

Epothilone

DOI: 10.1002/ange.200601359

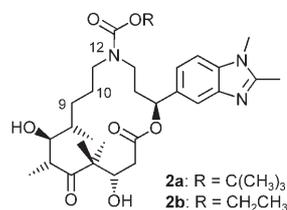
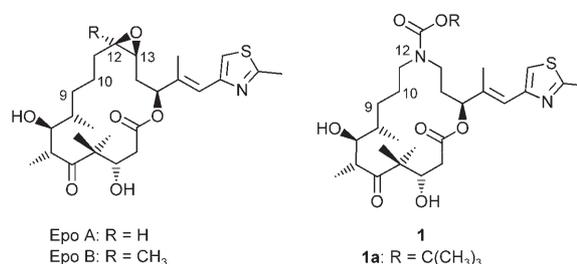
Entwurf und Synthese von 12-Aza-Epothilonen (Azathilonen) – „nicht-natürliche Naturstoffe“ mit potenter Antitumorwirkung**

Fabian Feyen, Jürg Gertsch, Markus Wartmann und Karl-Heinz Altmann*

Naturstoffe sind eine schier unerschöpfliche Quelle von Leitstrukturen zur Wirkstoff-Findung – mehr als 50% der heutigen verschreibungspflichtigen Medikamente leiten sich letztlich von Verbindungen ab, die aus natürlichen Quellen

stammen.^[1] Das Screening großer Naturstoffbibliotheken wird auch in der Zukunft eine wichtige Strategie zur Identifizierung neuer Leitstrukturen und biochemisch oder pharmakologisch interessanter Verbindungen bleiben,^[2] allerdings wurden in den letzten Jahren auch vermehrt neue Wege beschritten, die auf die Verbreiterung des Spektrums an Grundgerüsten für die Naturstoff-basierte Wirkstoff-Findung abzielen. Dazu zählen der De-novo-Aufbau von Substanzbibliotheken „Naturstoff-ähnlicher“ Verbindungen durch diversitätsorientierte Synthese (DOS),^[3] ein Ansatz, der von Schreiber et al. entwickelt wurde, oder der Entwurf Naturstoff-basierter Substanzbibliotheken, ein Konzept, das 2002 von Waldmann et al. eingeführt^[4] und in den letzten Jahren kontinuierlich verfeinert wurde.^[5]

Unsere eigene Forschung im Bereich der Naturstoff-basierten Wirkstoff-Findung konzentriert sich dagegen auf die Entwicklung von neuen biologisch aktiven molekularen Grundgerüsten (oder Chemotypen) auf der Grundlage weitreichender struktureller Veränderungen der molekularen Grundkörper (anstatt einfacher peripherer Derivatisierungen) bereits bekannter Leitstrukturen.^[6] In diesem Zusammenhang haben wir die biologische Aktivität von 12-Aza-Epothilonen untersucht, bei denen ein Kohlenstoff-Atom im Epothilon-Gerüst durch ein Stickstoff-Atom ersetzt ist.^[6c,d,7] Diese lassen sich am treffendsten als „nicht-natürliche Naturstoffe“ beschreiben,^[8] da sie einerseits immer noch die meisten (zweidimensionalen) Struktureigenschaften des ursprünglichen Naturstoffs aufweisen, andererseits aber strukturell einzigartig sind, da von der natürlichen Maschinerie für die Polyketid-Biosynthese keine einzelnen Stickstoff-Atome in ein regelmäßiges Polyketid-Gerüst eingebaut werden können.^[9] Bei unseren Untersuchungen fanden wir, dass 12-Aza-Epothilone **1** („Azathilone“) die antiproliferative Wir-



kung natürlicher Epothilone weitgehend beibehalten können, wobei die Aktivität einzelner Verbindungen von der Art des Acyl-Substituenten am Stickstoff-Atom im Makrocyclus abhängt.^[6d,10]

Leider stellte sich unser erster Syntheseweg als langwierig und wenig effizient heraus.^[6d] Zudem war die Aktivität der Azathilone **1** selbst im günstigsten Fall, nämlich für R = *tert*-

