

## Epothilone

DOI: 10.1002/ange.200501760

### Entwicklung struktureller Template zur Mikrotubulihemmung durch weitgehende Abwandlung der Epothilon-Grundstruktur\*\*

Frédéric Cachoux, Thomas Isarno, Markus Wartmann und Karl-Heinz Altmann\*

Zelluläre Mikrotubuli sind wichtige supramolekulare Zielstrukturen bei der Suche nach neuen Arzneistoffen zur Krebsbekämpfung, und eine ganze Reihe von Mikrotubulihemmern wird bereits heute in der klinischen Krebsbehandlung in breitem Rahmen eingesetzt.<sup>[1]</sup> Die Mikrotubulifunktion kann dabei entweder durch eine Stabilisierung oder eine Destabilisierung der Mikrotubuli gehemmt werden.<sup>[2]</sup> Die wichtigsten Beispiele für Mikrotubulistabilisatoren sind die klinisch eingesetzten Tumorthterapeutika Taxol (auch Paclitaxel genannt) und Docetaxel (Taxotere).<sup>[3]</sup> Taxol und strukturell verwandte Substanzen waren für lange Zeit die einzigen Verbindungen, die bekanntermaßen in der Lage waren, Mikrotubuli zu stabilisieren und die Polymerisation von löslichem Tubulin zu induzieren. In den letzten zehn Jahren ist ein derartiger Wirkmechanismus jedoch für eine wachsende Zahl antiproliferativ wirksamer Naturstoffe beschrieben worden, darunter Verbindungen wie die Epothilone A und B (Epo A und B), Discodermolid, Laulimalid oder Pelorusid.<sup>[4]</sup>

Bei der Suche nach potenteren Mikrotubulistabilisatoren haben sich Naturstoffe bisher als die bei weitem ergiebigste Quelle erwiesen,<sup>[4]</sup> und das systematische Screening von Naturstoff-basierten Verbindungsbibliotheken (oder auch von Bibliotheken „Naturstoff-ähnlicher Verbindungen“) wird

in der Zukunft mit großer Wahrscheinlichkeit zur Entdeckung weiterer struktureller Template für die Stabilisierung von Mikrotubuli führen.<sup>[5]</sup> In einem alternativen Ansatz könnten solche Template aber auch durch weitgehende strukturelle Veränderungen (und vielleicht sogar strukturelle Vereinfachung) aus existierenden Mikrotubulistabilisatoren heraus entwickelt werden, vorausgesetzt die entsprechenden Modifikationen sind nicht mit einem drastischen Verlust an biologischer Aktivität verbunden.

Von den oben erwähnten neuen Mikrotubulistabilisatoren am besten untersucht ist das Epo B,<sup>[6]</sup> von dem eine Vielzahl voll- und halbsynthetischer Analoga hergestellt und biologisch profiliert worden ist.<sup>[7]</sup> Diese Arbeiten haben zu einem umfassenden Verständnis der Struktur-Aktivitäts-Beziehung (SAR) für die Strukturklasse der Epothilone beigetragen und haben zur Entdeckung von bisher mindestens fünf Analoga geführt, die gegenwärtig in klinischen Studien am Menschen erprobt werden (zusätzlich zum Epo B).<sup>[7a]</sup> Obwohl sich die Strukturen der Analoga nicht signifikant von der des Naturstoffs unterscheiden, ist ihr biochemisches und pharmakologisches Profil offenbar deutlich von dem des Epo B verschieden – ein eindeutiger Hinweis darauf, dass bereits geringfügige Abwandlungen der Epo-B-Struktur zu Verbesserungen im präklinischen Profil führen können. Die vielleicht eindrücklichsten Beispiele sind hier die vor kurzem von Danishefsky und Mitarbeitern beschriebenen 9,10-Didehydroderivate von Epo D,<sup>[8]</sup> von denen sich eines mittlerweile in Phase-I-Studien befindet.<sup>[9]</sup>

Weitergehende Abwandlungen der Epothilon-Grundstruktur zu Analoga, die dem Naturstoff nur wenig oder gar nicht ähneln, könnten, falls genügend potent, zu neuen Templaten für die Hemmung der Mikrotubulifunktion führen (grundsätzlich im gleichen Sinne wie ein neu entdeckter Naturstoff; siehe oben). Hier berichten wir über die Synthese und die biologische Profilierung einer Reihe von neuartigen Epothilonanaloga, die zeigen, dass durch iterative Abwandlung der Epothilon-Grundstruktur stark modifizierte („hypermodifizierte“) Analoga erhalten werden können, die sich immer noch durch eine hohe tubulinpolymerisierende und antiproliferative Aktivität auszeichnen.

