegen Taxol-resistente Zell-

linien wirken. In diesem Aufsatz beschreiben wir die faszinierende Geschichte dieser Substanzen und diskutieren ihre Totalsynthese, biologische Eigenschaften und ihr Potential in der Therapie maligner Tumoren.

Stichwörter: Cytostatica • Epothilone • Naturstoffe • Struktur-Aktivitäts-Beziehungen • Totalsynthesen

1. Einleitung

Zu Beginn dieses Jahrhunderts wurde das Wort „Krebs“ in „vornehmen Kreisen“ nicht einmal erwähnt. Heutzutage sprechen wir nicht nur offen über Krebs, sondern finden auch Antworten auf viele Fragen zur Krebsverhütung, -erkennung, -behandlung und -heilung. Krebs zeichnet sich durch unkontrolliertes Wachstum und Ausbreitung abnormer Zellen aus, die invasiv in andere Gewebe hineinwachsen, diese zerstören und sich in anderen Körperregionen ausbreiten, was schließlich zum Tode führt. Sowohl exogene (z. B. Chemikalien, Strahlung und Viren) als auch endogene Faktoren (z. B. Hormone, Immunschwäche und genetische Disposition) können für die Bildung von Krebs verantwortlich sein. Mehrere Faktoren können zusammenwirken, oder auch nacheinander, um die Kanzerogenese zu initiieren oder zu beschleunigen. Oft vergehen zehn oder mehr Jahre zwischen der Exposition

gegenüber einem Kanzerogen oder einer Mutation und der klinischen Nachweisbarkeit von Krebs.^[1]

Krebs ist ein Gesundheitsproblem von zunehmender Bedeutung, und schätzungsweise treten weltweit mehr als sechs Millionen Fälle pro Jahr auf.^[2] Statistisch gesehen erkranken in den USA einer von zwei Männern und eine von drei Frauen im Laufe ihres Lebens an Krebs. Nach Angaben der American Cancer Society (ACS) wurde 1997 in den USA mit ca. 1 382 400 neuen diagnostizierten Krebsfällen gerechnet und mit ca. 560 000 krebisbedingten Todesfällen – das sind mehr als 1500 täglich oder ca. einer pro Minute. Damit ist Krebs in den USA nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache; jeder vierte Todesfall ist krebisbedingt. Die durch Krebs verursachten Kosten sind immens, sowohl für das Individuum als auch die gesamte Gesellschaft. Das National Cancer Institute (NCI) schätzt die Gesamtkosten für Krebs in den USA für 1997 auf 104 Milliarden Dollar: 35 Milliarden Dollar für medizinische Behandlung, 12 Milliarden Dollar durch krankheitsbedingten Arbeitsausfall und 57 Milliarden Dollar durch todesbedingten Arbeitsausfall. Die Hälfte der Behandlungskosten ist auf die Behandlung von Brust-, Lungen- und Prostatakrebs zurückzuführen.^[2]

Brustkrebs ist nach Hautkrebs die zweithäufigste Krebsart bei Frauen. Die ACS rechnete für 1997 in den USA mit ungefähr 180 200 neuen Fällen von Brustkrebs bei Frauen und 1400 bei Männern.^[2] Die Zahl brustkrebsverursachter Todesfälle wurde für 1997 auf über 44 190 geschätzt (43 900 Frauen und 290 Männer), womit dieser Krebstyp nach Lungenkrebs die zweithäufigste Todesursache durch Krebs bei Frauen ist.

[*] Prof. Dr. K. C. Nicolaou, Dr. F. Roschangar, Dr. D. Vourloumis
Department of Chemistry and
The Skaggs Institute for Chemical Biology
The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
Fax: (+1) 619-784-2469
E-mail: kcn@scripps.edu
und

Department of Chemistry and Biochemistry
University of California, San Diego
9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093 (USA)

[**] Häufiger verwendete Abkürzungen sind im Anhang erklärt.

Ovarialkrebs, wegen des Fehlens offensichtlicher Zeichen oder Symptome bis zum späten Entwicklungsstadium auch als „stiller Tod“ bezeichnet, macht 4% aller Krebsarten bei Frauen aus und hat 1997 in den USA vermutlich 14200 Todesfälle verursacht. Er steht bei Frauen an fünfter Stelle als Todesursache durch Krebs, womit er mehr Todesfälle bedingt als jeder andere Krebs der weiblichen Fortpflanzungsorgane. Neben Hautkrebs ist Prostatakrebs der häufigste Krebs bei amerikanischen Männern, und jeder fünfte Mann entwickelt diesen Krebs während seiner Lebenszeit. Die ACS rechnete 1997 mit ca. 209900 neuen Prostatakrebsfällen in den USA und mit 41800 durch diese Krankheit bedingten Todesfällen. Mit 14% der krebsverursachten Todesfälle ist dies die zweithäufigste Ursache für Todesfälle durch Krebs bei amerikanischen Männern und wird nur von Lungenkrebs übertroffen. In Nordamerika und Nordwesteuropa ist Prostatakrebs weitverbreitet, in Asien, Afrika, Zentral- und Südamerika tritt er seltener auf.^[2]

Einen Großteil des Markts für Tumorstoffe beherrscht das komplexe Diterpen Taxol (Paclitaxel), das seit seiner Entdeckung 1971 als Inhaltsstoff der Pazifischen Eibe^[3] bis zur Entwicklung des Milliarden-Dollar-Wirkstoffs eine eindrucksvolle Geschichte hinter sich hat. Taxol, das in den 90er Jahren von Bristol-Myers Squibb entwickelt und vermarktet wurde, ist gegenwärtig in mehr als 60 Staaten erhältlich. Man verwendet diesen Wirkstoff hauptsächlich zur Behandlung einer Vielzahl von soliden Tumoren, die häufig bei Ovarial- und Brustkrebs vorgefunden werden.^[4] Taxotere (Docetaxel), entwickelt von Rhone-Poulenc Rorer (Frankreich), wurde vor kurzem für die Behandlung bei ähnlichen Indikationen zugelassen.^[5] Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, sind die neben Taxol wichtigsten Wirkstoffe, die heutzutage bei der Behandlung von Krebspatienten eingesetzt werden, die Hormone Lupron (Leuprolidacetat) und Zoladex (Goserelin), das nichtsteroidartige Anti-Östrogen

Nolvadex (Tamoxifen) und das Cytostatikum Paraplatin (Carboplatin), ferner die Immunmodulatoren Neupogen (Filgrastim) und Intron A (Interferon Alpha-2b).^[6]

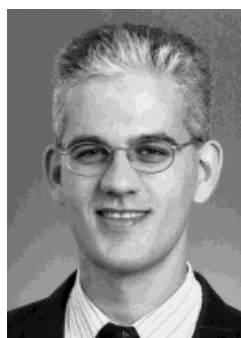
Die Erfolgsgeschichte von Taxol^[7] demonstrierte wieder einmal den Reichtum der Natur an biologisch aktiven Verbindungen als Heilmittel für Krankheiten.^[8] Aspirin^[9] und Penicillin^[10] sind zwei klassische Beispiele für solche Entdeckungen. In den späten 80er Jahren begann ein neues Kapitel in der Geschichte cytotoxischer Naturstoffe: Die Epothilone A und B (Abb. 1) wurden von Höfle und Reichenbach und deren Mitarbeitern bei der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Deutschland entdeckt.^[11] Sie wurden aus Kulturextrakten des Zelluloseabbauenden Myxobakteriums *Sorangium cellulosum* (Myxococcales; Stamm So ce90) isoliert, das zuerst im Uferboden des Zambesi in Südafrika gefunden wurde. Diesen Verbindungen wurde zu Beginn ein enges antimykotisches Spektrum ausschließlich gegen *Mucor hiemalis* zugeschrieben.^[12] Abbildung 2 zeigt wachsende Zellen (links) und Sporenkapseln (Durchmesser ca. 15–20 µm) von *Sorangium cellulosum* So ce90 (rechts). Diese werden in großen Schwarmkolonien als gelb-orangefarbene bis braun-schwarze Fruchtkörper gebildet.^[13] In diesem Zustand können die Sporen in trockenen Böden über 20 Jahre überleben.

Wegen ihrer Aktivität gegen *Mucor hiemalis* wurden die Epothilone und die Spirangiene (Verbindungen, die aus demselben Organismus isoliert wurden) zuerst als potentielle Antimykotika und Pestizide getestet,^[11, 14] aber in Feldexperimenten erwiesen sich die Epothilone als zu toxisch (siehe Abschnitt 2). In der Zwischenzeit hatten Wissenschaftler bei Merck in den USA unabhängig die Epothilone A und B isoliert und zudem die bemerkenswerte Entdeckung gemacht, daß diese Substanzen Tumorzellen nach einem Wirkungsmechanismus ähnlich dem des Taxols zerstören, nämlich durch Induktion der Polymerisation von Tubulin zu Mikrotubuli und

K. C. Nicolaou ist Direktor des Chemischen Instituts am Scripps Research Institute in La Jolla, Kalifornien, und Darlene Shiley Professor of Chemistry sowie Skaggs Professor of Chemical Biology. Er ist außerdem Professor für Chemie an der University of California, San Diego. Zu Nicolaous Biographie verweisen wir auf Lit.[138].



K. C. Nicolaou



F. Roschangar

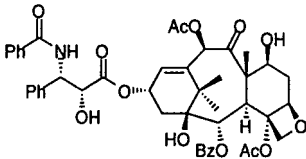
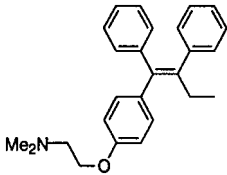
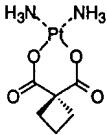


D. Vourloumis

Frank Roschangar, geboren 1969 in Hannover, studierte an der Universität Köln und promovierte 1996 bei Prof. Ciufolini an der Rice University, Texas, über die Totalsynthese von enantiomerenreinem Camptothecin. Danach arbeitete er bei Prof. Nicolaou an der Synthese zahlreicher Epothilon-Analoga. Seit Anfang 1998 ist Roschangar in der Forschungsabteilung von Glaxo-Wellcome, North Carolina, tätig.

Dionisios Vourloumis, geboren 1966 in Griechenland, erhielt seinen B.Sc. von der Universität Athen und beendete 1994 seine Dissertation unter der Anleitung von Prof. Magriotis, West Virginia University, über Synthesen von Endiin-Antibiotika. Seit seinem Eintritt in den Arbeitskreis von Prof. Nicolaou 1996 hat er an den Totalsynthesen von Epothilon A und B, Eleutherobin, Sarcodictyin A und B und zahlreichen Analoga mitgewirkt.

Tabelle 1. Umsatzstärkste Therapeutika für Krebs und krebsähnliche Erkrankungen (1996).^[a]

Wirkstoffgruppe	Handelsname (Chemischer Name)	Struktur/Beschreibung	Firma (Weltweiter Umsatz [US-Dollar])	Indikation
Antineoplastika				
Taxoide	Taxol (Paclitaxel)		Bristol-Myers Squibb (813 × 10 ⁶)	Therapie von primärem Ovarialkrebs in Kombination mit Cisplatin sowie von metastatischem Ovarialkrebs nach Fehlschlagen einer Standardtherapie mit Platin- oder Anthracyclin-haltigen Wirkstoffen
Hormone	Lupron (Leuprolidacetat)	Agonist des natürlich vorkommenden Decapeptids Gonadorelin ^[a]	TAP Pharmaceuticals (810 × 10 ⁶)	Therapie von fortgeschrittenem Prostatakrebs als Alternative zur Kastration, von Endometriose und zentraler vorzeitiger Pubertät sowie zur präoperativen Behandlung von Patienten, die an Anämie, verursacht durch gutartige Gewebetumoren, erkrankt sind
	Zoladex (Goserelin)	synthetisches Analogon von Gonadorelin	Zeneca Pharmaceuticals (563 × 10 ⁶)	Therapie von Prostatakrebs, fortgeschrittenem Brustkrebs, Endometriose und endometrischer Verdünnung
Anti-östrogene	Novaldex (Tamoxifen)		Zeneca Pharmaceuticals (561 × 10 ⁶)	bei hormonell behandelbarem Brustkrebs (Lebenserwartung kann um bis zu fünf Jahre erhöht werden) ^[b]
Cyto-statika	Paraplatin (Carboplatin)		Bristol-Myers-Squibb (373 × 10 ⁶)	Therapie von Ovarialkrebs
Immunmodulatoren				
	Neupogen (Filgrastim)	ein aus 175 Aminosäuren bestehendes Protein, das kloniert und in <i>E. coli</i> produziert wurde	Amgen (1.02 × 10 ⁹)	Regulation und Kontrolle der Bakterien-bekämpfenden Leukocyten (Neutrophile); verhindert Verringerung der Leukocytenzahl während Chemo- und Strahlentherapie
	Intron A (Interferon Alpha-2b)	ein Interferon, das zu einer Gruppe natürlich vorkommender Proteine gehört, die zuerst aufgrund ihrer Fähigkeit entdeckt wurden, virale Replikation zu verhindern	Schering-Plough (524 × 10 ⁶)	Therapie von chronischer Hepatitis C, Basaliomen, AIDS-bedingten Kaposi-Sarkomen, Karzinoiden, Warzen im Genitalbereich und multiplen Myelomen; unterstützende Therapie maligner Melanome

[a] Auch Luteinisierungshormon-Releasinhormon genannt. [b] Die antiöstrogenen Effekte sind möglicherweise auf die Fähigkeit zurückzuführen, im Zielgewebe mit Östrogen um Bindungsstellen zu konkurrieren.

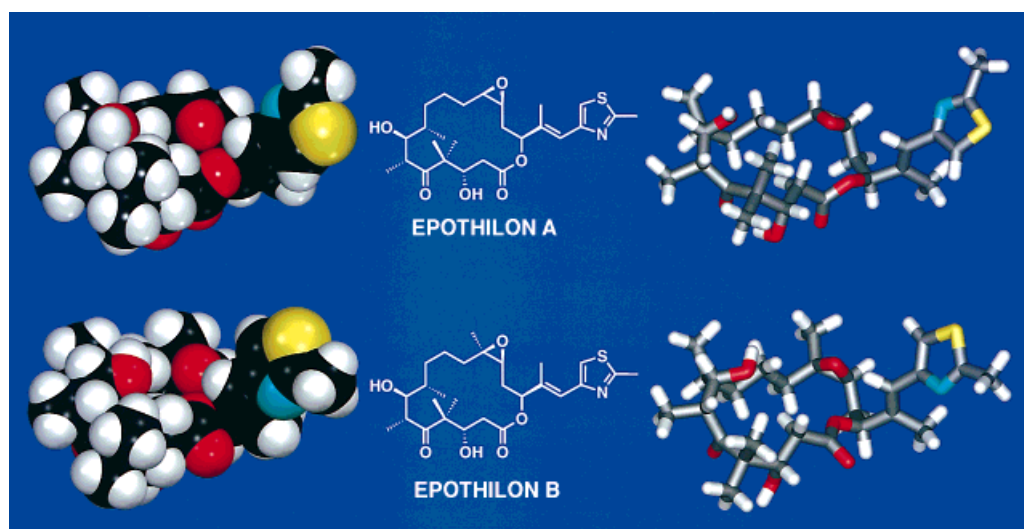


Abb. 1. Computerberechnete Kalottenmodelle, Strukturformeln und Stabmodelle von Epothilone A und B. Kohlenstoff: schwarz, Sauerstoff: rot, Stickstoff: blau, Schwefel: gelb, Wasserstoff: weiß (wir danken C. N. C. Boddy für die Computergraphiken).

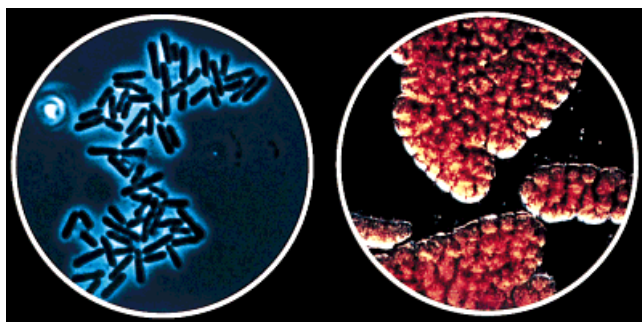


Abb. 2. Das Epothilon-produzierende Myxobakterium *Sorangium cellulosum*: Wachsende Zellen (links) und Sporenkapseln (rechts). (Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Dr. H. Reichenbach.)

Stabilisierung der Mikrotubuli.^[15] Dies wurde später von den GBF-Wissenschaftlern bestätigt.^[12] Epothilon A und B inhibieren außerdem, so fand man in Verdrängungs-Studien bei Merck heraus, Taxol kompetitiv aus den [³H]Taxol-Mikrotubulus-Komplexen und haben identische IC₅₀-Werte wie Taxol. Ferner haben diese neuen Verbindungen eine viel größere Cytotoxizität gegenüber P-glycoprotein (Pgp)-exprimierenden, mehrfachresistenten (multiple drug resistant, MDR) Zellen als Taxol.^[15]

Diese Feststellungen führten zu großem Interesse in bezug auf die zu erwartende mögliche Entwicklung dieser Verbindungen als Tumorstoffe, vor allem im Hinblick auf ihre Effizienz gegen eine Reihe Taxol-resistenter Zelllinien. Wegen einer Reihe von Fehlplanungen verfolgten die Hauptakteure im Epothilon-Geschäft allerdings die Patentanmeldungen für Epothilone als Krebstherapeutika nicht weiter, und die Naturstoffe fanden sich als „Waisenverbindungen“ wieder, zumindest was den Patentschutz und die Firmen betraf, die ihre Entwicklung bewilligten. Dies war aber nicht das Ende der Geschichte, wie wir noch sehen werden.

Zwar wurden die Molekülstrukturen der Epothilone in dem deutschen Patent von Höfle et al.^[11] in den frühen 90er Jahren und von der Merck-Arbeitsgruppe 1995^[15] beschrieben, doch wurde die absolute Konfiguration von Epothilon A und B erst im Juli 1996 von den deutschen Wissenschaftlern veröffentlicht.^[12] Die strukturellen Zuordnungen beruhten auf spektroskopischen^[12, 16] und Kristallstrukturdaten,^[12] und den Verbindungen wurde nach ihren wesentlichen Struktureinheiten, Epoxid, Thiazol und Keton, der Name „Epothilon“ gegeben. Das Kohlenstoffrückgrat des Makrocyclus ist dem Anschein nach weitgehend flach, und die Seitenkette mit der Thiazol-Einheit nimmt eine äquatoriale Position ein. Einige offensichtliche strukturelle Ähnlichkeiten mit Taxol sind: a) ein Hauptgerüst, b) eine beträchtliche Lipophilie (zum Teil durch eine Reihe von Methylgruppen bedingt, darunter eine geminale Dimethylanordnung) und c) eine Seitenkette. Die Veröffentlichung der absoluten Konfigurationen der Epothilone^[12] markierte den Beginn eines neuen Kapitels in ihrer Geschichte, und Bemühungen, die Epothilone zu synthetisieren, hatten weltweit in vielen Laboratorien eine hohe Priorität. Einige Arbeitsgruppen hatten einen Startvorteil, da sie die Strukturen der Epothilone bereits vor der Veröffentlichung erfahren hatten. Innerhalb kurzer Zeit reichten drei Forschungsgruppen Manuskripte zur Veröffentlichung ein, in denen Totalsynthesen beschrieben wurden. In einer Vielzahl

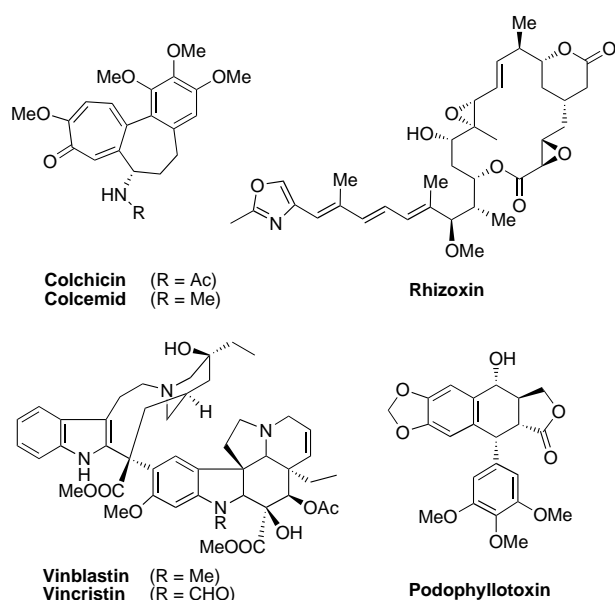
von nachfolgenden Berichten wurden die Synthesen und die biologischen Untersuchungen vieler Analoga herausgearbeitet. In diesem Aufsatz möchten wir einen Überblick über die Chemie und Biologie dieser faszinierenden Verbindungen geben und ihr Potential in der Krebs-Chemotherapie diskutieren.

2. Biologische Eigenschaften der Epothilone

Erste Untersuchungen der GBF-Arbeitsgruppe konzentrierten sich auf die Wirkungsweise der Epothilone gegen Pilze, Bakterien und eine Reihe tierischer Zelllinien.^[11] Diese Studien ergaben ein enges Spektrum antimykotischer Aktivität, aber eher drastische Effekte gegen Oomyceten wie die gefürchtete Kartoffelkrankheit verursachende Spezies *Phytophthora infestans*.^[11] Obwohl Treibhausexperimente hinsichtlich potentieller Anwendungen in der Landwirtschaft ermutigend erschienen,^[17] nahm das frühe Interesse für Epothilone aufgrund des Fehlschlags von Feldexperimenten und ihrer offensichtlichen Phytotoxizität bald ab. Kurz darauf wurde entdeckt, daß diese Verbindungen sowohl sehr hohe Aktivität (2 ng mL⁻¹)^[13, 18] gegen Mäusefibroblasten- und -leukämiezellen als auch starke immunsuppressive Wirkung aufwiesen, wie ihre Cytotoxizität gegen menschliche T-Zellen zeigte.^[18, 19] Die Verbindungen wurden ebenso vom NCI in den USA getestet und erwiesen sich als hochaktiv gegen eine Reihe von Krebszellen, darunter einige Brust- und Darmkrebszelllinien.^[20]

Erst 1995, als ein Merck-Team in den USA die Wirkungsweise der Epothilone beschrieb,^[15] flammte das Interesse an diesen Verbindungen wieder auf – und zwar viel stärker als zuvor. In einem High-throughput-screening-Programm (HTS), das auf die Entdeckung ähnlich wie Taxol wirkender Tubulin-Polymerisationsagentien abzielte, untersuchten die Merck-Wissenschaftler Zehntausende von Verbindungen in biologischen Assays.^[15] Ihre einzigen „Treffer“ waren die Epothilone A und B. Darauf folgende Untersuchungen von Epothilon-ähnlichen Verbindungen, z.B. der 16gliedrigen Makrocyclen Erythromycin,^[21] Chalkomycin,^[22] Carbomycin^[23] und Rosamycin,^[24] brachten keine aktiven Verbindungen zutage (allerdings ist der 16gliedrige, makrocyclische Naturstoff Rhizoxin (Schema 1)^[25] ein bekanntes Mikrotubuli-destabilisierendes Agens^[26, 27]).^[15] Die Einzigartigkeit der Epothilone beförderte sie sofort in eine Klasse mit Taxol, dessen über Tubulin-Bindung verlaufender Wirkungsmechanismus 1979 von Horwitz et al. entdeckt wurde.^[28] Die Merck-Arbeitsgruppe verglich die Wirkung der Epothilone und von Taxol auf Tubulin und Mikrotubuli und berichtete über eine höhere Wirksamkeit der Epothilone A und B als Tubulin-Polymerisationsagentien (Epothilon B > Epothilon A > Taxol).

Am bedeutsamsten war die Entdeckung, daß alle drei Verbindungen bei ihrem Zielprotein um dieselbe Bindungsstelle konkurrieren.^[15, 29] Des weiteren wiesen die Epothilone eine ähnliche Kinetik bei der Induktion der Tubulin-Polymerisation auf, und mikroskopische Bilder von stabilisierten Mikrotubuli und beschädigten Zellen glichen im wesentlichen den mit Taxol erhaltenen.^[15] Die aufregendste Eigenschaft der Epothilone ist vielleicht ihre Überlegenheit gegenüber Taxol bei der Zerstörung von Tumorzellen, vor allem bei MDR-



Schema 1. Ausgewählte Verbindungen, die die Depolymerisation von Tubulin fördern.

Zelllinien (einschließlich einiger Taxol-resistenter).^[15, 29] In einigen Cytotoxizitätsexperimenten wies Epothilon B eine 2000–5000fach höhere Wirksamkeit als Taxol auf. Dieses eindrucksvolle Ergebnis weckte das Interesse vieler Wissenschaftler an Universitäten und in der pharmazeutischen Industrie. Ferner stellte sich in In-vivo-Experimenten am Sloan-Kettering-Institut in New York, bei denen Tumorgewebe subcutan in SCID-Mäuse eingepflanzt wurde, die Überlegenheit von Epothilon B gegenüber Taxol heraus.^[30] Bevor wir jedoch zur nächsten Phase der Epothilon-Forschung übergehen, wollen wir zunächst die Molekular- und Zellbiologie von Tubulin und Tubulin-Bindungsagentien und deren Beziehung zu den Epothilonen diskutieren.

2.1. Epothilone, Tubulin, Mikrotubuli und das Cytoskelett

Die Polymerisation/Depolymerisation^[31] von Tubulin spielt eine wichtige Rolle im Zellzyklus (Abb. 3), vor allem während der Mitose. Tubulin, ein heterodimeres Protein aus globulären α - und β -Tubulin-Untereinheiten (die zu den beständigsten Proteinen gehören),^[32, 33] ist der monomere Baustein der Mikrotubuli. Die Mikrotubuli gehören zu den fundamentalen Strukturbestandteilen des Cytoskeletts in eukaryotischen Zellen. Sie fungieren sowohl als Stützgerüst wie auch als Förderbänder innerhalb der Zellen.^[27, 34–37] Mikrotubuli versteifen die Zelle^[38] und transportieren Vesikel, Granula, Organellen^[39] und Chromosomen mittels

spezieller Bindungsproteine.^[38–40] Als Bestandteile des Cytoskeletts sind Mikrotubuli daran beteiligt, die Form und die Struktur der Zelle aufzubauen und aufrechtzuerhalten. Sie können isoliert in Aktion treten oder im Verband mit anderen Proteinen, um komplexere, zur zellulären Bewegung dienende Strukturen zu bilden wie Flimmerhärchen (Cilien), Centriolen oder Geißeln. Das Cytoskelett ist das aus Filamentproteinen gebildete „Nano-Gewebe“, das dynamisch das Innere von lebenden Zellen organisiert. Es ist in der Regel transparent und daher beim Betrachten mit dem Mikroskop unsichtbar. Trotz seiner Bedeutung für das Funktionieren der Zelle wird das Cytoskelett normalerweise aus Skizzen von Zellen ausgelassen; daher ist es wichtig, sich seine Existenz und dynamische Funktion in Erinnerung zu rufen.

