

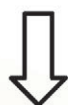
Apoptolidin: Induktion von Apoptose durch einen Naturstoff

Peter T. Daniel, Ulrich Koert* und Julia Schuppan

Stichwörter:

Apoptose · Naturstoffe · Totalsynthese · Wirkstoff-Design

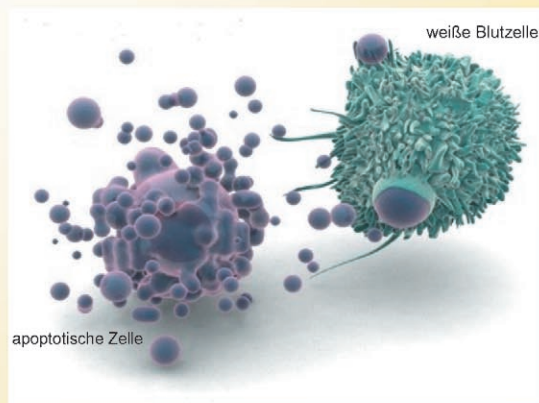
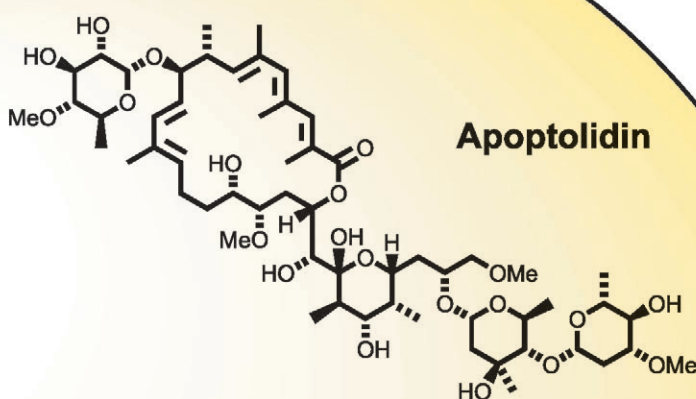
Naturstoffe



programmierter Zelltod

extrinsischer Mechanismus

intrinsischer Mechanismus



Der Naturstoff Apoptolidin führt selektiv bei bestimmten Krebszelllinien zum programmierten Zelltod. Dieser auch als Apoptose bezeichnete Vorgang ist ein wichtiger zellbiologischer Mechanismus zur Regulation von Homöostase und Morphogenese. Apoptotische Fehlregulationen sind mit verschiedenen Krankheiten verknüpft, insbesondere Krebs. Der extrinsische Weg zur Apoptose führt über Todesliganden und Todesrezeptoren zur Aktivierung einer Caspase-Kaskade, die den proteolytischen Abbau der Zellarchitektur bewirkt. Die intrinsisch ausgelöste Apoptose beginnt mit der Übermittlung von Schäden im Zellinnern an das Mitochondrium, das seine strukturelle Integrität verliert und ein Apoptosom bildet, das die Caspase-Kaskade auslöst. Apoptoseregulierende Verbindungen sind von großer medizinischer Bedeutung. Viele Naturstoffe regulieren apoptotische Abläufe, so auch Apoptolidin. Die bekannten synthetischen Zugänge zu Apoptolidin werden in diesem Aufsatz beschrieben und verglichen. Weitere apoptoseregulierende Naturstoffe werden ebenfalls kurz vorgestellt.

1. Einleitung

Für adulte vielzellige Organismen besteht ständig die Notwendigkeit, differenzierte, gealterte oder beschädigte Zellen auszutauschen. Dies setzt die Fähigkeit adulter Stammzellen voraus, sich zu teilen und zu differenzieren. In lebenden Organismen ist es wichtig, dass die Zahl der wachsenden Zellen konstant bleibt (Homöostase). Aus diesem Grund haben eukaryotische Zellen ein genetisch verankertes Programm, das den Zelltod kontrolliert. Dieser kontrollierte Typ des Zelltodes wird als Apoptose bezeichnet.^[1] Der Begriff Apoptose ist von dem griechischen Wort für das Herunterfallen des Herbstlaub abgeleitet. Vielzellige Organismen nutzen dieses Programm während der embryonalen Entwicklung, um überflüssige Zellen abzutöten und Körperteile auszubilden (Morphogenese). Ein bekanntes Beispiel für Apoptose ist die Rückbildung des Gewebes zwischen den Zehen des menschlichen Embryos zwischen Tag 51 und Tag 60 nach der Befruchtung der Eizelle (Abbildung 1). Ein weiteres Beispiel ist die Rückbildung des Kaulquappenschwanzes.

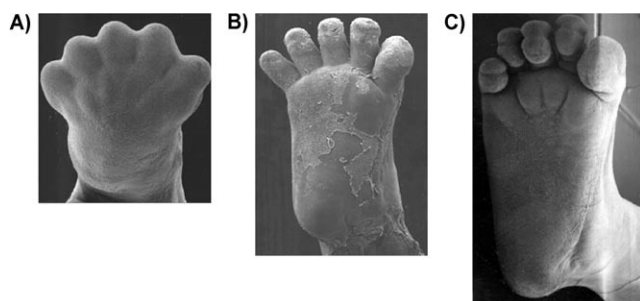


Abbildung 1. Morphogenese durch Apoptose; Rückbildung des Gewebes zwischen den Zehen eines menschlichen Embryos zwischen Tag 51 (A), 54 (B) und 60 (C) nach der Befruchtung.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	887
2. Biochemische Abläufe der Apoptose	888
3. Apoptolidin	890
4. Weitere apoptoseregulierende Naturstoffe	901
5. Schlussbemerkungen	905

Während der Apoptose durchläuft die Zelle einen Schrumpfungs- und Zerfallsprozess zu Vesikeln, die letztendlich durch das Immunsystem eliminiert werden (Abbildung 2 A). Die

Rolle der Apoptose während der Entwicklung eines Organismus ist für den Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) gut untersucht. Dieser bildet 1090 Zellen aus, von denen 131 wieder durch Apoptose eliminiert werden (Abbildung 2 B). Für die Beiträge zum Verständnis der Apoptose und ihrer Rolle im Leben vom *C. elegans* wurde Sydney Brenner, Robert Horvitz und John E. Solst 2002 der Nobelpreis für Medizin oder Physiologie verliehen.^[2] Obwohl *C. elegans*, *Drosophila* und weitere Modellorganismen^[3] die Untersuchung von grundlegenden Aspekten der Zelltodregulation vereinfacht haben, stammen die neuesten Ergebnisse dennoch aus Studien an Mäusen und Menschen. Dies wurde durch die großen Fortschritte in den Functional Genomics und das Klonen von gesamten Genomen unterstützt.

Die Apoptoseforschung trägt heute zum Verständnis und der Behandlung von Krankheiten bei.^[4–10] Wirkstoffe, die Apoptose regulieren und Apoptosedefizienz bei Krebszellen aufheben, haben daher große medizinische Bedeutung. Ein wichtiges Ziel ist es, niedermolekulare Verbindungen zu entwickeln, die selektiv Apoptose in Krebszellen induzieren. Dieser Ansatz könnte zu neuen Tumorthérapeutika führen. Naturstoffe sind hierzu besonders geeignete Strukturen, da sie aufgrund ihrer Funktion aus der Evolution hervorgegan-

[*] Prof. Dr. U. Koert

Fachbereich Chemie

Philipps-Universität Marburg

35032 Marburg (Deutschland)

Fax: (+49) 6421-282-5677

E-mail: koert@chemie.uni-marburg.de

Prof. Dr. P. T. Daniel

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie der Charité

Humboldt-Universität Berlin (Deutschland)

Dr. J. Schuppan

Chiracon GmbH

Biotechnologie Park, Luckenwalde (Deutschland)

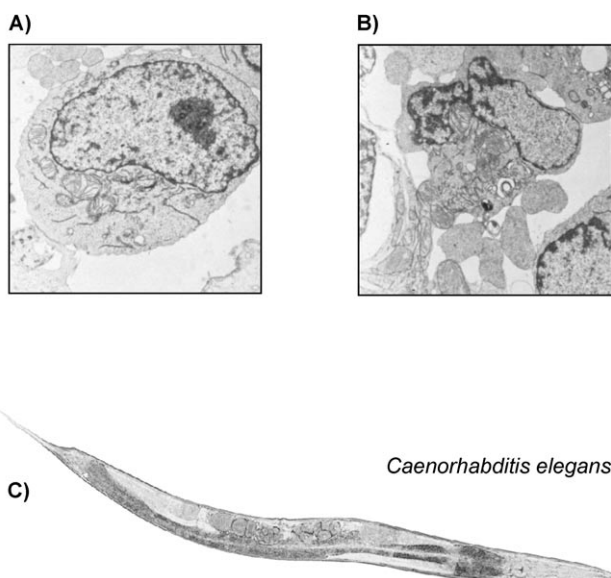


Abbildung 2. Normale (A) und apoptotische (B) Lymphomzellen; Bild von *C. elegans* (C).

gen sind, z.B. in Antwort auf den Selektionsdruck von Antibiotika.^[11] Diverse Naturstoffe sind dafür bekannt, Apoptose zu induzieren oder zu inhibieren. Repräsentative Beispiele sind Apoptolidin, Okadasäure, Cerulenin, Lactacystin, Bryostatin, Staurosporine, Taxane, Colchicine, Laulimalid, Geldanamycin und Betulinsäure. Pflanzen haben im Vergleich zur apoptotischen Signaltransduktion im Tierreich deutlich abweichende Methoden zur Regulation, Induktion und Ausführung des Zelltodes entwickelt.^[12] Das mag eine Erklärung für die bemerkenswerte Fähigkeit pflanzlicher Naturstoffe zur Induktion von Apoptose in Säugetierzellen sein, die für medizinische Zwecke z.B. zur Immunsuppression oder zur Behandlung von hyperproliferativen Krankheiten genutzt werden kann. Dieser Aufsatz fasst die biochemischen Mechanismen der Apoptose und ihre Modulation durch Naturstoffe, insbesondere durch Apoptolidin zusammen.

2. Biochemische Abläufe der Apoptose

2.1. Der programmierte Zelltod

Die Apoptose einer Zelle kann durch äußere Signale oder durch innere Mechanismen ausgelöst werden (Abbildung 3). Der extrinsische Mechanismus wird häufig genutzt, wenn ein Organismus beabsichtigt, überflüssige Zellen zu beseitigen. In diesem Fall senden die umgebenden Zellen ein Todessignal über einen Todesliganden aus, z.B. CD95 (APO-1, Fas), TRAIL oder TNF α , der an den jeweiligen Todesrezeptor

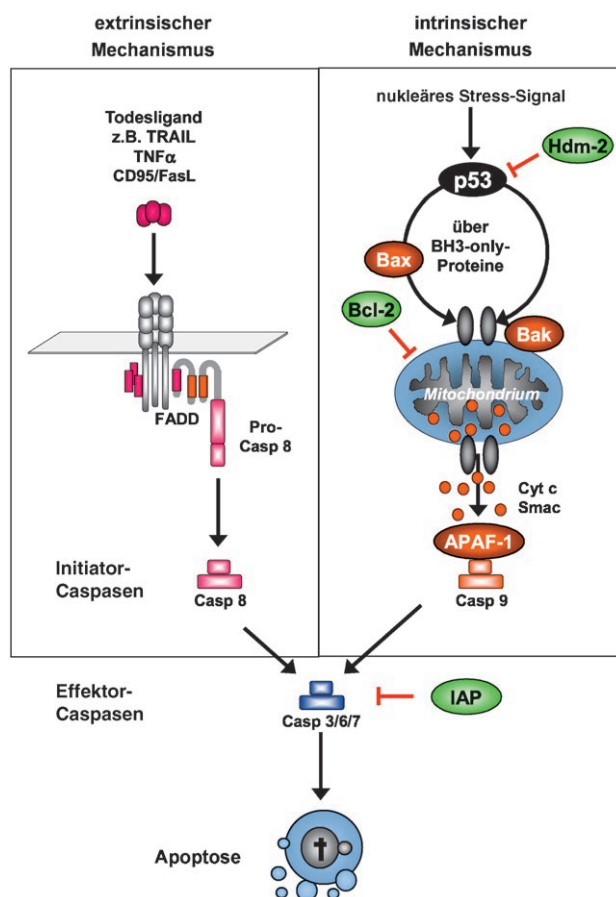


Abbildung 3. Der extrinsische und intrinsische Apoptosemechanismus.



Peter Daniel, geboren 1960, studierte Humanmedizin und promovierte 1987 an der Universität Tübingen. Im selben Jahr erlangte er auch seine Approbation als Arzt. Bis 1993 war er Postdoc am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg und wechselte anschließend an die Robert-Rössle-Klinik der Charité an der Humboldt-Universität zu Berlin. 2003 wurde er mit einer Arbeit zur Deregulation der Apoptose habilitiert. Seit 2004 leitet er die Arbeitsgruppe „Klinische und Molekulare Onkologie“ am Max Delbrück Centrum für Molekulare Medizin und ist Inhaber der gleichnamigen Professur an der Charité.



Ulrich Koert, geboren 1961 in Hanau, promovierte 1988 bei G. Quinkert an der Universität Frankfurt. Nach einem Postdoc-Aufenthalt bei J.-M. Lehn in Straßburg (1988–90) wechselte er an die Philipps-Universität Marburg, wo er 1994 habilitierte. Er wurde als C3-Professor an die Universität München (1996) und als C4-Professor an die Humboldt-Universität zu Berlin (1996–2001) berufen. Seit 2001 ist er Professor für organische Chemie an der Philipps-Universität Marburg. Seine Forschungsinteressen umfassen die Naturstoffsynthese, medizinische Chemie und funktionsorientierte Synthese (Ionenkanäle, molekulare Schalter).

bindet. Hierdurch wird die Ankopplung von Adapterproteinen, wie FADD oder TRADD, an die zytosolische Domäne des Rezeptors eingeleitet. Die Initiatorcaspen Caspase-8 oder Caspase-10 leiten den Zelltod über die Caspase-Kaskade ein.^[13]

Der intrinsische Apoptosemechanismus wird hingegen innerhalb der Zelle ausgelöst, z. B. durch DNA-Schäden oder durch genotoxischen Stress. Sobald die Zelle einen internen irreparablen Schaden feststellt, wird ein wichtiger apoptotischer Auslösemechanismus angesprochen, der sich am Mitochondrium befindet.^[14] Dieser Auslösemechanismus wird durch ein ausbalanciertes Gleichgewicht zwischen proapoptotischen, Bax-artigen und antiapoptotischen, Bcl-2-artigen Proteinen reguliert. Die genaue Regulierung von Bax und homologen Killerproteinen erfolgt, indem Bax durch proapoptotische BH3-only-Proteine aktiviert wird. Dies induziert eine Konformationsänderung von Bax, die eine Wanderung dieses Proteins vom Cytosol in die äußere Mitochondrienmembran bewirkt. Anschließende Oligomerisierung und Bildung von Kanälen, die die Freisetzung von zytotoxischen Faktoren vermitteln, lösen den Caspase-abhängigen Zelltod aus. Zu diesen Faktoren gehört Cytochrom C, das einmal ins Zytosol ausgeschüttet das Adapterprotein APAF-1 bindet. An diesen Komplex bindet die Initiatorcaspase-9. Smac, der zweite mitochondriale Aktivator des Zelltodes, beeinflusst die Bindung mit dem IAP-Protein, wodurch die Caspase aktiviert wird. Durch diese Blockierung des proteasomalen Abbaus der aktiven Caspase wird der Zelltod von menschlichen Krebszellen eingeleitet.^[15a]

Beide Apoptosemechanismen, der extrinsische und der intrinsische, sind miteinander verbunden. Das BH3-only-Protein Bid^[14,15b,c] beispielsweise wird von der Caspase-8 und der Caspase-3 zu t-Bid gespalten, das die Aktivierung von Bax oder des Bax-homologen Bak auslöst. Dieses kann zu einer Sensibilisierung des mitochondrialen Mechanismus für interne Todessignale führen.^[16,17a] In gleicher Weise könnte Smac die Caspase-Vorgänge über den extrinsischen Mechanismus erleichtern. Beispiele für synthetische Antagonisten des BH3-(Bcl-xL)-Komplexes wurden vor kurzem beschrieben.^[17b]

Unabhängig von der Einleitung der Apoptose erfolgt eine Kaskade von Caspase-Aktivierungen, die letztendlich zur Aktivierung der Caspasen-3, -6 und -7 führen.^[18,19a] Caspasen sind Cysteinproteasen, die das Zielpeptid an einer Aspara-

ginsäure spalten. Das grundlegende Prinzip von Apoptose-promotoren, die eine Kaskade auslösen und somit ausführende Enzyme wie die Caspasen aktivieren, entwickelte sich zu einem frühen Zeitpunkt der Evolution. Es kann bis zu archaischen Organismen wie *C. elegans* und möglicherweise noch einfacheren Organismen wie den fakultativ vielzelligen Schleimpilzen *Dictyostelium* zurückverfolgt werden, die eine Paracaspase aufweisen.^[3] Im Anschluss an die Caspase-Aktivierung werden Endonucleasen im Zellkern aktiviert, und die Auflösung der zellulären Biopolymere setzt ein.^[20a] Der zelluläre Abfall wird in apoptotischen Vesikeln (apoptotic bodies) deponiert, und diese oder die ganze Zelle werden rasch von Phagozyten beseitigt.^[20b] Anders als bei der Nekrose treten bei der Apoptose keine entzündlichen Reaktionen auf.

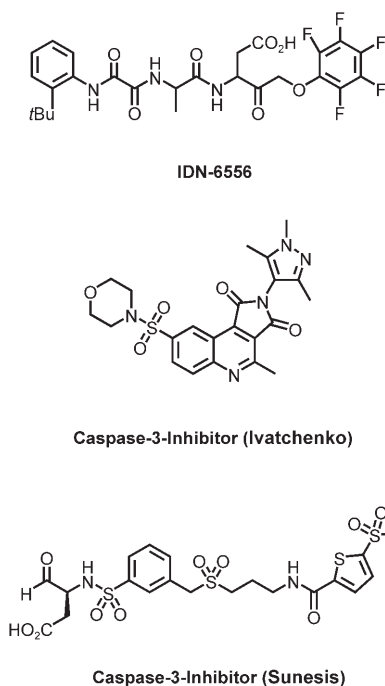
Bei intakten Zellen existiert ein vielschichtiger Kontrollmechanismus, der die verschiedenen proapoptotischen Mechanismen reguliert. Auf der Ebene des Todesrezeptors verhindern FLIP-Proteine die Bindung von Caspase an den Ligand-Rezeptor-Signalkomplex. IAP-Proteine binden an die aktive Caspase und wirken als E3-Ubiquitin-Ligasen, um aktive Caspasen durch das Proteasom abzubauen. Proteine der antiapoptotischen Bcl-2-Familie, wie Bcl-x_L, behindern die Bax-Aktivierung durch entweder direkte Bindung an Bax oder durch Abbau von BH3-only-Proteinen.

2.2. Caspasen als therapeutische Zielstrukturen

Die zentrale Rolle der Caspasen und im Besonderen der Caspase-3 bei apoptotischen Abläufen ist ein vielversprechender Ansatzpunkt für die Behandlung von Krankheiten, die durch übermäßigen apoptotischen Zellverlust gekennzeichnet sind.^[19b,c] Hierzu zählen neurodegenerative Störungen wie die Alzheimer-Krankheit oder spinale Muskelatrophie, aber auch die Beeinträchtigung der Durchblutung bei myokardialen Infarkten oder Schlaganfällen. Der apoptotische Zelltod spielt in den sauerstoffunterversorgten Bereichen und bei der Reperfusion eine entscheidende Rolle.^[20c] Hier könnte die Inhibierung der Caspase den Gewebeverlust begrenzen. Caspasen sind Cysteinproteasen, und jeder Inhibitor muss die hohe Nucleophilie der Thiolgruppe im aktiven Zentrum berücksichtigen. Aus diesem Grund enthalten die meisten der bekannten Inhibitoren eine stark elektrophile Gruppe und binden irreversibel.^[20d] Ausgewählte Caspaseinhibitoren sind in Schema 1 dargestellt. IDN-6556 ist ein in der klinischen Entwicklung befindlicher Caspaseinhibitor zur Behandlung von akuter Hepatitis der Leber oder entzündlicher Leberdegeneration nach Allotransplantationen.^[20e] Beispiele für Caspase-3-Inhibitoren wurden unter anderem durch Ivatchenko et al. beschrieben.^[20f] Sunesis Pharmaceuticals entwickelte einen Caspase-3-Inhibitor durch dynamische kombinatorische Chemie.^[20g,h]



Julia Schuppan, geboren 1973, studierte Chemie an der Humboldt-Universität zu Berlin und promovierte 2002 bei Prof. Koert mit einer Arbeit zur Totalsynthese von Apoptolidin. Nach einem Postdoc-Aufenthalt bei Prof. Feringa in Groningen, Niederlande, ist sie seit 2004 in der chemischen Forschung bei der Chiracon GmbH in Luckenwalde tätig.