Ein erster Ansatzpunkt war dabei die Entfernung der Hydroxygruppe an der 3-Position des Epothilonmakrocyclus. Die Auswirkungen dieser einfachen Modifikation wurden überraschenderweise bisher im Unterschied zu denen anderer Modifikationstypen an der 3-Position nicht explizit untersucht. So ist seit längerem bekannt, dass die formale Wasserabspaltung von C2 und C3 (die zu 3-Desoxy-2,3-Didehydroderivaten führt) gut toleriert wird,<sup>[10]</sup> ein Befund, der mit einer für die bioaktive Epo-A-Konformation vorgeschlagenen, *anti*-periplanaren Konformation um die C2-C3-Bindung in Einklang ist.<sup>[11]</sup> Eine weitgehende Erhaltung der biologischen Aktivität wird auch beim Ersatz der (3S)-Hydroxygruppe durch eine (3S)-Cyangruppe beobachtet.<sup>[10a]</sup> Dagegen führt die Inversion der Konfiguration an C3 zu einem drastischen Aktivitätsverlust, und zwar sowohl für Epo A/B<sup>[7d]</sup> wie auch für entsprechende 3-Desoxy-3-Cyananaloga.<sup>[10a]</sup> Da noch keine biologischen Daten über einfache 3-Desoxyanaloga von Epothilonen (mit einer C2-C3-Einfachbindung) verfügbar waren, hielten wir es für erforderlich, 3-Desoxy-

[\*] Dr. F. Cachoux,<sup>[+]</sup> Dr. T. Isarno,<sup>[++]</sup> Prof. Dr. K.-H. Altmann  
ETH Zürich  
Departement Chemie und Angewandte Biowissenschaften  
Institut für Pharmazeutische Wissenschaften  
ETH Hönggerberg, HCI H 405  
Wolfgang-Pauli-Strasse 10, 8093 Zürich (Schweiz)  
Fax: (+41) 44-633-1360  
E-mail: karl-heinz.altmann@pharma.ethz.ch

Dr. M. Wartmann  
Onkologie DA  
Novartis Institut für Biomedizinische Forschung  
Basel (Schweiz)

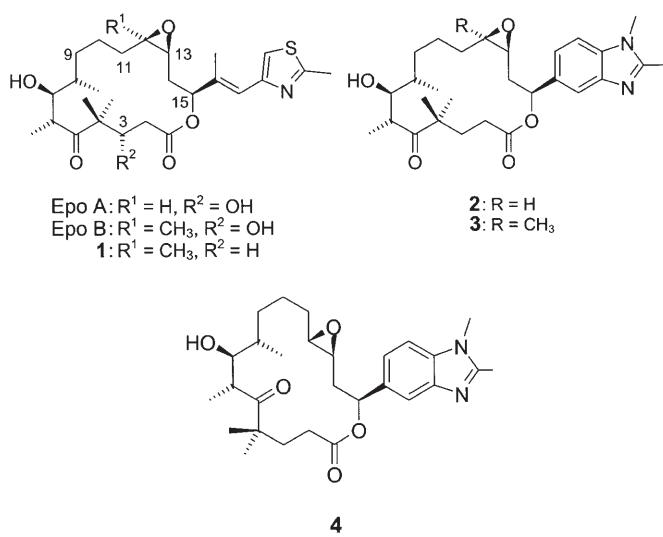
[+] Gegenwärtige Adresse:  
Prestwick Chemical  
Illkirch (Frankreich)

[+++] Gegenwärtige Adresse:  
Carbogen AG  
Aarau (Schweiz)

[\*\*] Wir danken der Novartis Pharma AG für finanzielle Unterstützung (Postdoktorandenstipendien für F.C. und T.I.) sowie Dr. Peter Ertl, Novartis Institut für Biomedizinische Forschung, für die Berechnung der Tanimoto-Koeffizienten.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