[*] Dr. F. Feyen, Dr. J. Gertsch, Prof. Dr. K.-H. Altmann

ETH Zürich

Departement für Chemie und Angewandte Biowissenschaften

Institut für Pharmazeutische Wissenschaften

ETH Hönggerberg, HCI H 405

Wolfgang-Pauli-Strasse 10, 8093 Zürich (Schweiz)

Fax: (+41) 44-633-1360

E-Mail: karl-heinz.altmann@pharma.ethz.ch

Dr. M. Wartmann

Onkologie DA

Novartis Institut für Biomedizinische Forschung

4002 Basel (Schweiz)

[**] Bettina Sager, Jaqueline Loretan und Robert Reuter sei herzlich für die exzellente technische Unterstützung gedankt. Wir danken auch dem Elektronenmikroskopie-Zentrum (EMEZ) der ETH Zürich für die hervorragende Zusammenarbeit.



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

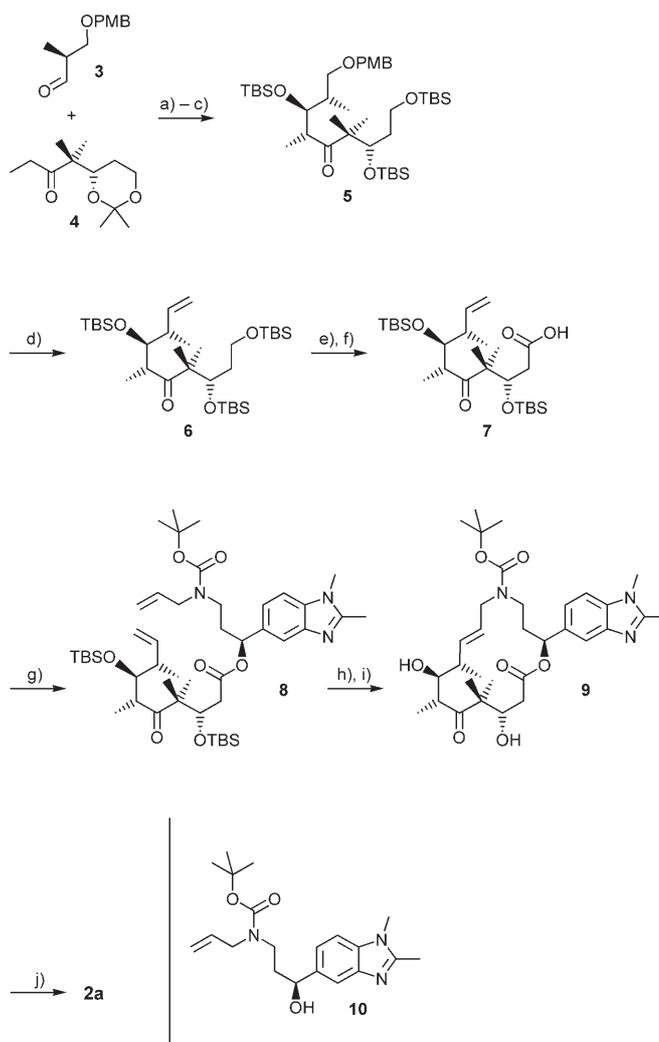
Butyl (**1a**), immer noch 15- bis 50fach niedriger als die von Epothilon A. Dies machte es notwendig, eine neue Syntheseroute zu dieser Verbindungsklasse zu entwickeln, und zwar unter gleichzeitigem Einbeziehen zusätzlicher struktureller Modifikationen, die zu einer Verbesserung der biologischen Aktivität führen sollten. Der Entwurf dieser Verbindungen wurde nicht nur von den bekannten Struktur-Wirkungs-Beziehungen für die Azathilone **1** mit Acyl-Substituenten an N12 (siehe oben),^[6d] sondern auch von früheren Ergebnissen aus unserem Labor beeinflusst, die einen generellen aktivitätssteigernden Effekt einer Dimethylbenzimidazol-Seitenkette in Kombination mit dem natürlichen Epothilon-Gerüst aufgezeigt hatten.^[6a,b,11]