Mikrotubuli bestehen aus hochdynamischen Anordnungen actinähnlicher α - und β -Tubulin-Heterodimere. Diese reihen sich selbsttätig zu langen Protofilamenten aneinander, von denen 13 in steiler Schraube parallel zu einer Zylinderachse die Wand eines Mikrotubulus bilden. Die Mikrotubuli bilden Schläuche mit einem Durchmesser von ca. 24 nm und können mehrere μ m lang sein.^[41] Die Abbildungen 4 und 5 stellen solche Mikrotubuli dar und lassen ihren Aufbau aus Tubulin erkennen. Die Mikrotubuli werden nach einem Nucleations-Elongations-Mechanismus gebildet.^[42, 43] Nucleation ist die Anfangsphase dieses Prozesses, bei der sich vorgebildete α - und β -Tubulin-Heterodimere in der Gegenwart von Mg^{2+} , Guanosin triphosphat (GTP) und Mikrotubuli-assoziierten Proteinen (MAPs) zusammensetzen. Dieser Vorgang ist relativ langsam, bis ein kurzer Mikrotubulus entstanden ist, der dann die wesentlich schnellere Elongationsphase auslöst. Die Elongationsphase umfaßt die Verlängerung des Mikrotubulus an beiden Enden durch reversible nichtkovalente Addition von Tubulin-Heterodimeren. Dabei entstehen wachsende Oligomere, die eine lineare Reihe von Tubulin-Kügelchen bilden. Die Tubulin-Einheiten innerhalb der Protofilamente werden durch stärkere Bindungen innerhalb der

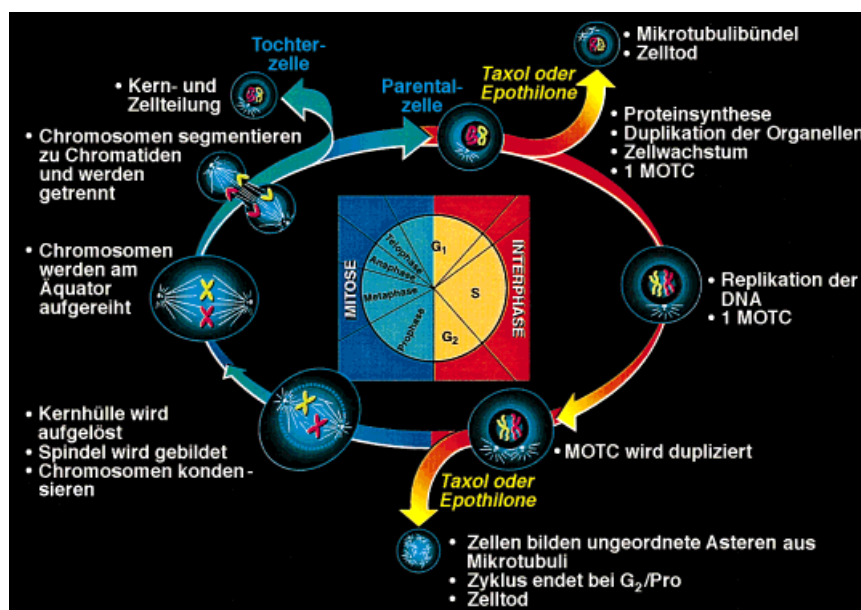


Abb. 3. Schematische Darstellung des Zellzyklus einschließlich der durch Taxol und Epothilone inhibierten Mitose. MOTC = Mikrotubuli-Organisationszentrum.

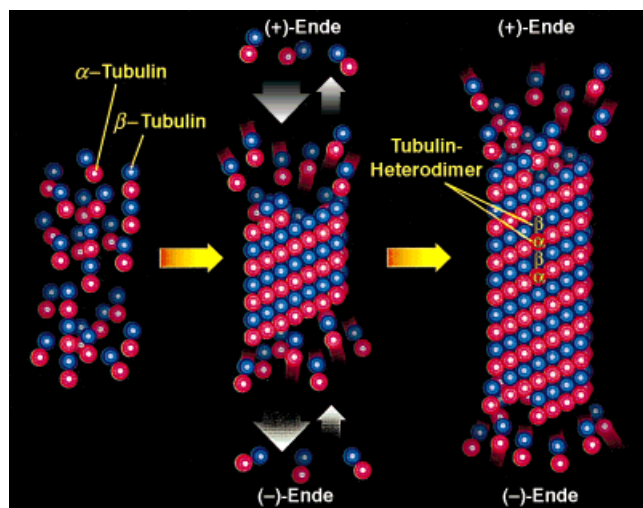


Abb. 4. Polymerisation von Tubulin zu Mikrotubuli.

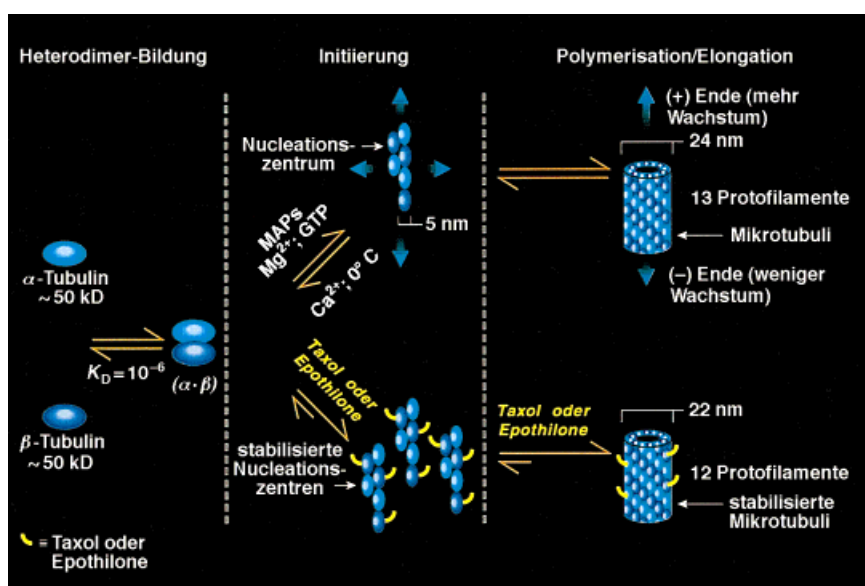


Abb. 5. Gleichgewichte bei der Dynamik der Mikrotubuli.

Tubulin-Heterodimere zusammengehalten, während des Aufbaus der Mikrotubuli entstehen schwächere, reversible Bindungen.

Mikrotubuli werden innerhalb der Zellen in „Asteren“ gebildet. Ihre dipolaren Strukturen bestehen aus einem dynamischen (+)-Ende und einem weniger dynamischen (-)-Ende (Abb. 4 und 5). Zwar können beide Enden entweder wachsen oder dissoziieren, doch wächst in der Regel das (+)-Ende schneller als das (-)-Ende, und Nettowachstum tritt am (+)-Ende ein, am (-)-Ende hingegen Nettoverkürzung.^[44] Die Mikrotubuli werden als „auf der Stelle tretend“ (treadmilling) bezeichnet, wenn diese beiden dynamischen Vorgänge zur gleichen Zeit stattfinden.^[45]

Wachstum und Dissoziation der Mikrotubuli werden von gebundenen GTP-Molekülen gesteuert. Jedes Tubulin-Heterodimer trägt zwei GTP-Moleküle, von denen aber anscheinend nur das auf der β-Untereinheit eine Funktion hat.^[46] Das GTP-Molekül hydrolysiert während der Polymerisation zu Guanosindiphosphat (GDP) und Orthophosphat (P_i). Die

Gegenwart von GTP, GDP und P_i , die eine „Kappe“ an den Enden der Mikrotubuli bilden, erleichtert ein weiteres Wachstum aufgrund höherer Affinität für zusätzliche Tubulin-Untereinheiten.^[47] Während die Halbwertszeit von Tubulin bei 37 °C fast 1 d beträgt, kann die eines Mikrotubulus nur ca. 10 min sein. Folglich besteht bei den Mikrotubuli ein kontinuierlicher Wandlungsprozeß, wobei sie ständig auf die Bedürfnisse der Zelle reagieren. Dieser Zustand wird „dynamische Instabilität“^[42, 48] genannt und wird durch regulative Prozesse innerhalb der Zelle gesteuert. Daher ist das Mikrotubuli-Wachstum in sich teilenden oder bewegenden Zellen begünstigter als in stabilen, polarisierten Zellen. Die Steuerung wird an den Enden der Mikrotubuli durch Hinzufügen (für Wachstum) und Hydrolysieren von GTP (für Verkürzung) ausgeübt.

Als Hauptbestandteile der Mitosespindel spielen Mikrotubuli auch eine wichtige Rolle bei der Mitose, dem Prozeß während der Zellteilung, bei dem das replizierte genetische Material in Form von Chromosomen gleichmäßig auf die beiden Tochterzellen verteilt wird.^[49] Wenn bei Zellen die Mitose beginnt, wird die Mitosespindel durch Schmelzen im Zentrum auseinandergenommen, und zwei dipolare, spindelförmige Mikrotubuli-Reihen werden vom Centrosom nach außen hin gebildet. In Zellen von Wirbeltieren sind die Centrosomen Hauptsitz der Mikrotubuli-Nucleation (MTOC; Abb. 3), indem sie die kritische Konzentration des für die Polymerisation benötigten Tubulins erniedrigen und die (-)-Enden der resultierenden Mikrotubuli verankern.^[50] In der Metaphase werden die Chromosomen durch den richtenden Einfluß der Spindel in der Äquatorialebene angeordnet.^[51] In der Anaphase ändert sich die Dynamik der Mikrotubuli: Die Chromosomen teilen sich auf, und die Tochterchromatiden bewegen sich gleitend auf den durchgehenden Mikrotubuli zu den Polen, wo die neuen Zellen entstehen.^[52] Die Parentalzelle repliziert ihre Chromosomen während dieses Vorgangs, um beide Tochterzellen mit einem kompletten Gensatz zu versorgen.

Wenn die eukaryotische Zelle in die Phase aktiver Teilung übergeht (Übergang von der Metaphase zur Anaphase), ziehen die Mikrotubuli die Chromosomen buchstäblich entgegen und schieben sie in die Bereiche der beiden entstehenden Tochterzellen. Die Geschwindigkeit, mit der die Mikrotubuli ihre Länge ändern, erhöht sich im Verlauf der Mitose gegenüber der Geschwindigkeit während der Interphase um das 20- bis 100fache. In dieser Phase hoher Dynamik sind die Mikrotubuli sehr empfindlich gegenüber mit Tubulin wechselwirkenden Agentien, die daher ihre antimitotische Aktivität in diesem Stadium des Zellzyklus entfalten (Abb. 6).^[48, 53] Strukturell sehr verschiedene Verbindungen wie Vinblastin,^[42, 54, 55] Colchicin,^[55, 56] Taxol und die Epothilone hemmen die Mitose, indem sie an dieser wichtigen Stelle im Zellzyklus eingreifen (siehe Abschnitt 2.2 für Weiteres zu Tubulin-Bindungs-Agentien).^[57]

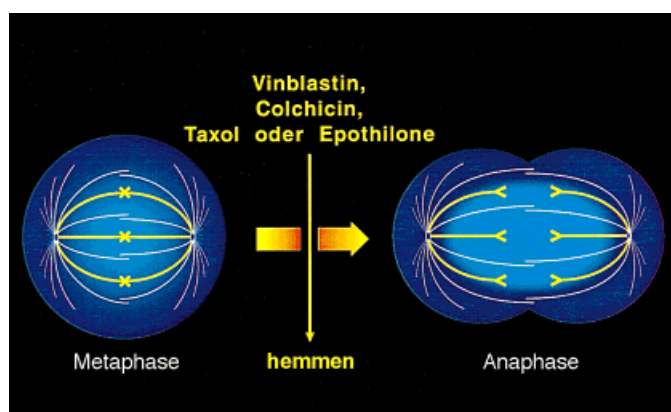


Abb. 6. Antimitotische Agentien hemmen die Teilung der Mitosespindel.

Die Dynamik der Mikrotubuli kann sowohl in vitro als auch in vivo durch die zell- und gewebespezifischen^[27, 34] MAPs^[58] unterdrückt werden. MAPs sind Proteine von hoher Molekülmasse (200–300 kDa) oder Tau-Proteine (20–60 kDa).^[27, 59] Ein Ende eines MAP bindet monomeres oder polymeres Tubulin und beschleunigt somit die Polymerisation und erleichtert den Aufbau sowie die Stabilisierung der Mikrotubuli. Das andere Ende eines MAP bindet an Vesikel oder Granula. Einige dieser MAPs binden vermutlich an spezielle Stellen des α -Tubulins, nachdem dieses in die Mikrotubuli eingebaut worden ist. Zu solchen Stellen gehören Orte der Acetylierung oder Entfernung von Tyrosinresten vom Tubulin-Carboxyterminus, und sie sind wichtige Indikatoren für stabilisierte Mikrotubuli, da sie bei Depolymerisation verschwinden. Interessanterweise unterdrückt ein Tau-Protein das Gleichgewicht der dynamischen Mikrotubuli-Instabilität in vitro in einer Weise, die nicht von der bei Taxol unterschieden werden kann.^[60] Dies ist in Einklang mit der Vorstellung, daß antimitotische Wirkstoffe die Wirkung von natürlichen regulativen Liganden nachahmen. Zu den MAPs gehören Kinesin und Dynein, die entlang der Mikrotubuli in entgegengesetzte Richtungen „wandern“. Einige MAPs haben Kopfbereiche, die an Mikrotubuli und ATP binden und als ATPase-Motoren wirken. Ihre Schwanzdomänen könnten an die zu bewegende Organelle binden, aber der Mechanismus, nach dem die durch ATP-Spaltung gewonnene Energie für den Transport genutzt wird, ist nicht bekannt. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß MAPs „Hilfsmaschinen“ sind, die die Tubulin-Polymerisation beschleunigen, als Motor für Vesikel und Granula dienen und zu großen Teilen die Steuerung der Kompartimentbildung in Zellen übernehmen.

2.2. Epothilone, Tubulin-Bindungsagentien und Zelltod

Viele strukturell unterschiedliche Tumorstoffe üben ihre Cytotoxizität durch Unterbindung der Mikrotubuli-Dynamik aus.^[27, 34, 35, 61] Die meisten dieser Verbindungen, z. B. Colchicin,^[55, 56] Colcemid,^[62] Podophyllotoxin,^[63, 64] Vinblastin^[42, 54, 55] und Vincristin^[42, 54, 55] (siehe Schema 1), wirken, indem sie bei der Bildung und dem Wachstum der Mikrotubuli einschreiten und die Polymerisation der Mikrotubuli verhindern, durch Umbau von Tubulin in andere Aggregatfor-

men.^[56, 65] Dadurch bewirken sie eine Nettodepolymerisation der Mikrotubuli und inhibieren somit die Zellproliferation bei der Mitose. Zu dieser Klasse antimitotischer Verbindungen gehören auch Combretastatin,^[64] Maytansin,^[66, 67] Rhizoxin (Schema 1),^[25] Phomopsin,^[67] die Dolastatine,^[66–68] Kryptophycine,^[69] Benzimidazole (z. B. Nocadazol)^[42, 48, 70] und die Curacine.^[71] Bei bestimmten Konzentrationen inhibieren diese Wirkstoffe die Bildung der Spindel-Mikrotubuli oder depolymerisieren bereits existierende.^[42, 48]

Abbildung 7 zeigt die verschiedenen Komplexe von Vinblastin, Colchicin und Taxol (siehe auch Abb. 5) mit Mikrotubuli. Vinblastin bindet mit hoher Affinität an die Enden der

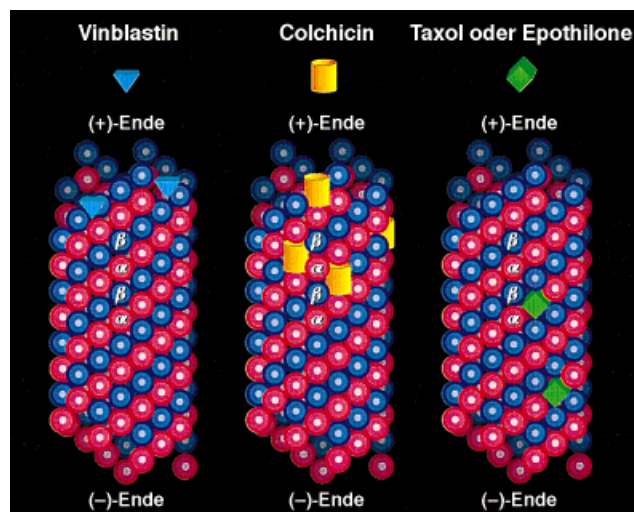
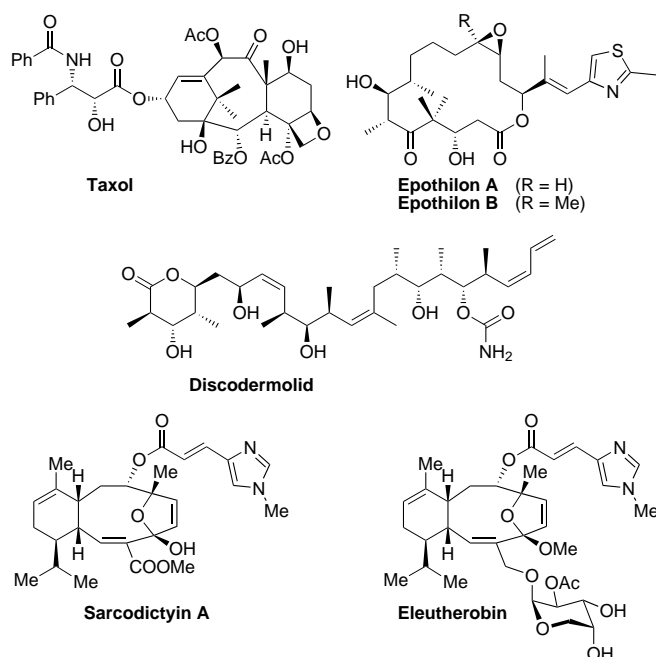


Abb. 7. Mikrotubulus-Liganden-Komplexe.

Mikrotubuli, und seine potente Cytotoxizität scheint auf einer relativ kleinen Zahl gebundener Moleküle zu beruhen.^[42] Colchicin bindet hingegen zuerst an freies Tubulin. Die so gebildeten Komplexe vereinigen sich mit den Mikrotubuli an den wachsenden Enden bei relativ niedrigen Konzentrationen, woraus dann tiefgreifende Effekte auf die Mikrotubuli-Dynamik resultieren.^[56] Im Unterschied zu diesen beiden antimitotischen Wirkstoffen stört Taxol die Polymerisations-Depolymerisations-Dynamik der Mikrotubuli in vitro, indem es an die Mikrotubuli bindet und diese gegenüber Depolymerisation stabilisiert (siehe Schema 2 für Beispiele Tubulin-polymerisierender Naturstoffe).^[72] Trotz ihrer geringen strukturellen Ähnlichkeiten zu Taxol scheinen die Epothilone nach demselben Mechanismus zu wirken und an dieselben Regionen zu binden.^[15, 29]

Obwohl die Epothilone Taxol von dessen Rezeptor verdrängen, binden sie wohl in einer leicht unterschiedlichen Weise an Mikrotubuli, wofür ihre Wirkung gegen Taxol-resistente Tumorzellen spricht, die mutiertes Tubulin enthalten. Jedes Tubulin-Molekül (α/β -Tubulin-Heterodimer) der Mikrotubuli hat eine Bindungsstelle für Taxol. Durch Hochauflösungselektronenmikroskopie wurde festgestellt, daß sich die Bindungsstelle für Taxol zwischen den Protofilamenten befindet, die aus α - und β -Tubulin-Einheiten gebildet werden.^[29] Die Bindung von Taxol oder Epothilonen an Mikrotubuli verringert die Geschwindigkeit der Dissoziation von α/β -Tubulin deutlich. Taxoide und Epothilone wirken also



Schema 2. Ausgewählte Naturstoffe mit Tubulin-Polymerisations- und Mikrotubuli-stabilisierenden Eigenschaften.

als Klammern und vergrößern und stabilisieren den Pool der Mikrotubuli.^[73]

Es wurde in vitro gezeigt, daß Taxol in Abwesenheit von dem zur normalen Polymerisation benötigten GTP Tubulin nucleiert.^[28, 74] Abbildung 8 zeigt die Wirkung von Epothi-

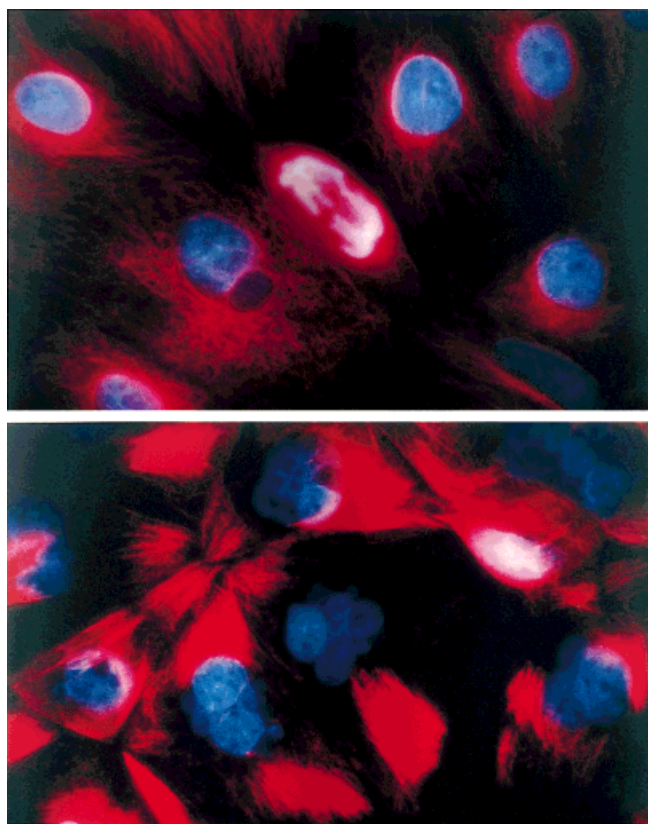


Abb. 8. Wirkung der Epothilone auf PtK₂-Zellen; Näheres siehe Text. (Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Dr. F. Sasse und Dr. H. Reichenbach.)

lon B auf *Potorous-tridactylis*-Nieren-Epithelzellen (PtK₂-Zellen). Das obere Bild zeigt die PtK₂-Zellen; die Kerne (blau) sind von Tubulin (rot) umgeben. Eine der Zellen (in der Mitte, hell) befindet sich in der Anaphase. Man erkennt, wie die Chromosomen zu den Polen auseinandergezogen werden. Nach Behandlung mit Epothilone B (unten) ist die Ordnung der Zellen gestört; die Kerne (blau) sind in irreguläre Formen fragmentiert, und Tubulin (rot) ist zu keilförmigen Bündeln aggregiert. Diese Wechselwirkung der Epothilone mit Tubulin hemmt die Zellteilung und tötet die Zelle, indem sie Apoptose (genetisch gesteuerte Selbstzerstörung der Zelle, programmierter Zelltod) initiiert.

Vor kurzem verglichen Hamel und seine Mitarbeiter die Wirkung der Epothilone A und B auf Dickdarm(Kolon)- und Ovarialkrebszelllinien mit der von Taxol.^[29] Demzufolge sind die Epothilone A und B gegenüber der Pgp-überexprimierenden MDR-Dickdarmkrebszelllinie SW620 und gegenüber der Taxol-resistenten Ovarialkrebszelllinie KBV-1 sehr aktiv. Bei den durch indirekte Immunfluoreszenz untersuchten PtK₂-Zellen wies Epothilone B die höchste Aktivität auf und induzierte in hohem Maße die Bildung von Mikrotubuli-Bündeln. Des weiteren wurde bestätigt, daß die Epothilone keine Substrate für Pgp sind (wie ursprünglich von Bollag et al. berichtet^[15]) und daß subtile Unterschiede zwischen den Wirkungsmechanismen von Taxol und den Epothilonen bestehen, was durch Unterschiede in der Mikrotubuli-Morphologie deutlich wurde. Wissenschaftler an der Universität Freiburg haben kürzlich gezeigt, daß Epothilone A genau wie Taxol Apoptose in Neuroblastom-Zellen initiiert.^[75] Allerdings war Epothilone A, anders als Taxol, gegen eine Pgp-exprimierende MDR-Neuroblastom-Zelllinie (SK-N-SH) wirksam,^[76] und darüber hinaus wurde seine Wirkungskraft trotz Erhöhung des Pgp-Niveaus im Verlauf der Zugabe des Wirkstoffs nicht verringert.^[15]

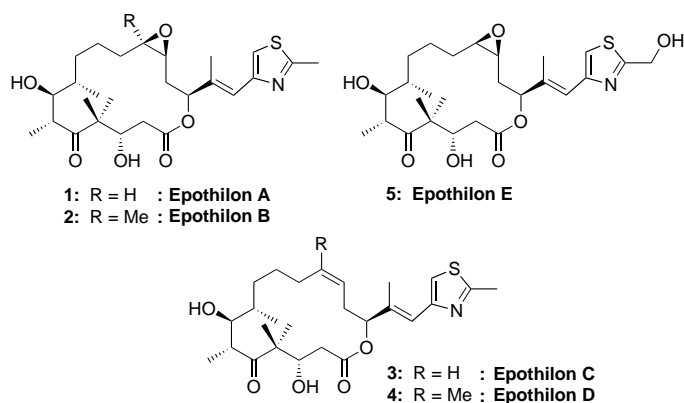
Während für die Tubulin-Polymerisation nahezu stöchiometrische Mengen von Taxol an das Zielmolekül binden müssen,^[77] hängt sein Mikrotubuli-stabilisierender Effekt von einer relativ kleinen Zahl Mikrotubuli-bindender Moleküle ab. Wenn Taxol an Mikrotubuli bindet, macht es diese extrem stabil und statisch,^[73] verhindert so die Zellteilung und tötet die Zellen zu Beginn der Teilung. Krebszellen teilen sich häufiger als gesunde Zellen, und Taxol schädigt Tumoren, in denen fortlaufende Zellteilung stattfindet, am stärksten. Es können aber auch andere sich schnell teilende Zellen wie Leukocyten und Haarzellen angegriffen werden, was zu beträchtlichen Nebenwirkungen führt. Daher ist die Chemotherapie mit Taxol oft mit einer Schwächung des Immunsystems, der Sinneswahrnehmungsnerven sowie mit Übelkeit und Haarausfall verbunden.^[78]

Taxol hat durch Aktivierung von Makrophagen,^[79–81] die selbst proinflammatorische Cytokine^[82] und Stickstoffmonoxid^[83] synthetisieren, Endotoxin-ähnliche Eigenschaften. Vor kurzem wurde entdeckt, daß Epothilone B trotz ähnlicher Wirkung auf Mikrotubuli wie Taxol keinerlei stimulierende Wirkung auf IFN- γ -behandelte Makrophagen aus Mäusen hat, wie Bestimmungen der Stickstoffmonoxid-Bildung ergaben.^[84] Daraus wurde geschlossen, daß Epothilone-vermittelte Mikrotubuli-Stabilisierung keine Endotoxin-signalisierenden Pfade auslöst. Was Nebenwirkungen anbelangt, so könnte

dies bei klinischer Anwendung ein Vorteil der Epothilone gegenüber Taxol sein.^[85] Wie Taxol und die Epothilone wirken auch der marine Polyketid-Naturstoff Discodermolid^[86] und die vor kurzem entdeckten Substanzen Eleutherobin^[87] und Sarcodictyin A^[88] (siehe Schema 2) cytotoxisch gegen Tumorzellen durch Beeinträchtigung der Mikrotubuli-Dynamik.