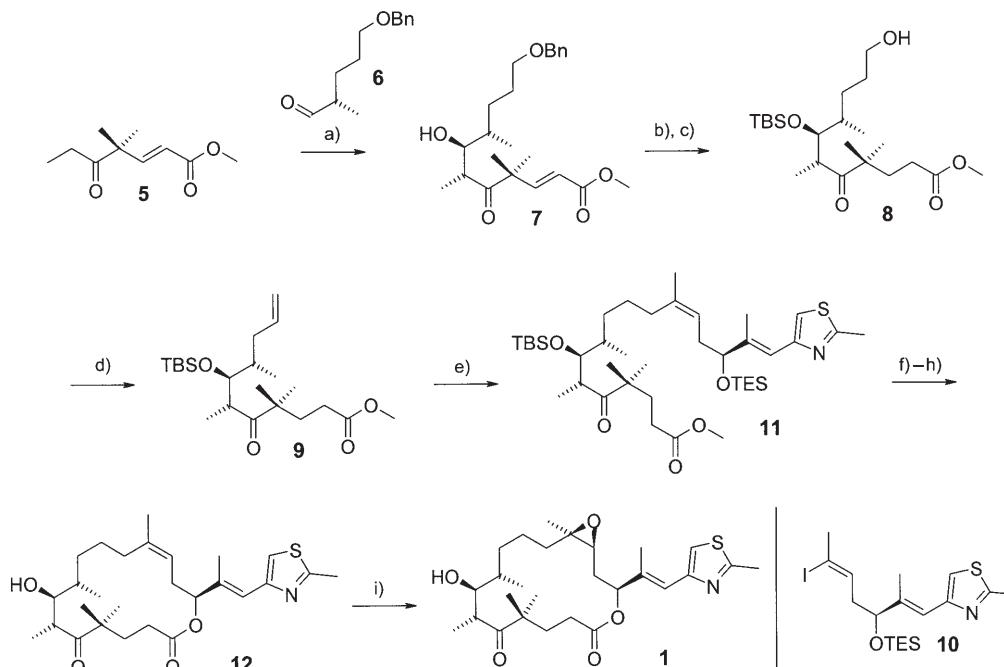
Epo B (**1**) zu synthetisieren und die biologische Aktivität dieser Verbindung zu bestimmen. Die Synthese von **1**, der



ähnliche strategische Überlegungen zugrunde liegen, wie sie auch in unseren früheren Arbeiten zur Synthese anderer Typen von Analoga zu Anwendung kamen,<sup>[12]</sup> ist in Schema 1 zusammengefasst.

Schlüsselschritte sind hierbei die Aldolreaktion von Keton **5** mit Aldehyd **6** (die mit einer Selektivität von ca. 2.5:1 zugunsten des gewünschten Aldolprodukts **7** verlief und nicht optimiert wurde), die *B*-Alkyl-Suzuki-Kupplung von **9** mit dem Vinyliodid **10**, eine Yamaguchi-Makrolactonisierung sowie schließlich die Epoxidierung der C12-C13-Doppelbindung im entschützten Makrolacton **12**. Unerwarteterweise kam es bei der Makrolactonisierung zu einer teilweisen Epimerisierung an C15(!), was nachfolgend die Reinigung von **12** durch präparative HPLC nötig machte. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, hat **1** eine starke tubulinpolymerisierende und antiproliferative Wirkung, wobei die zelluläre Aktivität der Verbindung gegen die menschliche Epidermoid-Karzinomzelllinie KB-31 nur ca. 25-mal niedriger ist als diejenige von Epo B. Die zelluläre Potenz von **1** ist mit derjenigen von Taxol, Epo A und 3-Desoxy-2,3-Didehydro-Epo B (Daten nicht gezeigt) vergleichbar, anders als bei Taxol bleibt die Aktivität aber auch gegen multiwirkstoffresistente KB-8511-Zellen erhalten. Auf der Ebene der Desoxyverbindung **12** ist die Reduktion der antiproliferativen Aktivität etwas stärker ausgeprägt; **12** ist ca. 40-mal weniger potent als Epo D (12/13-Desoxy-Epo B).<sup>[8]</sup>

Anschließend stellten wir die Frage, ob der durch die Entfernung der 3-OH-Gruppe hervorgerufene, moderate Aktivitätsverlust möglicherweise durch andere Modifikationen kompensiert werden könnte. Auf der Grundlage unserer früheren Studien zu aktivitätssteigernden Seitenkettenmodi-



**Schema 1.** a) Lithiumdiisopropylamid (LDA),  $-78^\circ\text{C}$ , 2 h, 58% (d.r. 2.5:1); b) TBSOTf, 2,6-Lutidin,  $-10^\circ\text{C}$ , 1 h, 82%; c)  $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ , MeOH, 1 h, 97%; d)  $\text{o-NO}_2\text{PhSeCN}$ ,  $\text{Bu}_3\text{P}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , RT, 2 h, 69%; e) 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN), THF, RT, 2 h, dann Zugabe zu einem Gemisch aus  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (2 Äquiv.),  $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$  (0.2 Äquiv.),  $\text{Ph}_3\text{As}$  (0.2 Äquiv.), Vinyliodid **10**, DMF,  $-10^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 16 h, 55%; f)  $\text{LiOH}$  (6 Äquiv.),  $i\text{PrOH}/\text{H}_2\text{O}$  4:1,  $60^\circ\text{C}$ , 3 h, 98%; g)  $2,4,6\text{-Cl}_3\text{C}_6\text{H}_2\text{C(O)Cl}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , THF,  $0^\circ\text{C}$ , 15 min, dann Verdünnung mit Toluol und langsame Zugabe zu einer Lösung von 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) in Toluol, RT, 1 h, 80% (2:1-Gemisch von Epimeren); h) HF-Pyridin, THF, RT, 6 h, 90% (2:1-Gemisch von Isomeren; reines **12** wurde durch Reinigung mittels präparativer HPLC erhalten); i)  $\text{MeReO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Pyridin}/\text{H}_2\text{O}$ , RT, 90 min, 72% (9:1-Gemisch von Epoxidisomeren; reines **1** durch Reinigung mittels präparativer HPLC erhalten); Bn = Benzyl, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, TES = Triethylsilyl; dppf = 1,1'-Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen.