Daraus ergaben sich die Verbindungen **2a** und **2b** als erste Zielmoleküle für eine Totalsynthese und für biologische Untersuchungen. Hier möchten wir über die Totalsynthese der Aza-Makrolide **2a** und **2b**,^[10] entweder durch Ringschlussmetathese (RCM) oder über Makrolactonisierung, und die ersten biologischen Testergebnisse für diese Verbindungen berichten. Die Ringschlussmetathese bot sich zum Aufbau des Makrocyclus an, weil sie den gleichzeitigen Zugang zu den entsprechenden ungesättigten Analoga (als den direkten Cyclisierungsprodukten) eröffnete, die selbst potente antiproliferative Aktivität aufweisen könnten.^[12]

Die RCM-basierte Synthese von **2a** und seinem 9,10-Didehydro-Analogen **9** enthielt drei Schlüsselschritte (Schema 1): 1) die stereoselektive Aldolreaktion von Aldehyd **3**^[13] mit Keton **4**^[14] (d.r. 8:1), 2) die Veresterung von Carbonsäure **7** mit dem ungesättigten Alkohol **10**^[15] und 3) RCM des Bis(olefins) **8**. Bei anfänglichen Versuchen, das Dien **8** mithilfe des Grubbs-Katalysators erster Generation^[16] zu cyclisieren, wurde kein Umsatz festgestellt. Dagegen lieferte der Dihydroimidazol-2-yliden-basierte Grubbs-Katalysator zweiter Generation^[16] das cyclische Olefin in exzellenter Ausbeute (85%), und zwar mit ausschließlicher (!) *E*-Selektivität.

Ähnliche Beobachtungen wurden auch für die RCM-basierte Cyclisierung des Analogons von **8** mit natürlicher Epothilon-Seitenkette gemacht.^[24] Die folgende Reduktion der 9,10-Doppelbindung erwies sich allerdings als schwierig. Diese Doppelbindung war unter verschiedensten Bedingungen äußerst reaktionsträge, was niedrige Ausbeuten und Nebenreaktionen zur Folge hatte (z.B. reduktive Esterspaltung durch H₂/Pd-C ohne Reduktion der Doppelbindung). Die einzig brauchbare Methode zur Umsetzung von **9** zu **2a** bestand in der Verwendung von in situ hergestelltem Diimid, einem Verfahren, das sich schon bei der Hydrierung von 9,10- oder 10,11-DidehydroEpo D zu Epo D (= 12,13-Desoxy-Epo B)^[17] bewährt hatte, und das, nach Reinigung des Produkts durch präparative HPLC, **2a** in 31% Ausbeute lieferte (ausgehend von **9**).

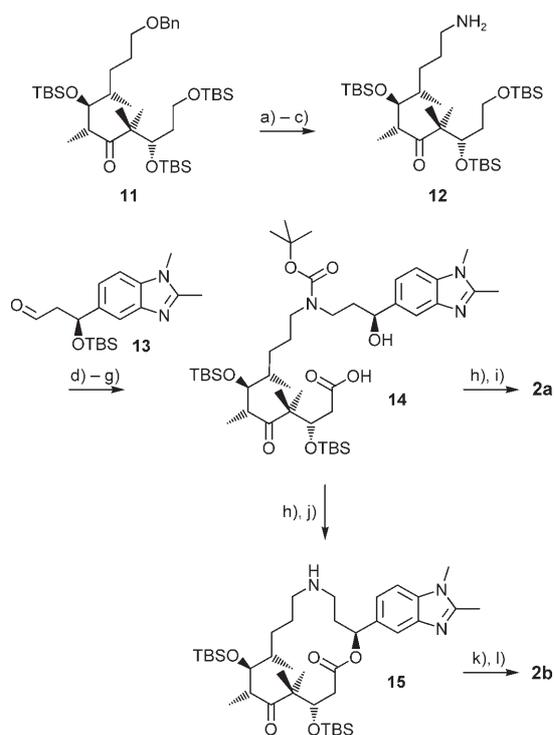
Der obige Syntheseweg lieferte zwar genügend Material für erste biologische Untersuchungen, es war jedoch unverkennbar, dass für weitergehende biologische Studien, inklusive möglicher In-vivo-Studien, ein alternativer Zugang zu **2a** gefunden werden musste. Angesichts der äußerst vielversprechenden ersten biologischen Testergebnisse für **2a** (siehe unten) begannen wir deshalb eine neue Syntheseroute für diese Verbindung zu entwickeln, bei der der Ringschluss an-