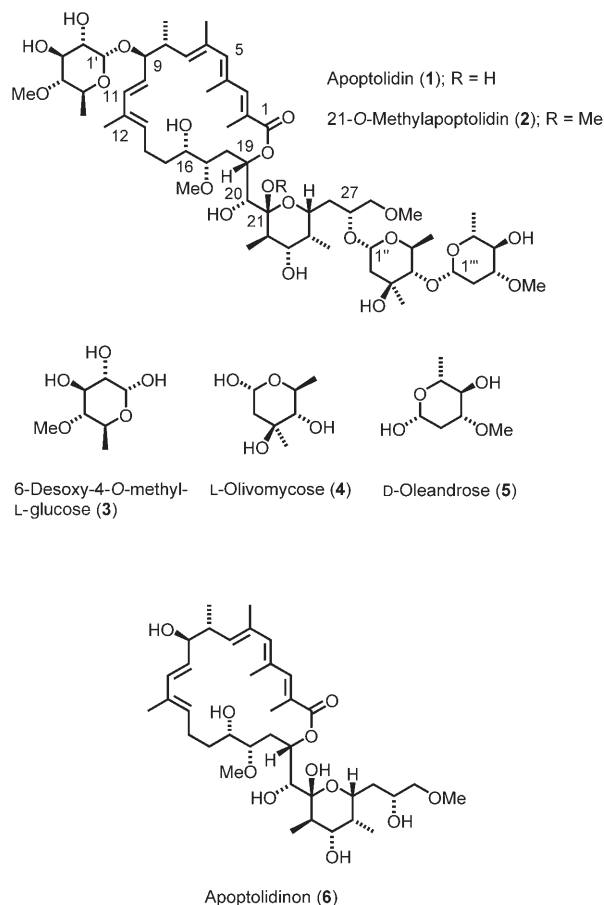
Schema 1. Ausgewählte Caspaseinhibitoren.

3. Apoptolidin

3.1. Struktur und Eigenschaften der Zielverbindung

Im Verlauf eines Screening-Programms mit dem Ziel, neue apoptoseauslösende Wirkstoffe aufzuspüren, wurde ein 20-gliedriges Makrolacton, Apoptolidin (**1**; Schema 2), aus *Nocardiopsis* sp. isoliert. Die Molekülstruktur von **1** wurde durch kombinierte spektroskopische Methoden aufgeklärt.^[21,22] Apoptolidin löst in mit Adenovirus-E1A-Onkogen transformierten Ratten-Gliazellen den apoptotischen Zelltod mit einem IC_{50} von 11 ng mL^{-1} aus. Bei einer Untersuchung des National Cancer Institutes, die 37 000 Substanzen in ihrer Wirksamkeit gegen menschliche Krebszelllinien beurteilen sollte, zeigte sich, dass Apoptolidin zur Gruppe der 0.1 % selektivsten Wirkstoffe gehört. Die apoptoseauslösende Wirkung von **1** wurde mit der Inhibierung der mitochondrialen F_0F_1 -ATPase korreliert.^[23] Dieses molekulare Target teilt sich Apoptolidin mit strukturell verwandten Makroliden wie Oligomycin und Ossamycin. Für die durch Apoptolidin ausgelöste Apoptose ist der p53-Zustand der Zellen nicht entscheidend. Sie wird durch Bcl-2 inhibiert und verläuft über die Aktivierung von Caspase-9.^[23b] In diesen Ergebnissen spiegelt sich die bedeutende Rolle des mitochondrialen Apoptoseweges bei der Wirkung von **1** wider.

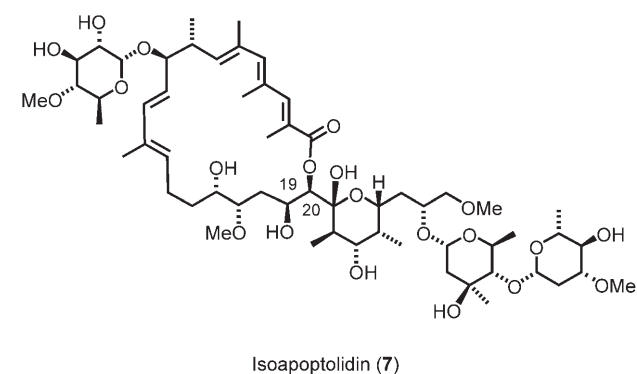
Apoptolidin (**1**) ist ein 20-gliedriges Makrolid mit einem cyclischen sechsgliedrigen Halbketal in der Seitenkette. 6-Desoxy-4-O-methyl-L-glucose (**3**; Schema 2) ist glycosidisch an O9 gebunden, und O27 ist mit einem Disaccharid aus L-Olivomycose (**4**) und D-Oleandrose (**5**) verknüpft. Die Zuckerreste sind eine Voraussetzung für die herausragende Bioaktivität des Naturstoffs.^[23c] Die Behandlung von **1** mit MeOH/Amberlyst-15 ergibt 21-O-Methylapoptolidin (**2**).^[24]



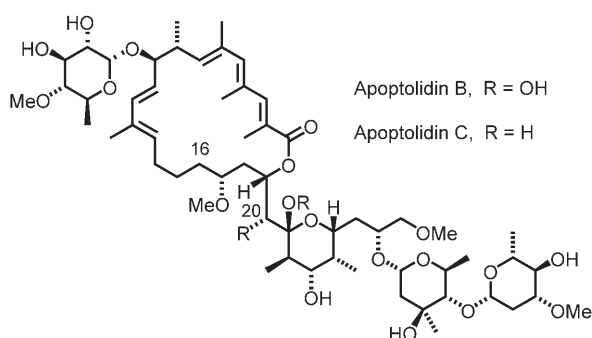
Schema 2. Strukturformeln des Naturstoffs Apoptolidin, der Zuckerreste und des Aglycons Apoptolidinon.

Das Aglycon von Apoptolidin wird Apoptolidinon (**6**) genannt.

Apoptolidin kann sich durch eine O19→O20-Acylverschiebung in das 21-gliedrige Makrolacton Isoapoptolidin (**7**) umlagern.^[25a,b] In gepufferter Lösung von pH 7 bei 37 °C wird nach 20 h ein Gemisch aus 62 % **1** und 38 % **2** erhalten.



Vor kurzem wurden zwei verwandte Naturstoffe isoliert und strukturell charakterisiert: Apoptolidin B und Apoptolidin C unterscheiden sich von Apoptolidin (**1**, = Apoptolidin).



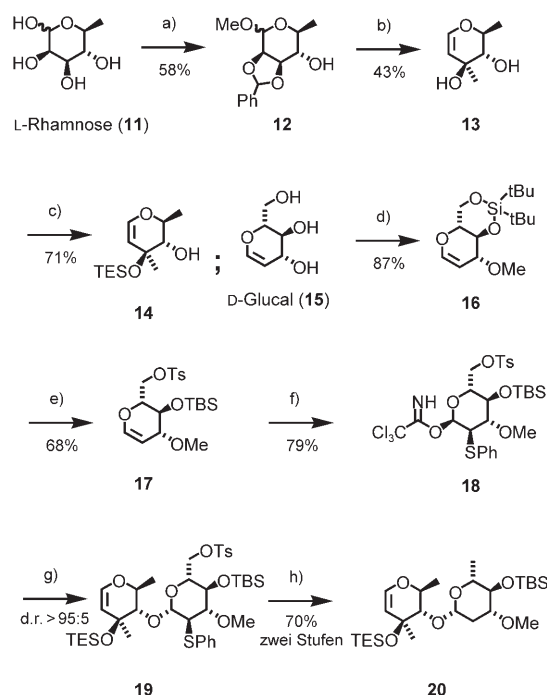
din A) durch das Fehlen der OH-Gruppe an C16 und abweichende Substituenten an C20.^[25c]

3.2. Die Marburger Synthese von Apoptolidin

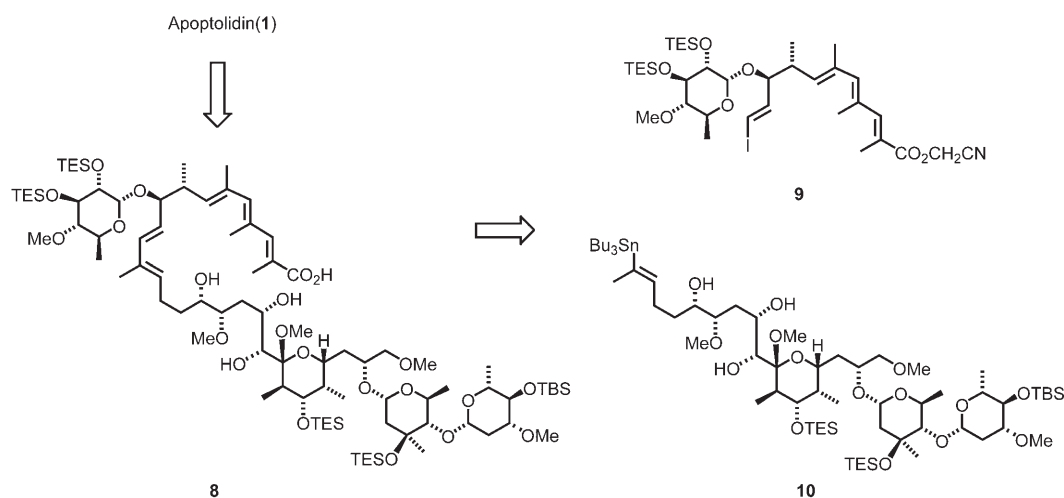
Bei den meisten Synthesen von glycosylierten Makroliden werden die Zuckerbausteine in einer der letzten Synthesestufen mit dem vollständigen Aglycon verknüpft. Bei dieser Strategie kann es zum Problem werden, eine bestimmte OH-Gruppe unter vielen selektiv zu glycosylieren. Außerdem ist dies eine lineare Synthesestrategie, die die Effizienz der Gesamtsynthese verringert. Ein von Koert et al. entwickelter Synthesepfad sah die Einführung der Zuckerreste zu einem sehr frühen Zeitpunkt vor und fußte auf der folgenden retrosynthetischen Betrachtung (Schema 3).^[26–28] Die Makrolactonisierung einer vollständig glycosylierten Vorstufe **8** zu **1** sollte am Syntheseende liegen. Auf Schutzgruppen an O16, O19 und O20 sollte man verzichten können, sofern eine ringgrößenselektive Makrolactonisierung von **8** möglich wäre. Eine Kreuzkupplung der glycosylierten Südhälfte **10** mit der glycosylierten Nordhälfte **9** erschien vielversprechend für den Aufbau von **8**.

Zwei Zuckerbausteine müssen für eine Apoptolidinsynthese bereitgestellt werden: ein Disaccharid aus L-Olivomycose und D-Oleandrose an O27 und 6-Desoxy-4-O-methyl-L-glucose an O9. Man entschied sich für das Glycal **20**

(Schema 4) als Vorstufe des Disaccharids, um eine stereo-kontrollierte α -Glycosylierung zu erreichen.^[26] Der Ausgangspunkt der Synthese von **20** war L-Rhamnose (**11**), die zu dem Benzyliden-geschützten Methylacetal **12** umgesetzt wurde. Die Behandlung von **12** mit 6 Äquivalenten Methyl-lithium^[29] ergab über eine Cyclohexanon-Zwischenstufe das



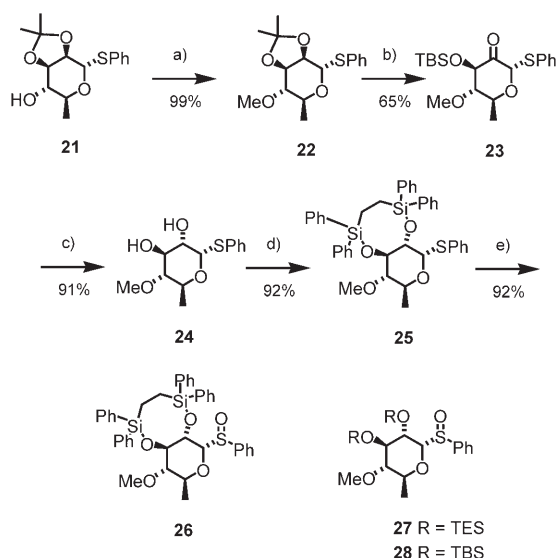
Schema 4. a) 1. MeOH, Dowex 50WX-8-200; 2. PhCH(OMe)₂, pTsOH, DMF; b) 6 Äquiv. MeLi, THF, 20°C, 30 h; c) 1. Ac₂O, Pyridin, DMAP, CH₂Cl₂; 2. TESOTf, Lutidin; 3. DIBALH, CH₂Cl₂, –60°C; d) 1. tBu₂Si(OTf)₂, Lutidin, DMF/CH₂Cl₂ 1:1, –50°C; 2. MeI, Ag₂O; e) 1. TBAF, THF; 2. pTsCl, Pyridin, CH₂Cl₂, 0°C; 3. TBSOTf, Lutidin, CH₂Cl₂; f) 1. PhSiCl₃, CH₂Cl₂; 2. Ag₂CO₃, CH₃CN/H₂O 9:1; 3. Cl₃CCN, NaH; g) **14**, TMSOTf, Et₂O, –60°C, 1 h; h) 1. NaI, DMF, 90°C, 2 h; 2. nBu₃SnH, AIBN, Toluol, 100°C, 7 h, 70% über 3 Stufen. DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, DIBALH = Diisobutylaluminiumhydrid, TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid, AIBN = Azobisisobutyronitril. d.r. = Diastereomerenverhältnis.



Schema 3. Retrosynthetische Analyse von Apoptolidin nach Koert et al.

Glycol **13**, das nach Schützen der OH-Gruppe als Olivomycal-Baustein **14** fungierte. D-Glucal (**15**) wurde an O4 und O6 als Silylether geschützt und durch Methylieren an O3 in Verbindung **16** überführt. Desilylierung, anschließende Tosylierung der primären OH-Gruppe und Schützen des sekundären Alkohols als TBS-Ether (*tert*-Butyldimethylsilyl)^[*] ergab **17**. Die selektive β -glycosidische Verknüpfung zum Disaccharid erforderte die vorübergehende Einführung eines Thiophenylrestes an C2 des D-Oleandrose-Bausteins **17**.^[30] Dazu wurde **17** zunächst mit PhSCl und dann mit Ag₂CO₃ in H₂O/CH₃CN behandelt und das erhaltene α -anomere Halbacetal zum Trichloracetimidat **18** umgesetzt. Die TMSOTf-vermittelte (Trimethylsilyltriflat) Glycosylierung von **14** und **18** ergab das Disaccharid **19** mit sehr guter β -Selektivität. Die Substitution des Tosylats zu einem Iodid und eine radikalische Defunktionalisierung des Iod- und Thiophenylrestes in einem Schritt schlossen die Synthese des geschützten Disaccharid-Bausteins **20** ab.

L-Rhamnose ist ein geeigneter Ausgangsstoff für die Synthese des Zuckerrestes an O9 von Apoptolidin. Sowohl Nicolaou^[31] als auch Koert^[26] nutzten das Acetonid-geschützte Thioglycosid der L-Rhamnose (**21**)^[32] als leicht zugänglichen Baustein. Der sekundäre Alkohol von **21** wurde durch O-Methylierung in **22** überführt (Schema 5). Aceto-

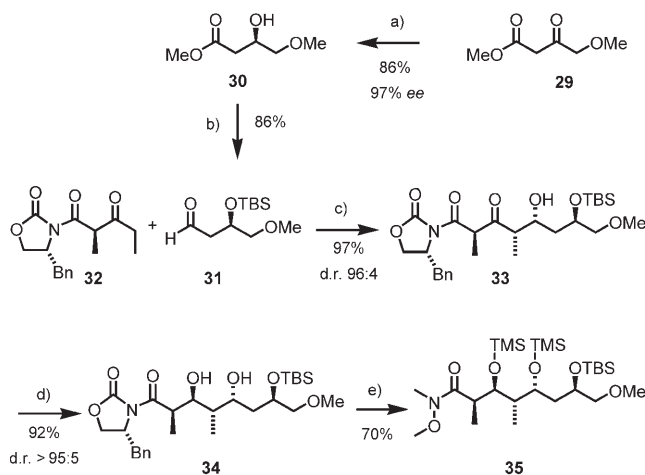


Schema 5. a) MeI, KOH, DMF, 0°C; b) 1. *p*TsOH, MeOH; 2. TBSCl, Imidazol, DMAP, CH₂Cl₂; 3. Dess-Martin-Periodinan; c) 1. NaBH₄, MeOH, 0°C, 15 min; 2. TBAF, THF; d) Ph₂Si(Cl)CH₂CH₂Si(Cl)Ph₂, Imidazol, DMF, 0°C, 1 h; e) *m*CPBA, CH₂Cl₂, -78 → -20°C, 2 h, 2:1-Epimerengemisch. *m*CPBA = *meta*-Chlorperbenzoesäure.

nidsplaltung, Schutz der OH-Gruppe an C3 als TBS-Ether und nachfolgende Oxidation des verbleibenden Alkohols ergaben das Keton **23**. Eine hochselektive Reduktion von **23** mit NaBH₄ erzeugte den entsprechenden Alkohol, der zum Diol **24** desilyliert wurde. Die Auswahl der richtigen Schutzgruppen an O2/O3 war von entscheidender Bedeutung für die erfolgreiche Glycosylierung der Nordhälfte. Eine α -selektive

Glycosylierung erfordert eine passive Schutzgruppe an O2, die in Gegenwart des mehrfach ungesättigten, säurelabilen Aglycons abgespalten werden kann. Silylether erschienen als gute Wahl. Nach mehreren erfolglosen Glycosylierungsversuchen (Trichloracetimidat, Glycosylfluorid, Thioglycosidaktivierung durch PhSOTf) wurde versucht, den Glycosyldonor als Sulfoxid nach dem Kahne-Protokoll zu aktivieren.^[33] Die doppelt TES- und doppelt TBS-geschützten Sulfoxide **27** und **28** erbrachten unbefriedigende Glycosylierungsergebnisse, weshalb eine neue Schutzgruppe, das 1,1,4,4-Tetraphenyl-1,4-disilabutyl (SIBA), entwickelt wurde. Die Umsetzung des Diols **24** mit 1,4-Dichlor-1,1,4,4-tetraphenyl-1,4-disilabutan (SIBACl₂)^[34] ergab den Disilylether **25** in 92% Ausbeute. Die nachfolgende Oxidation mit *m*CPBA führte zum gewünschten SIBA-geschützten Glycosylsulfoxid **26**.