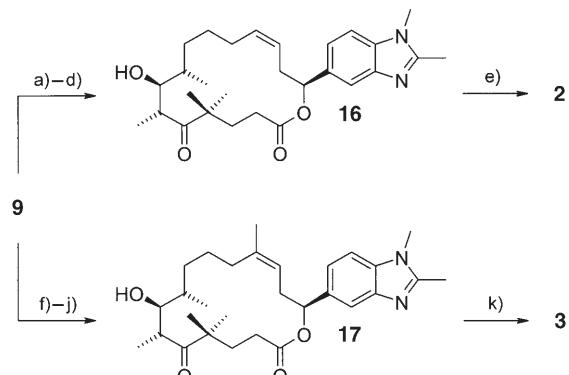
**Tabelle 1:** Tubulinpolymerisierende und antiproliferative Aktivität von 3-Desoxyepothilonanaloga.

Verb. <sup>[a]</sup>	% Tubulin-polymerisation <sup>[b]</sup>	IC <sub>50</sub> (KB-31) <sup>[c]</sup> [nM]	IC <sub>50</sub> (KB-8511) <sup>[c]</sup> [nM]
Epo A	62.6 (n.b.)	2.15 ± 0.07	1.91 ± 0.07
Epo B	95.8 (73.7)	0.29 ± 0.05	0.22 ± 0.05
Epo C <sup>[a]</sup>	n.b.	24.9 <sup>[d]</sup>	9.9 <sup>[d]</sup>
Epo D <sup>[a]</sup>	81.0 (n.b.)	2.70 ± 1.31	1.44 ± 0.78
Taxol	53.7 (n.b.)	3.68 ± 0.68	805 ± 144
<b>1</b>	92.2 (68.0)	7.4 ± 2.2	4.0 ± 1.6
<b>2</b>	91.9 (67.5)	7.4 ± 0.7	37.6 ± 1.4
<b>3</b>	n.b.	0.58 <sup>[e]</sup>	1.89 <sup>[e]</sup>
<b>4</b>	82.0 (71.9)	3.16 ± 0.55	7.60 ± 2.44
<b>12</b>	78.7 (68.7)	114 ± 7	74 ± 3
<b>16</b>	86.4 (66.5)	58.7 ± 3.6	58.6 ± 7.1
<b>17</b>	n.b.	4.99 ± 2.15	5.75 ± 3.24
<b>18</b>	92.2 (65.5)	39.9 ± 1.8 <sup>[f]</sup>	47.3 ± 4.8 <sup>[f]</sup>

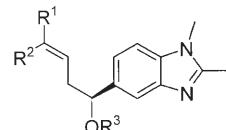
[a] Alle Verbindungen wurden als reine Stereoisomere untersucht (HPLC, NMR). Epo C = 12,13-Desoxyepothilon A. [b] Induktion der Polymerisation von reinem Tubulin aus Rinderhirn (Cytoskeleton; Katalog-Nr. TL238) bei einer Konzentration der Testsubstanz von 5  $\mu$ M (2  $\mu$ M) relativ zur Wirkung von Epo B bei einer Konzentration von 25  $\mu$ M, die zu maximaler Polymerisation führte (100%-Wert). Die Tubulinpolymerisation wurde mit einer modifizierten Version des in Lit. [18] beschriebenen Zentrifugationsassays bestimmt; n.b. = nicht bestimmt. [c] IC<sub>50</sub>-Werte für die Hemmung des Wachstums der menschlichen Epidermoid-Karzinomzellen KB-31 und KB-8511. KB-8511 ist eine das P-Glycoprotein 170 (P-gp170) überexprimierende multiwirkstoffresistente Sublinie der KB-31-parentalen Linie. Zellen wurden 72 h mit den Testverbindungen behandelt. Die Zellzahl wurde durch Quantifizierung des Proteingehalts fixierter Zellen durch Färbung mit Methylenblau bestimmt. [19a] Für experimentelle Details siehe Lit. [19b]. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus mindestens drei unabhängigen Experimenten ( $\pm$  Standardabweichung). [d] Einzelbestimmung. [e] Durchschnittswerte aus jeweils zwei Einzelbestimmungen. Einzelwerte sind 0.54/0.62 (KB-31) und 1.61/2.16 (KB-8511). [f] Die entsprechenden Werte für *cis*-Epo C sind 96.2 nM und 36.8 nM.