3. Chemie der Epothilone

Sowie die Bedeutung der Epothilone erkannt worden war, wurden weltweit in zahlreichen Laboratorien Strategien für ihre Totalsynthese entwickelt. Mehrere Arbeitskreise stürzten sich auf die Synthese, und das Rennen wurde sehr knapp zwischen dreien entschieden.^[19] Das Grundgerüst der Epothilone ist deutlich weniger komplex als das von Taxol. Dennoch waren die Epothilone eine große Herausforderung für die organische Synthese, und vor allem boten sie reichlich Gelegenheit zur Entwicklung neuer Synthesemethoden und -strategien. Von besonderem Interesse waren der 16gliedrige Makrolidring, die sieben Stereozentren und die Thiazol-Seitenkette, deren Stickstoff- und Schwefelatome potentielle Komplikationen in sich bargen. Die herrliche Molekülarchitektur und die Kompaktheit der Epothilone A und B kann Abbildung 1 entnommen werden, während in Schema 3 die



Schema 3. Strukturen der natürlich vorkommenden Epothilone A 1–E 5.

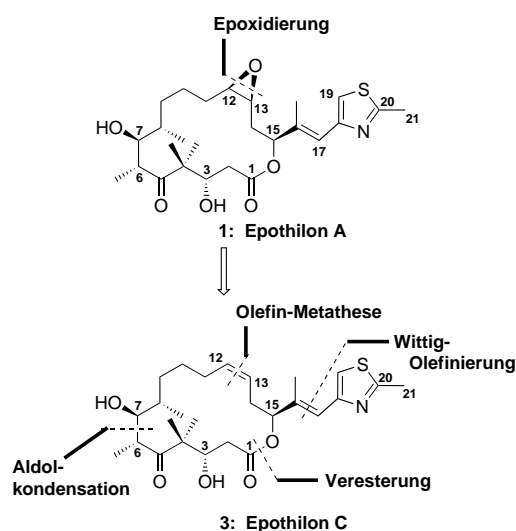
fünf bis heute identifizierten natürlich vorkommenden Epothilone (A–E) gezeigt sind. Das große Interesse an den Epothilonen hat sich bereits in einem Highlight-Beitrag von Wessjohann^[89] und Kurzaufsätzen von Kalesse^[90] und Finlay^[91] manifestiert. In den folgenden Abschnitten werden wir zuerst auf die unterschiedlichen Totalsynthesen von Epothilone A 1 und Epothilone B 2 eingehen und dann das Design, die Synthese und die biologische Aktivität der vielen synthetischen Analoga diskutieren. An dieser Stelle möchten wir vorab darauf hinweisen, daß die Arbeitsgruppe um Danishefsky als erste die Totalsynthesen von Epothilone A und B abschloß.

3.1. Die Nicolaou-Strategien für die Synthese der Epothilone

Einer von uns (K.C.N.) traf Professor G. Höfle bei einem Besuch der GBF am 18. April 1996. Höfles Epothilon-Geschichte war faszinierend und stimulierend zugleich und

mehr als ausreichend, um jemanden, der sich für Chemie, Biologie und Medizin interessiert, zu überzeugen, daß ein Forschungsprojekt auf diesem Gebiet gerechtfertigt war. Es gab allerdings ein Problem: Die absolute Konfiguration war zu diesem Zeitpunkt unveröffentlicht, und Höfle war noch nicht bereit, sie bekanntzugeben. Schließlich sandte uns Höfle am 15. Mai 1996 ein Manuskript zu (dieses erschien später in der *Angewandten Chemie*^[12]), das die absolute Konfiguration von Epothilone A 1 und B 2 enthält. Der Umzug unserer Arbeitsgruppe in das soeben fertiggestellte und eingerichtete „Arnold und Mabel Beckmann Center for Chemical Sciences“ am 28. Mai 1996 markierte schließlich den offiziellen Beginn unseres Epothilon-Projekts am Scripps Research Institute.

Unter den zahlreichen Strategien, die wir in Erwägung zogen, war der in Schema 4 gezeigte Olefin-Metathese-Weg^[92] vielleicht am fesselndsten. Trotz der eleganten Beispiele

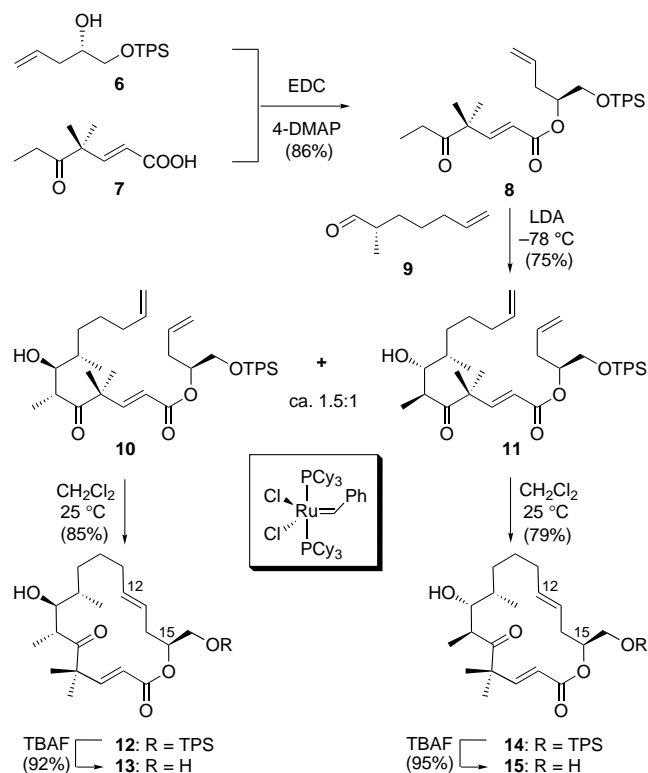


Schema 4. Nicolaous Olefin-Metathese-Weg zu den Epothilonen A 1 und C 3: Retrosynthese und strategische Bindungsknüpungen (Nicolaou et al.).^[96, 97]

solcher Reaktionen von den Arbeitsgruppen um Schrock^[93] Grubbs^[94] und Hoveyda^[95] sahen wir uns mit einer Reihe von Problemen konfrontiert:

- Wird der Makrocyclus unter den Bedingungen der Metathese gebildet werden?
- Wenn ja, wird die neue Doppelbindung im Produkt die erforderliche *Z*-Geometrie oder die *E*-Geometrie aufweisen?
- Wird die Thiazol-Einheit den Katalysator beeinträchtigen?
- Wird die Epoxidierung in Gegenwart der α,β -ungesättigten Seitenkette möglich sein, und wenn ja, welches der beiden diastereomeren Epoxide wird bevorzugt gebildet werden?

Während es keine sicheren Antworten auf diese Fragen gab, erkannten wir sofort, daß dies die Voraussetzungen für ein aufregendes und anspruchsvolles Syntheseabenteuer sein würden. Daher zögerten wir nicht lange. Zusätzlich zur Olefin-Metathese erforderte diese Strategie eine Wittig-Reaktion, eine Veresterung und eine Aldol-Reaktion (Schema 4). Des weiteren erschien uns die Strategie flexibel und konvergent genug, um nicht nur die Synthese der Epothilone A und B zu ermöglichen, sondern auch einer Reihe von Analoga für ein biologisches Screening.



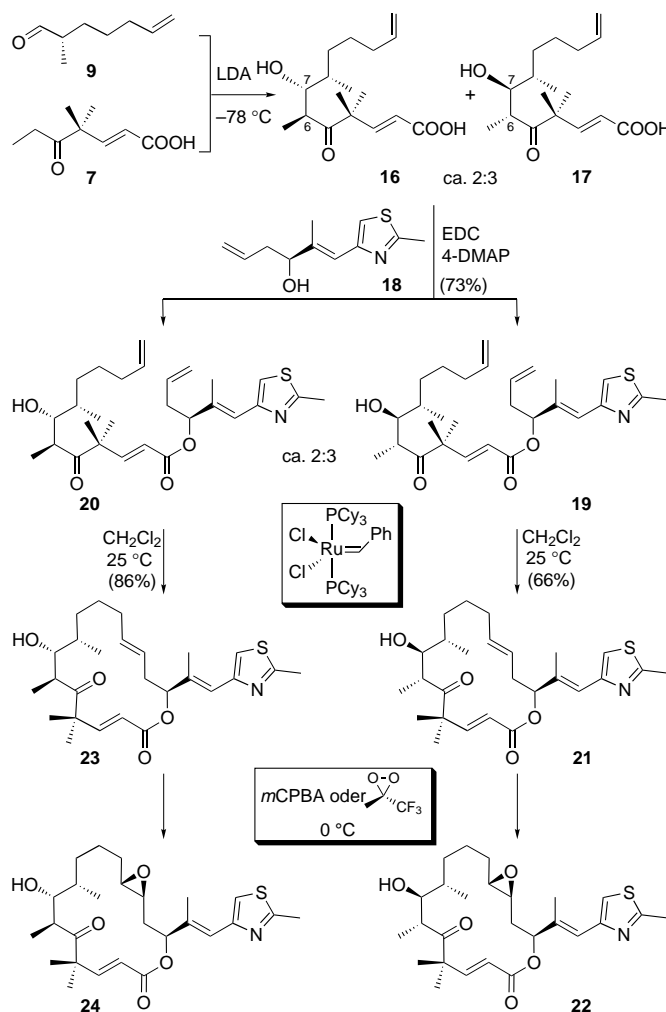
Schema 5. Nicolaous Olefin-Metathese-Weg zu Epothilon A: Erste Modellstudien zur Überprüfung des Konzepts (Nicolaou et al.).^[96, 97]

Erste Modellstudien^[96, 97] sind in Schema 5 zusammengefaßt. Sie wurden durchgeführt, um das Konzept der Olefin-Metathese mit einfachen Substraten zu testen. Eine (glücklicherweise) verkehrte Zuordnung der Geometrie der neuen Doppelbindungen in den Produkten **13** und **15** als *Z* (später wiesen wir durch eine Röntgenstrukturanalyse die in Schema 5 gezeigte *E*-Konfiguration^[97] von **15** nach) ermutigte uns, zur nächsten Etappe fortzuschreiten. In weiterführenden Modellstudien (Schema 6)^[97] wollten wir herausfinden, ob zum einen die Olefin-Metathese in der Gegenwart der Thiazol-Seitenkette durchgeführt werden kann und zum anderen die selektive Epoxidierung möglich ist. Wie aus Schema 6 hervorgeht, waren die Ergebnisse ermutigend. Wir hatten nun zwei Sorgen weniger, wenngleich die Zuordnung der Konfiguration der C12-C13-Doppelbindung nicht korrekt war.

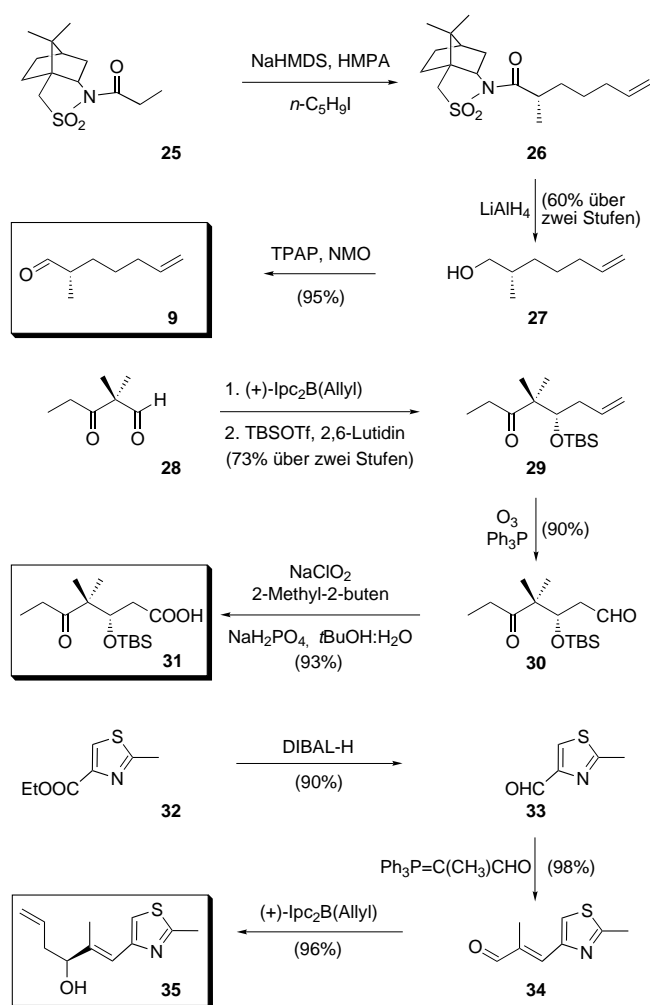
Ermutigt durch die ersten Ergebnisse im Rahmen der Olefin-Metathese-Strategie zur Totalsynthese der Epothilone, ließen wir uns auf die Konstruktion der benötigten Bausteine ein. Schema 7 faßt die Aufbaureaktionen zusammen, die zu den enantiomerenangereicherten Fragmenten **9**, **31** und **35** führten.^[97–99] Diese Bausteine wurden nacheinander, wie in Schema 8 gezeigt, zusammengesetzt,^[97, 98] wodurch die Edukte für die Olefin-Metathese, **38** und **39**, erhalten wurden. Erfreulicherweise ließ sich das erwünschte **38** problemlos durch Olefin-Metathese umsetzen, wobei eine Mischung aus den makrocyclischen *Z*- und *E*-Olefinen **40** (46%) und **41** (39%) entstand. Des weiteren verlief die Epoxidierung des korrekten Isomers, Epothilon C **3**, selektiv an der C12-C13-Doppelbindung und lieferte Epothilon A **1** und sein Diaste-

reomer **43**. Dabei hing die Diastereoselektivität im letzten Schritt vom Epoxidierungsreagens ab [**1:43** = ca. 3:1^[97, 98] (*m*CPBA, 0 °C), ca. 3:1^[98] (Dimethyldioxiran, 0 °C), ca. 5:1^[98] (Methyl(trifluormethyl)dioxiran, 0 °C), ca. 13:1^[100] (Methylperoxycarboximidsäure, 25 °C)]. Unsere erste Totalsynthese von Epothilon A **1** wurde im November 1996 abgeschlossen.

Unsere Untersuchungen der Olefin-Metathese für Epothilon-Synthesen waren hiermit nicht beendet. Mit dem Ziel, eine möglichst umfassende Epothilon-Bibliothek für biologische Studien herzustellen, versuchten wir, eine Festphasensynthese für Epothilon A zu entwickeln. Diese sollte für leistungsfähige „Split-und-Pool“-Methoden der kombinatorischen Chemie geeignet sein.^[101–103] Somit wurde die Festphasensynthese der Epothilone A und C in Angriff genommen und, wie in Schema 9 skizziert, vollendet. Der Höhepunkt dieser Synthese ist die Bildung und Abspaltung des Makrocyclus vom Harz in einem Schritt. Erwähnenswert ist auch, daß diese Synthese vier Epothilon-C-Isomere liefert (zwei C6-C7-Aldol- und zwei C12-C13-Olefin-Isomere), die chromatographisch getrennt und zu den entsprechenden Epoxiden umgesetzt werden konnten. Die Anwendung dieser



Schema 6. Nicolaous Olefin-Metathese-Weg zu Epothilon A: Weiterführende Modellstudien, um zu überprüfen, ob die Thiazol-Seitenkette mit dem Konzept vereinbar ist (Nicolaou et al.).^[97]



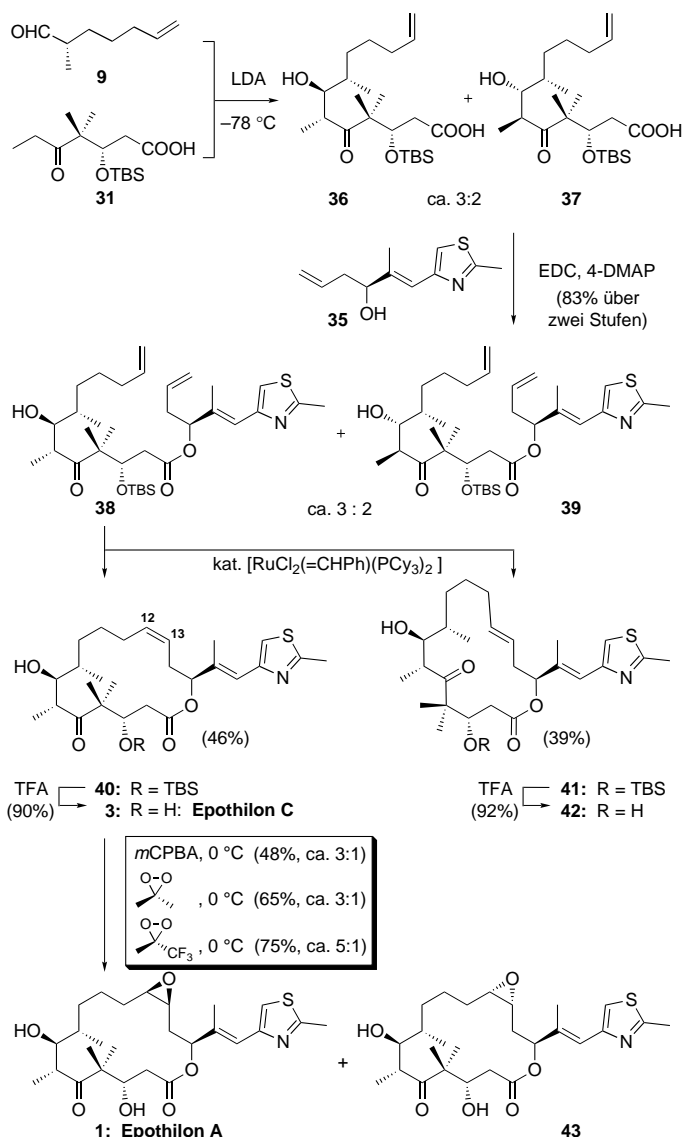
Schema 7. Nicolaous Synthese der Schlüsselbausteine **9**, **31** und **35** (Nicolaou et al.).^[97, 99]

Methode auf die Herstellung kombinatorischer Epothilon-Bibliotheken wird in Abschnitt 4.2 beschrieben.

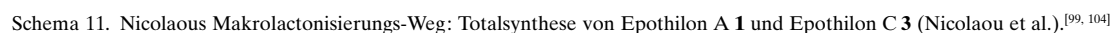
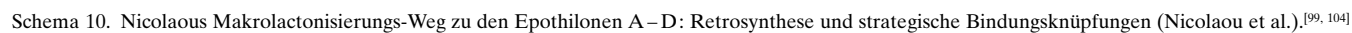
Noch im Verlaufe des Olefin-Metathese-Projekts wurde mit einer zweiten Strategie auf der Grundlage einer Makrolactonisierung begonnen (Schema 10).^[99, 101, 104] Ziel dieser Strategie war es, die Diastereomerenmischungen der makrocyclischen Olefine zu vermeiden, die beim Olefin-Metathese-Weg erhalten wurden, der, so wundervoll er auch für den Aufbau von Bibliotheken ist, zu ineffizient ist, wenn er auf ein bestimmtes Zielmolekül angewendet werden soll. Ein weiterer Grund für die Makrolactonisierungs-Alternative war der Wunsch einer bequemeren und effizienteren Synthese der Epothilone **B 2** und **D 4**, deren Synthese durch Olefin-Metathese wegen der trisubstituierten C12-C13-Doppelbindung als zu ungünstig erschien. Wie in Schema 11 und 12 dargestellt, verlief der Makrolactonisierungs-Weg zu den Epothilonen **A 1** und **C 3**^[99, 104] bzw. **B 2** und **D 4**^[99, 101] reibungslos und mit hoher Stereoselektivität bei der Knüpfung der C12-C13-Doppelbindung (**53** + **47** → **54**: *Z:E* = ca. 9:1). Eine Verbesserung der Diastereoselektivität bei der Aldolreaktion wurde zudem durch Verwendung des reduzierten Bausteins **60** (**60** + **61** → **62** + **63**, Schema 12) erreicht (6*S*,7*R*:6*R*,7*S* = ca.

3.5:1).^[99] Epothilon **D 4** wurde mit Methyl(trifluormethyl)-dioxiran in 85 % Ausbeute zu Epothilon **B 2** epoxidiert, die Diastereoselektivität betrug ca. 5:1. Die hierfür benötigten Bausteine **60** und **61** wurden gemäß Schema 13 stereokontrolliert aufgebaut.

Da Epothilon **E 5**^[105] eine natürlich vorkommende Substanz mit hoher biologischer Aktivität ist und wir vorhatten, einen weiteren Zugang zu den Epothilonen zu eröffnen, begannen wir unsere nächste Exkursion im Epothilon-Terrain. Die Strategie der Kombination von Olefin-Metathese und Stille-Kupplung ist in Schema 14 gezeigt und würde besonders gut geeignet sein für eine Synthese von Seitenkettenanaloga von Epothilon **A**^[106] und möglicherweise auch von Epothilon **B**. Eine Demonstration der Leistungsfähigkeit dieser Strategie ist die in Schema 15 gezeigte erste Totalsynthese von Epothilon **E 5**. Die oben beschriebenen Methoden wurden nicht nur für den Aufbau der natürlichen Epothilone **A–E** verwendet, sondern ermöglichten auch die Herstellung



Schema 8. Nicolaous Olefin-Metathese-Weg zu Epothilon **A 1** und Epothilon **C 3**: Totalsynthese in Lösung (Nicolaou et al. und Yang et al.).^[97, 98]

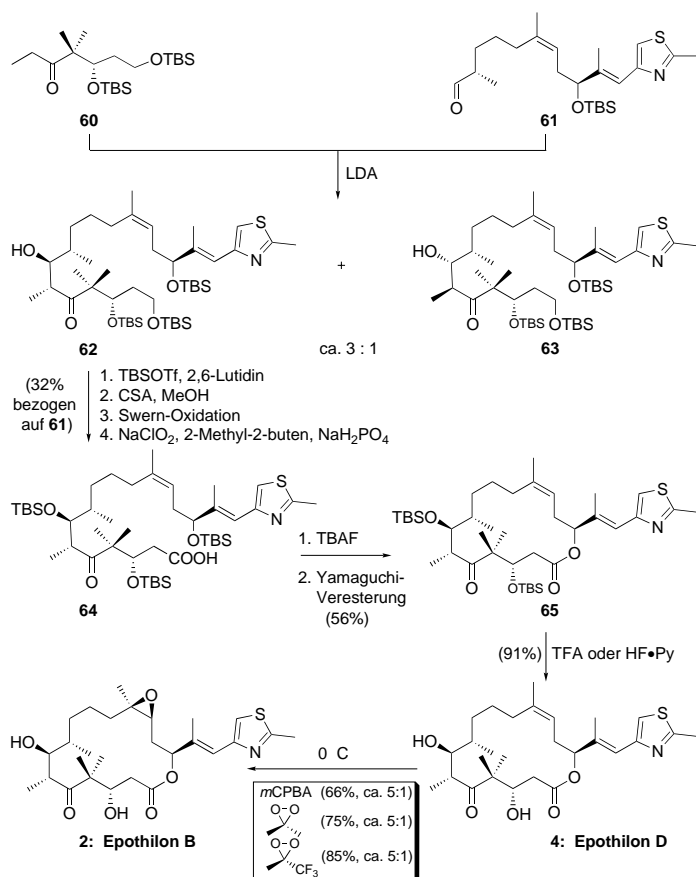


einer Reihe interessanter Analoga für ein biologisches Screening, wie in Abschnitt 4 beschrieben wird.

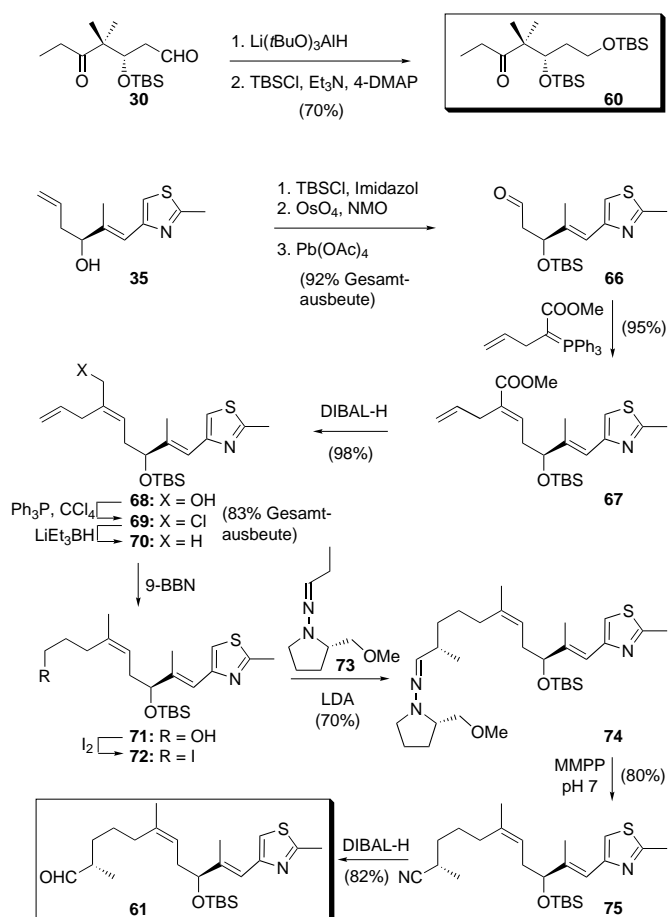
3.2. Die Danishefsky-Strategien für die Synthese der Epothilone

Die Danishefsky-Arbeitsgruppe trug wesentlich zur Forschung auf dem Epothilon-Gebiet bei und war die erste, die die Totalsynthesen sowohl von Epothilon A **1**^[107] als auch von Epothilon B **2**^[108] und deren Desoxyvorstufen (Epothilon C **3** bzw. Epothilon D **4**)^[107, 108] vollendete. Zu ihren Strategien gehörten eine elegante Makrocyclisierungs-Aldolreaktion,^[107–109] eine Olefin-Metathese^[109, 110] und eine Makrolactonisierung^[109] zum Aufbau des Makrocyclus. Ferner verwendeten sie eine Reihe interessanter Reaktionen und Reaktionssequenzen, um funktionelle Gruppen einzuführen und den stereochemischen Verlauf zu kontrollieren, darunter Kupplungen vom Suzuki-Typ und Dihydropyran-Bildungen und -Öffnungen.