Schema 1. a) **4**, LDA, -78°C , 5 h, dann Zugabe von **3**, -90°C , 75 min, 76%, d.r. 8:1; b) PPTS, MeOH, RT, 20 h, 86%; c) 1) TBSOTf, 2,6-Lutidin, $-78^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 1.5 h; 2) Flashchromatographie, 76%; d) 1) H₂/Pd-C, MeOH, RT, 20 h; 2) TPAP, NMO, 4-Ä-MS, CH₂Cl₂, RT, 1 h; 3) MePPH₃Br, LiHMDS, THF, 0°C , 1.5 h, 79% (drei Stufen); e) CSA (1.0 Äquiv.), CH₂Cl₂/MeOH 1:1, 0°C , 1 h, 87%; f) PDC (11 Äquiv.), DMF, RT, 64 h, 85%; g) **10**, DCC (1.2 Äquiv.), DMAP (0.3 Äquiv.), CH₂Cl₂, 0°C , 15 min, RT, 15 h, 60%; h) Grubbs-Katalysator 2. Generation (0.15 Äquiv., portionsweise Zugabe), CH₂Cl₂, Rückfluss, 8 h, 85%; i) HF·Pyridin, Pyridin, THF, RT, 4 h, 70%; j) KO₂C=N=CO₂K (Überschuss), AcOH, CH₂Cl₂, 31%, reines **1** durch präparative HPLC erhalten. PMB = *para*-Methoxybenzyl, LDA = Lithiumdiisopropylamid, PPTS = Pyridinium-*p*-toluolsulfonat, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, TPAP = Tetrapropylammoniumperruthenat, NMO = 4-Methylmorpholin-N-oxid, LiHMDS = Lithium-1,1,1,3,3,3-hexamethylidisilazid, CSA = (+)-Camphersulfonsäure, PDC = Pyridiniumdichromat, DCC = *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, DMAP = 4-Dimethylaminopyridin.

statt durch RCM nun durch eine Makrolactonisierung erfolgen sollte.

Der Aufbau des heteroaliphatischen Gerüsts von **2a** beruhte auf der reduktiven Aminierung von Aldehyd **13** mit Amin **12** (zugänglich in drei Schritten ausgehend vom bekannten, geschützten Tetrol **11**^[14a]; Schema 2). Die besten Ergebnisse wurden mit einem leichten Überschuss an **13**



Scheme 2. a) $\text{H}_2/\text{Pd-C}$, EtOAc , RT, 62 h, 86%; b) HN_3 , DEAD , PPh_3 , THF , 0°C , 25 min, RT, 30 min, 96%; c) $\text{H}_2/\text{Pd-C}$, MeOH , RT, 3 h, 92%; d) 1) **13** (1.1 Äquiv.), $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (1.6 Äquiv.), AcOH (2.0 Äquiv.), 4-Å-MS, RT, 2.5 h; 2) Boc_2O , Et_3N , THF , 0°C , 45 min, 60% (zwei Stufen); e) CSA (1.1 Äquiv.), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1, 0°C , 3 h, 80%; f) PDC (15 Äquiv.), DMF , RT, 24 h, 50%; g) TBAF (6 Äquiv.), THF , RT, 24 h; h) $2,4,6\text{-Cl}_3\text{C}_6\text{H}_2\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, Et_3N , THF , 0°C , 20 min, dann mit Toluol verdünnt und zu einer Lösung von DMAP in Toluol zugegeben, 75°C , 1 h, 44% (zwei Stufen); i) $\text{HF}\cdot\text{Pyridin}$, Pyridin , THF , RT, 2.5 h, dann präparative HPLC, 40%; j) ZnBr_2 (4.0 Äquiv.), CH_2Cl_2 , RT, 2.5 h, quant.; k) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{Cl}$, Et_3N , THF , 0°C , 30 min; l) $\text{HF}\cdot\text{Pyridin}$, Pyridin , THF , RT, 3.5 h, dann präparative HPLC, 32% (zwei Stufen). Bn = Benzyl, DEAD = Diethylazodicarboxylat, Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid.