fikationen<sup>[12b]</sup> entwickelten wir die Verbindungen **2** und **3**, deren Synthese in Schema 2 zusammengefasst ist. Ausgehend von Olefin **9** erfolgte dabei zunächst eine Pd<sup>0</sup>-katalysierte *B*-Alkyl-Suzuki-Kupplung mit den *cis*-Vinyliodiden **13** (freie OH-Gruppe) bzw. **14**.<sup>[13]</sup> Die Kupplungsprodukte wurden anschließend durch Esterverseifung, selektive Abspaltung der TES-Schutzgruppe von O-C15 (nur bei der Synthese von **3**), Yamaguchi-Makrolactonisierung und Freisetzung der OH-Gruppe an C7 in die 12/13-Desoxyzwischenprodukte **16** bzw. **17** überführt.

Auch hier führte die Makrolactonisierung zu jeweils zwei Isomeren (von denen wir annehmen, dass es sich um Epimere an C15 handelt), in beiden Fällen konnte das Hauptisomer jedoch auf der Stufe der 12/13-Desoxyverbindung (also nach Abspaltung der Schutzgruppe an O-C7) in reiner Form erhalten werden. Die Epoxidierung von **16** und **17** mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Pyridin in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in Gegenwart katalytischer Mengen an MeReO<sub>3</sub><sup>[14]</sup> lieferte dann die gewünschten Analoga von Epo A und B, Verbindungen **2** bzw. **3**, wobei jedoch zwischen den beiden Substraten ein erheblicher Unterschied in der Selektivität der Epoxidierung beobachtet wurde. So verlief die Reaktion von **16** lediglich mit einer Selektivität von 2:1 zugunsten des gewünschten Epoxidisomers; darüber hinaus gestaltete sich die Trennung der beiden Isomere als äußerst



**Schema 2.** a) 9-BBN (0.8 Äquiv.), THF, RT, 100 min, dann Zugabe zu einem Gemisch aus Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.5 Äquiv.), [PdCl<sub>2</sub>(dppf)] (0.2 Äquiv.), Ph<sub>3</sub>As (0.2 Äquiv.), Vinyliodid **13**, DMF, 0°C → RT, 75 min, 65%; b) LiOH (6 Äquiv.), iPrOH/H<sub>2</sub>O 4:1, 60°C, 45 min, 87%; c) 2,4,6-Cl<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>C(O)Cl, Et<sub>3</sub>N, THF, 0°C → RT, 30 min, dann Verdünnung mit Toluol und langsame Zugabe zu einer Lösung von DMAP in Toluol, RT, 2 h, 85% (4:1-Gemisch von Epimeren); d) HF-Pyridin, CH<sub>3</sub>CN, RT, 3 h, 68% (ein Isomer); e) MeReO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Pyridin, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT, 5 h, 16% (präparative DC); f) 9-BBN, THF, RT, 2 h, dann Zugabe zu einem Gemisch aus Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 Äquiv.), [PdCl<sub>2</sub>(dppf)<sub>2</sub>] (0.2 Äquiv.), Ph<sub>3</sub>As (0.2 Äquiv.), Vinyliodid **14** (1 Äquiv.), DMF, 0°C → RT, 2 h, 77%; g) LiOH (6 Äquiv.), iPrOH/H<sub>2</sub>O 4:1, 60°C, 3 h, 90%; h) Tetrabutylammoniumfluorid, THF, RT, 24 h, 75%; i) 2,4,6-Cl<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>C(O)Cl, Et<sub>3</sub>N, THF, 0°C, 15 min, dann Verdünnung mit Toluol und langsame Zugabe zu einer Lösung von DMAP in Toluol, RT, 1 h, 85% (10:1-Gemisch von Epimeren); j) HF-Pyridin, CH<sub>3</sub>CN, RT, 3 h, 54% (ein Isomer; 87% für Epimerengemisch); k) MeReO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Pyridin/H<sub>2</sub>O, RT, 30 min, 64% (10:1-Gemisch von Epoxidisomeren).



**13:** R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = I, R<sup>3</sup> = H  
**14:** R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = I, R<sup>3</sup> = TES  
**15:** R<sup>1</sup> = I, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = TES

schwierig, sodass **2** nach Reinigung mittels präparativer DC nur in einer Ausbeute von 16% rein isoliert werden konnte. Die Epoxidierung von **17** lieferte dagegen das gewünschte Isomer mit einer Selektivität von >10:1, und **3** wurde nach Reinigung durch präparative HPLC in 54% Ausbeute erhalten (die Gesamtausbeute für das Isomerengemisch betrug dabei 85%).