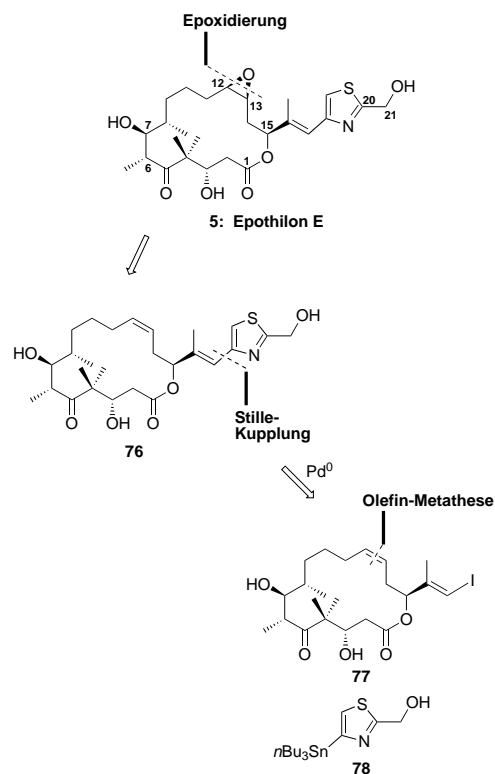
Die Arbeitsgruppe demonstrierte den Nutzen von Templaten, die ausgehend vom Danishefsky-Dien synthetisiert wurden,^[111] zum stereokontrollierten Aufbau der benötigten Fragmente **90** und **91**, wie in Schema 16 gezeigt ist.^[109, 112] Weitere sorgfältige Untersuchungen führten zur Synthese der C3-C12-Segmente **104** und **106** (Schema 17), die zur Synthese der Epothilone A **1** bzw. B **2** notwendig wa-



Schema 12. Nicolaous Makrolactonisierungs-Weg: stereoselektive Totalsynthesen von Epothilon B **2** und Epothilon D **4** (Nicolaou et al.).^[99, 101]



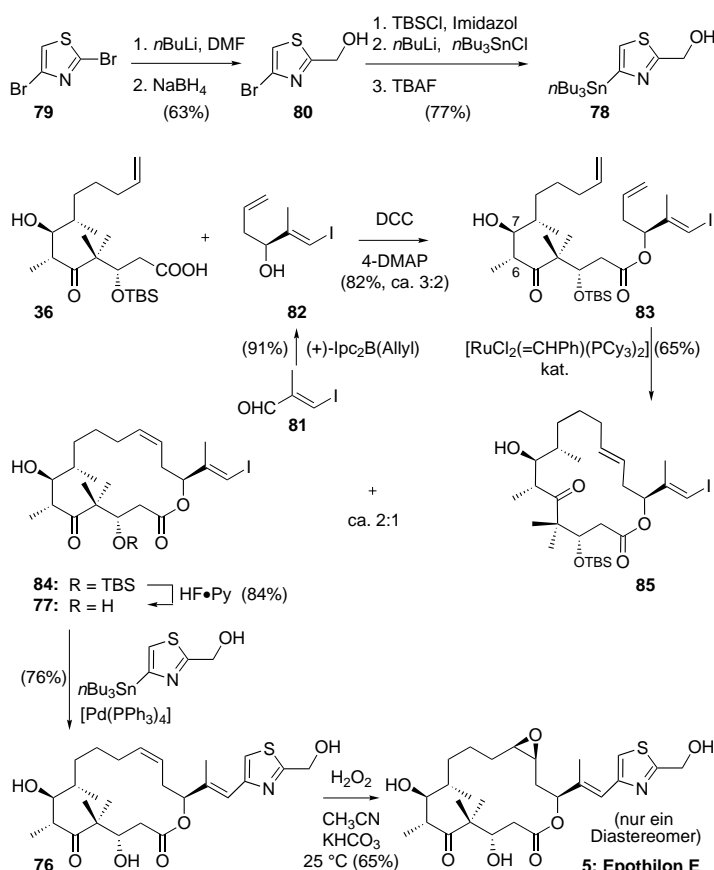
Schema 13. Nicolaous Synthese der Schlüsselbausteine **60** und **61** (Nicolaou et al.).^[99]



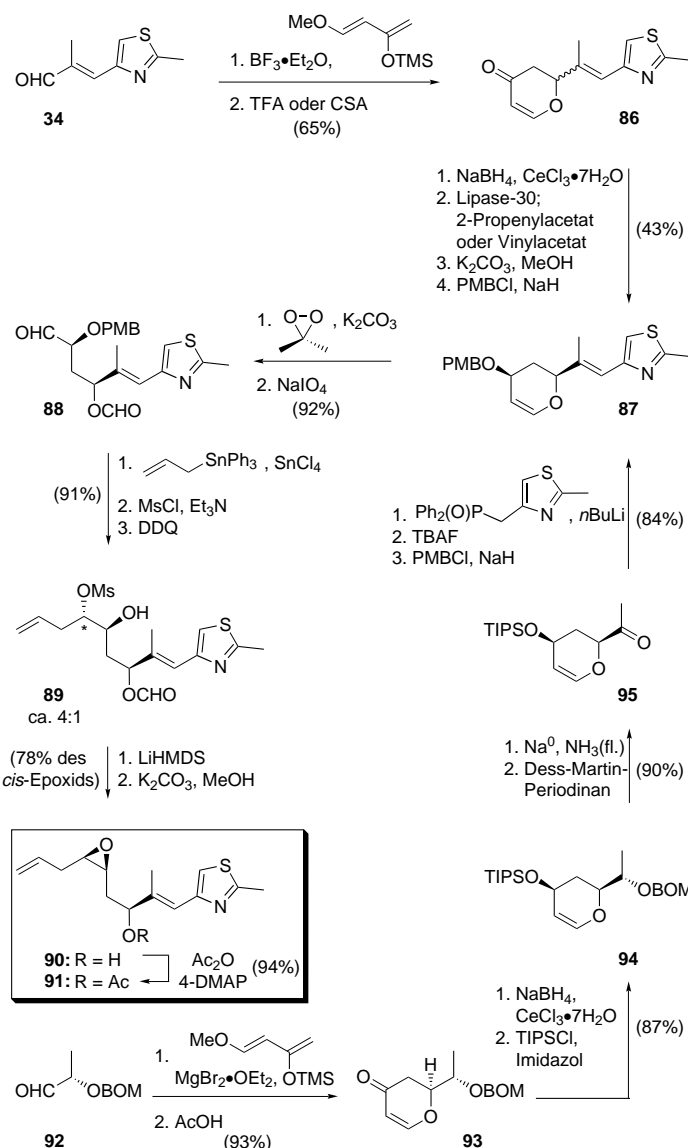
Schema 14. Nicolaous Olefin-Metathese/Stille-Kupplungs-Weg zu Epothilon E **5**: Retrosynthese und strategische Bindungsknüpfungen (Nicolaou et al.).^[106]

ren.^[109, 110] In Schema 16 und 17 ist die aufeinanderfolgende Bildung und Öffnung der Dihydro- und Tetrahydropyranringe die Schlüsseltaktik, um die Konfiguration bei den offenkettigen Zielmolekülen sicherzustellen. Eine Modellstudie des Danishefsky-Arbeitskreises zum Aufbau des Epothilon-Makrocyclus durch Olefin-Metathese unter Knüpfung der C9-C10-Bindung war ermutigend (Schema 18), aber stellte sich unglücklicherweise bei der Naturstoffsynthese als weniger ergiebig heraus.^[109, 113]

Der erste Durchbruch der Danishefsky-Arbeitsgruppe kam mit der Anwendung der Makrocyclisierungs-Aldolreaktion zum Aufbau der Epothilone A **1** und C **3** (Schemata 19 und 20).^[108, 109] Wie in Schema 19 skizziert, wurden zuerst stereokontrolliert die fortgeschrittenen Zwischenstufen **116** und **122** synthetisiert. Beim Zusammenfügen dieser Bausteine (Schema 20) ermöglichte eine stereospezifische Suzuki-Kupplung die Verknüpfung der Zwischenstufen **116** und **122** und lieferte Verbindung **123**. Der stereoselektive Ringschluß unter basischen Bedingungen führte dann zum erwünschten Makrocyclus **59**. Anschließende Umwandlungen funktioneller Gruppen führten in guter Gesamtausbeute und mit hoher Stereoselektivität zu Epothilon C **3** und nach Epoxidierung zu Epothilon A **1** (Schema 20). Danishefskys zweiter Zugang zu Epothilon A **1** (Schema 21) verlief über die Zwischenstufen **118** und **122**, die wiederum durch eine Suzuki-Kupplung verknüpft wurden, sowie eine Makrolactonisierung zum makrocyclischen Gerüst.^[109]



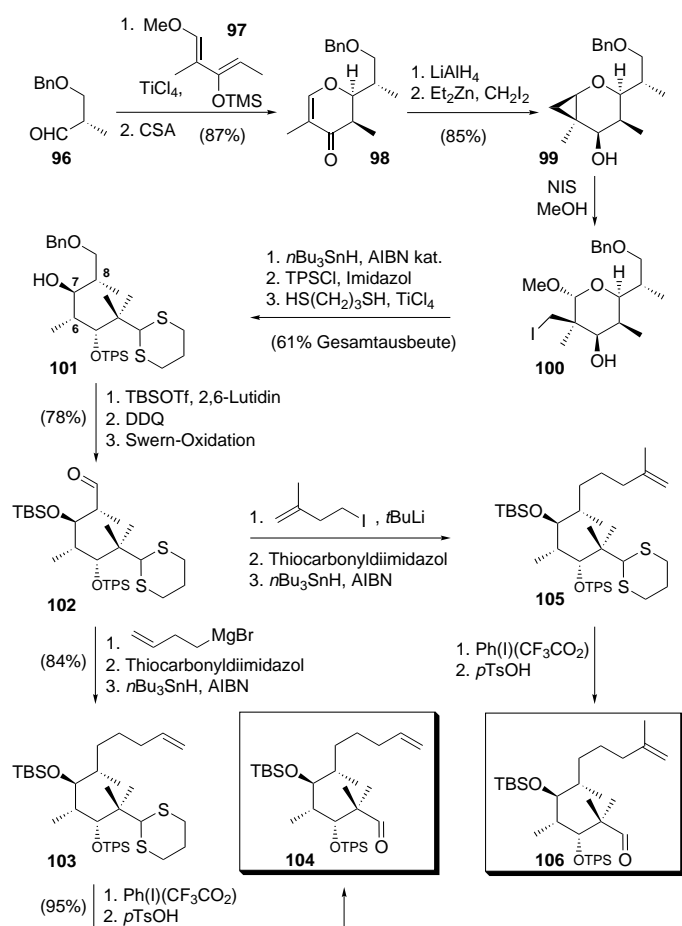
Schema 15. Nicolaous Olefin-Metathese/Stille-Kupplungs-Weg zu Epothilon E **5**: Totalsynthese (Nicolaou et al.).^[106]



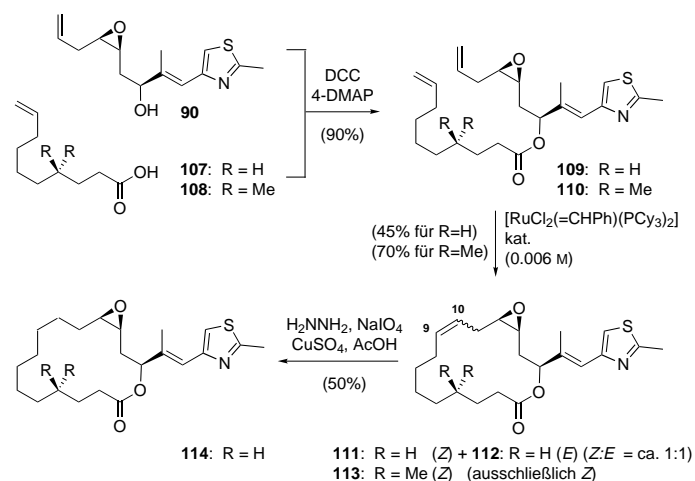
Schema 16. Danishefskys Dihydropyran-Template als Steuergruppen für die Diastereoselektivität bei der Synthese der Epothilon-Bausteine **90** und **91** (Meng et al.).^[109, 112]

Die Danishefsky-Arbeitsgruppe schlug auch den Olefin-Metathese-Weg zu den Epothilonen ein. Eine interessante und aufschlußreiche Studie hierzu ist in Schema 22 skizziert.^[110] Bei Variation der Substituenten der offenkettigen Vorstufen **128** stellten sie *Z:E*-Verhältnisse bei den neu geknüpften Doppelbindungen von ca. 5:3 bis 1:9 fest. Wie in Schema 23 gezeigt, synthetisierte die Arbeitsgruppe mit ihrer Strategie der Makrocyclisierungs-Aldolreaktion zudem die Epothilone B **2** und D **4**.^[108] Erneut führte eine Suzuki-Kupplung (**116** + **130** → **131**) mit anschließender Basenbehandlung und Umwandlung funktioneller Gruppen zum Ringschluß (**131** → **65**) und lieferte das erwünschte Gerüst, das als Vorstufe sowohl für Epothilon D **4** als auch für Epothilon B **2** diente.

Wie in Schema 24 zusammengefaßt, diente schließlich eine bemerkenswerte Olefin-Metathese, die an einem dreifach substituierten Olefin mit dem Schrock-Molybdän-Katalysa-

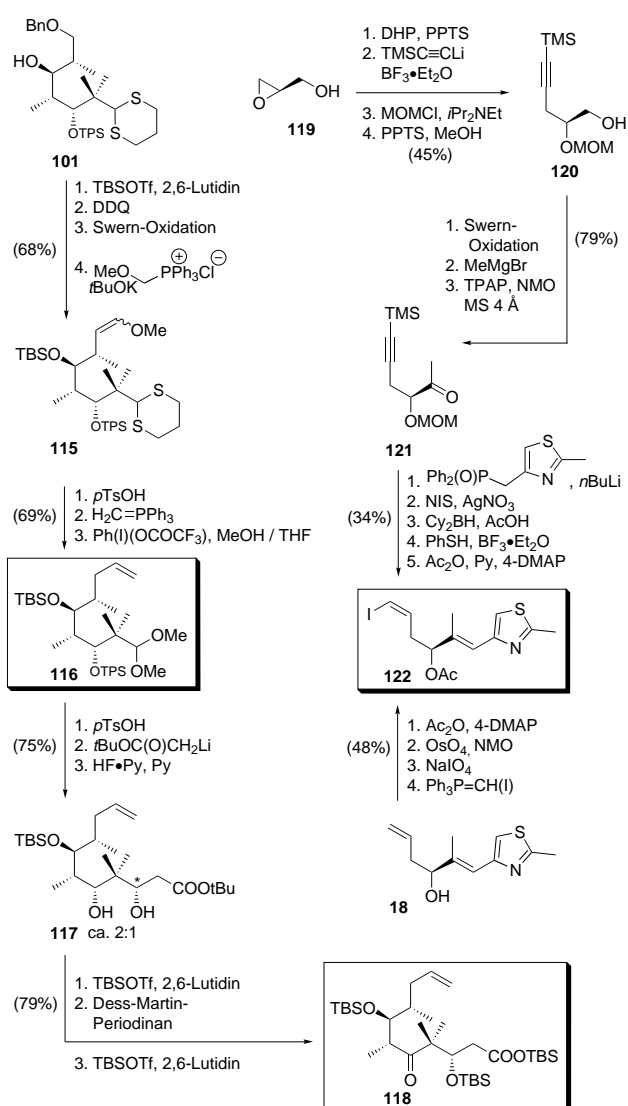


Schema 17. Danishefskys stereoselektive Synthese der C3-C12-Epothilon-Bausteine **104** und **106** (Meng et al.).^[109, 110]

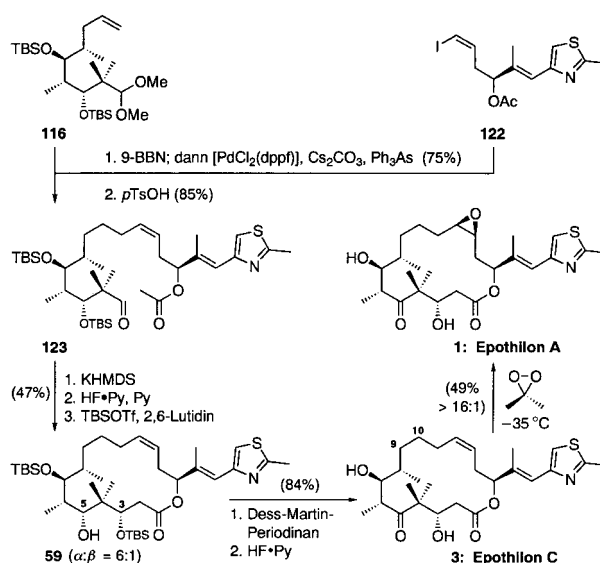


Schema 18. Danishefskys Modellstudie zur Knüpfung der C9-C10-Doppelbindung durch Olefin-Metathese (Meng et al. und Bertinato et al.)^[109, 113]

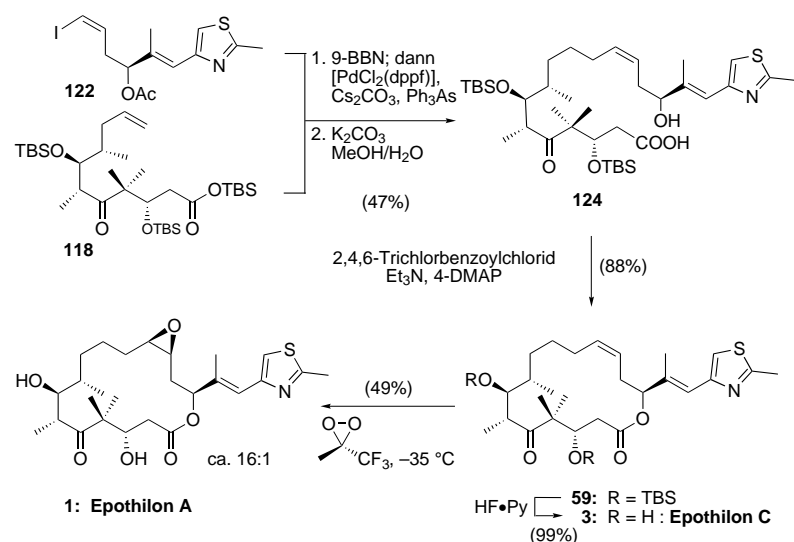
tor^[93] durchgeführt wurde, als Grundlage einer konzeptionell ganz anderen Totalsynthese der Epothilone D **4** und B **2**.^[109] In diesem Fall wurde die C12-C13-Doppelbindung allerdings als Mischung der *Z*- und *E*-Isomere im Verhältnis von ca. 1:1 gebildet.



Schema 19. Danishefskys Synthese der fortgeschrittenen Zwischenstufen **116**, **118** und **122** für den Makrocyclisierungs-Aldolreaktions- und den Makrolactonisierungs-Weg zu Epothilon A (Balog et al. und Su et al.).^[107, 108]



Schema 20. Danishefskys Totalsynthese der Epothilone A **1** und C **3** durch Makrocyclisierungs-Aldolreaktion (Su et al. und Meng et al.).^[108, 109]

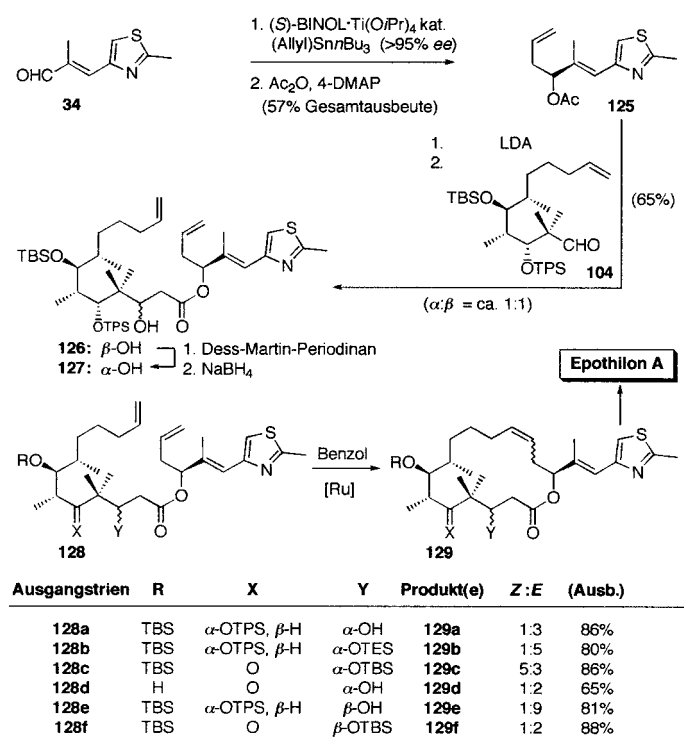


Schema 21. Danishefskys Totalsynthese der Epothilone A **1** und C **3** via Makrolactonisierung (Meng et al.).^[109]

stellten Sequenzen erhalten wurden.^[114] Die Bildung eines einzigen (6*R*,7*S*)-Diastereomers bei der Aldolkondensation des Ethylketons **137** mit dem Aldehyd **9** unter Einwirkung von LDA war sehr beeindruckend und wurde dem Einfluß der Acetonid-Einheit zugeschrieben (Schema 26).^[115] Die Einführung der Seitenkette durch Veresterung, Ringschluß durch Olefin-Metathese und Epoxidierung mit Dimethyldioxiran führten dann zu den Epothilonen C **3** und A **1**.

3.4. Weitere Zugänge zu Epothilonen

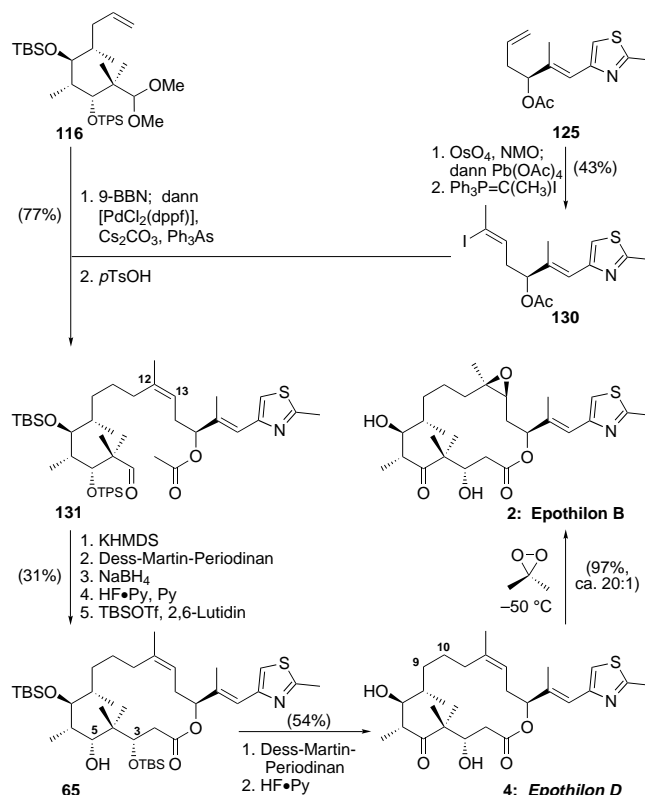
Eine Reihe anderer Arbeitsgruppen leistete in Form von Modellstudien und der Synthese von Schlüsselbausteinen wichtige Beiträge zum Epothilon-Gebiet, darunter die Teams von Mulzer,^[116, 117] Kalesse und Meyer,^[118] Wessjohann,^[119] Taylor^[120] sowie De Brabander.^[121] Mulzer et al.^[116, 117] synthetisierten durch elegante Sequenzen die C1-C9- und C11-C21-Epothilon-Bausteine **154** und **161**, wie in Schema 27 bzw. 28 gezeigt ist. Der Beitrag von Kalesse und Meyer et al.,^[118] der die enantioselektive Synthese des Bausteins **166** beschrieb, ist in Schema 29 dargestellt. Auf der Grundlage ihrer kürzlich entwickelten Chrom(II)-vermittelten



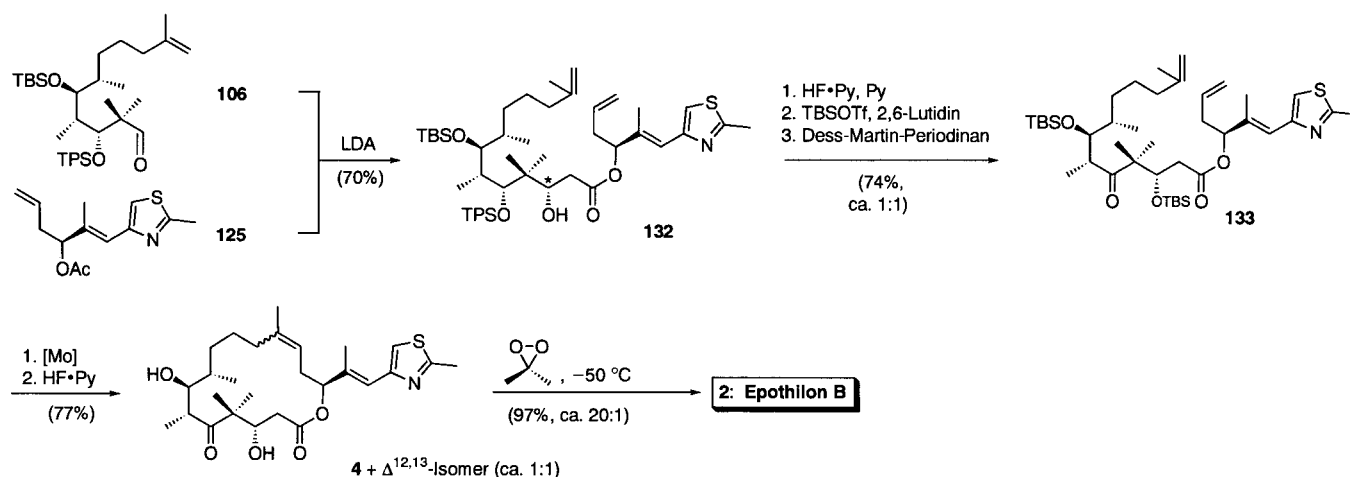
Schema 22. Danishefskys Olefin-Metathese-Studien zur Totalsynthese der Epothilone A und C. [Ru] = [RuCl₂(=CHPh)(PCy₃)₂] (Meng et al.).^[109, 110]