Nach Herstellung beider Zuckerreste konzentrierte man sich auf die Synthese der glycosylierten Nord- und Südhälfte. Ausgangspunkt der Synthese der Südhälfte war der β -Keto-ester **29** (Schema 6).^[26–28] Eine durch Ru-Binap (Binap = 2,2'-Bis(diphenylphosphanyl)-1,1'-binaphthyl) katalysierte Hy-

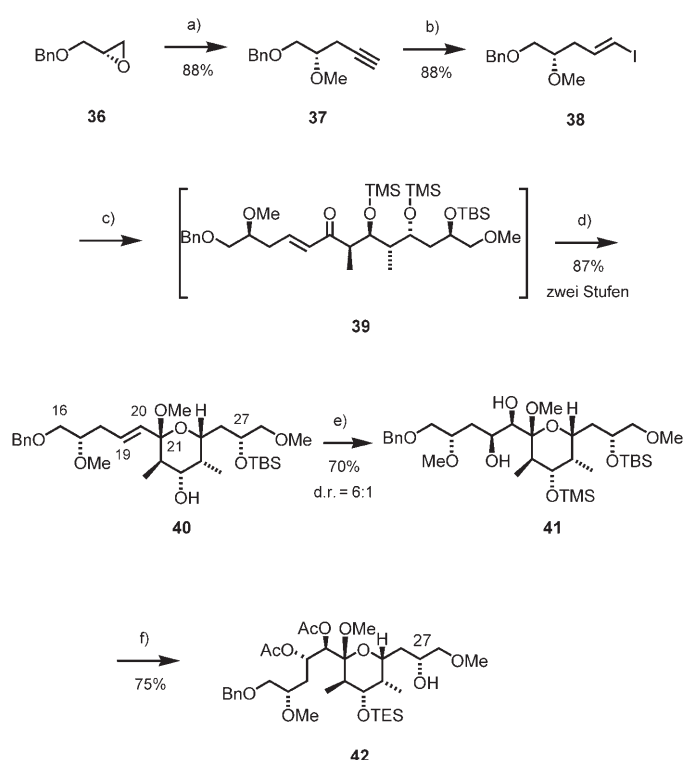


Schema 6. a) [Ru{(S)-Binap}], H₂, MeOH, DMF, 95°C; b) 1. TBSCl; 2. DIBAH, Hexan, -78°C; c) Sn(OTf)₂, Et₃N, CH₂Cl₂; d) NaBH(OAc)₃, HOAc, CH₃CN, -20 → 25°C; e) 1. AlMe₃, Me(MeO)NH₂·HCl, HOAc, CH₂Cl₂, -10°C; 2. TMSCl.

drierung von **29** ergab den β -Hydroxyester **30** mit 97% ee (bestimmt durch HPLC). Dieser wurde als TBS-Ether geschützt und zum Aldehyd **31** reduziert. Aus einer stereokontrollierten, durch Zinntriflat vermittelten Aldolreaktion^[35] von **31** mit dem β -Ketoimid-Baustein **32**^[36] wurde das Aldoladditionsprodukt **33** in 97% Ausbeute mit einem Diastereomerenverhältnis von 96:4 erhalten. Die Konfiguration der zwei neuen Stereozentren wurde auf einer späteren Stufe durch Röntgenkristallstrukturanalyse aufgeklärt.^[28] Die *anti*-selektive Reduktion^[37] des 1,3-Hydroxyketons **33** mit NaBH(OAc)₃ zum 1,3-Diol **34** verlief mit sehr guter Stereoselektivität in 92% Ausbeute. Eine Transamidierung ergab das entsprechende Weinreb-Amid in 81% Ausbeute, dessen zwei OH-Gruppen als TMS-Ether in Verbindung **35** geschützt wurden.

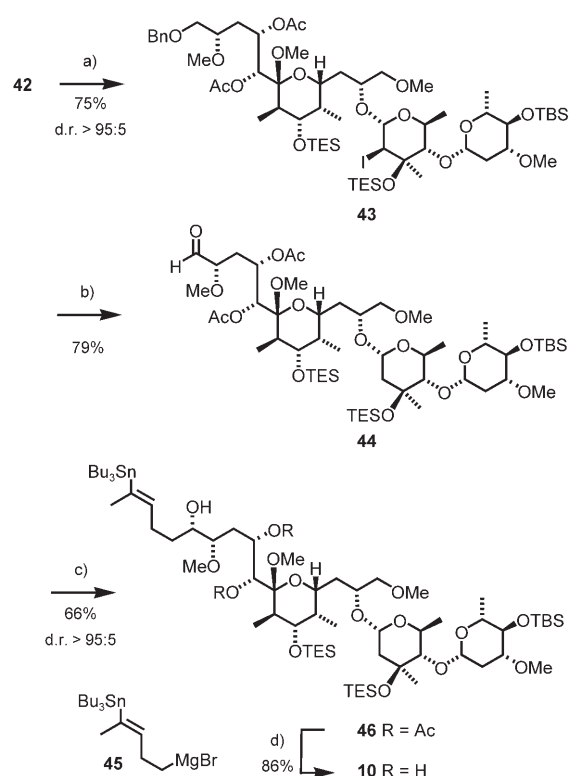
[*] Ein Abkürzungsverzeichnis findet sich am Ende des Aufsatzes.

Ein weiterer C₅-Baustein der Südhälfte, **38**, wurde durch Epoxidöffnung des benzylgeschützten (*R*)-Glycidols **36** erhalten (Schema 7).^[26–28] Nachfolgende O-Methylierung und TMS-Entschützung ergaben das Alkin **37**, das durch Hydrozirconierung/Iodierung zum gewünschten (*E*)-Alkenyliodid **38** reagierte. Dieses wurde durch Halogen-Metall-Austausch zur entsprechenden Organolithiumverbindung umgewandelt und mit dem Weinreb-Amid **35** zum Keton **39** umgesetzt. Protodesilylierung der beiden TMS-Ether in MeOH/CH₂Cl₂ führte über eine spontane Cyclisierung zum Ketal **40**. Schützen der Alkoholfunktion an C23 als TMS-Ether (Trimethylsilyl) und anschließende substratkontrollierte Dihydroxylierung (d.r. 6:1) ergaben das Diol **41**. Das Diastereomerenverhältnis ließ sich durch verschiedene asymmetrische Varianten der Dihydroxylierung nicht verbessern. Das Diol **41** wurde diacetyliert und der TES-Ether an C27 zum Alkohol **42** gespalten.



Scheme 7. a) 1. LiCCSiMe₃, BF₃·OEt₂, THF, –78 °C; 2. LiHMDS, MeI, THF, 0 → 20 °C; 3. TBAF; b) [Cp₂ZrCl₂], LiEt₃BH, NIS, THF, 20 °C; c) *t*BuLi, Et₂O, –78 °C; **35**; d) PPTS, MeOH, 0 °C; e) 1. TMSCl; 2. K₂O₂(OH)₄, NMO; *t*BuOH/H₂O; 20 °C, 9 d, 78%; f) 1. Ac₂O, Pyridin; 2. TBAF, THF, 0 °C; 3. TESCl; 4. TBAF, 0 °C. Cp = Cyclopentadienyl, NIS = *N*-Iodsuccinimid, PPTS = Pyridinium-*p*-toluolsulfonat, NMO = *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid.

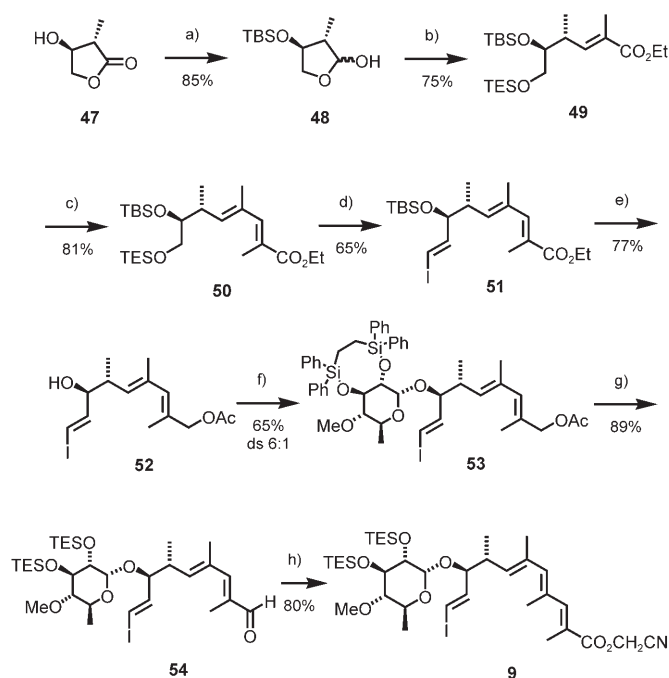
Der Glycosylacceptor **42** wurde mit dem Disaccharid-Glycal **20** mit hoher α -Selektivität (> 95:5) zum Glyconjugat **43** umgesetzt (Schema 8).^[38] Nach reduktiver Entfernung des bei der Glycosylierung eingeführten Iodids und Spaltung des Benzylethers wurde der entsprechende Alkohol nach Dess-Martin zum Aldehyd **44** oxidiert. Eine chelatkontrollierte Addition der Grignard-Verbindung **45** an den Aldehyd **44** lieferte die vollständig glycosylierte Südhälfte **46**.



Scheme 8. a) 1.2 Äquiv. NIS, MS 4 Å, CH₃CN, 0 → 20 °C, 70 h; b) 1. *n*Bu₃SnH, AIBN; dann 1 M KF in H₂O; 2. H₂/Pd(OH)₂; 3. Dess-Martin-Periodinan; c) Et₂O, 7 Äquiv. MgBr₂, –78 °C; d) KCN, MeOH, 40 °C, 16 h.

Bemerkenswert an dieser Reaktion ist die Tolerierung des Alkenylstannylrestes in Gegenwart einer Organomagnesiumspezies. Abschließend wurden die Acetatschutzgruppen der Verbindung **46** durch KCN in MeOH zur gewünschten Südhälfte **10** gespalten.

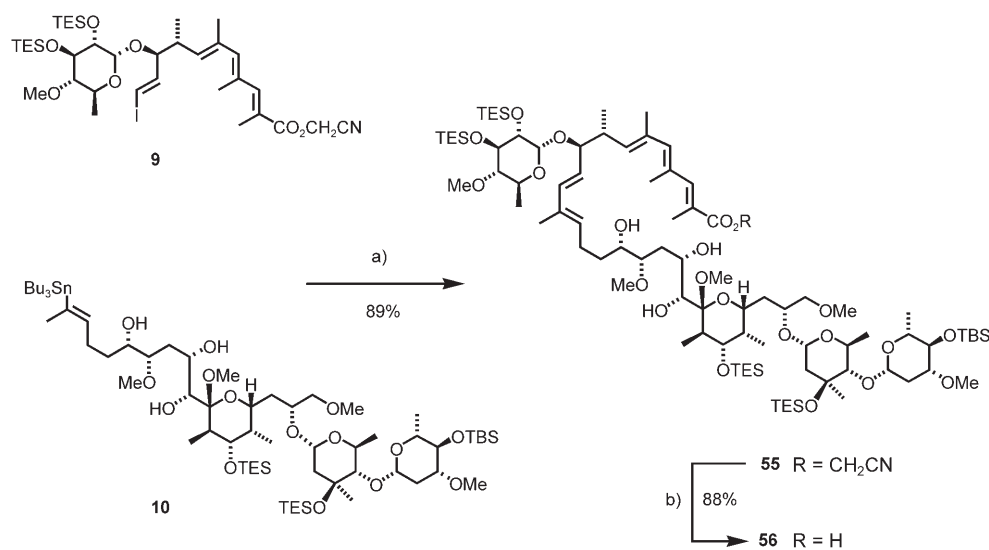
Ausgangspunkt der Synthese der Nordhälfte **9** war das β -Hydroxylacton **47**, das als TBS-Ether geschützt und nachfolgend zum Lactol **48** reduziert wurde (Schema 9).^[26,27] Die doppelte Anwendung einer *E*-selektiven Wittig-Reaktion führte über **49** zum Dien **50**. Eine selektive Spaltung des TES-Ethers und nachfolgende Dess-Martin-Oxidation ergaben einen Aldehyd, der durch eine Takai-Reaktion in das (*E*)-Alkenyliodid **51** überführt werden konnte. Die Reduktion des Esters und anschließende Acetatschutzung des Alkohols, sowie Spaltung des TBS-Ethers, ergaben den Glycosylacceptor **52**. Anfängliche Versuche, das doppelt TES-geschützte Glycosylsulfoxid **27** als Glycosyldonor einzusetzen, scheiterten am Verlust der TES-Gruppen unter den Reaktionsbedingungen (Tf₂O, DTBMP, –80 → –35 °C). Das stabilere doppelt TBS-geschützte Glycosylsulfoxid **28** erbrachte zwar das gewünschte Glycosid mit 50 % Ausbeute, jedoch mit einer geringen Stereoselektivität von α/β = 66:33. Demgegenüber lieferte die Reaktion des SIBA-geschützten Glycosylsulfoxids **26** mit **52** das erwartete Produkt **53** mit 65 % Ausbeute und einer akzeptablen Selektivität (α/β = 85:15). Die letzte Aufgabe vor Vollendung der Nordhälfte war die Einführung des ungesättigten Esters an C1–C3. Zunächst wurde jedoch für die finale Entschützung die SIBA-Gruppe gegen TES-Ether ausgetauscht. Anschließend wurde das Allylacetat in den



Schema 9. a) 1. TBSOTf; 2. DIBAH; b) 1. $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CCH}_3\text{CO}_2\text{Et}$; 2. TESCl; c) 1. DIBAH; 2. MnO_2 ; 3. $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CCH}_3\text{CO}_2\text{Et}$; d) 1. CSA, MeOH/ CH_2Cl_2 ; Dess-Martin-Periodinan; CrCl_2 , CH_3I ; THF, Dioxan; e) 1. DIBAH, -78°C ; 2. Ac_2O ; 3. TBAF, THF, 0°C ; f) **26**, TiF_4 , DTBMP, -80°C , 10 min; dann **52**, MS 4 Å, Et_2O ; -78°C \rightarrow -30°C , 30 min; g) 1. TBAF; 2. TESCl; 3. LiOH; 4. MnO_2 ; h) 1. $(\text{EtO})_2\text{POCH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{H}$, NaH, THF, $0 \rightarrow 35^\circ\text{C}$, 30 min; 2. ClCH_2CN , Et_3N , MeCN, $0 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 14 h. DTBMP = 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridin, CSA = Camphersulfonsäure.

Aldehyd **54** umgewandelt. Eine Wittig-Horner-Emmons-Reaktion mit nachfolgender Veresterung ergab dann die vollständig glycosylierte Nordhälfte von Apoptolidin, den Cyanmethylester **9**.

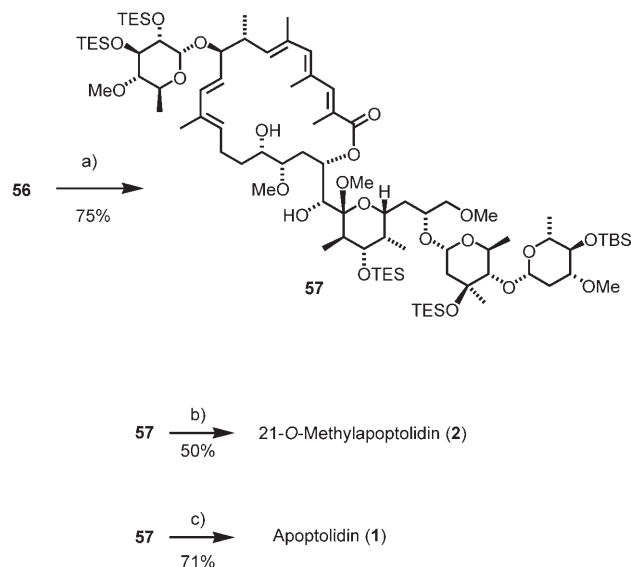
Die Kreuzkupplung der Süd- mit der Nordhälfte (**9** + **10** \rightarrow **55**) wurde mit Cu^{I} -Thiophen-2-carboxylat (Cu-Tc) in NMP ausgeführt (Schema 10).^[39] Palladium-vermittelte Kupplun-



Schema 10. a) Cu-Tc, NMP, -5°C ; b) LiOH, THF, MeOH; 20°C , 2 h.

gen erforderten höhere Temperaturen und erbrachten geringere Ausbeuten. Der Cyanmethylester **55** konnte unter sehr milden Bedingungen (LiOH, 20°C , 2 h) zur Säure **56** hydrolysiert werden, ohne dass Nebenreaktionen des Triensystems oder der TES-Ether beobachtet wurden. Der entsprechende Methylester, der sich bei der Aglyconsynthese bewährt hatte,^[27] konnte nicht zur Herstellung von **55** verwendet werden, da seine Hydrolyse zu unerwünschten Nebenprodukten führte.

Eine Ringgrößen-selektive Makrolactonisierung von **56** ergab das 20-gliedrige Lacton **57** in 75 % Ausbeute (Schema 11). Die finale Entschützung erforderte eine sorg-

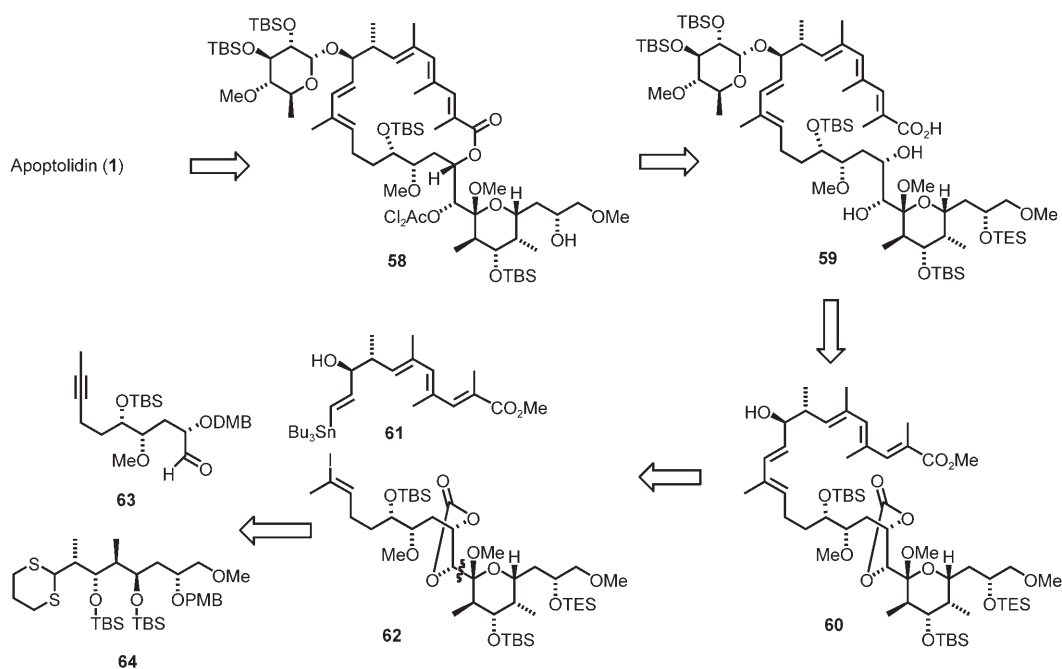


Schema 11. a) 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid, Et_3N , THF, 6 h; Toluol, DMAP, $c = 3 \times 10^{-4} \text{ M}$; b) HF, Pyridin, THF, 20°C , 5 d; c) H_2SiF_6 25 % in H_2O , CH_3CN , $-40 \rightarrow -20^\circ\text{C}$, 2 d, -10°C , 1 d.

fältige Auswahl der Reagentien und eine genaue Optimierung der Reaktionsbedingungen. Mit HF-Pyridin in THF/Pyridin bei Raumtemperatur wurden in 5 d alle Silylether gespalten, das Methylketal blieb aber zurück, sodass synthetisches 21-O-Methylapoptolidin (**2**) erhalten wurde. Eine vollständige Entschützung zu Apoptolidin (**1**) gelang mit 25 % wässriger H_2SiF_6 in CH_3CN bei $-40 \rightarrow -10^\circ\text{C}$.