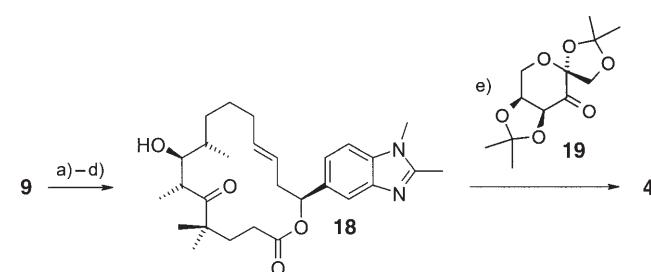
Beim Vergleich der Daten für **1** und **3** (Tabelle 1) wird ersichtlich, dass sich bei **3** durch den Austausch der natürlichen Seitenkette gegen eine Benzimidazoleinheit die Potenz gegen die sensitive KB-31-Zelllinie signifikant erhöht; gegen die multiwirkstoffresistente KB-8511-Linie wird eine etwas kleinere Aktivitätszunahme beobachtet. Verbindung **3** weist somit ein zwar geringes, aber doch klar detektierbares Aktivitätsdifferenzial zwischen der sensitiven und der resistenten Zelllinie auf, was darauf hindeutet, dass es sich bei **3** um ein Substrat für die P-gp-Auswärtspumpe handelt (wenn auch um ein relativ schlechtes). Einen ähnlichen Verlust der Aktivität gegen die KB-8511-Zelllinie beobachteten wir in einer früheren Studie auch für das entsprechende Benzimidazol-basierte Analogen von Epo B.<sup>[12b]</sup> darüber hinaus haben wir

wiederholt festgestellt, dass Analoga mit einer höheren Polarität als natürliche Epothilone (kleinerer clogP) unabhängig vom genauen Strukturtyp gegen KB-8511-Zellen weniger aktiv sind.<sup>[15]</sup> Andererseits sollte jedoch betont werden, dass **3** gegen die KB-31-Linie eine dem Epo B vergleichbare Aktivität aufweist. Auch die antiproliferative Aktivität des Analogs **2** liegt im gleichen Bereich wie die von Epo A und Taxol. Diese Befunde belegen eindeutig, dass der Einbau einer Dimethylbenzimidazolseitenkette den durch die Entfernung der OH-Gruppe an C3 verursachten Aktivitätsverlust ausgleichen kann, und zwar sowohl in der Epothilon-B- wie auch in der Epothilon-A-Reihe. Ähnliche Schlussfolgerungen ergeben sich auch für die 12/13-Desoxyverbindungen **16** und **17**, bei denen es sich um nur zweimal weniger aktive antiproliferative Substanzen handelt als bei Epo C bzw. D.<sup>[8]</sup>

Zwar weichen die Strukturen von **2** und **3** sowohl hinsichtlich des Makrocyclus wie auch der Seitenkette von denen der natürlichen Stammverbindungen Epo A bzw. Epo B ab, beide Analoga haben aber an den Positionen 12/13 immer noch eine *cis*-konfigurierte Epoxidgruppierung, die eines der wesentlichen Strukturmerkmale dieser Naturstoffe ist. Wir haben jedoch kürzlich zeigen können, dass das (12*S*,13*S*)-*trans*-Epo A (nicht aber das entsprechende (12*R*,13*R*)-Isomer) die Tubulinpolymerisation im gleichen Ausmaß induzieren kann wie Epo A und auch das Wachstum menschlicher Krebszellen mit gleicher Potenz hemmt.<sup>[12a,16]</sup> Angesichts der hohen biologischen Aktivität der Analoga **2** and **3** sollte somit die Modifizierung von (12*S*,13*S*)-*trans*-Epo A durch Entfernen der OH-Gruppe an C3 und Ersatz der natürlichen Seitenkette durch eine Dimethylbenzimidazoleinheit ein vielversprechender Ansatz für die Entwicklung stark modifizierter, aber immer noch potenter Epothilonanaloga sein. Diese strukturellen Vorgaben wurden in Verbindung **4** realisiert, die ebenfalls über die Schlüsselverbindung **9** erhalten wurde, in diesem Fall über eine *B*-Alkyl-Suzuki-Kupplung mit dem Vinyliodid **15**.<sup>[13]</sup> Aus dem Kupplungsprodukt wurde in vier Stufen die Desoxyverbindung **18** erhalten, die schließlich zur Zielverbindung **4** epoxidiert wurde (Schema 3).