3.3. Die Schinzer-Strategie für die Synthese der Epothilone A und C

Die damals in Braunschweig nicht fern von der GBF (wo die Epothilone zuerst entdeckt wurden) tätige Arbeitsgruppe um Schinzer entwickelte unabhängig, wie in Schema 25 und 26 gezeigt ist, einen Olefin-Metathese-Zugang zu den Epothilonen A **1** und C **3**.^[114, 115] Für ihre Synthese waren die Schlüsselbausteine **137**, **141** und **146** erforderlich, die durch asymmetrische Synthesen gemäß der in Schema 25 darge-

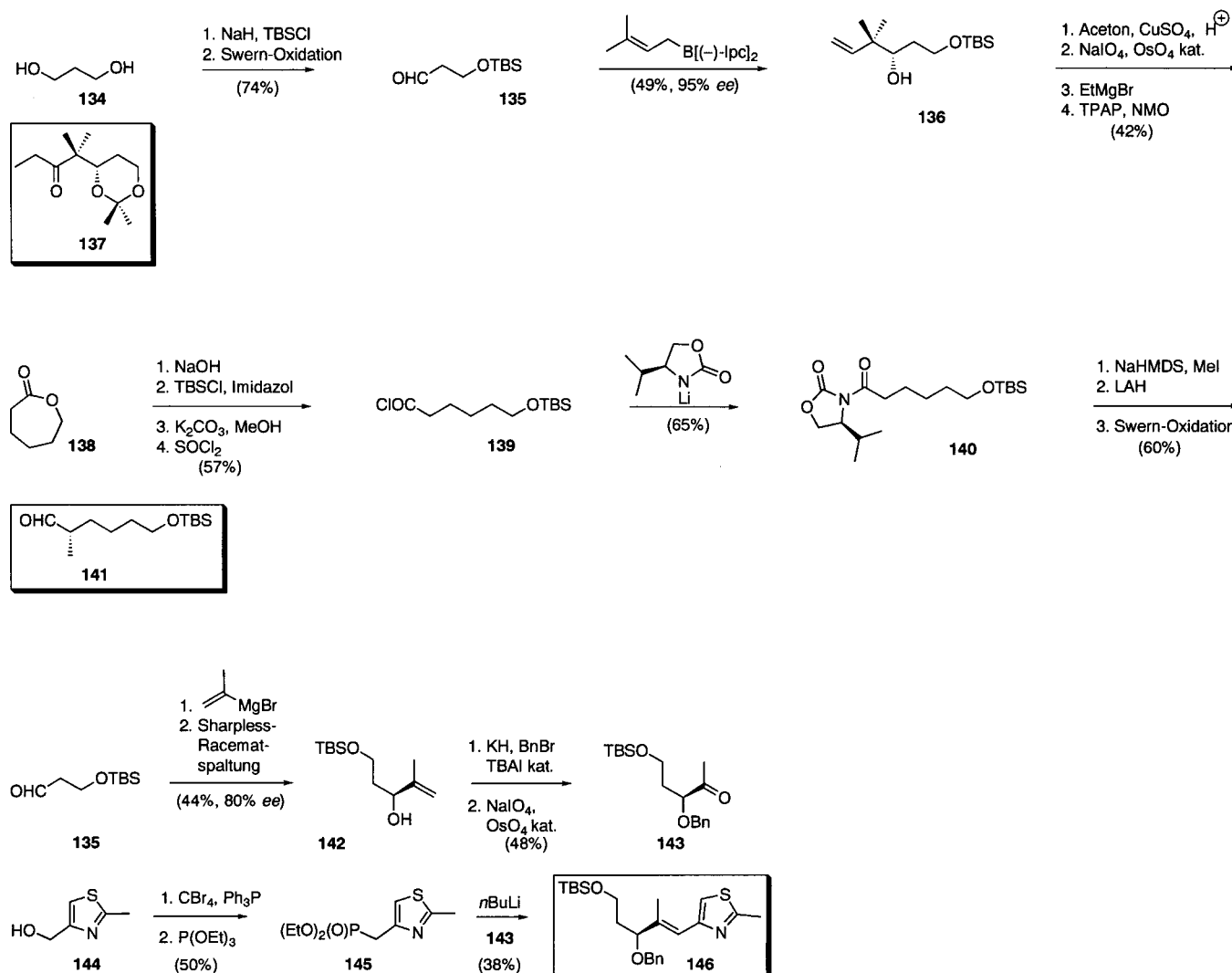


Schema 23. Danishefskys Totalsynthese der Epothilone B **2** und D **4** via Aldolreaktion (Su et al. und Meng et al.).^[108, 109]

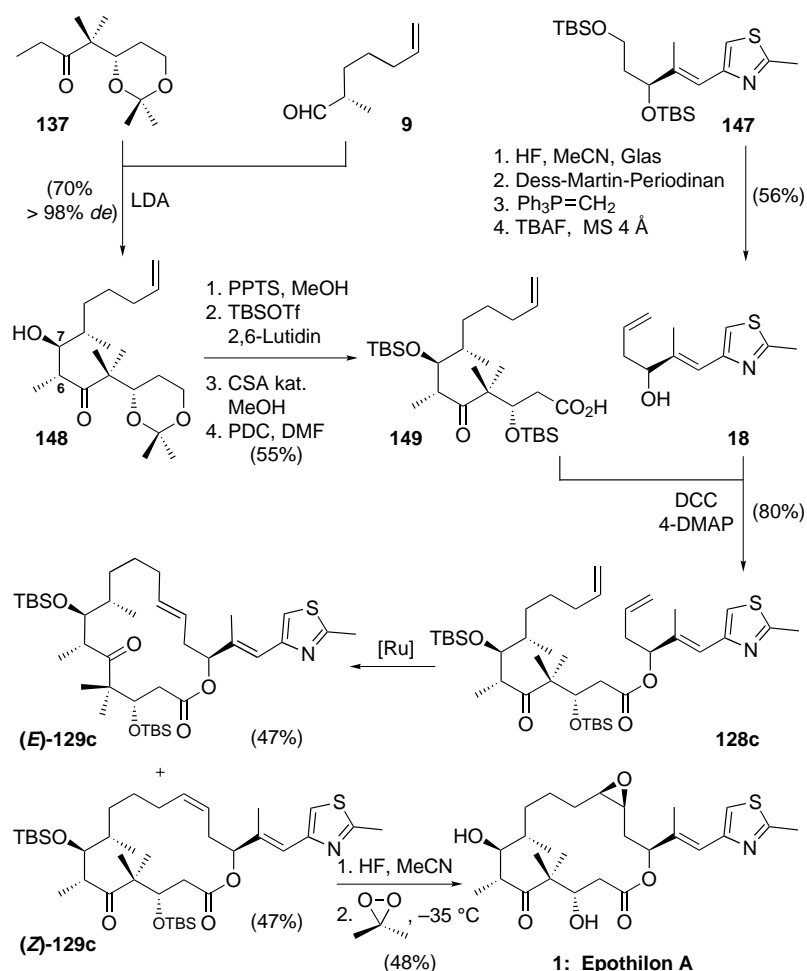


Schema 24. Danishefskys Totalsynthese der Epothilone B **2** und D **4** via Ringschluß-Olefin-Metathese.

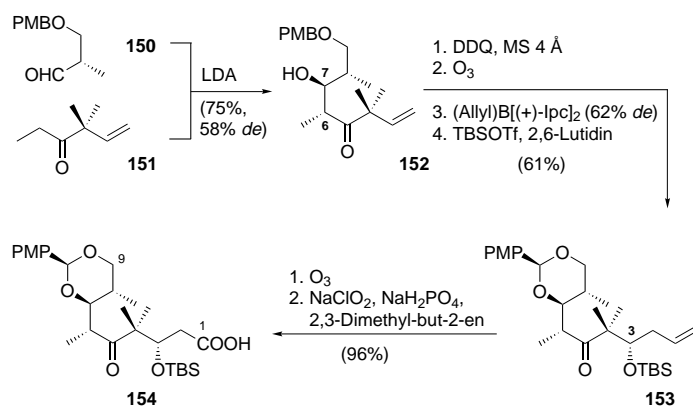
[Mo] = [Mo(=CHMe₂Ph)[N(2,6-(*i*Pr)₂C₆H₃)](OCMe(CF₃)₂)₂] (Meng et al.).^[109]



Schema 25. Schinzers enantioselective Synthese der Zwischenstufen **137**, **141** und **146** für die Totalsynthese von Epothilone A **1** (Schinzer et al.).^[114]



Schema 26. Schinzers Totalsynthese der Epothilone **1** und **3** via Olefin-Metathese. $[\text{Ru}] = [\text{RuCl}_2(\text{=CHPh})(\text{PCy}_3)_2]$ (Schinzer et al.).^[115]



Schema 27. Mulzers Synthese des C1-C9-Epothilone-Bausteins **154** (Mulzer et al.).^[116]

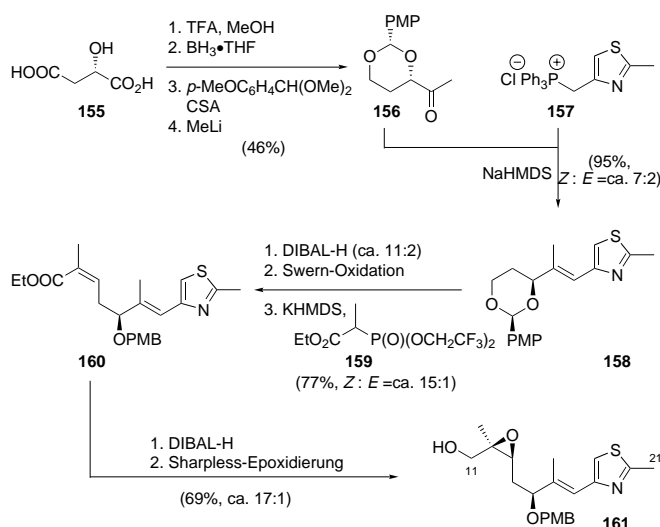
Reformatsky-Reaktion entwickelten Wessjohann et al.^[119] Routen zu den beiden unterschiedlichen C1-C5-Epothilone-Bausteinen **170** und **172** (Schema 30). Die Arbeit von Taylore et al.^[120] umfaßte den enantioselektiven Aufbau des Thiazol-enthaltenden Intermediats **35** und eine Olefin-Metathese-Modellstudie (Schema 31). Enantioselektive Wege zu

den Schlüsselbausteinen **9** (C7-C11) und **31** (C1-C6) wurden, wie in Schema 32 dargestellt, von De Brabander et al.^[121] entwickelt.

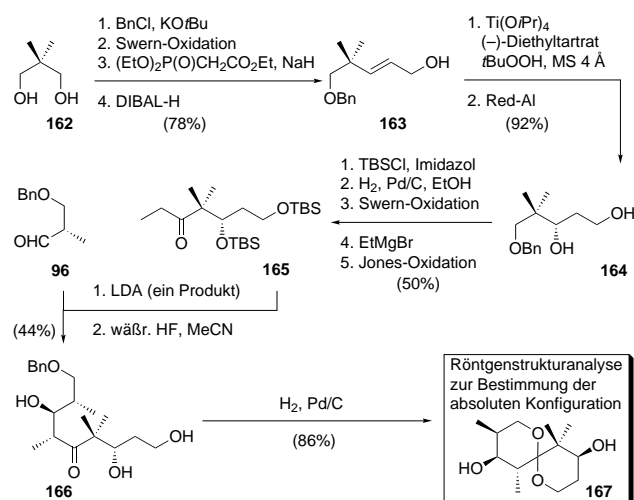
4. Synthese und biologische Eigenschaften gezielt entworfener Epothilone

Die erfolgreichen Totalsynthesen der natürlichen Epothilone ebneten den Weg für die Synthese einer großen Zahl gezielt entworfener, nichtnatürlicher Epothilone für biologische Studien. Damit begann ein neuer Wettstreit der gezielten Planung, Synthese und biologischen Evaluierung von Epothilone-Bibliotheken. In den Tabellen 2–6 sind die synthetischen Epothilone-Analoga aufgeführt, die von den beiden auf diesem Gebiet führenden Arbeitsgruppen, nämlich Danishefskys und unserer, hergestellt wurden. Die Arbeitskreise von Höfle und Schinzer trugen auch zu diesem Gebiet bei, allerdings sind ihre Resultate größtenteils unveröffentlicht. Für die Diskussion der Ergebnisse ist es sinnvoll, die Epothilone-Struktur in die vier Regionen **A–D** zu unterteilen (Schema 33). Das Design der Analoga war primär auf eine Vereinfachung der Molekülstruktur ausgerichtet. Das Ziel war dabei, die Zielmoleküle leichter zugänglich zu machen und die Notwendigkeit funktioneller Gruppen und Stereozentren für die biologische Aktivität zu klären. Auch sollten neue Strukturelemente eingeführt werden. Für die Synthese dieser Analoga wurde eine Reihe neuartiger

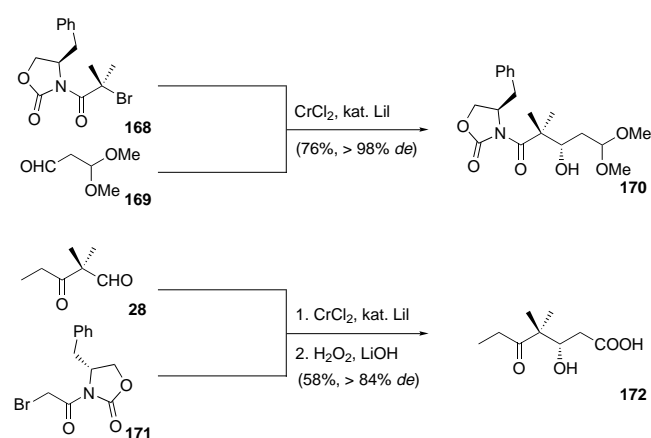
Methoden entwickelt. Die Synthese dieser Analoga wurde eine Reihe neuartiger



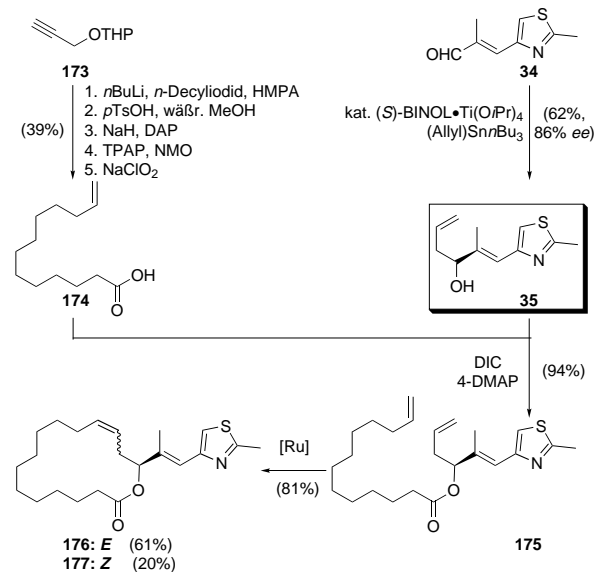
Schema 28. Mulzers Synthese des C11-C21-Epothilone-Bausteins **161** (Mulzer et al.).^[117]



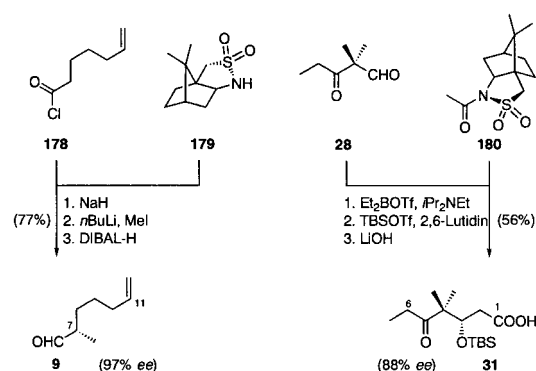
Schema 29. Die Kalesse-Meyer-Synthese des C1-C9-Epothilon-Bausteins **166** (Claus et al.).^[118]



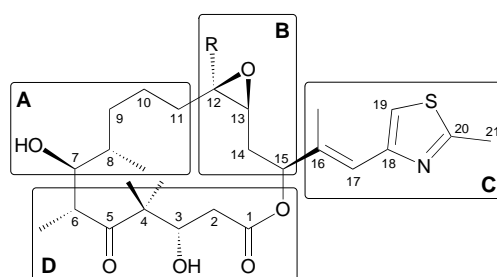
Schema 30. Wessjohanns Anwendung der Chrom-Reformatsky-Reaktion zur enantioselektiven Synthese der C1-C6-Epothilon-Bausteine **170** und **172** (Gabriel et al.).^[119]



Schema 31. Taylors enantioselektive Synthese der Thiazol-Seitenkette **35** und Modellstudien zur Olefin-Metathese. [Ru] = $[\text{RuCl}_2(=\text{CHPh})(\text{PCy}_3)_2]$ (Taylor et al.).^[120]



Schema 32. De Brabanders enantioselektive Synthese der Nicolaou-Schlüsselbausteine **9** und **31** (De Brabander et al.).^[121]



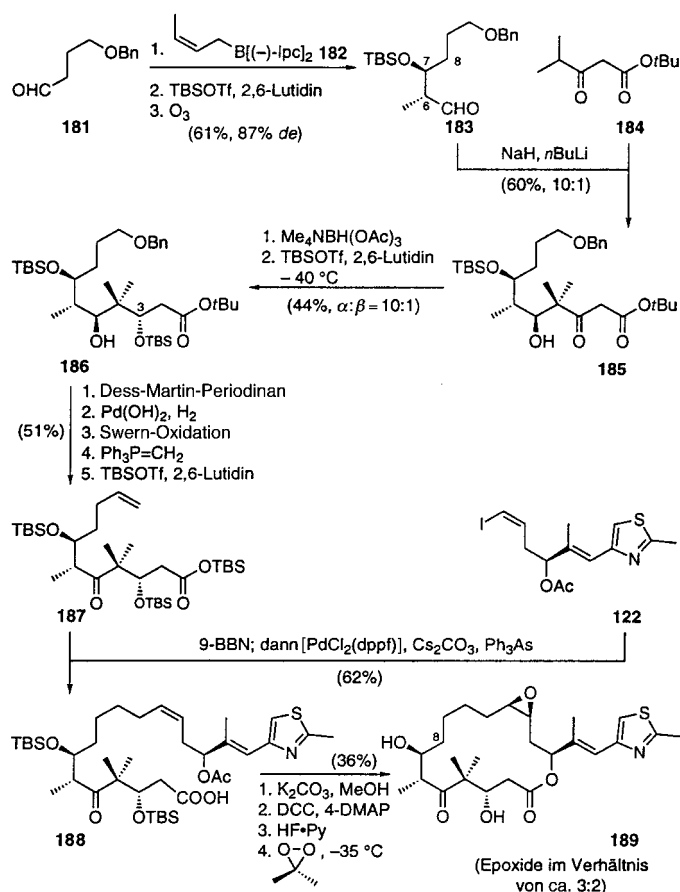
Schema 33. Die Regionen **A–D** des Epothilon-Grundgerüsts, die strukturell modifiziert wurden.

Methoden und Strategien entwickelt, die wir kurz beschreiben wollen. Die in den Tabellen 2–6 gezeigten Verbindungen wurden durch die zuvor diskutierten Methoden oder durch die in den Schemata 34–38 skizzierten Sequenzen synthetisiert.

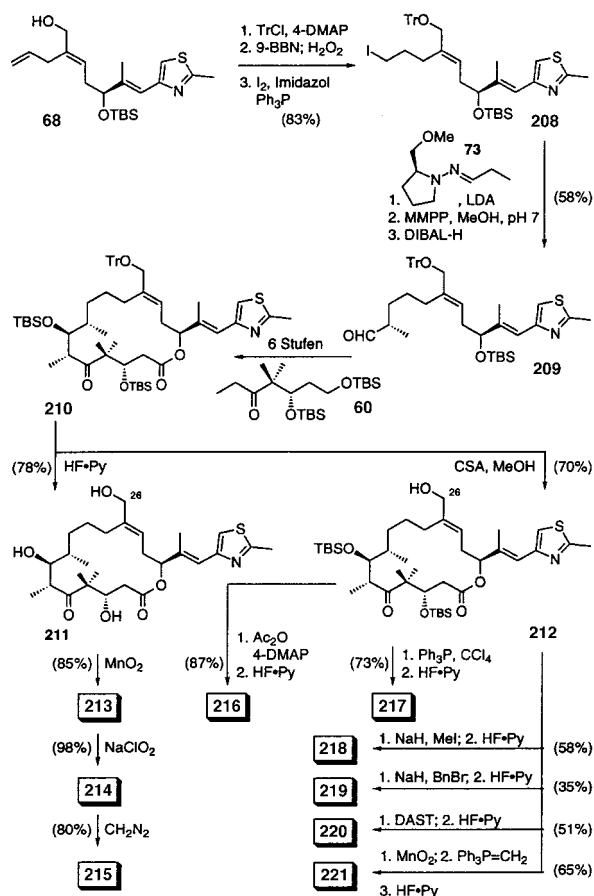
4.1. Synthese von Epothilon-Analoga in Lösung

Die Synthese von 8-Demethylepothilon **A 189** (Modifizierung in Region **A**) in Lösung wurde sowohl von Danishefsky et al. (durch Makrolactonisierung, Schema 34)^[122] als auch von Nicolaou et al. erreicht (durch Olefin-Metathese, Schema 35).^[102] Wie in Schema 35 skizziert ist, wurden die 14-, 15-, 17- und 18gliedrigen Desoxyepothilonringe (**204–207**) von der Nicolaou-Gruppe via Makrolactonisierung synthetisiert,^[123] während die Danishefsky-Arbeitsgruppe das 15gliedrige Desoxyepothilon **B 205'** beschrieb.^[30] Diese Verbindungen und die entsprechenden Epoxide sind in Tabelle 2 aufgeführt.

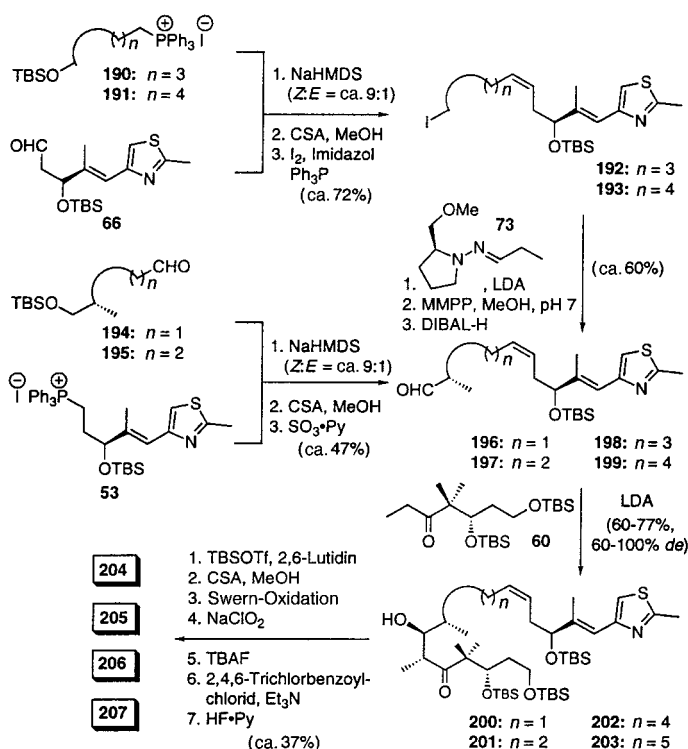
Ein stereoselektiver Zugang zu einigen in Position 26 (Region **B**) substituierten Desoxyepothilonen wurde in unserem Arbeitskreis durch die Makrolactonisierungs-Strategie erreicht, wie in Schema 36 für die Verbindungen **213–221** demonstriert.^[124] Die meisten dieser Verbindungen wurden weiter zu den entsprechenden Epoxiden umgesetzt und sind Tabelle 3 zu entnehmen. Die für Epothilon **E** entwickelte Olefin-Metathese/Stille-Kupplungs-Strategie (Schema 15 oben) wurde, wie in Schema 37 gezeigt, auf die Synthese



Schema 34. Danishefskys Synthese von 8-Demethylepothilon A **189** (Modifizierung in Region **A**; siehe Tabelle 2; Balog et al.).^[122]



Schema 36. Synthese in Position 26 derivatisierter Epothilone (Modifizierungen in Region **B**; siehe Tabelle 3; Nicolaou et al.).^[124]



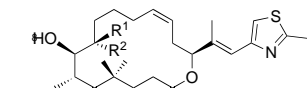
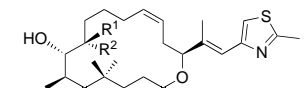
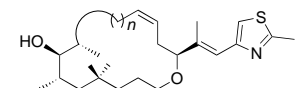
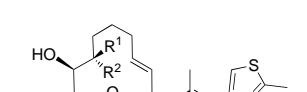
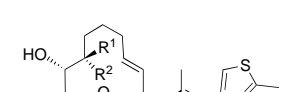
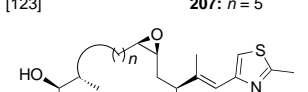
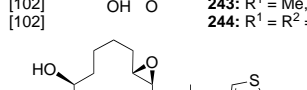
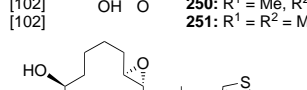
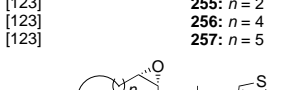
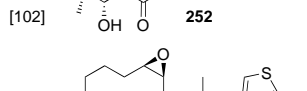
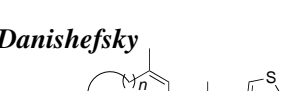
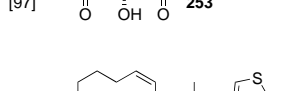
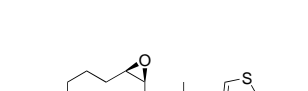
Schema 35. Synthese von 14-, 15-, 17- und 18gliedrigen Epothilon-A-Analoga via Makrolactonisierung (Modifizierung in Region A; siehe Tabelle 2; Nicolaou et al.).^[123]

einer Reihe Seitenketten-modifizierter (Region C) Epothilon-Analoga angewendet.^[106] Die Stille-Kupplung in einem späten Stadium der Synthese ermöglichte einen konvergenten und schnellen Zugang zu einigen interessanten Verbindungen dieser Klasse, die in Tabelle 4 zusammengefaßt sind.