3.3. Synthese von Apoptolidin nach Nicolaou et al.

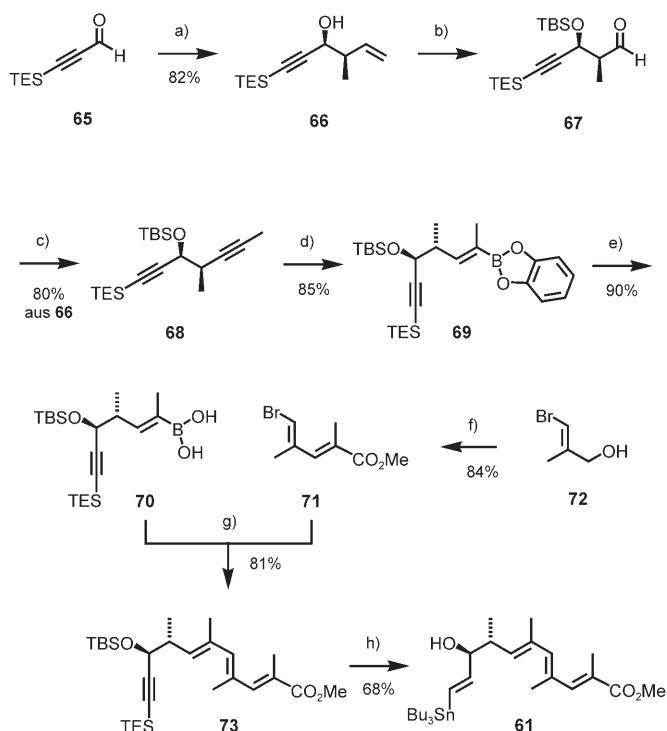
Nicolaous retrosynthetische Analyse von Apoptolidin basiert auf einer möglichst späten Anbringung des labilen Disaccharids an O27 (Schema 12).^[31] Damit besteht der letzte Abschnitt der Synthese in der stereoselektiven Glycosylierung des



Schema 12. Retrosynthetische Analyse von Apoptolidin nach Nicolaou et al.

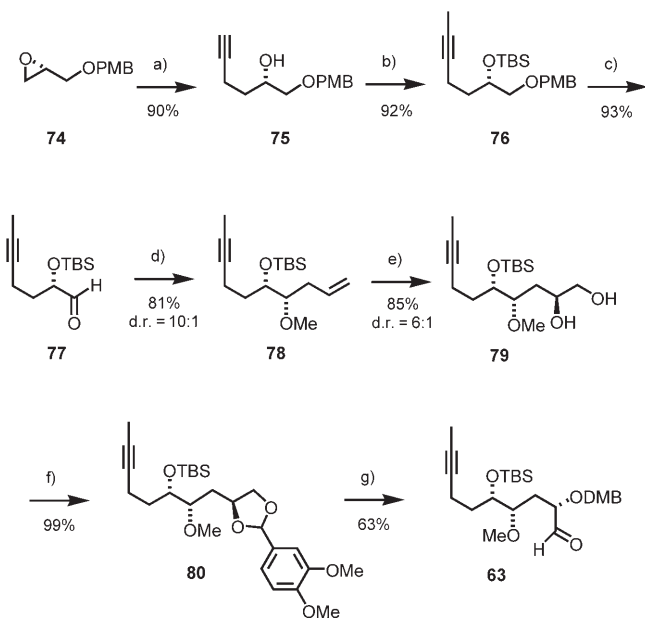
Glycosylacceptors **58**. Das Makrolid **58** geht aus der Dihydroxysäure **59** hervor. Diese planten Nicolaou et al. durch die Glycosylierung der Vorstufe **60** an O9 herzustellen. Eine Stille-Kupplung des Alkenylstannans **61** mit dem Alkenyliodid **62** sollte dazu genutzt werden, die Verbindung **60** aufzubauen. Das Alkenyliodid **62** sollte schließlich durch Umsetzung des Aldehyds **63** mit dem Dithian **64** zugänglich sein.

Die Synthese des C1-C11-Fragments **61** begann mit der asymmetrischen Crotylierung des Aldehyds **65** durch Browns (Z)-(+)-Crotyldiisopinocampheylboran zum *syn*-Addukt **66** als einzigem Stereoisomer (Schema 13).^[31] Der Alkohol **66** wurde als TBS-Ether geschützt und die terminale Doppelbindung chemoselektiv zum Aldehyd **67** ozonisiert. Ausgehend von **67** entwickelten Nicolaou et al. eine lineare und auch eine konvergente Synthese des benötigten Alkenylstannans **61**, von denen die effizientere konvergente Route an dieser Stelle beschrieben wird. Durch Umsetzen des Aldehyds **67** mit dem Ohira-Bestmann-Reagens wurde ein terminales Alkin erhalten, das zu **68** methyliert wurde. Dieses konnte chemoselektiv mit Catecholboran in Gegenwart katalytischer Mengen 9-BBN zum Vinylboronat **69** hydroboriert werden. Bemerkenswerterweise wurde bei dieser Hydroborierung ausschließlich das gewünschte Regioisomer beobachtet. Die Hydrolyse von **69** ergab die Boronsäure **70**, die in einer Suzuki-Kupplung mit dem Alkenylbromid **71** zum konjugierten Methylester **73** reagierte. Das Alkenylbromid **71** konnte ohne Schwierigkeiten aus dem literaturbekannten Allylalkohol **72** in drei Stufen hergestellt werden. Die Abspaltung der Silylgruppen in **73** und nachfolgende Pd-katalysierte Hydrostannylierung lieferten das (*E*)-Alkenylstannan **61** in 68% Ausbeute. Das regioisomere Hydrostannylierungsprodukt wurde nicht beobachtet, jedoch erwies sich das Produkt **61** bei Raumtemperatur als thermisch labil.



Schema 13. a) (Z)-(+)-Crotyldiisopinocampheylboran, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, THF, -78°C , 6 h; $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, THF, H_2O ; b) 1. TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , 0°C , 2 h; 2. O_3 , Sudanrot 7B, CH_2Cl_2 , -78°C ; dann PPh_3 , $-78 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 12 h; c) 1. $(\text{MeO})_2\text{POC}(\text{=N}_2)\text{COCH}_3$, NaOMe, THF, $-78 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 1 h; 2. $n\text{BuLi}$, MeI, $-78 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 2 h; d) Catecholboran, 9-BBN, 80°C ; e) Phosphatpuffer (pH 7), THF, 25°C , 2 h; f) 1. MnO_2 , $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{Et}$, CH_2Cl_2 , 25°C , 42 h; 2. LiOH, THF, H_2O , 25°C , 12 h; 3. CH_2N_2 , Et_2O , 0°C , 30 min; g) $[\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2]$, NaOAc, MeOH, 70°C , 5 h; h) 1. TBAF, THF, $0 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 1 h; 2. $n\text{Bu}_3\text{SnH}$, $[\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}_2]$, THF, 0°C , 30 min. 9-BBN = 9-Borabicyclononan.

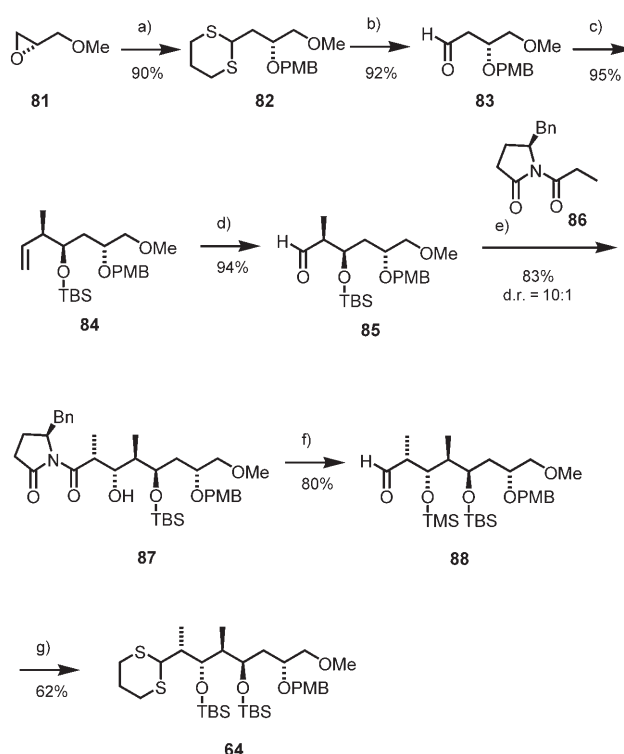
Die Synthese des Aldehyds **63** begann mit der Öffnung des Epoxids **74** durch Allenylmagnesiumbromid zum Alkohol **75**, der über den TBS-Ether **76** zum Aldehyd **77** umgesetzt wurde (Schema 14). Eine stereoselektive Allylierung von **77** und die nachfolgende Methylierung des Alkohols ergaben **78**, dessen terminale Doppelbindung mit einem selbst hergestellten AD-Mix asymmetrisch zu **79** dihydroxyliert wurde. Durch Umwandlung des Diols in das 3,4-Dimethoxybenzylidenacetal **80**, anschließende regioselektive Ringöffnung mit DIBAH und Oxidation des primären Alkohols nach Parikh-Döring konnte der Aldehyd **63** erhalten werden.



Schema 14. a) Allenylmagnesiumbromid, Et₂O, −78 °C, 1 h; b) 1. TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂; 2. *n*BuLi, MeI, THF; c) 1. DDQ, CH₂Cl₂/H₂O; 2. SO₃·Pyridin, Et₃N, DMSO/CH₂Cl₂, 0 °C, 3 h; d) 1. (+)-Allyl-diisopinocampheylboran, Et₂O, −100 °C, 2 h; H₂O₂, NaOH; 2. MeOTf; e) K₃[Fe(CN)₆], K₂CO₃, (DHQ)₂-PYR, OsO₄, *t*BuOH/H₂O, 0 °C, 12 h; f) 3,4-Dimethoxybenzaldehyd, CSA, Toluol, 110 °C; g) 1. DIBAH, CH₂Cl₂, −78 °C, 2. SO₃·Pyridin, Et₃N, DMSO/CH₂Cl₂. DDQ = 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon, (DHQ)₂-PYR = 2,5-Diphenyl-4,6-bis(9-O-dihydrochanyl)pyrimidin, DMSO = Dimethylsulfoxid.

Die Öffnung des Epoxids **81** durch ein lithiiertes Thioetherketal zu **82** bildete den ersten Schritt der Synthese des Thioetherketals **64** (Schema 15).^[31] Die Spaltung des Thioetherketals ergab den Aldehyd **83**, der durch eine asymmetrische Brown-Crotylierung stereoselektiv zum Alken **84** umgesetzt wurde. Das Alken wurde durch Dihydroxylierung und nachfolgende Periodatspaltung in den Aldehyd **85** umgewandelt. Eine Evans-Aldolreaktion von **85** mit **86** ergab das *syn*-Aldolprodukt **87**. Das Oxazolidinon konnte über das entsprechende Weinreb-Amid in den Aldehyd **88** überführt werden, der zum gewünschten Thioetherketal **64** umgesetzt wurde.

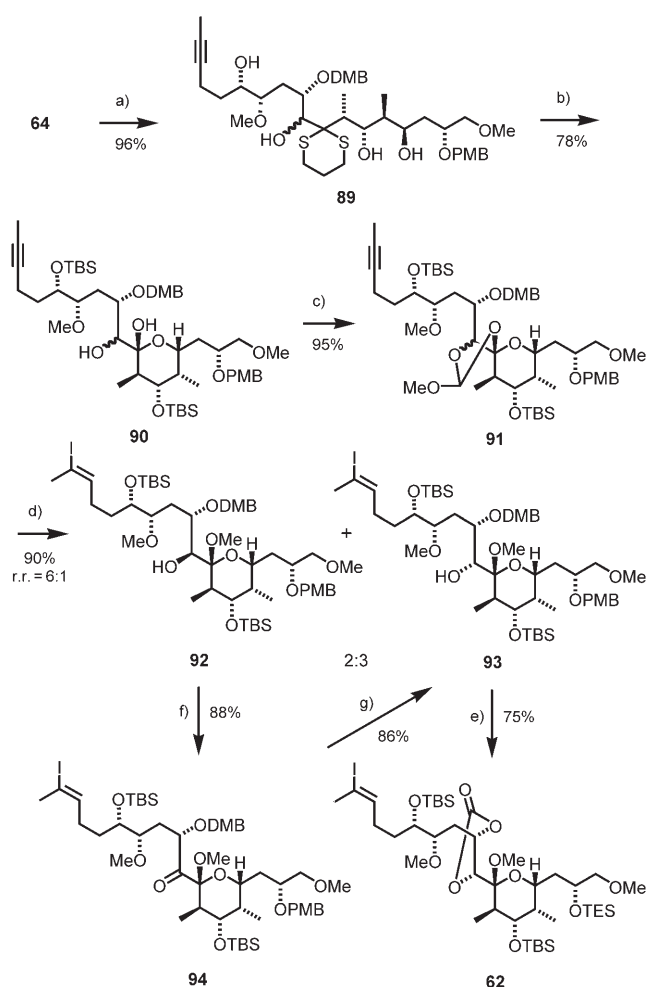
Die Reaktion des lithiierten Thioetherketals **64** mit dem Aldehyd **63** ergab den Alkohol **89** als Epimerengemisch im Verhältnis 3:2 (Schema 16). Nach Spaltung des Thioetherketals von Verbindung **89** wurde das sechsgliedrige Halbketal gebildet. Eine chemoselektive TBS-Schützung lieferte das



Schema 15. a) 1. 1,3-Dithian, *n*BuLi, THF, −78 → 25 °C; 2. PMBCl, NaH, DMF; b) MeI, K₂CO₃, MeCN/H₂O, 45 °C, 4 h; c) (Z)-(+)-Crotyldiisopinocampheylboran, BF₃·OEt₂, THF, −78 °C, 6 h; NaBO₃·4 H₂O, THF, H₂O; TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂; d) OsO₄, NMO, *t*BuOH/THF/H₂O; NaIO₄, Phosphatpuffer pH 7; e) **86**, Bu₂BOTf, Et₃N, CH₂Cl₂, −78 → 0 °C, 2 h; H₂O₂/H₂O; f) 1. HNMe(OMe)·HCl, AlMe₃, CH₂Cl₂; 2. TMSOTf, 2,6-Lutidin; CH₂Cl₂, −30 °C; 3. DIBAH, CH₂Cl₂, −78 °C; g) 1. HS(CH₂)₃SH, BF₃·OEt₂, CH₂Cl₂, −30 °C; 2. TBSOTf, 2,6-Lutidin; CH₂Cl₂, 0 → 25 °C. PMB = *p*-Methoxybenzyl.

Halbketal **90**, das in den Orthoester **91** überführt wurde. Die nachfolgende regioselektive Hydrozirconierung ergab nach Umsetzung mit Iod die beiden trennbaren Alkenyliodide **92** und **93**. Bemerkenswert und unerwartet war die Spaltung des Orthoesters unter den Hydrozirconierungsbedingungen und die Bildung des Methylglycosids. Das gewünschte Epimer **93** wurde nach oxidativer Spaltung des PMB-Ethers in das Carbonat **94** umgewandelt. Eine Oxidations-Reduktions-Sequenz brachte das unerwünschte Epimer **92** auf die Syntheseroute zurück (**92** → **94** → **93**).

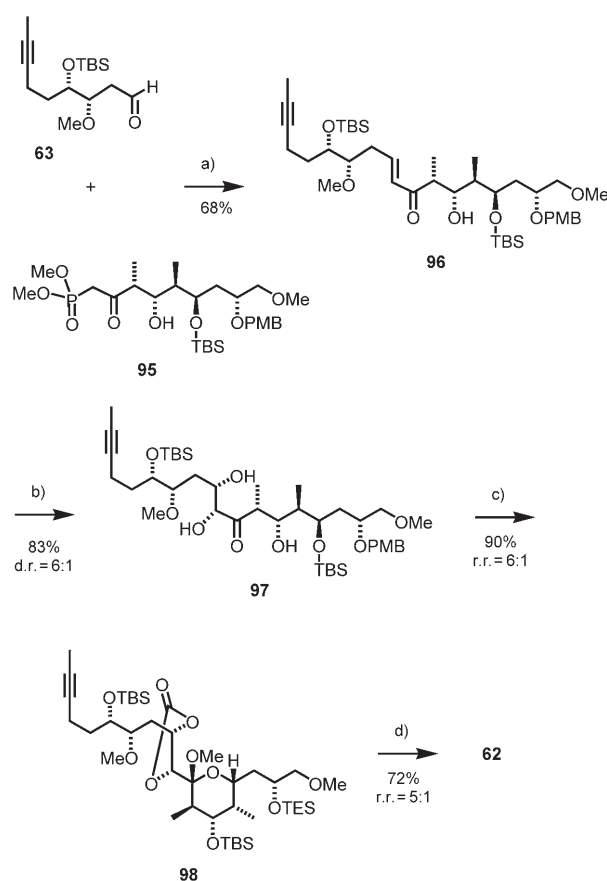
Die in Schema 16 abgebildete Synthese des Alkenyliodids **62** hatte den Nachteil der mangelnden Stereoselektivität bei der Bildung von **89**, weshalb ein besserer Zugang zu diesem Baustein entwickelt wurde (Schema 17). Durch eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion des Aldehyds **63** mit dem Phosphonat **95** wurde das Enon **96** erhalten. Die nachfolgende asymmetrische Dihydroxylierung von **96** mit dem AD-Mix-α an C19/C20 zum Diol **97** gelang mit einer Stereoselektivität von 6:1. Ein Vergleich dieser reagenskontrollierten Dihydroxylierung mit der substratkontrollierten Dihydroxylierung nach Koert et al. (**40** → **41**, Schema 7) belegt den gleichen Grad an Stereoselektivität beider Ansätze. Nicolaou et al. vollendeten die Synthese von **62** durch einige Schutz-



Scheme 16. a) 1. $t\text{BuLi}$, HMPA, THF, -78°C , 1 h; **63**, -100°C , 2 h; 2. TBAF, THF; b) 1. $\text{PhI}(\text{OCOCF}_3)_2$, MeCN, Phosphatpuffer pH 7, 0°C , 10 min; 2. TBSOTf, 2,6-Lutidin, -78°C ; c) $(\text{MeO})_3\text{CMe}$, PPTS, CH_2Cl_2 , 25°C , 12 h; d) $[(\text{Cp})_2\text{ZrHCl}]$, THF, 65°C ; I_2 , THF, -25°C , 2 min; e) 1. DDQ, CH_2Cl_2 , Phosphatpuffer pH 7, $0 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 4 h; 2. Triphosgen, Pyridin, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 30 min; f) DMP, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 ; g) NaBH_4 , MeOH/ Et_2O , $0 \rightarrow 25^\circ\text{C}$. HMPA = Hexamethylphosphoramid, DMP = Dess-Martin-Periodinan, r.r. = Regioisomerenverhältnis.

gruppenoperationen (**97** \rightarrow **98**) und Hydrozirconierung/Iodierung des Alkins zum Alkenyliodid **62**.