Zur Epoxidierung von **18** zu **4** wurde das Fructosederivat **19** als Epoxidierungskatalysator verwendet;<sup>[17]</sup> sie lieferte, nach einfacher Flash-Chromatographie, reines **4** in 65 % Ausbeute an isoliertem Produkt. Dies ist eine wesentliche Verbesserung gegenüber der Epoxidierung von *trans*-Desoxy-Epo A unter ähnlichen Bedingungen, die trotz vergleichbarer Selektivität wegen des niedrigeren Umsatzes weit weniger effizient war; darüber hinaus war zur Isolierung von reinem (12*S*,13*S*)-*trans*-Epo A eine Reinigung durch präparative HPLC erforderlich, weshalb es lediglich in 13 % Ausbeute an isoliertem Produkt erhalten werden konnte.<sup>[12a]</sup>

Die Struktur von **4** unterscheidet sich von der nativen Epothilon-Grundstruktur deutlich, dennoch hat **4** immer noch eine bemerkenswert hohe biologische Aktivität (Tabelle 1). So sind sowohl die tubulinpolymerisierende wie auch die antiproliferative Aktivität von **4** praktisch identisch mit den entsprechenden Aktivitäten von Epo A und Taxol, wobei auch hier, wie im Falle der Analoga **2** und **3**, für die multiwirkstoffresistente Zelllinie KB-8511 eine etwas geringere Wachstumshemmung beobachtet wird als für die Taxol-sen-



**Schema 3.** a) 9-BBN (0.8 Äquiv.), THF, RT, 2 h, dann Zugabe zu einem Gemisch aus  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (1.5 Äquiv.),  $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2]$  (0.1 Äquiv.),  $\text{Ph}_3\text{As}$  (0.2 Äquiv.), Vinyliodid **15** (1 Äquiv.), DMF,  $-10^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 16 h, 58%; b)  $\text{LiOH}$  (6 Äquiv.),  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$  7:1, RT, 24 h, 76%; c) 2,4,6- $\text{Cl}_3\text{C}_6\text{H}_2\text{C}(\text{O})\text{Cl}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , THF,  $0^\circ\text{C}$ , 15 min, dann Verdünnung mit Toluol und langsame Zugabe zu einer Lösung von DMAP in Toluol, RT, 1 h, 71%; d) HF-Pyridin, THF, RT, 6 h, 94%; e) Oxone, Keton **19** (0.8 Äquiv.),  $\text{Bu}_4\text{N}(\text{HSO}_4)$  (kat.),  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeCN/DME/0.05 M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  in  $4 \times 10^{-4}$  M  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  1:1:1.3,  $0^\circ\text{C}$ , 3 h, 65% (86% unter Berücksichtigung wiedergewonnenen Ausgangsmaterials; ein Isomer); DME = Dimethoxyethan.

sitive KB-31-Linie. Angesichts der sehr hohen Expression von P-gp in der KB-8511-Zelllinie scheint es jedoch unwahrscheinlich, dass sich dieser geringe Unterschied in der zellulären Potenz in einer klinisch relevanten Weise pharmakologisch manifestieren würde; im übrigen sollte es möglich sein, dieses geringfügige Defizit durch den Einbau anderer Arten von anellierten heterocyclischen Seitenketten zu korrigieren.<sup>[12b]</sup>

Es ist uns durch Anwendung eines iterativen Ansatzes zur Modifizierung eines Naturstofftemplates gelungen, den neuen Mikrotubulstabilisator **4** zu entwickeln, den wir als Vertreter einer neuen Strukturklasse von Mikrotubulihemmern betrachten. Verbindung **4** und verwandte Verbindungen könnten das gleiche Potenzial zur pharmakologischen Differenzierung von den natürlichen Epothilonen aufweisen wie verschiedene neu entdeckte makrocyclische Naturstoffe mit mikrotubulstabilisierender Wirkung wie Laulimalid, Pelorusid oder Dictyostatin.<sup>[4]</sup> Dies wird auch durch erste Resultate von Ähnlichkeitsanalysen gestützt, die darauf hindeuten, dass sich **4** strukturell ähnlich stark von Epo A oder B unterscheidet wie Laulimalid oder Pelorusid.<sup>[20]</sup> Um festzustellen, ob sich **4** und nahe verwandte Strukturen in ihrem pharmakologischen Profil tatsächlich von Epo A und B abheben, werden sich unsere zukünftigen Arbeiten einerseits auf die Synthese größerer Mengen derartiger Verbindungen sowie auf deren weitergehende biologische Profilierung *in vitro* wie auch *in vivo* konzentrieren. Zudem werden wir die Auswirkungen weiterer Modifizierungen von **4** im C8-C11-Bereich und an der 2-Position des Benzimidazolkerns untersuchen, von denen sich nicht *a priori* vorhersagen lässt, ob sie die Effekte der entsprechenden Modifikationen der Struktur des Epo A/B widerspiegeln werden oder nicht.