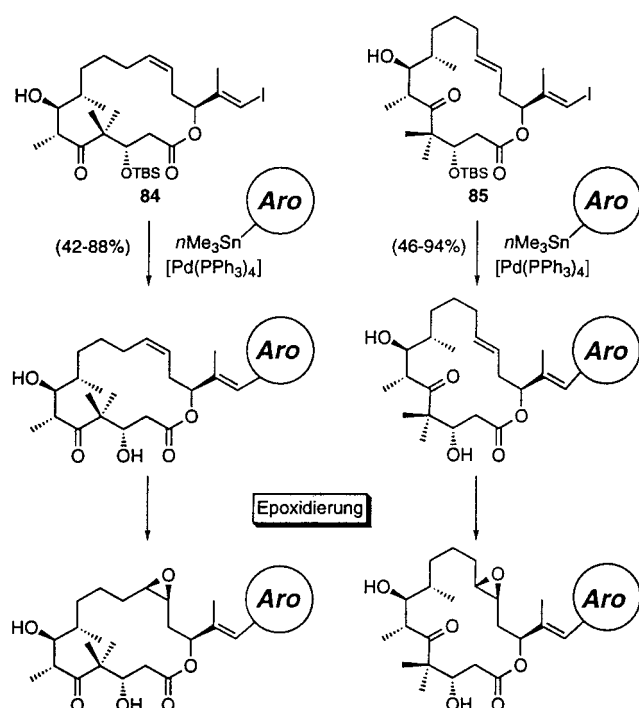
4.2. Kombinatorische Festphasensynthese von Epothilon-Bibliotheken

Unsere Arbeitsgruppe setzte die „REC-Split-und-Pool“-Strategie in fester Phase zur kombinatorischen Synthese einer Epothilon-Bibliothek unter Verwendung von MicroKans und MicroTubes ein (Abb. 9; REC=radiofrequency encoded combinatorial chemistry^{[103], [102]}). Auf diesem Weg konnten schnell etliche in den Regionen **A–D** modifizierte Epothilon-Analoga (Schema 38) erhalten werden. Darüber hinaus demonstrierte diese Methode ein neues Konzept der Naturstoffsynthese und des Aufbaus von Bibliotheken. Besonders interessant war dabei die Möglichkeit, die Olefin-Metathese zur gleichzeitigen Bildung des Makrocyclus und Abspaltung vom Harz anzuwenden (Desoxyepothilone **I–IV**). Die so hergestellten Desoxyepothilone wurden chromatographisch

Tabelle 2. Strukturen und Tubulin-Polymerisations-Aktivitäten von Epothilon-Analoga, die in der Region **A** modifiziert sind.

Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]		
Nicolaou								
	239: R ¹ = R ² = H	23		246: R ¹ = R ² = H	23		204: n = 1	6
[102]	240: R ¹ = Me, R ² = H	11	[102]	247: R ¹ = Me, R ² = H	8	[123]	205: n = 2	9
[102]	241: R ¹ = R ² = Me	2	[102]	248: R ¹ = R ² = Me	5	[123]	206: n = 4	12
						[123]	207: n = 5	41
	242: R ¹ = R ² = H	24		249: R ¹ = R ² = H	21		254: n = 1	4
[102]	243: R ¹ = Me, R ² = H	11	[102]	250: R ¹ = Me, R ² = H	11	[123]	255: n = 2	5
[102]	244: R ¹ = R ² = Me	3	[102]	251: R ¹ = R ² = Me	4	[123]	256: n = 4	7
						[123]	257: n = 5	21
	245	21		252	27		258: n = 2	3
[102]			[102]			[123]	259: n = 4	5
						[123]	260: n = 5	29
	253	25						
[97]								
Danishefsky								
	205: n = 2	–		239	–		189	–
[30]			[122]			[30]		

[a] Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Filtrations-Kolorimetrie-Assays nach Bollag et al.^[15] und Nicolaou et al. bestimmt.^[102]



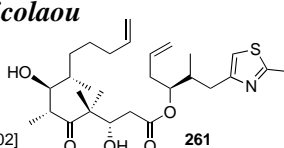
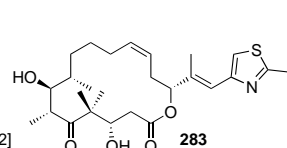
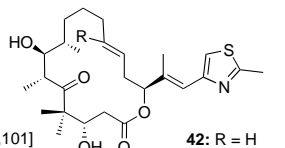
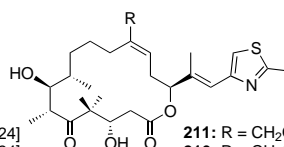
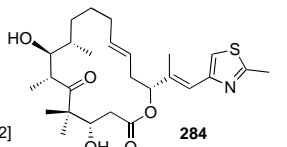
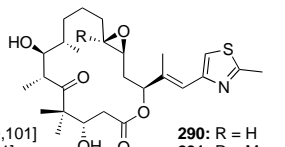
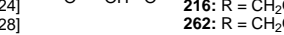
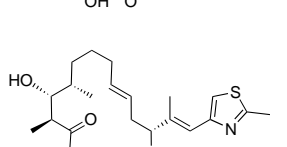
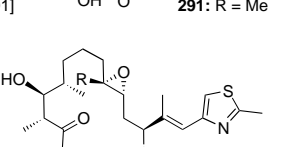

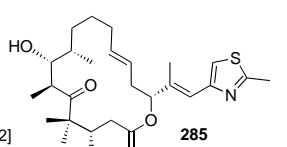
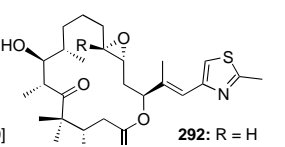

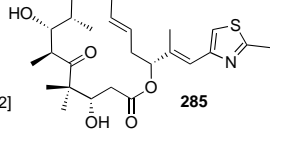
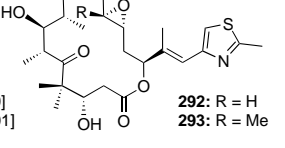

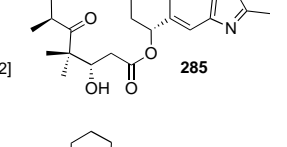
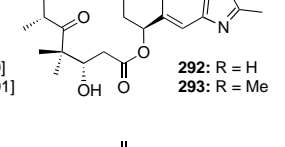

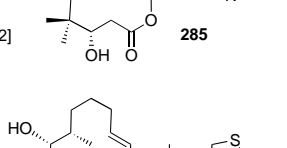
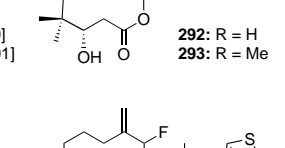



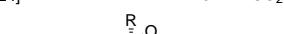

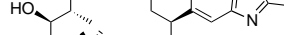
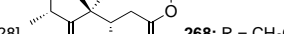
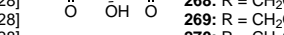


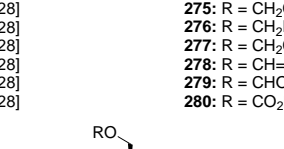
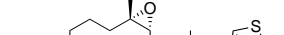
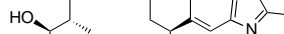
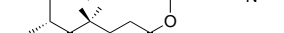
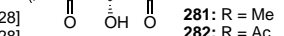
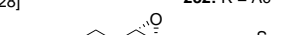
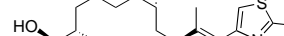

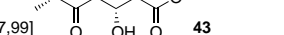
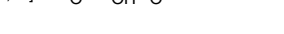


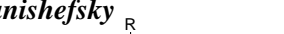
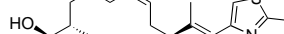
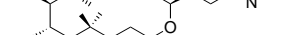
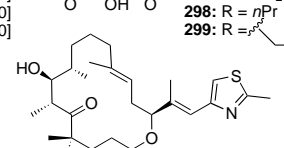
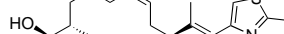
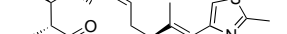
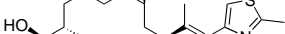
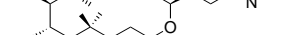
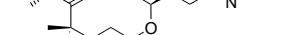

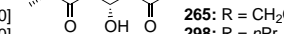
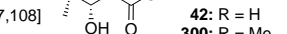
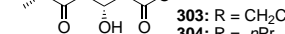
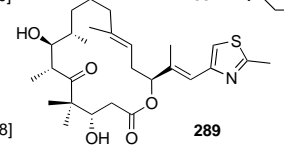
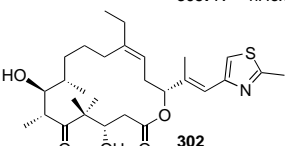
Schema 37. Synthese von Seitenketten-modifizierten Epothilonen via Stille-Kupplung (Modifizierungen in Region **C**; siehe Tabelle 4; Nicolaou et al.).^[106] Aro = Arylrest.

getrennt und epoxidiert, wodurch insgesamt acht Epothilone (zwei diastereomere *syn*-Aldoladditionsprodukte mal zwei Olefindiastereomere (*Z* und *E*) mal zwei diastereomere Epoxide) mit jedem Mikroreaktor in Milligramm-Mengen erhalten wurden.

4.3. Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei den Epothilonen

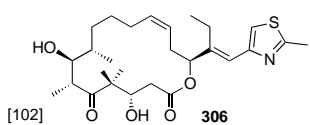
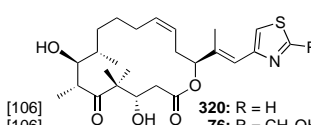
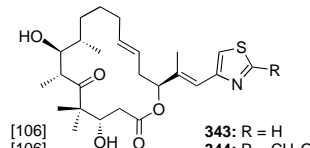
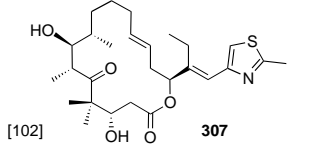
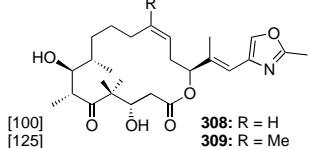
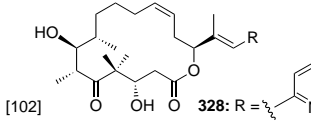
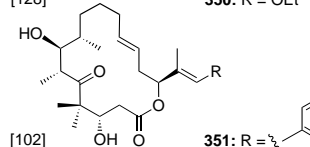
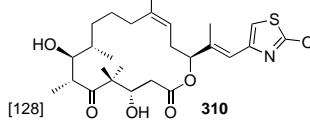
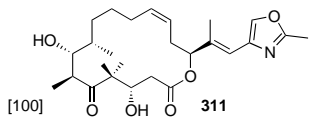
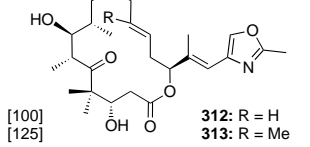
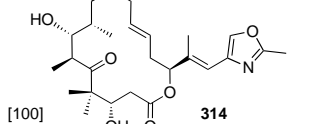
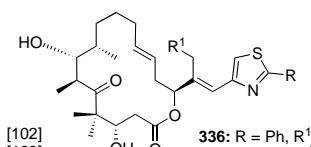
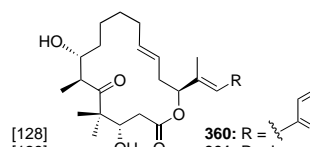
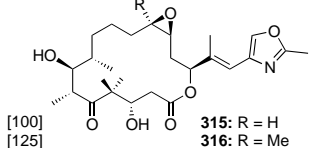
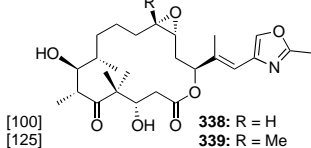
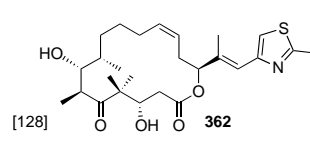
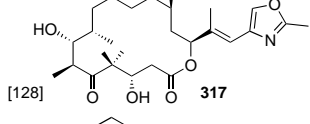
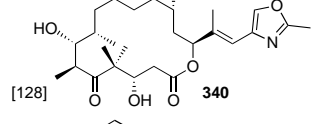
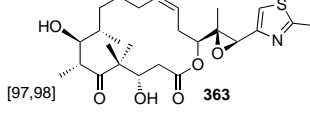
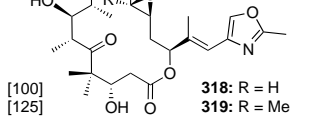
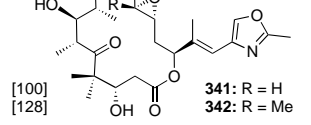
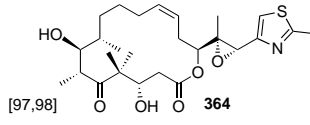
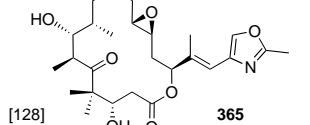
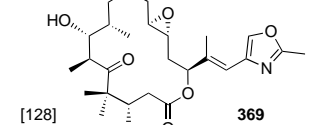
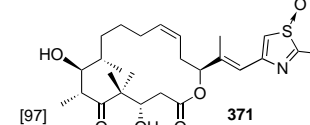
Wie in den vorigen Abschnitten beschrieben, ermöglicht die chemische Synthese die Herstellung einer großen Zahl gezielt entworfener Epothilone. Ausgewählte Bibliotheken dieser Verbindungen sind in den Tabellen 2–6 wiedergegeben, die auch die Angaben zur Tubulin-Polymerisation enthalten. In den Tabellen 7 und 8 in diesem Abschnitt sind die Ergebnisse der Untersuchungen zur Cytotoxizität einer Reihe hochaktiver Verbindungen aufgeführt, die durch Screening dieser Bibliotheken identifiziert wurden. In Abbildung 10 (Seite 2148) ist zusammengefasst, wie sich bestimmte Strukturmerkmale in den Regionen **A–D** (siehe Schema 33) auf die biologische Aktivität der Epothilone auswirken. Mit einem beträchtlichen Verlust an biologischer Wirkung gehen Modifizierungen in der Region **A** (C8–C11) einher, z.B. Änderungen der Ringgröße (mit Ausnahme des 18gliedrigen

Tabelle 3. Strukturen und Tubulin-Polymerisations-Aktivitäten von Epothilon-Analoga, die in der Region **B** modifiziert sind.

Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]					
Nicolaou											
	[102]	261	18		[102]	283	10		[97,99,101] [99,101]	42: R = H 289: R = Me	76 72
	[124]	211: R = CH ₂ OH	52		[102]	284	10		[97,99,101] [99,101]	290: R = H 291: R = Me	92 84
	[124]	216: R = CH ₂ OAc	66		[102]	285	15		[97,99] [99,101]	292: R = H 293: R = Me	17 63
	[128]	262: R = CH ₂ OC(O) <i>t</i> Bu	43		[97]	286	13		[128]	294	29
	[128]	263: R = CH ₂ OC(O)Ph	69		[97]	287	19		[128]	295	31
	[124]	218: R = CH ₂ OMe	47		[97]	288	16		[102]	296	12
	[124]	219: R = CH ₂ OBn	62		[97]	289	20		[97]	297	20
	[124]	220: R = CH ₂ F	83								
	[124]	217: R = CH ₂ Cl	88								
	[128]	264: R = CH ₂ I	11								
	[128]	265: R = CH ₂ CH ₃	66								
	[128]	266: R = CH ₂ NHAc	10								
	[128]	221: R = CH=CH ₂	95								
	[128]	267: R = C≡CH	81								
	[124]	213: R = CHO	64								
	[124]	214: R = CO ₂ H	12								
	[124]	215: R = CO ₂ Me	12								
	[128]	268: R = CH ₂ OH	29								
	[128]	269: R = CH ₂ OAc	51								
	[128]	270: R = CH ₂ OC(O) <i>t</i> Bu	6								
	[128]	271: R = CH ₂ OC(O)Ph	5								
	[128]	272: R = CH ₂ OMe	6								
	[128]	273: R = CH ₂ OBn	12								
	[128]	274: R = CH ₂ F	93								
	[128]	275: R = CH ₂ Cl	69								
	[128]	276: R = CH ₂ I	41								
	[128]	277: R = CH ₂ CH ₃	79								
	[128]	278: R = CH=CH ₂	94								
	[128]	279: R = CHO	87								
	[128]	280: R = CO ₂ Me	19								
	[128]	281: R = Me	2								
	[128]	282: R = Ac	25								
	[97,99]	43	17								
Danishefsky											
	[30]	265: R = CH ₂ CH ₃	—		[107,108]	42: R = H	—		[30]	303: R = CH ₂ CH ₃	—
	[30]	298: R = <i>n</i> Pr	—		[30]	300: R = Me	—		[30]	304: R = <i>n</i> Pr	—
	[30]	299: R = <i>n</i> Hex	—		[30]	301: R = <i>n</i> Pr	—		[30]	305: R = <i>n</i> Hex	—
	[108]	289	—		[30]	302	—				

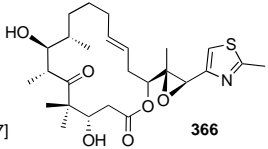
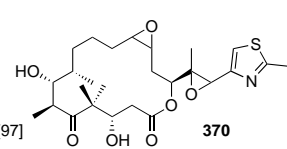
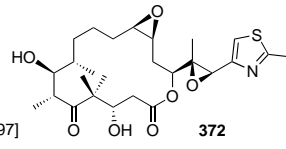
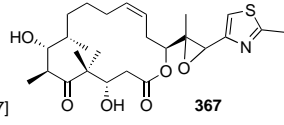
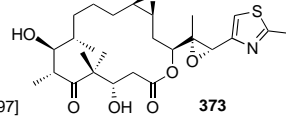
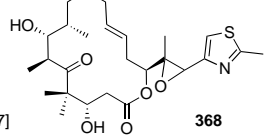
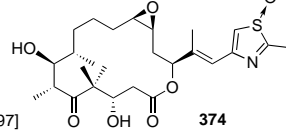
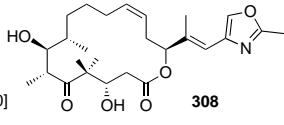
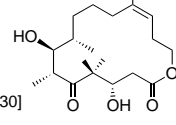
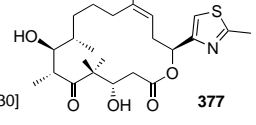
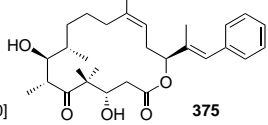
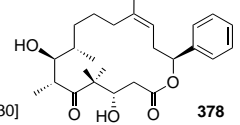
[a] Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Filtrations-Kolorimetrie-Assays nach Bollag et al.^[15] und Nicolaou et al. bestimmt.^[102]

Tabelle 4. Strukturen und Tubulin-Polymerisations-Aktivitäten von Epothilon-Analoga, die in der Region C modifiziert sind.

Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]		Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]		Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]	
Nicolaou					
	[102] 306 34		[106] 320: R = H 31		[106] 343: R = H 41
			[106] 76: R = CH ₂ OH 34		[106] 344: R = CH ₂ OH 40
			[128] 321: R = CH ₂ OAc 2		[128] 345: R = CH ₂ OAc 1
	[102] 307 48		[128] 322: R = CH ₂ F 57		[106] 346: R = (CH ₂) ₅ OAc 2
			[106] 323: R = (CH ₂) ₅ OAc 3		[106] 347: R = Piperidyl 5
			[106] 324: R = Piperidyl 18		[106] 348: R = SMe 71
			[106] 325: R = SMe 92		[102] 349: R = Ph 16
			[102] 326: R = Ph 25		[128] 350: R = OEt 2
			[128] 327: R = OEt 3		
	[100] 308: R = H 75		[102] 328: R = 4-pyridylmethyl 51		[102] 351: R = 4-pyridylmethyl 61
[125] 309: R = Me 93			[106] 329: R = 3-pyridylmethyl 13		[106] 352: R = 3-pyridylmethyl 2
	[128] 310 62		[106] 330: R = 4-phenylmethyl 16		[106] 353: R = 4-phenylmethyl 26
			[106] 331: R = 4-thiazolylmethyl 34		[106] 354: R = 4-thiazolylmethyl 2
	[100] 311 18		[106] 332: R = 4-thiazolylmethyl 63		[106] 355: R = 4-thiazolylmethyl 57
			[106] 333: R = 4-furylmethyl 4		[106] 356: R = 4-furylmethyl 1
	[100] 312: R = H 43		[106] 334: R = 4-thienylmethyl 6		[106] 357: R = 4-thienylmethyl 2
[125] 313: R = Me 54			[128] 335: R = 4-acetylmethyl 1		[128] 358: R = 4-acetylmethyl 1
			[106] 77: R = I 26		[106] 359: R = I 2
	[100] 314 20		[102] 336: R = Ph, R ¹ = H 12		[128] 360: R = 4-pyridylmethyl 8
			[128] 337: R = Me, R ¹ = Me 39		[128] 361: R = I 21
	[100] 315: R = H 58		[100] 338: R = H 24		[128] 362 8
[125] 316: R = Me 93			[125] 339: R = Me 71		
	[128] 317 21		[128] 340 14		[97,98] 363 20
	[100] 318: R = H 64		[100] 341: R = H 46		[97,98] 364 9
[125] 319: R = Me 95			[128] 342: R = Me 71		
	[128] 365 6		[128] 369 8		[97] 371 22

[a] Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Filtrations-Kolorimetrie-Assays nach Bollag et al.^[15] und Nicolaou et al. bestimmt.^[102]

Fortsetzung von Tabelle 4.

Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]					
	[97]	366	12		[97]	370	7		[97]	372	16
	[97]	367	23						[97]	373	14
	[97]	368	22						[97]	374	26
Danishefsky											
	[30]	308	–		[30]	376	–		[30]	377	–
	[30]	375	–						[30]	378	–

[a] Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Filtrations-Kolorimetrie-Assays nach Bollag et al.^[15] und Nicolaou et al. bestimmt.^[102]

Makrocyclus **207**, der signifikante Tubulin-Polymerisationsaktivität aufweist), Änderung der Konfiguration an C8 sowie Hinzufügen oder Entfernen einer Methylgruppe an C8, wie auch aus Tabelle 2 ersichtlich ist.

Im Unterschied dazu wirken sich Änderungen in der Region **B** (C12–C15) kaum aus (siehe Tabelle 3). Hinsicht-

lich der C12-C13-Funktionalität war folgendes von besonderem Interesse:

- Sowohl das Olefin als auch das Epoxid waren aktiv.
- Beide Epoxid-Stereoisomere waren sehr aktiv.
- Änderungen der Olefin-Geometrie hatten einen geringen Einfluß auf die Aktivität der Desoxyepothilone oder der entsprechenden Epoxide.

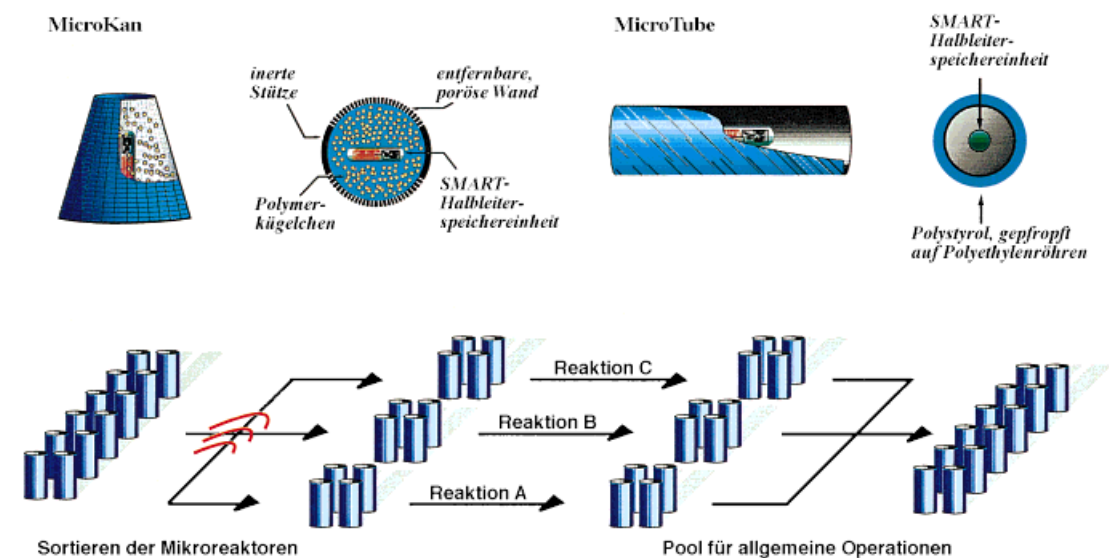
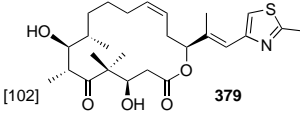
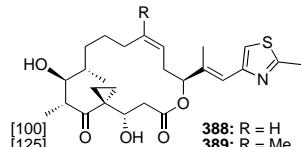
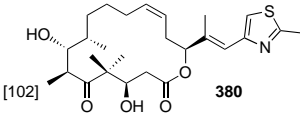
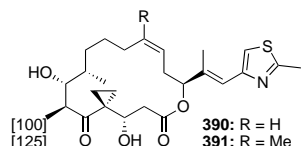
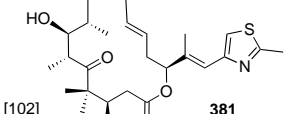
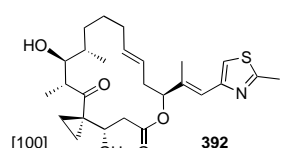
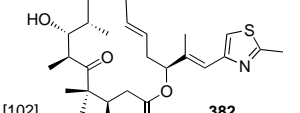
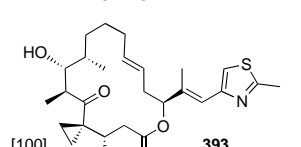
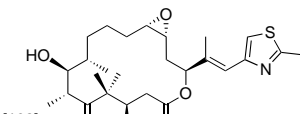
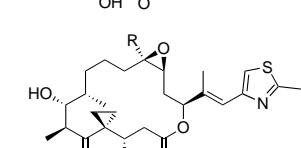
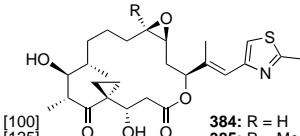
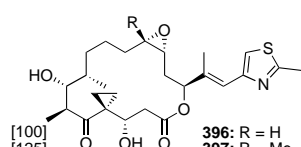
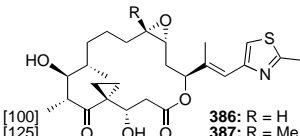
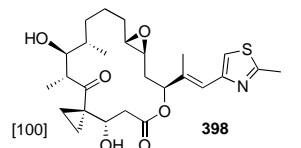
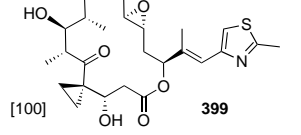
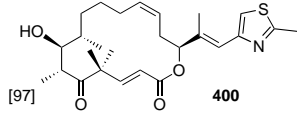
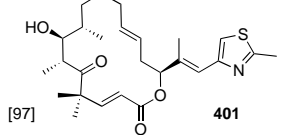
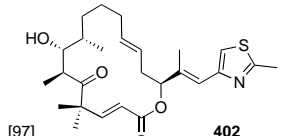
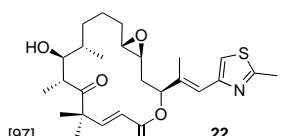
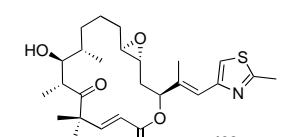
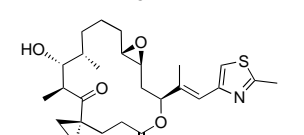
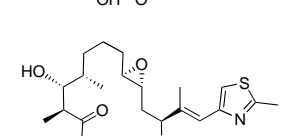
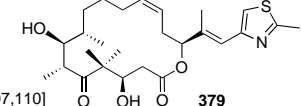


Abb. 9. Oben: SMART-Mikroreaktoren. Unten: allgemeine Strategie der Radiofrequenz-verschlüsselten kombinatorischen „Split-und-Pool“-Synthese von Epothilonen (Nicolaou et al.).^[102, 103]

Tabelle 5. Strukturen und Tubulin-Polymerisations-Aktivitäten von Epothilon-Analoga, die in der Region **D** modifiziert sind.

Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]		Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]		Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]	
Nicolaou					
	[102] 379	16		388: R = H 389: R = Me	17 22
	[102] 380	23		390: R = H 391: R = Me	13 5
	[102] 381	21		392	25
	[102] 382	24		393	18
	[102] 383	25		394: R = H 395: R = Me	10 27
	[100] [125] 384: R = H 385: R = Me	20 19		396: R = H 397: R = Me	9 18
	[100] [125] 386: R = H 387: R = Me	6 18		398	31
				399	18
				400	34
				401	58
				402	20
				403	46
				404	28
				405	3
				406	1
Danishefsky					
				379	[107,110]

[a] Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Filtrations-Kolorimetrie-Assays nach Bollag et al.^[15] und Nicolaou et al. bestimmt.^[102]

Tabelle 6. Strukturen und Tubulin-Polymerisations-Aktivitäten von Epothilon-Analoga, die in mehreren Regionen modifiziert sind.

Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]			Lit., Struktur, Tubulin-Polymerisation [%] ^[a]		
Nicolaou								
	406: R ¹ = Me, R ² = H	5		420	3		430: R = OMe	20
	407: R ¹ = R ² = Me	4					431: R = OBn	8
	408: R ¹ = Me, R ² = H	1		421: R ¹ = Me, R ² = H	5		432	4
	409: R ¹ = R ² = Me	5		422: R ¹ = R ² = Me	1			
	410: R ¹ = Me, R ² = H	9		423: R ¹ = Me, R ² = H	3		13	17
	411: R ¹ = R ² = Me	5		424: R ¹ = R ² = Me	4			
	412: R ¹ = Me, R ² = H	5		425: R ¹ = Me, R ² = H	7		433	1
	413: R ¹ = R ² = Me	4		426: R ¹ = R ² = Me	5			
	414: R = CH ₂ F	11		427	18		434	1
	415: R = OMe	25						
	416: R = OH	9		428	17		435	13
	417: R = F	91						
	418: R = CH ₂ OH	16		429	7		436	17
	419: R = CHO	5						

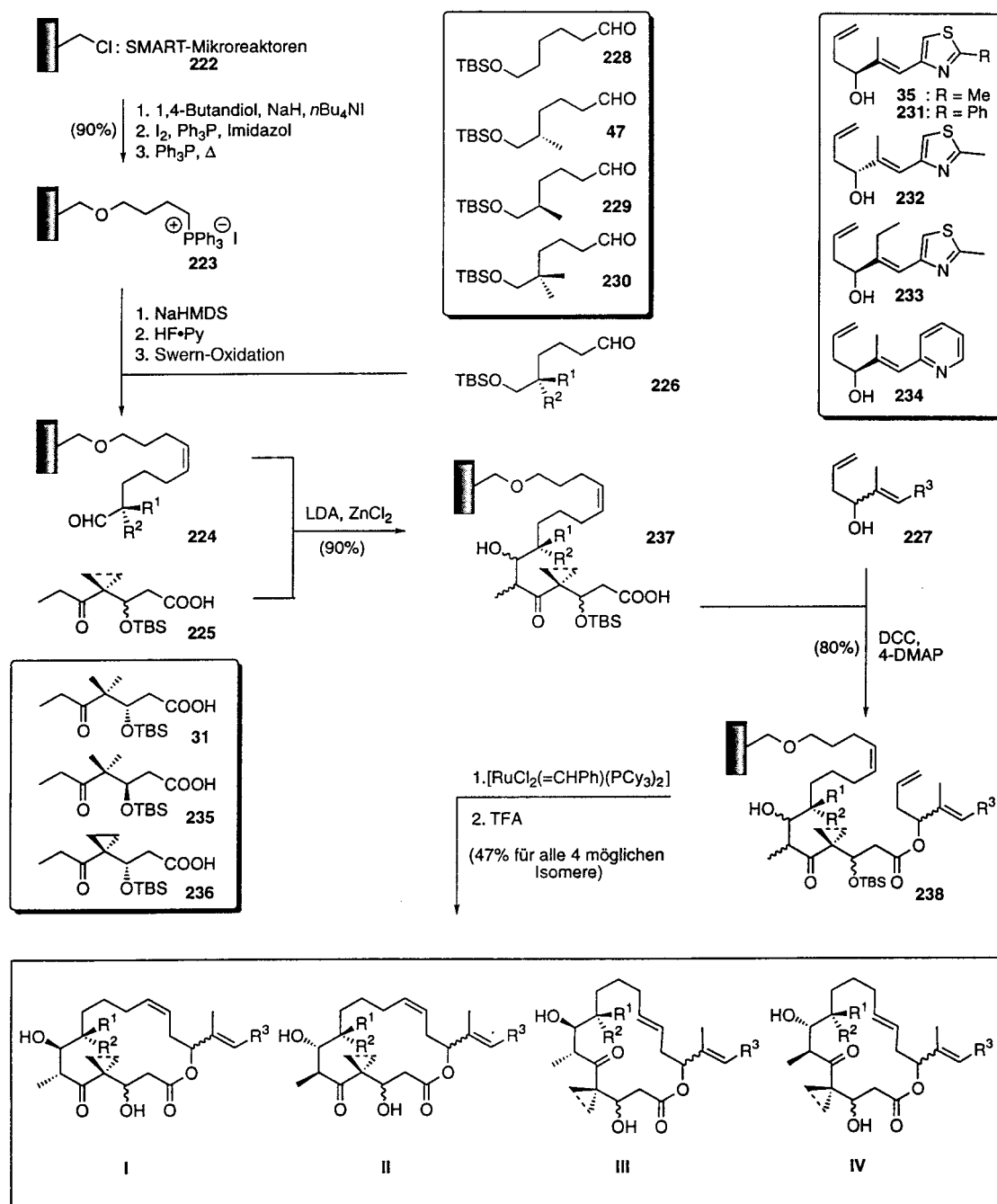
[a] Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Filtrations-Kolorimetrie-Assays nach Bollag et al.^[15] und Nicolaou et al. bestimmt.^[102]

Da Epothilon B aktiver als Epothilon A ist, wurde die Rolle des Substituenten an C12 ausgiebig untersucht. Der Großteil der synthetisierten C12-Analoga war sehr aktiv; einige konkurrierten sogar mit Epothilon B. Dies veranschaulicht das Potential solcher strukturellen Modifizierungen bei der Wirkstoffsuche. Die Umkehrung der Konfiguration an C15 führte schließlich zu einem deutlichen Verlust der Tubulin-Polymerisations-Aktivität.

In der Region C modifizierte Verbindungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Hier werden Strukturveränderungen nicht in dem Maße toleriert wie in der Region B. Insbesondere führt das Fehlen oder aber eine direkte Anknüpfung der aromatischen Einheit an C15 sowie der Ersatz

der C20-Methylgruppe durch sterisch anspruchsvollere Alkyl- oder Arylsubstituenten zu geringerer Tubulin-Bindung und Cytotoxizität. Ein Wasserstoffatom oder ein Methylsulfanyl-Substituent an C19 wurden hingegen toleriert. Des weiteren erwies sich der Ersatz der C16-Methyl- durch eine Ethyl-Gruppe und des Thiazols durch strukturell sehr verschiedene aromatische Einheiten generell als ungünstig für die biologische Aktivität. Bemerkenswerte Ausnahmen sind die entsprechenden Oxazole^[100, 125] und die 2-Pyridyl-^[102] und 2-Thiazolyl-substituierten^[106] Verbindungen, die ähnlich aktiv wie die natürlichen Epothilone waren.

Modifizierungen in der Region D führten zu interessanten Ergebnissen, die Tabelle 5 zu entnehmen sind. Beispielsweise



Schema 38. Aufbau von Epothilon-Bibliotheken durch „Split-und-Pool“-REC (Modifizierungen in den Regionen A–D, siehe Tabelle 2–6; Nicolaou et al.).^[102]

resultierten die Umkehrung der Konfiguration an C3 und die Substitution der C4-*gem*-Dimethylgruppe durch eine 4,4-Ethano-Einheit in deutlich verringerter Aktivität. Ein ähnlicher Aktivitätsverlust trat auf, wenn die Oxogruppe an C5 reduziert wurde oder die Substituenten an C5, C6 und C7 entfernt wurden. Interessanterweise behielt das Epothilon-Analogon, bei dem zwischen C2 und C3 eine (*E*)-Doppelbindung eingeführt wurde, beträchtliche Aktivität bei. Tabelle 6 zeigt eine Reihe von Verbindungen, in denen Modifizierungen in mehr als einer Region der Epothilon-Struktur vorgenommen wurden. Bislang lieferten solche mehrfachen Modi-

fizierungen keinerlei Durchbrüche hinsichtlich der Entdeckung biologisch hochaktiver Verbindungen.

Die in den Tabellen 7 und 8 aufgeführten Daten zur Cytotoxizität einer Reihe wirksamer Epothilon-Analoga sind durchaus mit denen der natürlichen Epothilone vergleichbar und lassen diese Analoga als Leitstrukturen und potentielle Wirkstoffe vielversprechend erscheinen. Wie bei den Epothilonen A und B ist bei diesen gezielt entworfenen Analoga besonders ihre Fähigkeit hervorzuheben, gegen wirkstoffresistente Tumorzellen, etwa Taxol-, Vinblastin- und Etoposidresistente Zelllinien, zu agieren. Die Vorstellung einer In-vivo-

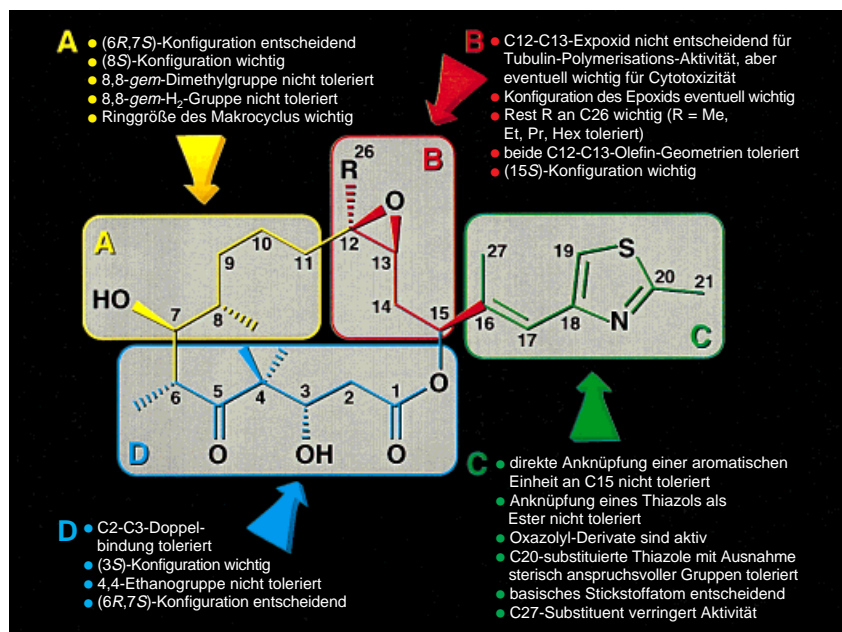


Abb. 10. Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei den Epothilonen.

Epoxidierung der Desoxyepothilone ist ebenfalls sehr interessant, da diese Hypothese erklären könnte, daß einige dieser Verbindungen stark cytotoxisch wirken, während andere trotz ihrer potenten Tubulin-Polymerisations-Eigenschaften weniger aktiv sind.

Die Annahme, daß die Epothilone und Taxol ein gemeinsames Pharmakophor aufweisen,^[12, 16] veranlaßte Winkler und Axelsen 1996, ein Modell der Bindungsstellen für diese strukturell doch sehr verschiedenen Substanzen vorzuschlagen.^[126] Ihre Kraftfeldrechnungen, die auf Struktur-Wirkungs-Daten von Taxol beruhten, deuteten darauf hin, welche Regionen der Epothilone für biologische Aktivität notwendig sein sollten. Kürzlich berichteten Ojima et al. über ähnliche Molecular-Modelling-Studien, die auf eine Korrelation der Konformationen von Taxol-Analoga, Epothilonen und Discodermolide abzielten.^[127]

Ausgehend von den natürlichen Epothilonen A–D stellte die Arbeitsgruppe von Höfle ca. 100 Derivate her und untersuchte deren biologische Aktivität (siehe Abb. 10 zu einigen Ergebnissen von biologischen Studien zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen).^[134] Das Design neuer Verbindungen kann nun in Richtung der Modifizierungen gelenkt werden, die am vielversprechendsten bei der Suche nach aktiven Wirkstoffen erscheinen.

5. Zusammenfassung und Zukunftsperspektiven

Man könnte die Epothilone als „Erben“ des Taxols bezeichnen, dessen Entwicklung als ein hocheffizientes Arzneimittel von einem enormen Zuwachs an wissenschaftlicher

Erkenntnis begleitet war. In den 90er Jahren zogen die Epothilone Aufmerksamkeit auf sich als vielversprechende potentielle Wirkstoffe für die Krebstherapie. Besonders attraktiv ist ihre Wirkungsweise, die der von Taxol ähnelt, und ihre Aktivität gegen Taxol-resistente Krebszellen. Ihre neuartige, aber gegenüber Taxol weniger komplexe Molekülstruktur veranlaßte intensive Forschungstätigkeiten, mit der Absicht, in der Praxis anwendbare Syntheserouten für ihre Produktion zu entwickeln und Analoga zur biologischen Bewertung zu synthetisieren. Beide Ziele wurden von einer Reihe von Arbeitsgruppen größtenteils erreicht, wenngleich es noch einiges zu tun gibt. Zu den restlichen Herausforderungen gehören:

- Syntheserouten, die noch effizienter sind als die bislang entwickelten und die zur Produktion im technischen Maßstab geeignet sind.
- Die Bestimmung der pharmakologischen und toxikologischen Wirkungsprofile der natürlichen Epothilone und ausgewählter synthetischer Analoga in einer Vielzahl von Tiermodellen, um geeignete Verbindungen zur Wirkstoffentwicklung zu finden.
- Eine klinische Evaluation solcher Verbindungen zur Behandlung einer Reihe von Krebsarten.

Zusätzlich zu ihrem potentiellen Nutzen als neue Waffen gegen Krebs regten diese natürlich vorkommenden Substanzen bereits zu neuen Erfindungen und Entdeckungen in der Chemie und Biologie an. Epothilon B mochte bei uns wegen seiner neuartigen Struktur und biologischen Aktivität Bewunderung auslösen, doch ließ uns das bisherige Versagen, seine Potenz gegen Krebszellen zu übertreffen, in Ehrfurcht vor der Natur und ihren molekular-technologischen Fertigkeiten erstarren. Während die Natur für die natürliche Evolution durch kombinatorische Chemie viele Millionen Jahre benötigte, um diese tödliche Waffe herzustellen, sollte es dem Synthesechemiker möglich sein, den Vorgang durch Ideenreichtum und gezielte Planung zu beschleunigen, um geeignetere Verbindungen für die Entwicklung medizinischer Wirkstoffe zu erhalten. Durch Zusammenfassung der Resultate auf diesem Gebiet hoffen wir, daß dieser Aufsatz weitere Forschung und Entwicklung anregen und erleichtern wird. Wir sind zuversichtlich, daß sich das Kapitel über die Chemie und Biologie der Epothilone bald erweitern wird und daß sie in Zukunft auch klinische Anwendung finden werden. Seit der Fertigstellung dieses Aufsatzes ist noch eine Reihe von relevanten Beiträgen zu diesem Thema erschienen (bis zum 28. Februar 1998).^[135–137]

Tabelle 7. Biologische Eigenschaften^[a] von Taxol, den natürlichen Epothilonen und ausgewählten synthetischen Epothilon-Analoga (Nicolaou et al.).^[102, 128]

Verbindung	Induktion der Tubulin-Polymerisation		Inhibierung des Karzinomzellwachstums ^[b]			
	Screening- Assay ^[a] Polymer- bildung [%] ^[f]	quant.	parental 1A9 IC ₅₀ [nM]	1A9PTX10 IC ₅₀ [nM]	Ovarien ^[d]	Brust ^[e] MCF7 IC ₅₀ [nM]
		Glutamat			β-Tubulin-Mutationen	
		Assay ^[c] EC ₅₀ [μM]				
Taxol	50	4.7	1.4	32	38	4.2
Epothilon A 1	76	4.6	2.2	20	5.9	5.1
Epothilon B 2	98	3.4	0.13	1.0	0.31	1.0
Epothilon C 3	72	8.3	32	> 100	100	38
Epothilon D 4	94	3.9	6.5	23	9.0	9.3
Epothilon E 5	95	–	> 100	50	20	–
22	46	–	32	> 100	> 100	–
42	76	9.8	60	> 100	100	> 100
211	52	–	40	80	> 100	–
217	88	–	80	> 100	> 100	–
218	47	–	30	> 100	65	–
219	62	–	18	65	> 100	–
220	83	–	0.5	7.5	6	–
221	95	–	5	30	20	–
263	69	–	40	> 100	> 100	–
268	29	–	50	30	90	–
269	51	–	20	7	40	–
270	6	–	80	20	95	–
274	936	–	0.2	0.4	0.2	–
275	69	–	0.4	0.6	0.25	–
276	41	–	10	50	10	–
278	94	–	0.05	1.0	0.05	–
279	87	–	5	30	5	–
289	84	7.5	61	> 100	85	75
290	92	6.2	2.0	18	3.0	5.4
291	84	5.6	1.0	8.5	1.0	1.8
293	63	13	6.0	30	6.5	14
295	31	–	50	50	> 100	–
308	75	6.1	68	> 100	90	74
309	93	3.3	9.0	30	12	> 100
313	54	6.0	32	> 100	> 100	68
315	58	5.3	3.0	25	8.0	6.1
316	93	–0.12	1.1	0.9	–	–
318	64	7.8	3.5	32	9.5	> 100
325	92	–	9	22	28	–
328	51	7.6	32	> 100	70	57
332	63	–	10	28	25	–
339	71	6.1	1.5	11	3.0	6.2
341	46	8.1	4.8	34	9.0	5.7
342	71	–	8	65	17	–
343	41	–	20	> 100	45	–
348	71	–	15	> 100	20	–
351	61	11	82	> 100	> 100	78

[a] Siehe Tabelle 1. [b] Das Zellwachstum wurde durch Messung der Zunahme von zellulärem Protein bestimmt.^[129] [c] Assay nach Literaturangaben^[102, 130] durchgeführt. Der EC₅₀-Wert ist als die Wirkstoffkonzentration definiert, bei der die Konzentrationen des überstehenden Proteins um 50 % gegenüber dem Kontrollwert verringert ist. [d] Die parentale Ovarialzelllinie, die als Klon von Linie A2780 abstammt,^[131] wurde verwendet, um Taxol-resistente Zelllinien durch Inkubation der Zellen mit steigenden Konzentrationen an Taxol mit Verapamil zu erhalten;^[132] die Zellen wurden in Gegenwart des Wirkstoffs in 96 h gezüchtet. [e] Die MCF7-Zellen wurden vom National Cancer Institute (Drug Screening Program) erhalten;^[133] sie wurden in Gegenwart des Wirkstoffs in 48 h gezüchtet. [f] Polymerbildung mit der betreffenden Verbindung relativ zu der mit GTP.

Tabelle 8. Biologische Eigenschaften^[a] von Taxol, den natürlichen Epothilonen und ausgewählten synthetischen Epothilon-Analoga (Danishefsky et al.).^[30]

Verb.	parental CCRF-CEM/VBL		Verb.	parental CCRF-CEM/VBL	
	CCRF-CEM IC ₅₀ [nM]	IC ₅₀ [nM]		CCRF-CEM IC ₅₀ [nM]	IC ₅₀ [nM]
Taxol	2.0	4140	300	90	262
Epothilon A 1	3.0	20	301	90	254
Epothilon B 2	0.2	1.0	302	55	197
Epothilon C 3	22	12	303	1.0	7.0
Epothilon D 4	9.0	17	304	4.0	6.0
42	52	35	305	27	49
265	21	77	308	30	49
298	39	67	375	98	146
299	3.0	9.0			

[a] Die Cytotoxizität der Verbindungen wurde durch Messung des Wachstums lymphoblastischer Leukämiezellen (CCRF-CEM) des Menschen oder derer Sublinien bestimmt, die resistent gegenüber Vinblastin oder Taxol (CCRF-CEM/VBL) oder Etoposid (CCRF-CEM/VM-1) sind.

Für die wichtigen Beiträge unserer Mitarbeiter auf diesem Gebiet, deren Namen im Literaturverzeichnis aufgeführt sind, sind wir zu großem Dank verpflichtet. Wir danken Prof. Höfle für seinen Zuspruch und dafür, daß er den Anstoß zur Synthese der Epothilone geliefert hat, und Professor Danishefsky für hilfreiche Diskussionen. Diese Arbeit wurde vom Skaggs Institute for Chemical Biology, der CaPCURE Foundation, Novartis, den National Institutes of Health (USA) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Stipendium für F. R.) unterstützt. Wir möchten auch unseren Freunden in der Industrie (Merck Sharp & Dohme, Dupont-Merck, Pfizer, Schering-Plough, Amgen und Glaxo Wellcome) für die Unterstützung unserer Arbeit danken.

Anhang: Liste der Abkürzungen

Ac	Acetyl
AIBN	2,2'-Azobisisobutyronitril
9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan
BINOL	1,1-Bi-2-naphthol
Bn	Benzyl
BOM	Benzyloxymethyl
CSA	10-Camphersulfonsäure
Cy	Cyclohexyl
DAP	1,3-Diaminopropan
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
DCC	1,3-Dicyclohexylcarbodiimid
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon
DHP	3,4-Dihydro-2H-pyran
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
4-DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dppf	1,2'-Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen
EDC	1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid
HMDS	Bis(trimethylsilyl)amid
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriimid
Ipc	Isopinocampheyl
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
LDA	Lithiumdiisopropylamid
mCPBA	m-Chlorperbenzoesäure
MMPP	Magnesiumsalz der Monoperoxyphthalsäure
MOM	Methoxymethyl
Ms	Methansulfonyl
NBS	N-Bromsuccinimid
NIS	N-Iodsuccinimid
NMO	N-Methylmorpholin-N-oxid
OTf	Trifluormethansulfonat
PDC	Pyridiniumdichromat
PMB	p-Methoxybenzyl
PMB-Cl	p-Methoxybenzylchlorid
PPTS	Pyridinium-p-toluolsulfonat
Py	Pyridin
TBAF	Tetra-n-butylammoniumfluorid
TBAI	Tetra-n-butylammoniumiodid
TBS	tert-Butyldimethylsilyl
TES	Triethylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure

THF	Tetrahydrofuran
TIPS	Triisopropylsilyl
TMS	Trimethylsilyl
TPAP	Tetra-n-propylammoniumperruthenat
TPS	Triphenylsilyl
Tr	Triphenylmethyl
TsOH	p-Toluolsulfonsäure

Eingegangen am 8. Januar 1998 [A269]

- [1] a) C. S. Muir, *Cancer Res.* **1990**, 50, 6441–6448; b) B. N. Ames, L. S. Gold, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 1233–1246; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 1197–1208; c) *Intermediate Biomarkers of Precancer and their Application in Chemoprevention* (Hrsg.: M. Lipkin, B. Levin, Y. S. Kim, G. J. Kelloff), Wiley-Liss, New York, **1992**, S. 196 ff. (*J. Cell Biochem. (Suppl. 16G)*); d) J. M. Bishop, *Science* **1987**, 235, 305–311; e) H. M. Schüller, *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42, 1511–1523; f) I. R. Hart, A. Saini, *Lancet* **1992**, 339, 1453–1457; g) D. G. Brodland, J. A. Zitelli, *J. Am. Acad. Dermatol.* **1992**, 27, 1–8.
- [2] Informationen aus den Homepages der American Cancer Society (ACS; <http://www.cancer.org>) und des National Cancer Institute (NCI; <http://www.nci.nih.gov>).
- [3] a) M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon, A. T. McPhail, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 2325–2327; b) T. Junod, *Life* **1992**, 15, 71–76; c) „Taxane Anticancer Agents: Basic Science and Current Status“: G. I. Georg, T. T. Chen, I. Ojima, D. M. Wyas, *ACS Symp. Ser.* **1995**, 583, 353.
- [4] a) E. K. Rowinsky, R. C. Donehower, *New Engl. J. Med.* **1995**, 332, 1004–1014; b) J. E. Cortes, R. Pazdur, *J. Clin. Oncol.* **1995**, 13, 2643–2655.
- [5] a) J. N. Denis, A. E. Greene, D. Guénard, F. Gueritte-Voegelein, L. Mangatal, P. Potier, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5917–5919; b) L. Mangatal, M. T. Adeline, D. Guénard, F. Gueritte-Voegelein, P. Potier, *Tetrahedron* **1989**, 45, 4177–4190; c) I. Barasoain, C. De Ines, F. Duz, J. M. Andreia, V. Peyrot, D. Leynadier, P. Garcia, C. Briand, G. De Suusa, R. Rahmani, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1991**, 32, 329; d) I. Ringel, S. B. Horwitz, *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, 83, 288–291; e) J. F. Diaz, J. M. Andreu, *Biochemistry* **1993**, 32, 2747–2755; f) V. Fromes, P. Guonon, M. C. Bissery, A. Fellous, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1992**, 33, 511.
- [6] „Annual Report: Top 100 drugs“: Anonymos, *MedAdNews* **1997**, 16, 11–91.
- [7] K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, R. K. Guy, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 38–69; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 15–44.
- [8] K. C. Nicolaou, R. K. Guy, J. L. Gunzer, *MedChem News* **1997**, 7, 12–18.
- [9] a) K. D. Rainsford, *Aspirin and the Salicylates*, Thetford Press, Thetford, **1984**; b) G. Weissmann, *Sci. Am.* **1991**, 268(1), 84–90.
- [10] a) *The beta-Lactam Antibiotics: Penicillins and Cephalosporins in Perspective* (Hrsg.: S. Selwyn), Hodder and Stoughton, London, **1980**; b) *Murder, Magic, and Medicine* (Hrsg.: J. Mann), Oxford University Press, London, **1994**, S. 124–140.
- [11] G. Höfle, N. Bedorf, K. Gerth, H. Reichenbach (GBF), DE-B 4138042, **1993** [*Chem. Abstr.* **1993**, 120, 52841].
- [12] G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth, H. Reichenbach, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1671–1673; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1567–1569.
- [13] K. Gerth, N. Bedorf, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, 49, 560–563.
- [14] G. Höfle, N. Bedorf, K. Gerth, H. Reichenbach (GBF), DE-B 4211055, **1993** [*Chem. Abstr.* **1993**, 119, 180598].
- [15] a) D. M. Bollag, P. A. McQueney, J. Zhu, O. Hensens, L. Koupal, J. Liesch, M. Goetz, E. Lazarides, C. M. Woods, *Cancer Res.* **1995**, 55, 2325–2333; eine Übersicht über die Biologie der Epothilone: b) D. M. Bollag, *Exp. Opin. Invest. Drugs* **1997**, 6, 867–873.
- [16] S. F. Victory, D. G. Vander Velde, R. K. Jalluri, G. L. Grunewald, G. I. Georg, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 893–898.
- [17] J. P. Pachlatko, Novartis, persönliche Mitteilung.