(1.1 Äquiv.) und $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ als Reduktionsmittel in Gegenwart von Essigsäure (2 Äquiv.) sowie Molekularsieb (4 Å) erzielt. Das Rohprodukt wurde wegen seiner Polarität (sekundäre Amino-Gruppe neben der Benzimidazol-Einheit) direkt in das entsprechende (unpolarere) *N-tert*-Butoxycarbonyl-Derivat überführt (60% Ausbeute über zwei Schritte ausgehend von Amin **12**). Selektive Abspaltung der primären TBS-Gruppe mit CSA , anschließende Oxidation des freien Alkohols durch PDC sowie nachfolgende Entfernung der TBS-Schutzgruppe von C15-O mit TBAF führten schließlich zur *seco*-Säure **14**, die unter Yamaguchi-Bedingungen^[18] zu vollständig geschütztem **2a** cyclisiert wurde (44% ausgehend von C15-O-TBS-geschütztem **14**). Anschließende Abspaltung der TBS-Schutzgruppen mittels $\text{HF}\cdot\text{Pyridin}$ führte in

40% Ausbeute zum Zielmolekül **2a** (nach Reinigung durch HPLC).

Um den Einfluss der *tert*-Butyl-Gruppe von **2a** auf dessen biologische Aktivität (siehe unten) zu untersuchen, synthetisierten wir auch die eng verwandte Verbindung **2b**, die anstelle der *tert*-Butoxycarbonyl-Gruppe in **2a** einen N12-Ethoxycarbonyl-Substituenten enthält.^[19] Azathilon **2b** wurde aus dem doppelt TBS-geschützten **2a** über eine hochselektive Abspaltung der *tert*-Butoxycarbonyl-Gruppe von N12 (ZnBr_2 , CH_2Cl_2 , RT),^[20] Acylierung des gebildeten freien Amins **15** mit Ethylchlorformiat und nachfolgende Entfernung der TBS-Schutzgruppen mittels $\text{HF}\cdot\text{Pyridin}$ hergestellt (Schema 2).

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, handelt es sich bei Azathilon **2a** um ein potentes Zytostatikum, das das Wachstum verschiedener, gegenüber Paclitaxel und anderen gängigen Zytostatika sensitiven menschlichen Krebszell-Linien (A549, HCT-116, PC-3M, KB-31) mit IC_{50} -Werten im unteren nanomolaren Bereich hemmt. Die antiproliferative Wirkung von **2a** ist somit mit derjenigen von Epo A vergleichbar, mit Ausnahme der resistenten Zell-Linie KB-8511, gegen die **2a** eine wesentlich geringere Potenz aufweist (siehe unten). Weiterhin induziert **2a** die Polymerisation von Tubulin *in vitro* mit ähnlicher Potenz wie Epo A (Tabelle 1, Abbildung 1 A); dies spricht dafür, dass die antiproliferative Wirkung von **2a** darauf beruht, dass es die Funktionalität der Mikrotubuli beeinträchtigt, wie das auch bei den natürlichen Epothilonen der Fall ist. Entsprechend führt eine Behandlung von Krebszellen mit **2a** wie auch bei Epo A oder B zu einer Arretierung des Zellzyklus in $\text{G}_2/\text{M}^{[7]}$ (Abbildung 1 B).

Bei Betrachtung der Daten in Tabelle 1 fällt auf, dass **2a** gegenüber sensitiven Zell-Linien mehr als 60fach potenter ist als sein Pendant **1a** mit natürlicher (Epothilon-)Seitenkette. Die molekularen Ursachen dieses Aktivitätsunterschieds sind im Moment noch unbekannt, es gilt aber darauf hinzuweisen, dass der Aktivitätsgewinn von **2a** in Bezug auf **1a** dramatisch höher ausfällt, als das für irgendeine der bisher untersuchten

Tabelle 1: $\alpha\beta$ -Tubulin-Polymerisations- und antiproliferative Aktivität der Azathilone **2a**, **2b** und **9**.