Eingegangen am 21. Mai 2005  
Online veröffentlicht am 20. Oktober 2005

**Stichwörter:** Epothilone · Naturstoffe · Totalsynthese · Tumortherapeutika · Wirkstoff-Design

- [1] M. C. Lu in *Cancer Chemotherapeutic Agents* (Hrsg.: W. O. Foye), American Chemical Society, Washington, DC, **1995**, S. 345–368.
- [2] E. Hamel, *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 207–231.
- [3] E. K. Rowinsky, *Annu. Rev. Med.* **1997**, *48*, 353–374.
- [4] Für neuere Übersichtsartikel siehe z.B.: a) K.-H. Altmann, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 424–431; b) D. C. Myles, *Annu. Rep. Med. Chem.* **2002**, *37*, 125–132.
- [5] Für neuere Übersichtsartikel zum Potenzial von Naturstoff-basierten Bibliotheken für die Entdeckung neuer Leitstrukturen siehe: a) R. Breinbauer, I. R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3002–3015; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2878–2890; b) M. A. Koch, H. Waldmann, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 471–483.
- [6] a) G. Höfle, N. Bedorf, K. Gerth, H. Reichenbach, Deutsche Patentoffenbarung DE 4138042, 5. Mai, **1993** (Priorität 19. Nov. 1991); b) K. Gerth, N. Bedorf, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 560–564.
- [7] Für Übersichtsartikel siehe z.B.: a) K.-H. Altmann, *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *11*, 1595–1613; b) K.-H. Altmann, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2137–2152; c) C. R. Harris, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8434–8456; d) K. C. Nicolaou, F. Roschangar, D. Vourloumis, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2120–2153; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2014–2045.
- [8] Epo C und Epo D sind 12/13-Desoxyderivate von Epo A bzw. B, d.h., sie haben anstelle einer Epoxidgruppierung zwischen C12 und C13 eine *cis*-Doppelbindung.
- [9] a) A. Rivkin, T.-C. Chou, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2898–2910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2838–2850; b) A. Rivkin, F. Yoshimura, G. Fumihiko, A. E. Gabarda, Y. S. Cho, T.-C. Chou, H. Dong, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10913–10922.
- [10] a) A. Regueiro-Ren, K. Leavitt, S.-H. Kim, G. Höfle, M. Kiffe, J. Z. Gougoutas, J. DiMarco, F. Y. F. Lee, C. R. Fairchild, B. H. Long, G. D. Vite, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3815–3818; b) K.-H. Altmann, M. Wartmann, T. O'Reilly, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1470*, M79–M91.
- [11] T. Carloni, M. J. J. Blommers, J. Meiler, W. Jahnke, T. Schupp, F. Petersen, D. Schinzer, K.-H. Altmann, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2619–2621; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2511–2515.
- [12] a) K.-H. Altmann, G. Bold, G. Caravatti, D. Denni, A. Flörsheimer, A. Schmidt, G. Rihs, M. Wartmann, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 4086–4110; b) K.-H. Altmann, G. Bold, G. Caravatti, A. Flörsheimer, V. Guagnano, M. Wartmann, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2765–2768.
- [13] Zur Synthese von **14** siehe Lit. [12b]. Die Synthese von **13** und **15** wird an anderer Stelle publiziert.
- [14] J. Rudolph, K. L. Reddy, J. P. Chang, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6189–6190.
- [15] M. Wartmann, K.-H. Altmann, A. Flörsheimer, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [16] Siehe auch: a) K. C. Nicolaou, K. Namoto, A. Ritzen, T. Ulven, M. Shoji, J. Li, G. D'Amico, D. Liotta, C. T. French, M. Wartmann, K.-H. Altmann, P. Giannakakou, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9313–9323; b) 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**, *387*, 268–272.
- [17] Z.-X. Wang, Y. Tu, M. Frohn, J.-R. Zhang, Y. Shi, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11224–11235.
- [18] C. M. Lin, Y. Q. Jiang, A. G. Chaudhary, J. M. Rimoldi, D. G. Kingston, E. Hamel, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1996**, *38*, 136–140.
- [19] a) T. Meyer, U. Regenass, D. Fabbro, E. Alteri, J. Rösel, M. Müller, G. Caravatti, A. Matter, *Int. J. Cancer* **1989**, *43*, 851–856; b) K. C. Nicolaou, R. Scarpelli, B. Bollbuck, B. Werschken,
- M. M. Pereira, M. Wartmann, K.-H. Altmann, D. Zaharevitz, R. Gussio, P. Giannakakou, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 593–599.
- [20] Die strukturelle Ähnlichkeit wurde auf der Basis von Tanimoto-Koeffizienten evaluiert (d.h. durch Anwendung eines einfachen zweidimensionalen Fragment-basierten Ansatzes; siehe z.B. X. Chen, C. H. Reynolds, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 1407–1014). Ähnlichkeitsanalysen unter Verwendung alternativer Ansätze werden gegenwärtig durchgeführt und sollen an anderer Stelle publiziert werden.