Die Kupplung des Alkenylstannans **61** mit dem Alkenyliodid **62** unter Stille-Bedingungen lieferte in sehr guter Ausbeute die Verbindung **60** (Schema 18). Ein Vergleich dieser Kreuzkupplung mit dem entsprechenden Reaktionsschritt der Koert-Synthese (**9** + **10** \rightarrow **55**, Schema 10) ist aufschlussreich. Mit der von Nicolaou et al. eingesetzten Reagentienkombination (disubstituiertes Alkenylstannan/trisubstituiertes Alkenyliodid) verläuft die Pd-Kupplung ohne Probleme. Demgegenüber erfordert das von Koert et al. verwendete System eines disubstituierten Alkenyliodids mit einem trisubstituierten Alkenylstannan eine Cu-Tc-Kupplung. Nicolaou et al. hatten auch bei einer früheren Synthese des Makrocyclus von Apoptolidin eine Stille-Kupplung erfolgreich angewendet.^[40] Die Glycosylierung von **60** mit dem Glycosylsulfoxid **28** nach dem Kahne-Protokoll und eine nachfolgende basische Hydrolyse lieferten die Dihydroxy-

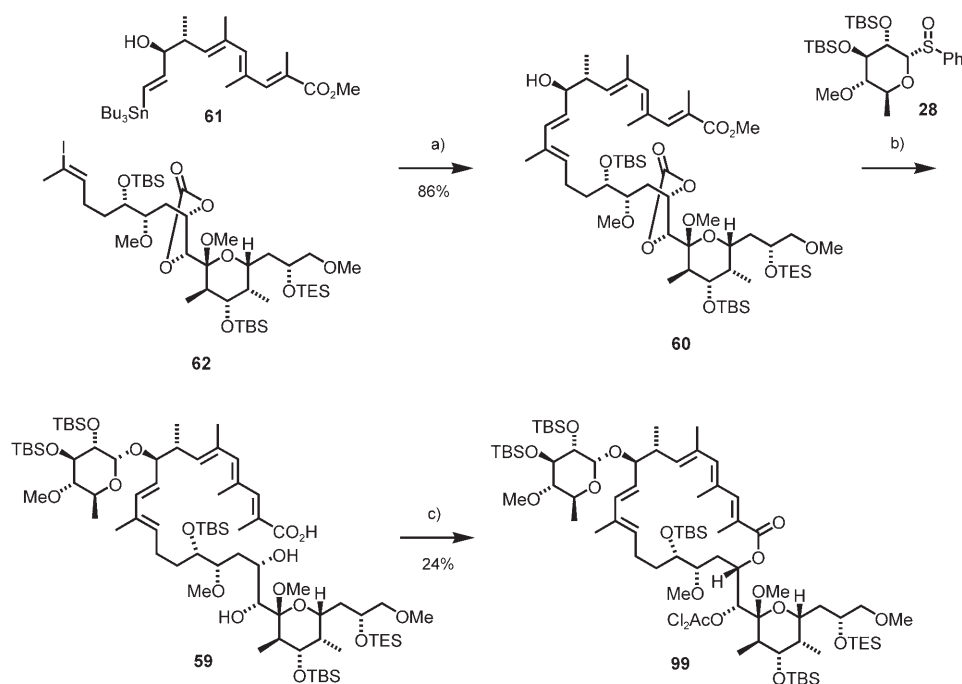


Scheme 17. a) $\text{Ba}(\text{OH})_2$, THF/ H_2O , $0 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 30 min; b) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, K_2CO_3 , MeSO_2NH_2 , $(\text{DHQ})_2\text{-PHAL}$, OsO_4 , $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$, 0°C , 12 h; c) 1. TBAF/ SiO_2 , THF; 2. $p\text{TsOH}$, MeOH, 25°C , 2 h; 3. Triphosgen, Pyridin, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow 0^\circ\text{C}$; 4. TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 ; d) 1. $[(\text{Cp})_2\text{ZrHCl}]$, THF, 65°C ; I_2 , THF, -25°C , 2 min; 2. Triphosgen, Pyridin, CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 30 min; 3. DDQ, CH_2Cl_2 , Phosphatpuffer pH 7, $0 \rightarrow 25^\circ\text{C}$, 1 h; 4. TESOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , -78°C . $(\text{DHQ})_2\text{-PHAL}$ = Hydrochinin-1,4-phthalazindiyl-diether.

säure **59**. Nicolaou et al. gelang es, die Schwierigkeiten bei der Hydrolyse des Methylesters zu **59** zu überwinden, wohingegen Koert et al. auf einen Cyanmethylester ausweichen mussten. Eine Ringgrößen-selektive Makrolactonisierung von **59** ergab das Lacton **99** in 24 % Gesamtausbeute für die Sequenz Glycosylierung/Makrolactonisierung.

Die selektive Spaltung des TES-Ethers an O27 des Lactons **99** ebnete den Weg zur Einführung des Disaccharids (Schema 19). Die Umsetzung des Alkohols mit dem Glycosylfluorid **100** führte zum α -Glycosid **101** als einzigem Stereoisomer. Der Einsatz des Glycosylfluorids ist gegenüber der von Koert et al. angewendeten Glycosylierung über ein Glycal von Vorteil, da die Entfernung des Iods bei der Glycalkmethode einen zusätzlichen Syntheseschritt erfordert.

Die abschließende Entschützung von **101** zu Apoptolidin (**1**) erwies sich als problematisch. Nach sorgfältiger Optimierung wurden zunächst alle Silylether und der Ester an O20 entfernt (**101** \rightarrow **102**), bevor durch Behandlung mit TsOH in THF/ H_2O auch das Methylglycosid zum Apoptolidin (**1**) gespalten wurde.



Schema 18. a) $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$, DMF, 25 °C, 15 h; b) 1. **28**; Tf_2O , DTBMP, Et_2O , –90 °C, 1.5 h; 2. KOH, Dioxan/ H_2O , 65 °C, 24 h; c) 1. 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid, Et_3N , THF; DMAP, Toluol, 25 °C, 12 h; 2. $(\text{Cl}_2\text{Ac})_2\text{O}$, Pyridin, 0 °C, 5 min.

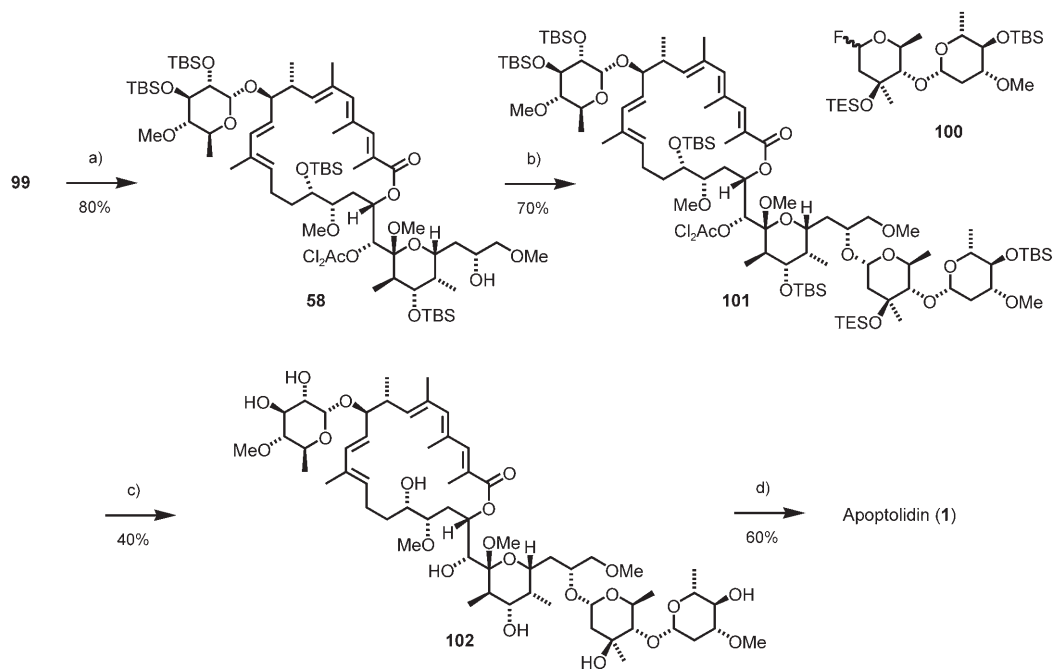
3.4. Synthesen von Apoptolidinon

Die Synthese des Aglycons Apoptolidinon (**6**) nach Sulkowski et al.^[41] weicht von den oben beschriebenen Strategien ab. Die schwierige Entschützung des Methylglycosids an C21 wird dadurch vermieden, dass das sechsgliedrige Halb-

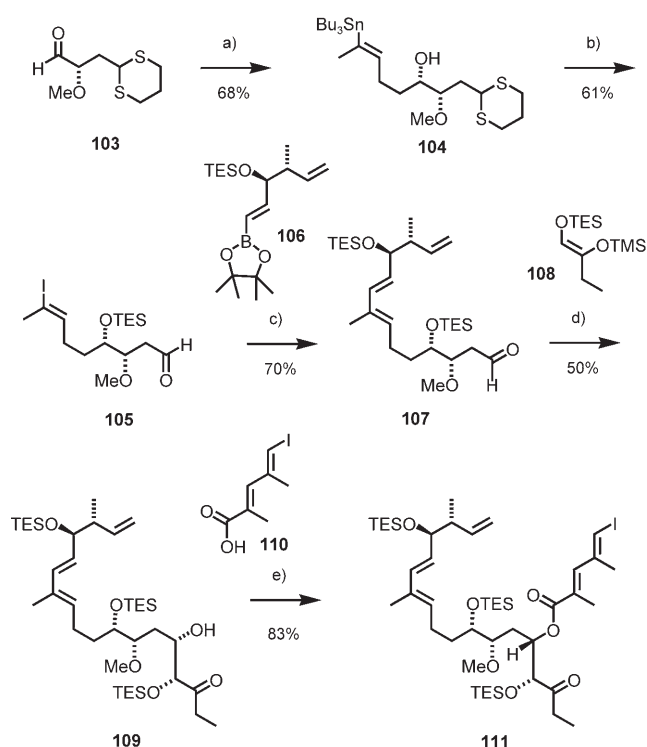
ketal erst im letzten Syntheseschritt gebildet wird. Die Bindungsknüpfung zwischen C5 und C6 durch eine intramolekulare Suzuki-Kreuzkupplung bildet den Schlüsselschritt der Synthese des 20-gliedrigen Makrolidrings. Dieser konvergente Ansatz minimiert die Zahl der Syntheseschritte und den Einsatz von Schutzgruppen.

Den Ausgangspunkt der Synthese bildete der Aldehyd **103**, der in einer chelatkontrollierten Reaktion mit der Grignard-Verbindung **45** den sekundären Alkohol **104** ergab (Schema 20).^[41] Zinn-Iod-Austausch, Schützen des Alkohols als TES-Ether und Spaltung des Thioacetals führten zum Aldehyd **105**, das unter Suzuki-Bedingungen mit dem Boronsäureester **106** zum mehrfach ungesättigten Aldehyd **107** umgesetzt wurde. Eine Mukaiyama-Aldolreaktion von **107** mit dem Silylenolether **108** ergab das β -Hydroxyketon **109** mit einer Stereoselektivität von 4:1. **109** konnte unter Yamaguchi-Bedingungen mit der Säure **110** zu **111** verestert werden.

Eine stereoselektive Aldolreaktion des Ketons **111** mit dem Aldehyd **112** führte zum *syn*-Aldolprodukt, das als TES-Ether **113** geschützt wurde (Schema 21).^[41] Eine Kreuzmetathese des terminalen Alkens **113** mit einem Propenylborat, katalysiert durch **114**, ergab den Alkenylboronsäureester **115**, der anschließend durch



Schema 19. a) PPTS, $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 0 °C, 1.5 h; b) **100**, SnCl_2 , Et_2O , 25 °C, 12 h; c) 1. HF-Pyridin, THF, –25 °C, 96 h; 2. $\text{Et}_3\text{N}/\text{MeOH}$, 25 °C, 3.5 h; d) $p\text{TsOH}$, THF/ H_2O , 0 °C, 2.5 h.



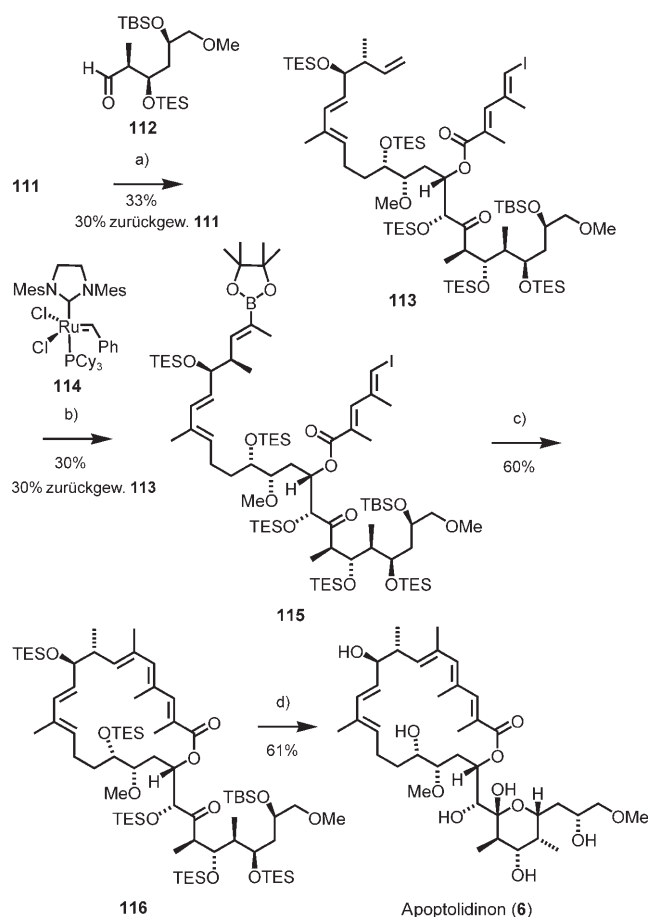
Scheme 20. a) **45**, Et₂O, −78 °C; b) 1. I₂, CH₂Cl₂, 0 °C; 2. TESCl, Imidazol; 3. MeI, K₂CO₃, MeCN/Puffer pH 7; c) **106**, [Pd(Ph₃P)₄], TIOH, THF/H₂O, 20 °C; d) **108**, BF₃·OEt₂, CaH₂, CH₂Cl₂, −94 °C; e) **110**, 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid, Et₃N, DMAP, Toluol, −78 → 28 °C.

eine intramolekulare Suzuki-Kupplung zur 20-gliedrigen Verbindung **116** cyclisiert wurde. Die Reaktionssequenz **113** → **115** → **116** verdeutlicht in eindrucksvoller Weise die Möglichkeiten der modernen Kreuzkupplungen. Die Fluoridvermittelte Spaltung aller Silylether von **116** führte zum sechsgliedrigen Halbketal und vollendete die Synthese von Apoptolidinon (**6**).

Ein anderer Zugang zum C1-C15-Segment nutzte drei Suzuki-Kupplungen in Folge.^[41c] Crimmins et al. berichteten kürzlich über eine erfolgreiche Synthese von Apoptolidinon unter Verwendung einer Kreuzmetathese und chiraler Thiazolidinon-Auxiliare.^[41d]

3.5. Synthesestudien zu Apoptolidin

Die Synthese des C1-C21-Makrolidfragments **124** wurde von Toshima et al. beschrieben (Schema 22).^[42a] Ausgehend vom Aldehyd **117** wurde das C9-Stereozentrum durch Addition von Lithiumacetylid aufgebaut (**117** → **118**). Der Aldehyd **118** konnte mit zwei *E*-selektiven Wittig-Reaktionen in den Ester **119** überführt werden. Eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion verlängerte den Ester um den C1-C3-Baustein (**119** → **120**), und nach Hydrostannylierung der Dreifachbindung mit anschließender Hydrolyse des Ethylesters wurde die Säure **121** erhalten. Die Veresterung von **121** mit dem Alkohol **122** nach dem Yamaguchi-Protokoll führte zur Verbindung **123**, die durch intramolekulare Stille-Kupp-

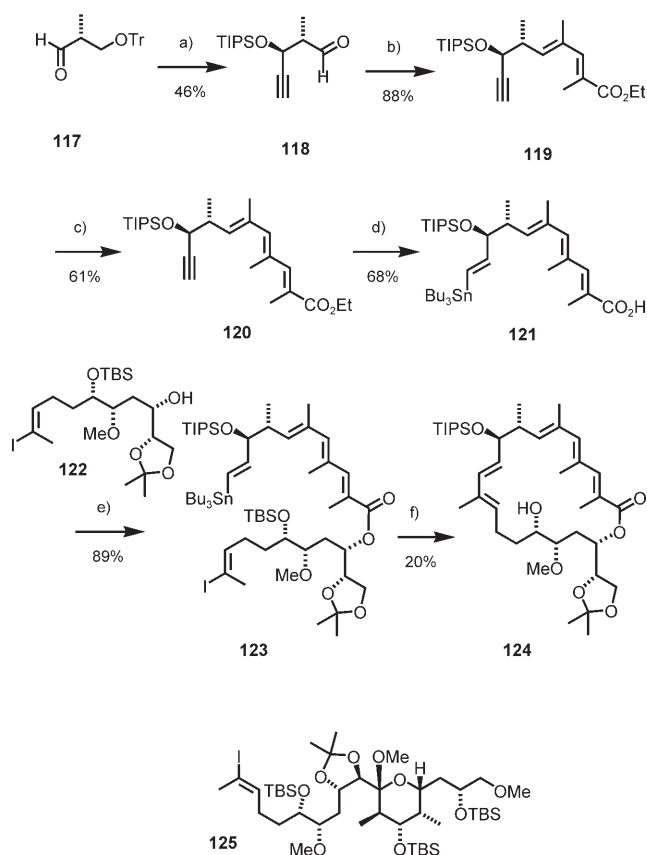


Scheme 21. a) 1. LHMDS, **112**, THF, HMPA, −78 °C, 2 h; 2. TESOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 0 °C; b) Isopropenylpinacolboronsäureester, **114**, CH₂Cl₂, Rückfluss, 6 h; c) [Pd(Ph₃P)₄], TIOEt, THF/H₂O, 28 °C, 30 min; d) HF·Pyridin, THF, −10 °C, 12 h, dann −5 °C, 5 h. LHMDS = Lithiumhexamethyldisilazid.

lung in 30 % Ausbeute zum 20-gliedrigen Makrolid **124** cyclisiert wurde. Der Gruppe um Toshima gelang außerdem die Synthese des C12-C28-Fragments **125** durch eine Aldolreaktion mit hoher Stereoselektivität.^[42b]

Taylor et al. beschrieben die stereoselektive Synthese des C1-C11-Fragments **134** (Schema 23).^[43] Eine Evans-Aldolreaktion des Aldehyds **126** mit **127** wurde zum Aufbau der Stereozentren an C8 und C9 genutzt. Das erzeugte Aldoladditionsprodukt konnte in den Aldehyd **128** überführt werden, aus dem der Alkohol **129** durch Addition von Isopropenyllithium erhalten wurde. Die Behandlung von **129** mit Thionylchlorid ergab stereoselektiv das *E*-Allylchlorid **130**. Die Oxidation des Allylchlorids mit Trimethylamin-*N*-oxid (TMNO) führte zum ungesättigten Aldehyd **131**. Durch eine Wiederholung dieser Reaktionssequenz konnte der ungesättigte Aldehyd **133** aus dem Allylalkohol **132** erhalten werden. Das C1-C3-Fragment wurde schließlich durch eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion eingeführt (**133** → **134**).

Die Synthese eines C21-C26-Fragments von Apoptolidin (**1**) durch alkylierende Oxidation beschrieben Fuchs et al.^[44a] Ein enantioselektiver Syntheseweg zu den Apoptolidin-Zuckern wurde von Crimmins und Long gefunden.^[44b]

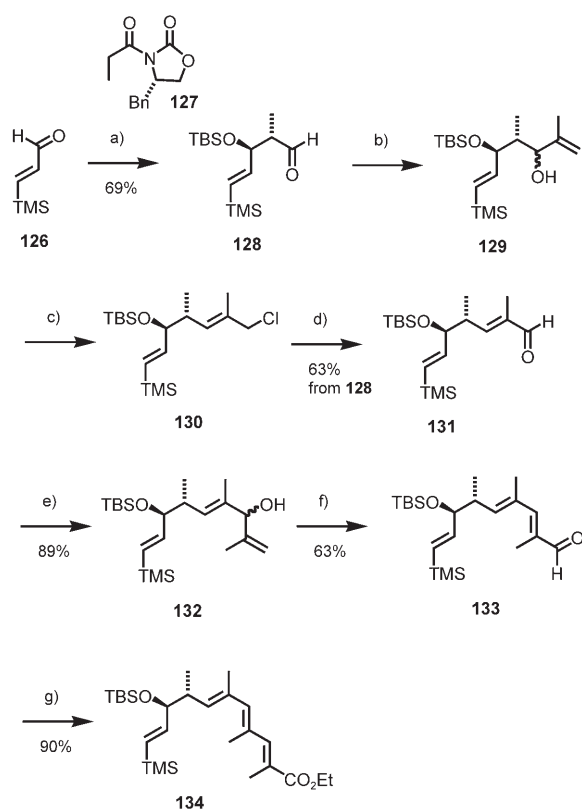


Schema 22. a) 1. *n*BuLi, HCCTMS, THF, -78°C ; 2. K_2CO_3 , MeOH; 3. TIPSOTf, Pyridin; 4. CSA, MeOH/ CH_2Cl_2 ; 5. Swern-Oxidation.; b) 1. $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{Me})\text{CO}_2\text{Et}$, Toluol, 110°C ; 2. DIBAH, Toluol, -78°C ; 3. MnO_2 , CH_2Cl_2 , 25°C ; 4. $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{Me})\text{CO}_2\text{Et}$, Toluol, 110°C ; c) 1. DIBAH, Toluol, -78°C ; 2. MnO_2 , CH_2Cl_2 , 25°C ; 3. $(\text{EtO})_2\text{OPCH}(\text{Me})\text{CO}_2\text{Et}$, *n*BuLi, THF, 0°C ; d) 1. *n*Bu₃SnH, $[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$, Toluol, 0°C , 45 min; 2. LiOH, Dioxan/ H_2O , 80°C , 10 h; e) 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid, Et_3N , THF, DMAP, Toluol 25°C ; f) 1. TBAF, THF, 25°C ; 2. $[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$, $\text{Ph}_2\text{PO}_2\text{NBu}_4$, LiCl, DMF, 25°C , 3 h. TIPS = Triisopropylsilyl.