- [18] D. Schinzer, *Eur. Chem. Chron.* **1997**, 7–10.
- [19] S. Borman, *Chem. Eng. News* **1996**, 74(52), 24–26.
- [20] a) Therapeutisches Entwicklungsprogramm des National Cancer Institute (NCI), USA: M. R. Grever, S. A. Schepartz, B. A. Chabner, *Semin. Oncol.* **1992**, 19, 622–638.
- [21] P. B. Fernandes, *Antimicrob. Newsl.* **1987**, 4, 25–34.
- [22] D. C. Jordan, *Antibiotics (USSR)* **1967**, 1, 446–450.
- [23] a) A. Abou-Zeid, A. I. El-Dewany, *Indian Chem. Manuf.* **1978**, 16, 17–25; b) E. E. Schmid, *Antibiot. Chemother. (Basel)* **1971**, 17, 52–66.
- [24] A. Baumüller, U. Hoyme, P. O. Madsen, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, 12, 240–242.
- [25] a) S. B. Kaye, P. Workman, M. A. Graham, J. Cassidy, D. Jodrell, *Cancer Surv.* **1993**, 17, 371–396; b) E. Hamel, *Pharmacol. Ther.* **1992**, 51, 31–51; c) D. R. Budman, *Semin. Oncol.* **1992**, 19, 639–645.
- [26] M. Takahashi, S. Iwasaki, H. Kobayashi, S. Okuda, T. Murai, Y. Sato, *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, 926, 215–223.
- [27] *Microtubules* (Hrsg.: J. S. Hyams, C. W. Lloyd), Wiley-Liss, New York, **1994**.
- [28] P. B. Schiff, J. Fant, S. B. Horwitz, *Nature* **1979**, 277, 665–667.
- [29] R. J. Kowalski, P. Giannakakou, E. Hamel, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 2534–2541.
- [30] D.-S. Su, A. Balog, D. Meng, P. Bertinato, S. J. Danishefsky, Y.-H. Zheng, T.-C. Chou, L. He, S. B. Horwitz, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2178–2181; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2093–2096.
- [31] Für einen hervorragenden Übersichtsartikel auf diesem Gebiet siehe: J. Avila, J. D. Nido in *Cytoskeleton, Vol. 1* (Hrsg.: J. E. Hesketh, I. F. Pryme), JAI, Greenwich, CT, **1995**, S. 47–85.
- [32] K. F. Sullivan, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1988**, 687–716.
- [33] R. G. Burns, *Cell Motil. Cytoskeleton* **1991**, 20, 181–189.
- [34] *Microtubules* (Hrsg.: P. Dustin), Springer, Berlin, **1984**, S. 482 ff.
- [35] M. A. Jordan, R. J. Toso, D. Thrower, L. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 9552–9556.
- [36] Einen Übersicht über Mikrotubuli-Strukturen und -Dynamik: R. H. Wade, A. A. Hyman, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1997**, 9, 12–17.
- [37] L. Wilson, M. A. Jordan, *Chem. Biol.* **1995**, 2, 569–573.
- [38] B. R. Brinkley, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1982**, 46, 1029–1040.
- [39] a) E. H. Ball, J. J. Singer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1982**, 79, 123–126; b) M. S. Cooper, A. H. Cornell-Bell, A. Chernjowsky, J. W. Dani, S. J. Smith, *Cell* **1990**, 61, 135–145.
- [40] a) M. M. Rasenick, N. Wang, K. Yan, *Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res.* **1990**, 24, 381–386; b) J. M. Scholey, *Nature* **1990**, 343, 118–120.
- [41] L. A. Amos in *Microtubules, Vol. 129* (Hrsg.: K. Roberts, J. Hyams), Academic Press, New York, **1979**, S. 135–148.
- [42] a) T. Mitchison, M. W. Kirschner, *Nature* **1984**, 312, 237–242; b) *Cell* **1986**, 45, 329–342; c) *Nature* **1986**, 324, 621–622; d) J. Avila, *FASEB J.* **1990**, 4, 3284–3290.
- [43] a) E. Schulze, M. Kirschner, *J. Cell Biol.* **1986**, 102, 1020–1031; b) L. Cassimeris, N. K. Pryer, E. D. Salmon, *ibid.* **1988**, 107, 2223–2231.
- [44] a) L. T. Haimo, *Methods Cell Biol.* **1982**, 24, 189–206; b) P. R. Burton, R. H. Himes, *J. Cell Biol.* **1978**, 77, 120–133; c) E.-M. Mandelkow, E. Mandelkow, *J. Mol. Biol.* **1979**, 129, 135–148.
- [45] R. L. Margolis, L. Wilson, *Cell* **1978**, 13, 1–8.
- [46] a) L. U. Cassimeris, R. A. Walker, N. K. Pryer, E. D. Salmon, *Bioassays* **1987**, 7, 149–154; b) H. P. Erickson, E. T. O'Brien, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1992**, 21, 145–146; c) V. I. Gelfand, A. D. Bershadsky, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1991**, 7, 93–116; d) E. D. Salmon in *Mitosis* (Hrsg.: J. S. Hyams, B. R. Brinkley), Academic Press, New York, **1989**, S. 119–181.
- [47] L. Wilson, M. A. Jordan, *Chem. Biol.* **1995**, 2, 569–573.
- [48] M. Kirschner, T. J. Mitchison, *Cell* **1986**, 45, 329–342.
- [49] a) J. R. McIntosh, *Trends Biochem. Sci.* **1984**, 9, 195–198; b) C. Mazia in *The Cell, Vol. III* (Hrsg.: J. Brachet, A. E. Mirsky), Academic Press, London, **1961**, S. 77–412.
- [50] a) B. R. Brinkley, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1985**, 1, 145–172; b) M. DeBrabander, *Cell Biol. Int. Rep.* **1982**, 6, 901–915.
- [51] J. R. McIntosh, C. M. Pfarr, *J. Cell Biol.* **1991**, 115, 577–585.
- [52] G. Gorbisky, *Bioassays* **1992**, 14, 73–80.
- [53] a) R. Li, A. W. Murray, *Cell* **1991**, 66, 519–531; b) M. A. Hoyt, L. Totis, B. T. Roberts, *ibid.* **1991**, 66, 507–517.
- [54] B. A. Boggs, M. L. Gonzales-Garey, W. E. O'Brien, S. B. Barlow, F. Cabral, *Cell. Pharmacol.* **1993**, 1, S95–S101.
- [55] S. Timashiff, J. Andreu, M. Gorbunoff, F. Medranot, V. Prakash, *Cell. Pharmacol.* **1993**, 1, S27–S33.
- [56] a) R. J. Toso, M. A. Jordan, K. W. Farrell, B. Matsumoto, L. Wilson, *Biochemistry* **1993**, 32, 1285–1293; b) S. B. Hastie, *Pharmacol. Ther.* **1991**, 51, 377–401.
- [57] M. A. Jordan, L. Wilson in *Taxane Anticancer Agents*, (Hrsg.: G. I. Georg, T. T. Chen, I. Ojima, D. M. Vyas), American Chemical Society, Washington, DC, **1995**, S. 138–153.
- [58] J. B. Olmsted, C. F. Asnes, L. M. Parysek, H. D. Lyon, G. M. Kidder, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1986**, 466, 292–305.
- [59] a) M. Goedert, R. Jakes, M. G. Spillantini, R. A. Crowther in Lit. [27], S. 183–200; b) G. Wiche, C. Oberkanins, A. Himmler, *Int. Rev. Cytol.* **1991**, 124, 217–273.
- [60] D. Panda, B. L. Goode, S. C. Feinstein, L. Wilson, *Biochemistry* **1995**, 34, 11117–11127.
- [61] F. I. Raynaud, I. R. Judson, *Drugs Future* **1996**, 21, 65–70.
- [62] C. L. Rieder, R. E. Palazzo, *J. Cell Sci.* **1992**, 102, 387–392.
- [63] R. B. Natale, *Semin. Oncol.* **1997**, 24, 29–37.
- [64] D. L. Sackett, *Pharmacol. Ther.* **1993**, 59, 163–228.
- [65] a) E. Hamel, *Med. Res. Rev.* **1996**, 16, 207–231; b) W. B. Derry, L. Wilson, M. A. Jordan, *Biochemistry* **1995**, 34, 2203–2211; Übersicht: c) L. Wilson, M. A. Jordan in Lit. [27], S. 59–84.
- [66] E. Hamel, *Cell. Pharmacol.* **1993**, 1, S47–S52.
- [67] E. Hamel, *Pharmacol. Ther.* **1992**, 55, 31–51.
- [68] a) K. Yamada, H. Kigoshi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1997**, 70, 1479–1489; b) G. R. Pettit, *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1997**, 70, 1–79; c) M. Namikoshi, K. L. Rinehart, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **1996**, 17, 373–384; d) G. R. Pettit, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 66, 2271–2281.
- [69] a) C. D. Smith, X. Zhang, S. L. Mooberry, G. M. L. Patterson, R. E. Moore, *Cancer Res.* **1994**, 54, 3779–3784; b) R. E. Moore, T. H. Corbett, G. M. L. Patterson, F. A. Valeriote, *Curr. Pharm. Des.* **1996**, 2, 317–330; c) R. E. Moore, *J. Ind. Microbiol.* **1996**, 16, 134–143; d) T. Corbett, F. Valeriote, P. LoRusso, L. Polin, C. Panchapor, S. Pugh, K. White, J. Knight, L. Juiwanna, *Int. J. Pharmacogn.* **1995**, 33 (Suppl.), 102–122.
- [70] M. Fighetti, S. Rubino, P. Cappuccinelli, G. Monaco, *Microbiologica (Bologna)* **1988**, 11, 269–277.
- [71] a) W. H. Gerwick, P. J. Proteau, D. G. Nagle, E. Hamel, A. Blokin, D. L. Slate, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 1243–1245; b) B. S. Davidson, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1995**, 6, 284–291; c) M. C. Pirrung, S. K. Nauhaus, *Chemtracts: Org. Chem.* **1994**, 7, 128–129.
- [72] a) M. A. Jordan, R. J. Toso, D. Thrower, L. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 9552–9556; b) J. Liebmann, J. A. Cook, C. Lipschultz, D. Teague, J. Fisher, J. B. Mitchell, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1994**, 33, 331–339.
- [73] P. B. Schiff, S. B. Horwitz, *Biochemistry* **1981**, 20, 3247–3252.
- [74] a) P. B. Schiff, J. Fant, S. B. Horwitz, *Nature* **1979**, 277, 665–667; b) E. Hamel, A. A. del Campo, M. C. Lowe, C. M. Lin, *J. Biol. Chem.* **1981**, 256, 11887–11894.
- [75] A. Wolff, A. Technau, G. Brandner, *Int. J. Oncol.* **1997**, 11, 123–126.
- [76] a) U. Moll, A. G. Ostermeyer, R. Haladay, B. Winkfield, M. Frazier, G. Zambetti, *Mol. Cell. Biol.* **1995**, 16, 1126–1137; b) S. C. Goldman, C.-Y. Chen, T. J. Lansing, T. M. Gilmer, M. B. Kastan, *Am. J. Pathol.* **1996**, 148, 1381–1385.
- [77] J. Parness, S. B. Horwitz, *Biochemistry* **1981**, 91, 479–487.
- [78] E. K. Rowinsky, E. A. Eisenhauer, V. Chaudhry, S. G. Arbuck, R. C. Donehower, *Semin. Oncol.* **1993**, 20, 1–15.
- [79] J. B. Hibbs, R. R. Taintor, Z. Vavrin, *Science* **1987**, 235, 473–476.
- [80] A. Ding, B. Chen, N. Fuortes, E. Blum, *J. Exp. Med.* **1996**, 183, 1899–1904.
- [81] C. Bogdan, A. Ding, *J. Leukocyte Biol.* **1992**, 52, 119–121.
- [82] E. F. Ding, F. Porteu, E. Sanchez, C. F. Nathan, *Science* **1990**, 248, 370–372.
- [83] C. L. Manthey, P.-Y. Perera, C. A. Salkowski, S. N. Vogel, *J. Immunol.* **1994**, 152, 825–831.
- [84] P. F. Mühlradt, F. Sasse, *Cancer Res.* **1997**, 57, 3344–3346.
- [85] a) J. H. Schiller, B. Storer, K. Tutsch, R. Arzooanian, D. Alberti, C. Feierabend, D. Spriggs, *J. Clin. Oncol.* **1994**, 12, 241–248; b) D. H. Johnson, D. M. Paul, K. R. Hande, Y. Shyr, C. Blanke, B. Murphy, M. Lewis, R. F. de Vore, *ibid.* **1996**, 14, 2054–2060.

- [86] Totalsynthese: a) J. B. Nerenberg, D. T. Hung, P. K. Somers, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12621–12622; b) A. B. Smith III, Y. Qiu, D. R. Jones, K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12011–12012; c) S. S. Harried, G. Yang, M. A. Strawn, D. C. Myles, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6098–6099; biologische Wirkung: d) E. ter Haar, R. J. Kowalski, E. Hamel, M. C. Lin, R. E. Longley, S. P. Gunasekera, H. S. Rosenkranz, B. W. Day, *Biochemistry* **1996**, *35*, 243–250; e) D. T. Hung, J. Chen, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 287–293; f) R. J. Kowalski, P. Giannakakou, S. P. Gunasekera, R. E. Longley, B. W. Day, E. Hamel, *Mol. Pharmacol.* **1997**, *52*, 613–622; Isolierung: g) S. P. Gunasekera, M. Gunasekera, R. E. Longley, G. K. Schulte, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4912–4915.
- [87] Totalsynthese: a) K. C. Nicolaou, F. van Delft, T. Ohshima, D. Vourloumis, J. Xu, S. Hosokawa, J. Pfefferkorn, S. Kim, T. Li, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2631–2634; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2520–2524; Isolierung und biologische Wirkung: b) W. Fenical, P. R. Jensen, T. Lindel, US-A 5473057, **1995** [*Chem. Abstr.* **1996**, *124*, 194297z]; c) T. Lindel, P. R. Jensen, W. Fenical, B. H. Long, A. M. Casazza, J. Carboni, C. R. Fairchild, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8744–8745.
- [88] Totalsynthese: a) K. C. Nicolaou, J. Y. Xu, S. Kim, T. Ohshima, S. Hosokawa, J. Pfefferkorn, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11353–11354; Isolierung: b) M. D'Ambrosio, A. Guerriero, F. Pietra, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 2019–2027; c) M. D'Ambrosio, A. Guerriero, F. Pietra, *ibid.* **1988**, *71*, 964–976; biologische Wirkung: d) M. Ciomei, C. Albanese, W. Pastori, M. Grandi, F. Pietra, M. D'Ambrosio, A. Guerriero, C. Battistini, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1997**, *38*, 5.
- [89] L. Wessjohann, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 739–742; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 715–718.
- [90] M. Kalesse, *Eur. Chem. Chron.* **1997**, 7–11.
- [91] M. R. V. Finlay, *Chem. Ind.* **1997**, 24, 991–996.
- [92] Entwicklung der Ringschluß-Olefin-Metathese: a) R. H. Grubbs, S. J. Miller, G. C. Fu, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 446–452; b) W. J. Zuercher, M. Hashimoto, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6634–6640; c) P. R. Schwab, H. Grubbs, J. W. Ziller, *ibid.* **1996**, *118*, 100–110; d) M. Schuster, S. Blechert, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2124–2144; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2036–2055; e) J. Tsuji, S. Hashiguchi, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2955–2959; einige frühe Untersuchungen zu dieser Reaktion: f) T. J. Katz, S. J. Lee, N. Acton, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 4247–4250; g) T. J. Katz, N. Acton, *ibid.* **1976**, 4241–4254; h) T. J. Katz, J. McGinnis, C. Altus, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 606–608; i) T. J. Katz, *Adv. Organomet. Chem.* **1977**, *16*, 283–317; eine Reihe von Anwendungen der Olefin-Metathese zur Synthese mittlerer und großer Ringe: j) A. Fürstner, K. Langemann, *Synthesis* **1997**, 792–803; k) B. C. Borer, S. Deerenberg, H. Bieräugel, U. K. Pandit, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3191–3194; l) T. D. Clark, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12364–12365; m) A. F. Houry, Z. Xu, D. A. Cogan, A. H. Hoveyda, *ibid.* **1995**, *117*, 2943–2944; n) A. Fürstner, K. Langemann, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3942–3943; o) S. F. Martin, H.-J. Chen, A. K. Courtney, Y. Liao, M. Pätz, M. N. Ramser, A. S. Wagman, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7251–7264; p) Z. Xu, C. W. Johannes, S. S. Salman, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10926–10927.
- [93] R. R. Schrock, J. S. Murdzek, G. C. Bazan, J. Robbins, M. DiMare, M. O'Regan, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3875–3886.
- [94] P. Schwab, M. B. France, J. W. Ziller, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2179–2181; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2039–2041.
- [95] A. F. Houry, Z. Xu, D. A. Cogan, A. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2943–2944.
- [96] K. C. Nicolaou, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, Z. Yang, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2554–2556; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2399–2401.
- [97] K. C. Nicolaou, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, F. Roschangar, F. Sarabia, S. Ninkovic, Z. Yang, J. I. Trujillo, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7960–7973.
- [98] Z. Yang, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, K. C. Nicolaou, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 170–172; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 166–168.
- [99] K. C. Nicolaou, S. Ninkovic, F. Sarabia, D. Vourloumis, Y. He, H. Vallberg, M. R. V. Finlay, Z. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7974–7991.
- [100] K. C. Nicolaou, H. Vallberg, N. P. King, F. Roschangar, Y. He, D. Vourloumis, C. G. Nicolaou, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1957–1970.
- [101] K. C. Nicolaou, N. Winssinger, J. Pastor, S. Ninkovic, F. Sarabia, Y. He, D. Vourloumis, Z. Yang, T. Li, P. Giannakakou, E. Hamel, *Nature* **1997**, *36*, 757–759.
- [102] K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, T. Li, J. Pastor, N. Winssinger, Y. He, S. Ninkovic, F. Sarabia, H. Vallberg, F. Roschangar, N. P. King, M. R. V. Finlay, P. Giannakakou, P. Verdier-Pinard, E. Hamel, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2181–2187; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2097–2103.
- [103] a) K. C. Nicolaou, X.-Y. Xiao, Z. Parandoosh, A. Senyei, M. P. Nova, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2476–2479; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2289–2291; b) E. J. Moran, S. Sarshar, J. F. Cargill, M. M. Shahbaz, A. Lio, A. M. M. Mjalli, R. W. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10787–10788.
- [104] K. C. Nicolaou, F. Sarabia, S. Ninkovic, Z. Yang, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 539–540; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 525–527.
- [105] G. Höfle, GBF Braunschweig, persönliche Mitteilung.
- [106] K. C. Nicolaou, Y. He, F. Roschangar, N. P. King, D. Vourloumis, T. Li, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 89–92; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 84–87.
- [107] A. Balog, D. Meng, T. Kamenecka, P. Bertinato, D.-S. Su, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2976–2978; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2801–2803.
- [108] D.-S. Su, D. Meng, P. Bertinato, A. Balog, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, Y.-H. Zheng, T.-C. Chou, L. He, S. B. Horwitz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 775–777; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 757–759.
- [109] D. Meng, P. Bertinato, A. Balog, D.-S. Su, T. Kamenecka, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10073–10092.
- [110] D. Meng, D.-S. Su, A. Balog, P. Bertinato, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, Y.-H. Zheng, T.-C. Chou, L. He, S. B. Horwitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2733–2734.
- [111] S. J. Danishefsky, *Aldrichimica Acta* **1986**, *19*, 59–69; b) *Chemtracts: Org. Chem.* **1989**, *2*, 273–297.
- [112] D. Meng, E. J. Sorensen, P. Bertinato, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7998–7999.
- [113] P. Bertinato, E. J. Sorensen, D. Meng, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8000–8001.
- [114] D. Schinzer, A. Limberg, O. M. Böhm, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1477–1482.
- [115] D. Schinzer, A. Limberg, A. Bauer, O. M. Böhm, M. Cordes, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 543–544; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 523–524.
- [116] J. Mulzer, A. Mantoulidis, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 9179–9182.
- [117] J. Mulzer, A. Mantoulidis, E. Öhler, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7725–7728.
- [118] E. Claus, A. Pahl, P. G. Jones, H. M. Meyer, M. Kalesse, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1359–1362.
- [119] T. Gabriel, L. Wessjohann, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1363–1366.
- [120] R. E. Taylor, J. D. Haley, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2061–2064.
- [121] J. De Brabander, S. Rosset, G. Bernardinelli, *Synlett* **1997**, 824–826.
- [122] A. Balog, P. Bertinato, D.-S. Su, D. Meng, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, Y.-H. Zheng, T.-C. Chou, L. He, S. B. Horwitz, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4529–4532.
- [123] K. C. Nicolaou, F. Sarabia, S. Ninkovic, M. R. V. Finlay, C. N. C. Boddy, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 85–89; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 81–84.
- [124] K. C. Nicolaou, S. Ninkovic, M. R. V. Finlay, F. Sarabia, T. Li, *Chem. Commun.* **1997**, 2343–2344.
- [125] K. C. Nicolaou, F. Sarabia, M. R. V. Finlay, S. Ninkovic, N. P. King, D. Vourloumis, Y. He, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1971–1986.
- [126] J. D. Winkler, P. H. Axelsen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2963–2966.
- [127] S. Chakravarty, I. Ojima, *Abstr. Pap. 214th ACS National Meeting*, Las Vegas, NV (USA), **1997**, MEDI-075.
- [128] K. C. Nicolaou, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [129] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokes, S. Kenney, M. R. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 1107–1112.

- [130] C. M. Lin, Y. Q. Jiang, A. G. Chaudhary, J. M. Rimoldi, D. G. I. Kingston, E. Hamel, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1996**, *38*, 136–140.
- [131] B. C. Behrens, T. C. Hamilton, H. Matsuda, K. R. Grotzinger, J. Wang-Peng, K. G. Louie, T. Knutsen, W. M. McKoy, R. C. Young, R. F. Ozols, *Cancer Res.* **1987**, *47*, 414–418.
- [132] P. Giannakakou, D. L. Sackett, Y.-K. Kang, Z. Zhan, J. T. M. Buters, T. Fojo, M. S. Poruchynsky, *J. Biol. Chem.* **1995**, *272*, 17118–17125.
- [133] A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, R. Shoemaker, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, M. Gray-Goodrich, H. Campbell, J. Mayo, M. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*, 757–766.
- [134] Wissenschaftlicher Jahresbericht, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Braunschweig, **1996**, S. 112.
- [135] Anwendung einer radikalisch induzierten Ringöffnung trisubstituierter Epoxide auf die Synthese des C1-C12-Segments der Epothilone: T. K. Chakraborty, S. Dutta, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 101–104.
- [136] Enantioselektive Synthese des C3-C13-Segments von Epothilon A: Z. Y. Liu, C. Z. Yu, J. D. Yang, *Synlett* **1998**, *12*, 1383–1384.
- [137] Enantioselektive Synthese eines C7-C15-Carbaldehydsegments von Epothilon A: P. Bijoy, M. A. Avery, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 209–212.
- [138] K. C. Nicolaou, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 644–664; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 588–607.

Hinterlegen von Daten aus Röntgenstrukturanalysen

Um Autoren und Gutachtern das Leben zu erleichtern, haben das Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) und das Fachinformationszentrum Karlsruhe (FIZ) ihre Vorgehensweise für das Hinterlegen von Daten zu Einkristall-Röntgenstrukturanalysen vereinheitlicht:

Autoren werden gebeten, Ihre Daten vor dem Einreichen Ihres Beitrags elektronisch bei der jeweils richtigen Datenbank zu hinterlegen, d.h. beim CCDC für organische und metallorganische Verbindungen und beim FIZ für organische Verbindungen. Beide Datenbanken geben hier gerne Hilfestellung (siehe unsere *Hinweise für Autoren* im ersten Heft dieses Jahres). In der Regel wird dem Autor von der Datenbank innerhalb von zwei Arbeitstagen eine Hinterlegungsnummer mitgeteilt, die mit dem jeweiligen Standardtext (siehe *Hinweise für Autoren*) in das Manuskript aufzunehmen ist. Dies ermöglicht es Gutachtern, sich schnell und einfach die Strukturdaten zu besorgen, wenn sie ihnen für die Urteilsfindung wichtig scheinen.

Dieses Verfahren wird einheitlich von den Redaktionen der Zeitschriften *Advanced Materials*, *Angewandte Chemie*, *Chemistry–A European Journal*, *European Journal of Inorganic Chemistry* und *European Journal of Organic Chemistry* angewendet.