Verb.	$\text{EC}_{50}(\text{Tubulin-Pol.}) [\mu\text{M}]^{\text{[a]}}$	$\text{IC}_{50} [\text{nM}]^{\text{[b]}}$				
		A549	HCT-116	PC-3M	KB-31	KB-8511
2a	3.9 ± 0.6	1.9 ± 0.4	1.6 ± 0.5	2.3 ± 0.6	0.34 ± 0.15	222 ± 48
2b	5.4 ± 0.4	18.0 ± 3.1	23.9 ± 2.9	12.3 ± 1.1	12.6 ± 1.0	> 1000
9	9.1 ± 0.7	920 ± 85	1009 ± 71	973 ± 64	n.b. ^[e]	n.b. ^[e]
1a	5.6 ± 0.4	130 ± 24	110 ± 19	126 ± 22	$31^{\text{[c]}}$	$105^{\text{[c]}}$
Epo A	4.6 ± 0.5	3.2 ± 0.5	2.2 ± 0.3	3.4 ± 0.4	$2.15^{\text{[d]}}$	$1.91^{\text{[d]}}$

[a] Konzentration der Verbindung, die benötigt wird, um 50% der maximal erreichbaren $\alpha\beta$ -Tubulin-Polymerisation zu erzielen ($10 \mu\text{M}$ Tubulin aus Schweinehirn). Die Tubulin-Polymerisation wurde durch Trübungsmessungen bei 340 nm (A_{340}) bestimmt.^[22] Für eine definierte Konzentration einer Verbindung wird der Gleichgewichtszustand zwischen löslichem und polymerisiertem Tubulin durch das Erreichen eines stabilen Plateaus bei A_{340} indiziert. Die maximale Tubulin-Polymerisation ist dann erreicht, wenn eine Erhöhung der Konzentration (des Liganden) keine weitere Erhöhung des Plateauwertes bei A_{340} bewirkt. Für alle untersuchten Verbindungen wurde ein ähnlicher Plateauwert bei A_{340} festgestellt.

[b] IC_{50} -Werte zur Wachstumshemmung menschlicher Krebszellen. KB-31, KB-8511: Gebärmutter; A549: Lunge; HCT-116: Darm; PC-3M: Prostata. KB-8511 ist eine P-Glycoprotein 170 (P-gp170) überexprimierende, multiwirkstoffresistente Sublinie der KB31-Stammlinie. Die Zellen wurden 72 Stunden lang mit den Verbindungen behandelt. Die Zellzahl wurde dann über den Proteingehalt in fixierten Zellen durch Anfärben mit Metylenblau bestimmt.^[23a] Für weitere experimentelle Details siehe Lit. [23b]. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus mindestens drei unabhängigen Messungen (\pm Standardabweichung). [c] Daten aus Lit. [6d]. [d] Daten aus Lit. [6a]. [e] Nicht bestimmt.

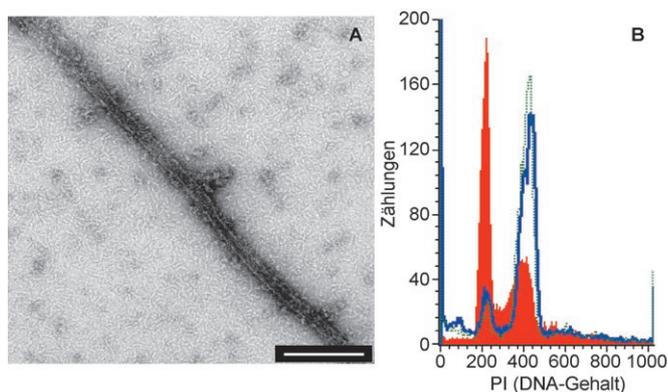


Abbildung 1. A: **2a** induziert die Bildung von Mikrotubuli *in vitro*. [20 μm gereinigtes $\alpha\beta$ -Tubulin aus Schweinehirn wurde mit 20 μM **2a** bei RT 30 min lang in BRB80-Puffer inkubiert.] Der Elektronenmikroskop zeigt einen Teil eines einzelnen langen Mikrotubulus. Maßstab = 100 nm. B: Zellzyklus-Effekte von **2a** auf PC-3M-Zellen (G_1 gegenüber G_2/M). **2a** (250 nM) wurde eine Stunde lang mit 2×10^5 Zellen inkubiert und dann entfernt. Anschließend wurden die Zellen 24 h wachsen gelassen, bevor die DNA-Gehaltsbestimmung mittels Propidiumiodid-Färbung erfolgte. Die Vehikelkontrolle (rot) zeigt Zellen in der G_1 -Phase des Zellzyklus. In Gegenwart von **2a** (blaue Linie) oder Epo A (250 nM; gestrichelte grüne Linie) akkumulierten die Zellen in G_2/M . PI = Propidiumiodid.