3.6. Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Apoptolidin und Derivaten

Khosla und Mitarbeiter identifizierten die mitochondriale F_0F_1 -ATPase als Wirkort von Apoptolidin. In Schema 24 sind die experimentellen Daten der Bindung von Apoptolidin und einigen Derivaten an die mitochondriale F_0F_1 -ATPase dargestellt.^[23c,24,45] Der Naturstoff zeigte hierbei die stärkste Bindung. Das Entfernen des O27-Disaccharids und des sechsgliedrigen Halbketals führte zu einer leicht geringeren Enzyminhibition. Das Derivat **135** war durch saure Hydrolyse des Naturstoffs zugänglich,^[23c] Derivat **136** wurde durch oxidative Spaltung des Naturstoffs erhalten.^[45]

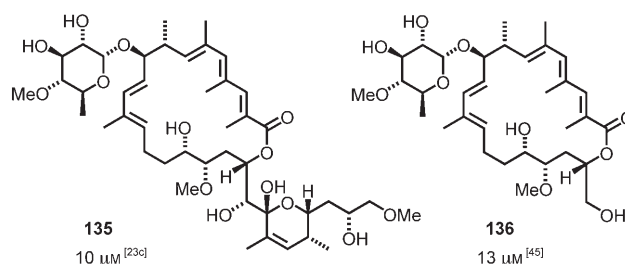
Die Cytotoxizität von Apoptolidin und seinen Derivaten wurde von mehreren Forschungsgruppen untersucht (Schema 25).^[21,23,31,46,47] Der Naturstoff, **1**, tötete selektiv Krebszellen im nanomolaren Konzentrationsbereich ab. Bemerkenswerterweise reagierten nur manche Krebszelllinien sehr empfindlich auf Apoptolidin. Wie an dem IC_{50} von **2** zu erkennen ist, hat das C21-Methylglycosid keinen nennenswerten Einfluss auf die Cytotoxizität. Das Aglycon Apopto-



Schema 23. a) 1. Bu_2BOTf , Et_3N , CH_2Cl_2 , d.r. $> 20:1$; 2. TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 ; 3. LiBH_4 , $\text{Et}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$; 4. Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 ; b) Isopropenyllithium, THF, -78°C ; c) SOCl_2 , Pentan/ Et_2O , $0 \rightarrow 25^{\circ}\text{C}$; d) TMNO, DMSO; e) 1. Isopropenyllithium, THF, -78°C ; f) 1. SOCl_2 , Pentan/ Et_2O , $0 \rightarrow 25^{\circ}\text{C}$; 2. TMNO, DMSO; g) $(\text{EtO})_2\text{OPCH}(\text{Me})\text{CO}_2\text{Et}$, *n*BuLi, THF, $0 \rightarrow 25^{\circ}\text{C}$.

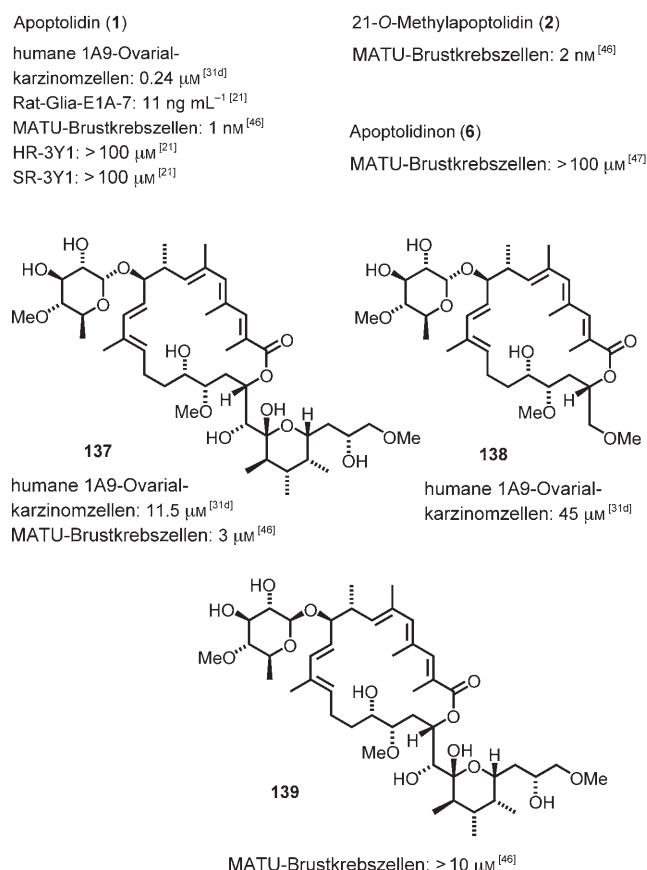
Apoptolidin (**1**)
 $0.7 \mu\text{M}$ ^[24]

Isoapoptolidin (**7**)
 $17 \mu\text{M}$ ^[24]



Schema 24. Inhibition von mitochondrialer F_0F_1 -ATPase durch Apoptolidin und ausgewählte Derivate. Angegeben sind die IC_{50} -Werte.

lidinon (**6**) hingegen verliert sogar seine gesamte cytotoxische Aktivität.^[47] Dies zeigt, dass die Zuckerreste von entscheidender Bedeutung für die Antitumoraktivität sind. Ein Entfernen des O27-Disaccharids senkte die Aktivität sehr stark (**137**),^[31d,46] und ohne das sechsgliedrige Halbketal blieb nur eine geringe Aktivität erhalten (**138**).^[31d] Das β -Anomer der L-Glucose an O9 zeigte keine Aktivität (**139**).^[46] In einem Wachstumshemmungstest mit H292-Zellen wurden für



Schema 25. Aktivität von Apoptolidin und ausgewählten Derivaten gegen Krebszelllinien. Angegeben sind die IC₅₀-Werte.

Apoptolidin (1; = Apoptolidin A), Apoptolidin B und Apoptolidin C ähnliche Aktivitäten nachgewiesen. [25c]

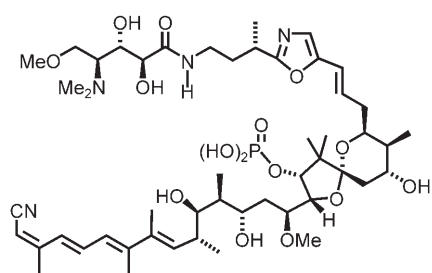
Eine mögliche Erklärung für diese Unterschiede der F₀F₁-ATPase-Daten und der Cytotoxizitäten ist, dass der Makrolidteil eine entscheidende Rolle für die Enzymbindung spielt, wohingegen das an O27 gebundene Disaccharid den Transport an den mitochondrialen Zielort erleichtert. Der Aktivitätsverlust des L-Glucoseanomers **139** deutet auf eine Beteiligung dieses Zuckers auch an der Zielstrukturerkennung hin.

4. Weitere apoptoseregulierende Naturstoffe

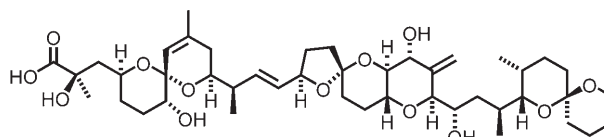
4.1. Phosphataseinhibitoren: Calyculin A und Okadasäure

Calyculin A (**140**) und Okadasäure (**141**) sind wirksame Inhibitoren der Proteine Phosphatase Typ 1 (PP1) und Typ 2A (PP2A). [48] Beide Verbindungen induzieren die Apoptose in mehreren Krebszelllinien über einen Caspase-3-abhängigen Mechanismus. [49] Dies belegt die Bedeutung von Caspase-Regulatoren als Wirkstoff-Targets. Calyculin A wurde 1986 aus dem marinen Schwamm *Discodermia calyx* isoliert. [50] Die Totalsynthesen von **ent-140**, [51] **140** [52] und verwandten Calyculinen [53] wurden bereits veröffentlicht.

Okadasäure (**141**) wird von mehreren Mikroalgenarten (Dinoflagellaten) produziert, [54] die sich häufig in Schwämmen ansammeln. Es wurde nachgewiesen, dass die Okada-



Calyculin A (**140**)

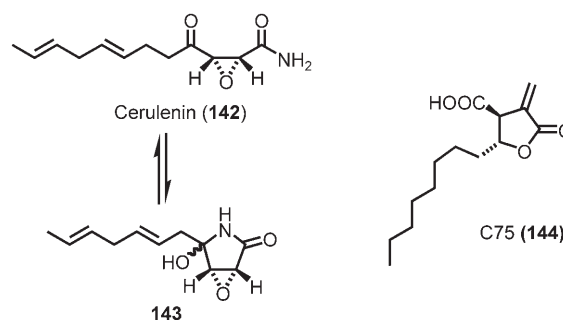


Okadasäure (**141**)

säure der Verursacher der diarrhischen Muschelvergiftung (diarrhetic shellfish poisoning) ist. [55] Die Okadasäure wurde zunächst als wirksames Antitumormittel aus den Schwämmen *Halichondria okadai* und *H. melanodocia* isoliert. Die Struktur konnte 1981 durch Röntgenkristallstrukturanalyse aufgeklärt werden, [56] und es wurde über mehrere Totalsynthesen der Okadasäure berichtet. [57–59]

4.2. Inhibitoren der Fettsäuresynthase: Cerulenin

Abgesehen von ihrer Eigenschaft, eine hohe Konzentration von anaeroben Kohlenstoffmetabolismen aufrechtzuerhalten (Warburg-Effekt), produziert ein beachtlicher Teil der menschlichen Krebszelllinien, wie Brust- und Kolorektalkrebszellen, eine höhere Konzentration an Fettsäuresynthasen. Daher wurde die Fettsäurebiosynthese als wichtiger Angriffspunkt für Antitumormedikamente betrachtet. [60] Cerulenin (**142**) ist ein nichtkompetitiver Inhibitor der Fett-



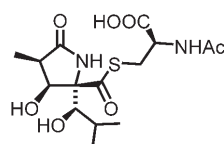
säuresynthase, der DNA-Fragmentierung und morphologische Merkmale hervorruft, die charakteristisch für Apoptose in menschlichen Brustkrebszellen sind. [61] Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass die Inhibierung der Fettsäure-

synthese durch Cerulenin zu einer zweiphasigen Stressantwort führt: einer frühen Akkumulation in der S- und G2-Phase und später einer Wachstumshemmung in G1 und G2, die mit einer Akkumulation der Proteine p53 und p21 verbunden ist.^[62] Die p53-Funktion in diesen Zellen war wahrscheinlich für den Schutz der Zellen vor der Cerulenin-induzierten Apoptose wichtig. Zellen, die eine Mutation des dominant negativen p53-Gens exprimieren, unterliegen in hohem Maße der Apoptose, sobald sie dem Fettsäuresyntheseinhibitor ausgesetzt sind.^[62] Daher wurde spekuliert, dass Cerulenin und andere synthetische Verbindungen dieser Cytostatikaklasse, wie das C75, klinisch nützlich gegen Malignome sein könnten, die Mutationen in p53 aufweisen. Die Bedeutung dieses Cerulenin-vermittelten mitochondrialen Apoptoseweges konnte durch die schnelle Freisetzung von Cytochrom C bestätigt werden.^[63]

(+)-Cerulenin (**142**) wurde zum ersten Mal 1960 von Hata und Mitarbeitern aus *Cephalosporium caerulens* isoliert.^[64] In protischen Lösungsmitteln liegt Cerulenin als Diastereomerenmischung des Hydroxylactams **143** vor. Über die Struktur der aktiven Spezies wird aber spekuliert.^[65] Dieser Naturstoff war das Ziel zahlreicher „racemischer“ und enantioselektiver Totalsynthesen.^[66] Aufgrund der chemischen Instabilität und einer geringen In-vivo-Aktivität von Cerulenin wurde ein synthetisches, chemisch stabiles Analogon entwickelt, das C75 (**144**).^[67]

4.3. Proteasominhibitoren: Lactacystin

Experimentelle Studien haben gezeigt, dass der Transkriptionsfaktor NF κ B über einen Proteasom-abhängigen Mechanismus eine entscheidende Rolle für die Verhinderung der Apoptose bei einigen Krebsarten spielt. Proteasominhibitoren können daher zur Förderung des apoptotischen Zelltodes eingesetzt werden. Es wurde nachgewiesen, dass der wirksame Proteasominhibitor Lactacystin (**145**) in Verbindung mit dem Tumornekrosefaktor (TNF) in menschlichen Lungenadenokarzinomzellen Apoptose induzieren kann.^[68]



Lactacystin (**145**)

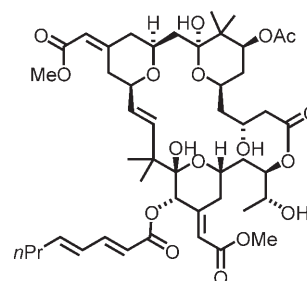
Darüber hinaus liegen Daten über die synergistische Apoptoseinduktion durch minimal toxische Konzentrationen des Proteinkinase-C(PKC)-Aktivators und -Downregulators Bryostatin 1 und dem Proteasominhibitor Lactacystin vor.^[69] Diese Daten legen nahe, dass die Apoptose von Leukämiezellen durch die nach der Einwirkung von Lactacystin auftretende Fehlregulierung der PKC/Mitogen-aktivierten Proteinkinasekaskade moduliert wird. In Jurkat- und Namalwa-Zellen hingegen reichte die alleinige Behandlung mit Lactacystin (**145**) aus, um Apoptose zu induzieren. In diesen Zellen reguliert die Proteasominhibition das Gleichgewicht zwischen den proapoptotischen und den antiapoptotischen Vertretern der Bcl-2-Familie, wobei proapoptotisches Bik/Nbk in den Mitochondrien akkumuliert wird und somit die Elektronentransportkette beeinflusst.^[70] Der stabilisierende Effekt von Lactacystin auf aktivierte

Caspase-3-Untereinheiten wurde als proapoptotischer Faktor identifiziert.^[71] Lactacystin (**145**) wurde aus einem *Streptomyces*-Bakterienstamm (OM-6519) isoliert, der in einer japanischen Bodenprobe gefunden wurde.^[72] Der Naturstoff war das Ziel mehrerer Totalsynthesen.^[73]

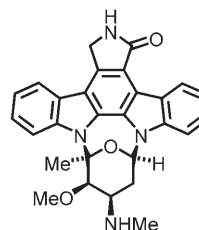
4.4. Inhibitoren der Proteinkinase C: Bryostatin und Staurosporin

Die wichtige Rolle der Proteinkinase C (PKC) in zellulären Prozessen, die relevant für neoplastische Transformation, Karzinogenese und Tumorzellinvasion sind, machen dieses Enzym zu einem geeigneten Ziel für die Krebstherapie.^[74]

Bryostatin 1 (**146**) ist ein natürlich vorkommender PKC-Aktivator, der sich bereits in Phase II der klinischen Entwicklung befindet, obwohl die Ergebnisse nur eine marginale



Bryostatin 1 (**146**)



Staurosporin (**147**)

Wirksamkeit in der Behandlung von metastasierendem Kolorektalkrebs zeigten.^[75] In Übereinstimmung mit den antiapoptotischen Eigenschaften der PKC^[76] wurde berichtet, dass Bryostatin 1 als ein Apoptoseinhibitor bei U937-Zellen agiert.^[77] Die Behandlung von menschlichen monozytischen leukämischen THP-1-Zellen mit Bryostatin 1 führte gleichermaßen zu einer Verminderung der durch Proteasominhibitoren induzierten Apoptose.^[78] Bei der akuten lymphoplastischen Prä-B-Leukämiezelllinie REH führte Bryostatin 1 zu einer Senkung des Bcl-2-Spiegels und dadurch zu einer Sensibilisierung der Zellen gegenüber Spindelgiften und wirkstoffinduzierter Apoptose.^[79]

Ein synergetischer Effekt des Bryostatins 1 und des Proteasominhibitors Lactacystin auf die Apoptose bei menschlichen Leukämiezellen wurde ebenfalls bei U937-Zellen be-

obachtet.^[69] Diese Ergebnisse könnten durch die Tatsache erklärt werden, dass die Langzeiteinwirkung von Bryostatin 1 nicht nur zur Aktivierung der PKC, sondern auch zur vollständigen Downregulation des Enzyms führt.

Seit der ersten Beschreibung von Bryostatin 1 (**146**) durch Pettit et al. 1982^[80] zählen zur Bryostatinfamilie inzwischen 18 Vertreter, wobei alle einen 20-gliedrigen Makrolactonring aufweisen, der sich hauptsächlich an C7 und C20 im Substitutionsmuster unterscheidet.^[81] Bryostatin 7 wurde von Masamune et al. synthetisiert,^[82] Bryostatin 2 von Evans et al.^[83] und Bryostatin 3 von Nishiyama und Yamamura.^[84] Wender entwickelte eine Synthesestrategie für eine Reihe vereinfachter Bryostatinanaloga, um leichter zugängliche Verbindungen für klinische Studien zu erhalten. Diese Verbindungen wurden verwendet, um das Bindungsverhalten der PKC näher zu untersuchen.^[85]

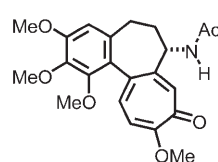
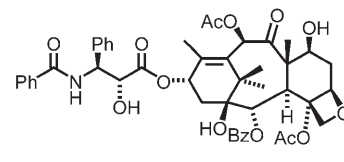
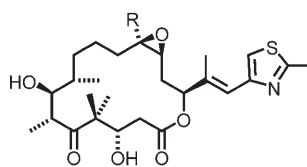
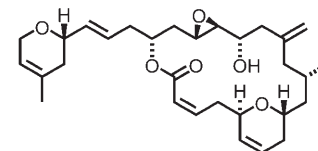
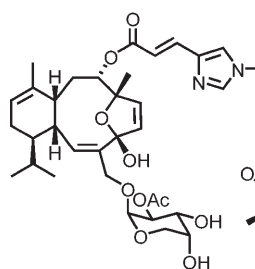
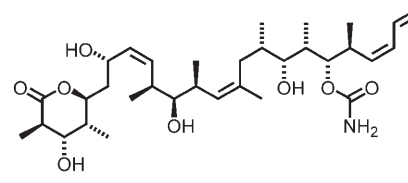
Die Inhibierung der PKC durch Staurosporin (**147**) führte zu einer Apoptoseinduktion. Interessanterweise zeigten mechanistische Untersuchungen, dass die durch Staurosporin induzierte Apoptose zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Zellzyklus einsetzen kann, wobei der Zeitpunkt vom Vorliegen des menschlichen Papillomavirus (HPV) und vom p53-Status der Zelle abhängig ist. Während in HPV-positiven p53-Wildtypzellen nur der Zelltod ausgehend von der G2/M-Phase ausgelöst wird, induzierten cytoplasmische Extrakte aus der G1-Phase von HPV-negativen, mutierten p53-Zellen Apoptosekennzeichen bei isolierten Zellkernen.^[86] Detaillierte Untersuchungen der Apoptosesignalgebung bei Staurosporin-induziertem Zelltod belegten, dass Staurosporine einen eigenen Apoptoseweg und eine eigene Caspase-Aktivierung nutzen, die sich zumindest in Teilen von der Apoptose unterscheiden, die durch DNA-schädigende Antikrebsmedikamente oder Todesrezeptoren initiiert wird. Es wurde z. B. nachgewiesen, dass die Überexpression von dominant negativen Caspase-9-Mutanten die Aktivierung der Caspase-9-abhängigen Caspasekaskade nach einer Behandlung mit einem Krebsmedikament verhinderte, aber nicht nach Gabe von Staurosporin.^[87] Die Staurosporin-induzierte Apoptose bei Chang-Leberzellen ist mit einer Downregulierung von BCL-2 und BCL-X_L verbunden.^[88] Folglich könnten diese einzigartigen Eigenschaften des Staurosporins die Chemoresistenz von Tumorzellen umgehen und noch weitere klinische Studien für den Einsatz von Derivaten dieses PKC-Inhibitors in der Antitumorthérapie anregen.

Staurosporin (**147**) gehört zur Klasse der Indolcarbazonalkaloide und wurde 1977 von Omura und Mitarbeitern aus *Streptomyces staurosporeus* isoliert.^[89] Die Struktur wurde durch Röntgenkristallstrukturanalyse bestimmt^[90,91] und die absolute Konfiguration zunächst durch CD-Messungen ermittelt.^[92] Später wurden die Struktur und Konfiguration jedoch korrigiert,^[93] wobei die chemische Synthese den endgültigen Strukturbeweis erbrachte.^[94,95]

4.5. An den Mikrotubuli angreifende Naturstoffe

An Mikrotubuli angreifende Stoffe können den Auf- und Abbau von Mikrotubuli stören, wodurch die mitotischen Spindeln in sich teilenden Zellen zerstört werden. Hierdurch

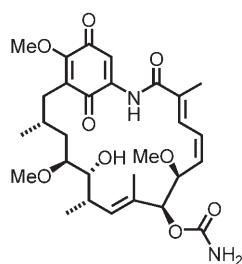
verbleibt der Zellzyklus in der M-Phase stehen, und schließlich setzt Apoptose ein.^[96] Aus diesem Grund gehören die Mikrotubuli zu den erfolgreichsten Angriffspunkten in der Tumorthérapie.^[97] Es sind mehrere Tubulinbindungsstellen für antimittotische Naturstoffe bekannt: die Vinca-Domäne (z. B. für Vinblastin, Halichondrine, Dolastatine), die Colchicin-Domäne und die Taxan-Bindungsstelle (z. B. für Taxol, Epothilone, Discodermolid). Typische Mikrotubuli angreifende Naturstoffe sind Colchicin (**148**),^[98] Taxol (**149**),^[99]


Colchicin (**148**)

Taxol (**149**)

Epothilone A (**150**) R = H
Epothilone B (**151**) R = CH₃

Laulimalid (**152**)

Eleutherobin (**153**)

Discodermolid (**154**)

Epothilone A (**150**) und B (**151**),^[100] Laulimalid (**152**),^[101] Eleutherobin (**153**)^[102] und Discodermolid (**154**).^[103] Der Syntheseaufwand, der im Bereich der Mikrotubuli modifizierenden Naturstoffe betrieben wurde, ist so groß, dass eine detailliertere Betrachtung über den Rahmen dieses Aufsatzes hinausgeht.^[104]

4.6. Inhibitoren des Hitzeschockproteins: Geldanamycin

Das Hitzeschockprotein 90 (HSP90) ist ein Chaperon, das mit verschiedenen Substratproteinen wechselwirkt und ein potenzielles Ziel für die Brustkrebstherapie ist.^[105] Eine Inhibierung von HSP90 durch Geldanamycin (**155**) initiiert die Apoptose.^[106] Geldanamycin wurde 1970 aus *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* isoliert.^[107] Bisher ist nur eine Totalsynthese bekannt.^[108] Geldanamycinderivate mit er-

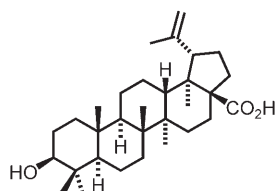


Geldanamycin (**155**)

höher klinischer Wirksamkeit und Wasserlöslichkeit wurden synthetisiert und evaluiert.^[109]

4.7. MAP-Kinasen: Betulinsäure

Betulinsäure (**156**), ein Triterpen aus der Borke der weißen Birke, induziert den programmierten Zelltod bei Melanomzellen.^[110] Der Wirkmechanismus umfasst die Ak-



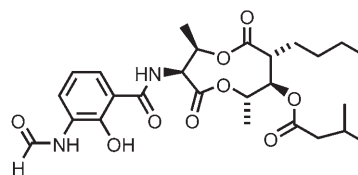
Betulinsäure (**156**)

tivierung von mitogenaktivierten Proteinkinasen (MAPKs) und die stufenweise Depolarisation des mitochondrialen Membranpotentials.^[111] Betulinsäure induziert wirksam die Apoptose bei Leukämiezellen und ist Gegenstand laufender Untersuchungen als Therapeutikum zur Leukämiebehandlung.^[112]

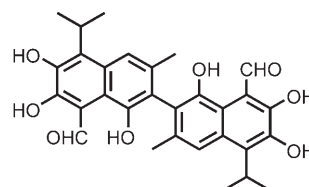
4.8. Bcl-2-Inhibitoren: Antimycin A₃, Gossypol und Tetrocarcin A

Inhibitoren des antiapoptotischen Bcl-2-Proteins sind eine neue Klasse von vielversprechenden Verbindungen, da sie über eine Apoptoseinduktion die Tumorverteidigungsmechanismen überwinden können.^[113] Beispiele für Naturstoffe mit Bcl-2 inhibierenden Eigenschaften sind Antimycin A₃ (**157**), Gossypol (**158**) und Tetrocarcin A (**159**).

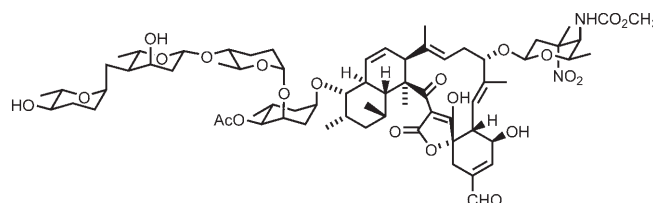
Antimycin A₃ (**157**) imitiert ein Peptid, das eine BH3-Domäne enthält, und inhibiert so Bcl-2, wodurch Apoptose über den mitochondrialen intrinsischen Mechanismus induziert wird.^[114] Die Antimycine wurden erstmals 1949 aus *Streptomyces* sp. isoliert.^[115] Eine Totalsynthese von Antimycin A₃ wurde bereits erfolgreich abgeschlossen.^[116] (–)-Gossypol (**158**) wirkt an den Mitochondrien und überwindet die Bcl-2-vermittelte Apoptoseresistenz.^[117] Es wurde in Baumwollsammen gefunden, und seine chemischen Eigen-



Antimycin A₃ (**157**)



Gossypol (**158**)



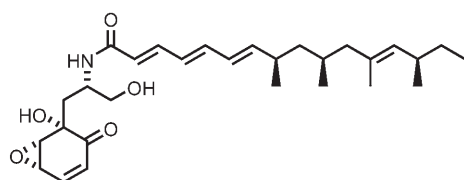
Tetrocarcin A (**159**)

schaften wurden intensiv untersucht.^[118] Gossypol liegt als Atropisomer vor und kann in die einzelnen Enantiomere aufgetrennt werden.^[119] Tetrocarcin A (**159**) wurde als Inhibitor der antiapoptotischen Funktion des Bcl-2 identifiziert und könnte als Leitstruktur für die Antitumorthherapie dienen.^[120] Von Tetrocarcin A ist bekannt, dass es bei B-CLL-Zellen ER-Stress auslöst (Überlastung des endoplasmatischen Retikulums) und so Apoptose über den unabhängigen Bcl-2-Weg verursacht.^[121] Tetrocarcin A (**159**) wurde 1980 als ein Antibiotikum isoliert.^[122] Es wurden jedoch bisher kaum Versuche unternommen, diesen Stoff synthetisch herzustellen.^[123]

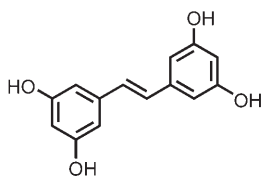
4.9. Sonstige Inhibitoren

Ceramid, das Produkt der Spingomyelinspaltung, ist über den extrinsischen Apoptoseweg mit der Apoptose verbunden. Daher ist die Sphingomyelinase ein interessanter Angriffspunkt für die Apoptosekontrolle und das Wirkstoff-Targeting.^[124] Scyphostatin (**160**)^[125] und seine synthetischen Analoga^[126] sind wirksame Sphingomyelinaseinhibitoren und zurzeit Gegenstand von Apoptosestudien.

Es wurde von mehrfach ungesättigten Fettsäuren berichtet, die als Apoptose einleitende Naturstoffe im Uterus von schwangeren Mäusen vorkommen.^[127] Piceatannol (**161**), das aus Rhabarberwurzeln stammt, induziert die Apoptose bei Lymphomzellen über den intrinsischen Mechanismus.^[128]



Scyphostatin (160)



Piceatannol (161)

5. Schlussbemerkungen

Da der biochemische Mechanismus der Apoptose immer besser verstanden wird, sollte es bald möglich sein, in dieses System kontrolliert einzugreifen. Apoptotische Fehlregulierungen sind der Grund für mehrere Krankheiten, insbesondere Krebs, und es besteht ein großer Bedarf an Substanzen, die selektiv die Apoptose von Krebszellen auslösen. Die Suche nach niedermolekularen Verbindungen, die Apoptose induzieren, hat daher hohe Priorität. Heute sind bereits zahlreiche Naturstoffe bekannt, die an verschiedenen Punkten der Apoptosemechanismen eingreifen. Der Fortschritt in diesem Bereich hängt stark von der erfolgreichen Zusammenarbeit zwischen Naturstoffchemie, Synthese und der medizinischen Chemie ab.

Naturstoffe sind potenzielle Leitstrukturen für zukünftige Arzneistoffe zur Behandlung von apoptotischen Fehlregulationen. Der Fall des Apoptolidins belegt die Bedeutung von Glycokonjugaten für die biologische Funktion. In jüngster Zeit wurden effiziente Synthesestrategien entwickelt, die eine frühe Einführung des Zuckerrestes ermöglichen.

Anhang

Liste der verwendeten Abkürzungen

9-BBN	9-Borabicyclononan
Ac	Acetyl
AIBN	Azobis(isobutyronitril)
Binap	2,2'-Bis(diphenylphosphanyl)-1,1'-binaphthyl
Bn	Benzyl
Cp	Cyclopentadienyl
CSA	Camphersulfonsäure
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon
(DHQ) ₂ -PHAL	Hydrochinon-1,4-phthalazindiyl-diether
(DHQ) ₂ -PYR	2,5-Diphenyl-4,6-bis(9-O-dihydrochinyl)pyrimidin
DIBALH	Diisobutylaluminiumhydrid

DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMP	Dess-Martin-Periodinan
DMSO	Dimethylsulfoxid
d.r.	Diastereomerenverhältnis
DTBMP	2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylpyridin
HMPA	Hexamethylphosphoramid
LHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
<i>m</i> CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
PKC	Proteinkinase C
PMB	<i>p</i> -Methoxybenzyl
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
r.r.	Regioisomerenverhältnis
SIBA	1,1,4,4-Tetraphenyl-1,4-disilabutyl
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
Tc	Thiophen-2-carboxylat
TES	Triethylsilyl
TIPS	Triisopropylsilyl
TMNO	Trimethylamin- <i>N</i> -oxid
TMS	Trimethylsilyl
TNF	Tumornekrosefaktor
Tf	Trifluormethansulfonyl
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl

P.T.D. und U.K. danken allen erwähnten Mitarbeitern für ihre wertvollen Beiträge. Dr. D. Mumberg (Schering AG) danken wir für die biologischen Untersuchungen von Apoptolidin und Derivaten. U.K. dankt weiterhin dem Fonds der Chemischen Industrie und der Schering AG Berlin für die großzügige Unterstützung. P.T.D. dankt der Deutschen Krebshilfe und der Deutschen José Carreras Leukämie-Stiftung.

Eingegangen am 1. August 2005

Online veröffentlicht am 11. Januar 2006

Übersetzt von Christian König, Marburg

- [1] J. F. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie, *Br. J. Cancer* **1972**, 26, 239–257.
- [2] E. Check, *Nature* **2002**, 419, 548–549.
- [3] P. Golstein, L. Aubry, J. P. Levraud, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, 4, 798–807.
- [4] a) J. M. Brown, L. D. Attardi, *Nat. Rev. Cancer* **2005**, 5, 231–237; b) A. Mrozek, H. Petrowsky, I. Sturm, J. Krauss, S. Hermann, S. Hauptmann, M. Lorenz, P. T. Daniel, *Cell Death Differ.* **2003**, 10, 461–467.
- [5] A. Prokop, T. Wieder, I. Sturm, F. Essmann, K. Seeger, C. Wuchter, W.-D. Ludwig, G. Henze, B. Dörken, P. T. Daniel, *Leukemia* **2000**, 14, 1606–1613.
- [6] B. Rau, I. Sturm, H. Lage, S. Berger, U. Schneider, S. Hauptmann, P. Wust, H. Riess, P. M. Schlag, B. Dörken, P. T. Daniel, *J. Clin. Oncol.* **2003**, 18, 3391–3401.
- [7] K. Schelwies, I. Sturm, P. Grabowski, H. Scherübl, I. Schindler, S. Hermann, H. Stein, H. J. Buhr, E. O. Riecken, M. Zeitz, B. Dörken, P. T. Daniel, *Int. J. Cancer* **2002**, 99, 589–596.
- [8] I. Sturm, A. G. Bosanquet, S. Hermann, D. Güner, B. Dörken, P. T. Daniel, *Cell Death Differ.* **2003**, 10, 477–484.
- [9] I. Sturm, C. H. Kohne, G. Wolff, H. Petrowsky, T. Hillebrand, S. Hauptmann, M. Lorenz, B. Dörken, P. T. Daniel, *J. Clin. Oncol.* **1999**, 17, 1364–1374.

- [10] I. Sturm, H. Petrowsky, R. Volz, M. Lorenz, S. Radetzki, T. Hillebrand, G. Wolff, S. Hauptmann, B. Dörken, P. T. Daniel, *J. Clin. Oncol.* **2001**, *19*, 2272–2281.
- [11] a) K. C. Nicolaou, C. N. Boddy, *Sci. Am.* **2001**, *284*, 54; b) K. C. Nicolaou, J. A. Pfefferkorn, A. J. Roecker, G. Q. Cao, S. Barluenga, H. J. Mitchell, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9939–9953.
- [12] W. G. van Doorn, E. J. Woltering, *Trends Plant Sci.* **2005**, *10*, 117–122.
- [13] a) N. A. Thornberry, Y. Lazebnik, *Science* **1998**, *281*, 1312–1316; b) C. Garrido, G. Kroemer, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2004**, *16*, 639–646; c) M. E. Peter, P. H. Krammer, *Cell Death Differ.* **2003**, *10*, 26–35.
- [14] a) D. R. Green, J. C. Reed, *Science* **1998**, *281*, 1309–1312; b) E. Finkel, *Science* **2001**, *292*, 624–626; c) P. T. Daniel, K. Schulze-Osthoff, C. Belka, D. Güner, *Essays Biochem.* **2003**, *39*, 73–88.
- [15] a) A. Hasenjäger, B. Gillissen, A. Müller, G. Normand, P. G. Hemmati, M. Schuler, B. Dörken, P. T. Daniel, *Oncogene* **2004**, *23*, 4523–4535; b) D. Tang, J. M. Lahti, V. J. Kidd, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 9303–9307; c) G. Kulik, J. P. Carson, T. Vomastek, K. Overman, B. D. Gooch, S. Srinivasula, E. Alnemri, G. Nunez, M. J. Weber, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 2713–2719.
- [16] J. Wendt, C. von Haefen, P. G. Hemmati, C. Belka, B. Dörken, P. T. Daniel, *Oncogene* **2005**, *24*, 4052–4064.
- [17] a) C. von Haefen, B. Gillissen, P. G. Hemmati, J. Wendt, D. Güner, A. Mrozek, C. Belka, B. Dörken, P. T. Daniel, *Oncogene* **2004**, *23*, 8320–8332; b) J. T. Ernst, J. Becerril, H. S. Park, H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 553–557; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 535–539.
- [18] D. W. Nicholson, *Cell Death Differ.* **1999**, *6*, 1028–1042.
- [19] a) D. W. Nicholson, *Nature* **2000**, *407*, 810–816; b) J. R. Reed, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 111–121; c) A. D. Schimmer, *Cancer Res.* **2004**, *64*, 7183–7190.
- [20] a) S. Nagata, H. Nagase, K. Kawane, N. Mukae, H. Fukuyama, *Cell Death Differ.* **2003**, *10*, 108–116; b) K. Lauber, S. G. Blumenthal, M. Waibel, S. Wesselborg, *Mol. Cell* **2004**, *14*, 277–287; c) G. S. Robertson, S. J. Crocker, D. W. Nicholson, J. B. Schulz, *Brain Pathol.* **2000**, *10*, 283–292; d) R. V. Talanian, K. D. Brady, V. L. Cryns, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3351–3371; e) F. F. Poordad, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2004**, *5*, 1198–1204; f) D. V. Kravchenko, Y. A. Kuzovkova, V. M. Kysil, S. E. Tkachenko, S. Maliarchouk, I. M. Okun, K. V. Balakin, A. V. Ivachtchenko, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3680–3683; g) D. A. Erlanson, J. W. Lam, C. Wiesmann, T. N. Luong, R. L. Simmons, W. L. DeLano, I. C. Choong, M. T. Burdett, W. M. Flanagan, D. Lee, E. M. Gordon, T. O'Brien, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 308–314; h) O. Ramstrom, J. M. Lehn, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 26–36.
- [21] J. W. Kim, H. Adachi, K. Shin-ya, Y. Hayakawa, H. Seto, *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 628–630.
- [22] Y. Hayakawa, J. W. Kim, H. Adachi, K. Shin-ya, K. Fujita, H. Seto, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3524–3525.
- [23] a) A. R. Salomon, D. W. Voehringer, L. A. Herzenberg, C. Khosla, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 14766–14771; b) A. R. Salomon, D. W. Voehringer, L. A. Herzenberg, C. Khosla, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 71–80; c) A. R. Salomon, Y. Zhang, H. Seto, C. Khosla, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 57–59.
- [24] P. A. Wender, O. D. Jankowski, E. A. Tabet, H. Seto, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 487–490.
- [25] a) P. A. Wender, A. V. Gulledge, O. D. Jankowski, H. Seto, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3819–3822; b) J. D. Pennington, H. J. Williams, A. R. Salomon, G. A. Sulikowski, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3823–3825; c) P. A. Wender, M. Sukopp, K. Longcore, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3025–3028.
- [26] H. Wehlan, M. Dauber, M. T. Mujica Fernaud, J. Schuppan, M. E. Juarez Garcia, R. Mahrwald, U. Koert, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4698–4702; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4597–4601.
- [27] J. Schuppan, H. Wehlan, S. Keiper, U. Koert, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2125–2128; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2063–2066.
- [28] J. Schuppan, B. Ziemer, U. Koert, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 621–624.
- [29] G. Jung, A. Klerner, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 740–745.
- [30] a) R. Preuss, R. R. Schmidt, *Synthesis* **1988**, 694–697; b) W. R. Roush, X. F. Lin, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5740–5742.
- [31] a) K. C. Nicolaou, Y. Li, K. C. Fylaktakidou, H. J. Mitchell, H. X. Wei, B. Weyershausen, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3968–3972; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3849–3854; b) K. C. Nicolaou, Y. Li, K. C. Fylaktakidou, H. J. Mitchell, K. Sugita, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3972–3976; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3854–3857; c) K. C. Nicolaou, K. C. Fylaktakidou, H. Monenschein, Y. Li, B. Weyershausen, H. J. Mitchell, H. X. Wei, P. Guntupalli, D. Hepworth, K. Sugita, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15433–15442; d) K. C. Nicolaou, Y. Li, K. Sugita, H. Monenschein, P. Guntupalli, H. J. Mitchell, K. C. Fylaktakidou, D. Vourloumis, P. Giannakakou, A. O'Brate, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15443–15454.
- [32] I. Bajza, A. Liptak, *Carbohydr. Res.* **1990**, *205*, 435–439.
- [33] D. Kahne, S. Walker, Y. Cheng, D. VanEngen, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6881–6882.
- [34] SIBACl₂ wurde durch Reaktion von 1,2-Bis(trichlorsilyl)ethan mit Phenylmagnesiumbromid hergestellt.
- [35] a) D. A. Evans, J. S. Clark, R. Metternich, V. J. Novack, G. S. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 866–868; b) D. A. Evans, A. S. Kim, R. Metternich, V. J. Novack, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5921–5942.
- [36] D. A. Evans, H. P. Ng, J. S. Clark, D. L. Rieger, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2127–2142.
- [37] a) D. A. Evans, K. T. Chapman, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3560–3578; b) D. A. Evans, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6447–6449.
- [38] J. Thiem, J. Elvers, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 3049–3057.
- [39] G. D. Allred, L. S. Liebeskind, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2748–2749.
- [40] K. C. Nicolaou, Y. Li, B. Weyershausen, H.-X. Wei, *Chem. Commun.* **2000**, 307–308.
- [41] a) B. Wu, Q. Liu, G. A. Sulikowski, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6841–6843; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6673–6675; b) G. A. Sulikowski, W.-M. Lee, B. Jin, B. Wu, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1439–1442; c) B. Jin, Q. Liu, G. A. Sulikowski, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 401–408; d) M. T. Crimmins, H. S. Christie, K. Chaudhary, A. Long, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13810–13812.
- [42] a) K. Toshima, T. Arita, K. Kato, D. Tanaka, S. Matsumura, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8873–8876; b) K. Abe, K. Kato, T. Arai, M. A. Rahim, I. Sultana, S. Matsumura, K. Toshima, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8849–8853.
- [43] W. D. Paquette, R. E. Taylor, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 103–106.
- [44] a) M. T. Crimmins, A. Long, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4157–4160; b) Y. Chen, J. B. Evarts, E. Torres, P. L. Fuchs, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3571–3574.
- [45] P. A. Wender, O. D. Jankowski, E. A. Tabet, H. Seto, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2299–2302.
- [46] Hermut Wehlan, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2004**.
- [47] Julia Schuppan, Dissertation, Humboldt-Universität Berlin, **2002**.
- [48] H. Ishihara, B. L. Martin, D. L. Brautigan, H. Karaki, H. Ozaki, Y. Kato, N. Fusetani, S. Watabe, K. Hashimoto, D. Uemura, D. J. Hartshorne, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *159*, 871–877.

- [49] a) H. W. Ko, K. S. Han, E. Y. Kim, B. R. Ryu, W. J. Yoon, J. K. Jung, S. U. Kim, B. J. Gwag, *J. Neurochem.* **2000**, *74*, 2455–2461; b) H. Okamura, K. Yoshida, H. Morimoto, T. Haneji, *J. Cell. Biochem.* **2005**, *94*, 117–125.
- [50] Y. Kato, N. Fusetani, S. Matsunaga, K. Hashimoto, S. Fujita, T. Furuya, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2780–2781.
- [51] a) D. A. Evans, J. R. Gage, J. L. Leighton, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9434–9453; b) F. Yokokawa, Y. Hamada, T. Shioiri, *Chem. Commun.* **1996**, 871–872; c) A. B. Smith III, G. K. Friestad, J. J.-W. Duan, J. Barbosa, K. G. Hull, M. Iwashima, Y. Qiu, P. G. Spoor, E. Bertonesque, B. A. Salvatore, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7596–7597; d) P. O. Andersen, A. G. M. Barrett, J. J. Edmunds, J. Jeremy, S. I. Hachiya, J. A. Hendrix, K. Horita, J. W. Malecha, C. J. Parkinson, A. VanSickle, *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1562–1592.
- [52] a) N. Tanimoto, S. W. Gerritz, A. Sawabe, T. Noda, S. A. Filla, S. Masamune, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 674–677; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 673–676.
- [53] a) A. K. Ogawa, R. W. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12435–12442; b) A. B. Smith III, G. K. Friestad, J. Barbosa, E. Bertonesque, J. J.-W. Duan, K. G. Hull, M. Iwashima, Y. Qiu, P. G. Spoor, B. A. Salvatore, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10478–10486.
- [54] Y. Murakami, Y. Oshima, Y. Yasumoto, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **1982**, *48*, 69–72.
- [55] T. Yasumoto, M. Murata, Y. Oshima, M. Sano, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 1019–1025.
- [56] K. Tachibana, P. J. Scheuer, Y. Tsukitani, H. Kikuchi, D. Van Engen, J. Clardy, Y. Gopichand, F. J. Schmitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2469–2471.
- [57] a) M. Isobe, Y. Ichikawa, T. Goto, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 963–966; b) M. Isobe, Y. Ichikawa, D. L. Bai, H. Masaki, T. Goto, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4767–4776.
- [58] a) C. J. Forsyth, S. F. Sabes, R. A. Urbanek, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8381–8382; b) R. A. Urbanek, S. F. Sabes, C. J. Forsyth, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2523–2533; c) S. F. Sabes, R. A. Urbanek, C. J. Forsyth, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2534–2542; d) A. B. Dounay, R. A. Urbanek, S. F. Sabes, C. J. Forsyth, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2403–2406; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2258–2262.
- [59] S. V. Ley, A. C. Humphries, H. Eick, R. Downham, A. R. Ross, R. J. Boyce, J. B. J. Pavey, J. Pietruszka, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 3907–3911.
- [60] S. Lu, M. Archer, *Carcinogenesis* **2005**, *26*, 153–157.
- [61] E. S. Pizer, C. Jackisch, F. D. Wood, G. R. Pasternack, N. E. Davidson, F. P. Kuhajda, *Cancer Res.* **1996**, *56*, 2745–2747.
- [62] J. N. Li, M. Gorospe, F. J. Chrest, T. S. Kumaravel, M. K. Evans, W. F. Han, S. E. Pizer, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1493–1499.
- [63] S. J. Heiligt, R. Bredehorst, K. A. David, *Cell Death Differ.* **2002**, *9*, 1017–1025.
- [64] T. Hata, Y. Sano, A. Matsumae, Y. Kanio, S. Nomura, R. Sugawara, *Jpn. J. Bacteriol.* **1960**, *15*, 1075.
- [65] R. Shimazawa, Y. Ogawa, N. Morisaki, H. Funabashi, A. Kawaguchi, S. Iwasaki, *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2954–2957.
- [66] H. Yoda in *Cerulenin—Chemistry Reviewed*, Vol. 2 (Hrsg.: G. Lukacs), Springer, Berlin, **1993**, S. 939–970; zit. Lit.
- [67] F. Kuhajda, E. S. Pizer, J. N. Li, N. S. Mani, G. L. Frehywot, C. A. Townsend, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3450–3454.
- [68] S. A. Milligan, C. Nopajaroonsri, *Anticancer Res.* **2001**, *21*, 39–44.
- [69] J. A. Vrana, S. Grant, *Blood* **2001**, *97*, 2105–2114.
- [70] V. Marshansky, X. Wang, R. Bertrand, H. Luo, W. Duguid, G. Chinnadurai, N. Kanaan, M. D. Vu, J. Wu, *J. Immunol.* **2001**, *166*, 3130–3142.
- [71] L. Chen, L. Smith, Z. Wang, J. B. Smith, *Mol. Pharm.* **2003**, *64*, 334–345.
- [72] S. Omura, K. Matsuzaki, T. Fujimoto, K. Kosuge, T. Furuya, S. Fujita, A. Nakagawa, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 117–118.
- [73] Übersichtsartikel über Chemie und Biologie von Lactacystin: a) E. J. Corey, W. Li, *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1–10; b) C. E. Masse, A. J. Morgan, J. Adams, J. S. Panek, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2513–2528; Totalsynthesen: c) E. J. Corey, G. A. Reichard, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10677–10678; d) J. S. Panek, C. E. Masse, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1161–1163; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1093–1095; e) F. Soucy, L. Grenier, M. L. Behnke, A. T. Destree, T. A. McCormack, J. Adams, L. Plamondon, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9967–9976; f) T. Nagamitsu, T. Sunazuka, H. Tanaka, S. Omura, P. A. Sprengeler, I. A. B. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3584–3590; g) H. Uno, J. E. Baldwin, A. T. Russell, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2139–2140; h) N. Chida, J. Takeoka, N. Tsutsumi, Ogawa, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 793–794; i) H. Ooi, N. Ishibashi, Y. Iwabuchi, J. Ishihara, S. Hatakeyama, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7765–7768.
- [74] a) F. Caponigro, C. R. French, S. B. Kaye, *Anti-Cancer Drugs* **1997**, *8*, 26–33; b) D. W. Jarvis, S. Grant, *Invest. New Drugs* **1999**, *17*, 240–277.
- [75] J. A. Zonder, A. F. Shields, M. Zalupski, R. Chaplen, L. K. Heilbrun, P. Arlauskas, P. A. Philip, *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 38–42.
- [76] J. Hofmann, *Curr. Cancer Drug Targets* **2004**, *4*, 125–146.
- [77] G. Meinhardt, J. Roth, G. Totok, *Eur. J. Cell Biol.* **2000**, *79*, 824–833.
- [78] C. Chen, H. Lin, C. Karanes, G. R. Pettit, B. D. Chen, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 4377–4385.
- [79] N. R. Wall, R. M. Mohammad, A. M. Al-Katib, *Leuk. Res.* **1999**, *23*, 881–888.
- [80] G. R. Pettit, C. L. Herald, D. L. Doubek, D. L. Herald, E. Arnold, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6846–6848.
- [81] a) G. R. Pettit in *The Bryostatins*, Vol. 57 (Hrsg.: W. Herz, G. W. Kirby, W. Steglich, C. Tamm), Springer, New York, **1991**, S. 153–195; b) G. R. Pettit, F. Gao, P. M. Blumberg, C. L. Herald, J. C. Coll, Y. Kamano, N. E. Lewin, J. M. Schmidt, J.-C. Chapuis, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 286–289; c) G. R. Pettit, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 812–821.
- [82] M. Kageyama, T. Tamura, M. H. Nantz, J. C. Roberts, P. Somfai, D. C. Whritenour, S. Masamune, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7407–7408.
- [83] D. A. Evans, P. H. Carter, E. M. Carreira, J. A. Prunet, A. B. Charette, M. Lautens, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2526–2530; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2354–2359.
- [84] K. Ohmori, Y. Ogawa, T. Obitsu, Y. Ishikawa, S. Nishiyama, S. Yamamura, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2376–2379; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2290–2294.
- [85] a) P. A. Wender, J. DeBrabander, P. G. Harran, J.-M. Jimenez, M. F. T. Koehler, B. Lippa, C. M. Park, M. Shiozaki, G. R. Pettit, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4534–4535; b) P. A. Wender, J. DeBrabander, P. G. Harran, J.-M. Jimenez, M. F. T. Koehler, B. Lippa, C. M. Park, C. Siedenbiedel, G. R. Pettit, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 6624–6631; c) P. A. Wender, B. Lippa, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1007–1011; d) P. A. Wender, K. W. Hinkle, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6725–6729.
- [86] B. Bernard, T. Fest, J. L. Pretet, C. Mougou, *Cell Death Differ.* **2001**, *8*, 234–244.
- [87] A. Stepczynska, K. Lauber, I. H. Engels, O. Janssen, D. Kabeitz, S. Wesselborg, K. Schulze-Osthoff, *Oncogene* **2001**, 1193–1202.
- [88] M. Giuliano, G. Bellavia, M. Lauricella, A. Danneo, B. Vassallo, R. Vento, G. Tesoriere, *Int. J. Mol. Med.* **2004**, *13*, 565–571.

- [89] S. Omura, Y. Iwai, A. Hirano, A. Nakagawa, J. Awaya, H. Tsuchiya, Y. Takahashi, R. Masuma, *J. Antibiot.* **1977**, *43*, 275–282.
- [90] A. Furusaki, N. Hashiba, T. Matsumoto, A. Hirano, Y. Iwai, S. Omura, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 800–801.
- [91] A. Furusaki, N. Hashiba, T. Matsumoto, A. Hirano, Y. Iwai, S. Omura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, *5*, 3681–3685.
- [92] H. Takahashi, H. Osada, M. Uramoto, K. Isono, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 168–173.
- [93] N. Funato, H. Takayanagi, Y. Konda, Y. Toda, Y. Hariyage, Y. Iwai, S. Omura, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1251–1254.
- [94] a) J. T. Link, S. Raghavan, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 552–553; b) J. T. Link, S. Raghavan, M. Gallant, S. J. Danishefsky, T. C. Chou, L. M. Ballas, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2825–2842.
- [95] a) J. L. Wood, B. M. Stoltz, S. N. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10656–10657; b) J. L. Wood, B. M. Stoltz, S. N. Goodman, K. Onwueme, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9652–9661.
- [96] F. Mollinedo, C. Gajate, *Apoptosis* **2003**, *8*, 413–450.
- [97] M. A. Jordan, L. Wilson, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 253–265.
- [98] T. Graening, H. H. Schmalz, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3292–3318; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3230–3256.
- [99] K. C. Nicolaou, W. M. Dai, R. K. Guy, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 38–69; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 15–44.
- [100] a) K. H. Altmann, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2003**, *3*, 149–158; b) A. Rivkin, T. C. Chao, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2898–2910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2838–2850; c) D. Schinzer, *Modern Aldol React.* **2004**, *1*, 311–328; d) U. Klar, B. Roehr, F. Kuczynski, W. Schwede, M. Berger, W. Skuballa, B. Buchmann, *Synthesis* **2005**, 301–305.
- [101] J. Mulzer, E. Oehler, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3753–3786.
- [102] a) K. C. Nicolaou, J. Pfefferkorn, J. Y. Xu, N. Winssiger, T. Oshima, S. Kim, S. Hosokawa, D. Vourloumis, F. van Delft, T. Li, *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1199–1213; b) D. Castoldi, L. Caggiano, L. Panigada, O. Sharon, A. M. Costa, C. Gennari, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 594–597; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 588–591.
- [103] a) S. J. Mickel, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2004**, *7*, 869–881; b) I. Paterson, G. J. Florence, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2193–2208; c) M. Kalesse, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 171–175.
- [104] Lit. [98–103] verweisen auf ausgewählte Übersichtsartikel über die Chemie und Biologie der Verbindungen **148–154**.
- [105] J. Beliakoff, L. Whitesell, *Anti-Cancer Drugs* **2004**, *15*, 651–662.
- [106] M. V. Blagosklonny, *Leukemia* **2002**, *12*, 455–462.
- [107] a) C. De Boer, P. A. Meulman, R. J. Wnuk, D. H. Peterson, *J. Antibiot.* **1970**, *23*, 442–447; b) K. L. Rinehart, K. Sasaki, G. Slomp, M. F. Grostic, E. C. Olson, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 7591–7593.
- [108] a) M. B. Andrus, E. L. Meredith, E. J. Hicken, B. L. Simmons, R. R. Glancey, W. Ma, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8162–8169.
- [109] H. Cheng, X. Cao, M. Xian, L. Fang, T. B. Cai, J. J. Ji, J. B. Tunac, D. Sun, P. G. Wang, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 546–652.
- [110] E. Pisha, H. Chai, I. S. Lee, T. E. Chagwedera, N. R. Farnsworth, G. A. Cordell, C. W. Beecher, H. H. Fong, A. D. Kingshorn, D. M. Brown, M. C. Wani, M. E. Wall, T. J. Hieken, T. K. Das Gupta, J. M. Pezzuto, *Nat. Med.* **1995**, *1*, 1046–1051.
- [111] Y. M. Tan, R. Yu, J. M. Pezzuto, *Clin. Cancer Res.* **2003**, *9*, 2866–2875.
- [112] H. Ehrhardt, S. Fulda, M. Führer, K. M. Debatin, I. Jeremias, *Leukemia* **2004**, *18*, 1406–1412.
- [113] a) D. Hockenbery, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 417–425; b) D. Liu, Z. Huang, *Apoptosis* **2001**, *6*, 453–462; c) P. Juin, O. Geneste, E. Raimbaud, J. A. Hickman, *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1644*, 251–260.
- [114] S. P. Tzung, K. M. Kim, G. Basanez, C. D. Giedt, J. Simon, J. Zimmerberg, K. Y. J. Zhang, D. M. Hockenbery, *Nat. Cell Biol.* **2001**, *3*, 183–191.
- [115] B. R. Dunshee, C. Leben, G. W. Keitt, F. M. Strong, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2436–2437.
- [116] a) M. Kinoshita, M. Wada, S. Aburagi, S. Umezawa, *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 724–726; b) T. Nishii, S. Suzuki, K. Yoshida, K. Arakaki, T. Tsunoda, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7829–7832.
- [117] a) S. Kitada, M. Leone, S. Sareth, D. Thai, J. C. Reed, M. Pellicchia, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4259–4264; b) C. L. Oliver, M. B. Miranda, S. Shangary, S. Land, S. Wang, D. E. Johnson, *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 23–31; c) R. M. Mohammad, S. Wang, A. Aboukameel, B. Chen, X. Wu, J. Chen, A. Al-Katib, *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 13–21.
- [118] „Gossypol“: L. C. Berardi, L. A. Goldblatt in *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs* (Hrsg.: I. E. Liener), Academic Press, New York, **1980**, S. 183–237.
- [119] M. D. Shelley, L. Hartley, R. G. Fish, P. Groundwater, J. J. G. Morgan, D. Mort, M. Mason, A. Evans, *Cancer Lett.* **1999**, *135*, 171–180.
- [120] T. Nakashima, M. Miura, M. Hara, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 1229–1235.
- [121] G. Anether, I. Tinhofer, M. Senfter, R. Greil, *Blood* **2003**, *101*, 4561–4568.
- [122] F. Tomita, T. Tamaoki, K. Shirahata, M. Kasai, M. Morimoto, S. Ohkubo, K. Mineura, S. Ishii, *J. Antibiot.* **1980**, *33*, 668–670.
- [123] M. Kaneko, T. Nakashima, Y. Uosaki, M. Hara, S. Ikeda, Y. Kanda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 887–890.
- [124] a) V. Wascholowski, A. Giannis, *Drug News Perspect.* **2001**, *14*, 581–590; b) C. Luberto, D. F. Hassler, P. Signorelli, Y. Okamoto, H. Sawai, E. Boros, D. J. Hazen-Martin, L. M. Obeid, Y. A. Hannun, G. K. Smith, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 41128–41139.
- [125] M. Tanaka, F. Nara, K. Suzuki-Konagai, T. Hosoya, T. Ogita, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7871–7872.
- [126] a) C. Arenz, M. Gartner, V. Wascholowski, A. Giannis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2901–2904; b) C. Arenz, A. Giannis, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1498–1500; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1440–1442.
- [127] S. D. Liberles, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 365–372.
- [128] T. Wieder, A. Prokop, B. Bagci, F. Essmann, D. Bernicke, K. Schulze-Osthoff, B. Dorken, H. G. Schmalz, P. T. Daniel, G. Henze, *Leukemia* **2001**, *15*, 1735–1742.