Kombinationen der Dimethylbenzimidazol-Seitenkette mit Polyketid-basierten Makrocyclen beobachtet wurde (2- bis 15fach).^[6a,b,11] Ebenso erstaunlich ist die Tatsache, dass **9**, mit einer *trans*-Doppelbindung zwischen C9 und C10, signifikant weniger potent ist als das gesättigte Analogon **2a** (in Bezug sowohl auf die Tubulin-Polymerisation als auch auf die zelluläre Aktivität). Ein ähnlicher Aktivitätsunterschied besteht auch zwischen **1a** und seinem *trans*-9,10-Didehydro-Derivat.^[25] Diese Resultate unterscheiden sich von jenen, die für Epo B und D veröffentlicht wurden: Dort hatte die Einführung einer *trans*-Doppelbindung zwischen C9 und C10 eine verbesserte (!) zelluläre Aktivität zur Folge.^[12b,17a] Diese Befunde könnten ein Hinweis auf Unterschiede in der bioaktiven Konformation von Azathilonen einerseits und natürlichen Epothilonen andererseits sein.

2b hat zwar eine leicht geringere zelluläre Aktivität als **2a** (Tabelle 1), weist aber nach wie vor eine hohe antiproliferative Aktivität gegenüber allen getesteten sensitiven Zell-Linien auf. Darüber hinaus kann bei **2b** von einer besseren Säurestabilität als bei **2a** ausgegangen werden, was in der *In-vivo*-Situation (bei oraler Anwendung) vorteilhaft sein könnte. Gemäß den in Tabelle 1 gezeigten Werten zur Tubulin-Polymerisation induziert **2a** die Polymerisation besser als **2b**, was darauf hinweist, dass hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Protein und dem N12-Carbamat-Substituenten einen wesentlichen Beitrag zur Bindung von **2a** an $\alpha\beta$ -Tubulin liefern.^[19] Ob der Unterschied zwischen **2a** und **2b** in Bezug auf die Tubulin-Polymerisation direkt für die unterschiedliche zelluläre Potenz verantwortlich ist, muss im Moment offen bleiben; letztere könnte auch durch Unterschiede in Parametern beeinflusst werden, die nicht mit der Bindung an das Zielprotein zusammenhängen, z.B. mit zellulärer Aufnahme oder intrazellulärer Verteilung.

Die antiproliferative Wirkung von **2a** und **2b** auf die P-gp-überexprimierende menschliche Zervixkarzinomlinie KB-8511 fällt dagegen schwächer aus als ihre Wirkung auf sensitive Zell-Linien; dies spricht dafür, dass beide Verbindungen Substrate für die P-gp-Effluxpumpe sind. Wir haben allerdings kürzlich zeigen können, dass die Suszeptibilität von Polyketid-basierten Epothilon-Analoga gegenüber dem P-gp-vermittelten Auswärtstransport über die Lipophilie der Verbindungen gesteuert werden kann. Diese Strategie wird gegenwärtig auch für die Leitstrukturen **2a** und **2b** verfolgt.^[21]

Wir haben damit die Totalsynthese zweier Vertreter einer neuen Klasse von hochpotenten Mikrotubuli-Stabilisatoren abgeschlossen. Diese Verbindungen sind durch ein Aza-Makrolidgerüst gekennzeichnet und werden von uns als Azathilone bezeichnet. Die Konzeption dieser Verbindungen ist zwar eng mit der Struktur der natürlichen Epothilone verbunden (deshalb auch der Name „Azathilone“), das Ausmaß der strukturellen Abweichung vom natürlichen Epothilongerüst macht sie jedoch zu Vertretern einer neuen Klasse von „nicht-natürlichen Naturstoffen“ mit charakteristischen Struktureigenschaften und, den ersten biologischen Daten nach zu urteilen, mit für sie spezifischen Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Beide untersuchten Verbindungen sind hochpotente Wachstumshemmer sensitiver Krebszell-Linien und sind somit interessante neue Leitstrukturen für die Entwicklung von Tumorthapeutika.

Eingegangen am 6. April 2006

Online veröffentlicht am 27. Juli 2006

Stichwörter: Epothilone · Mikrotubuli-Stabilisatoren · Naturstoffe · Totalsynthesen · Tumorthapeutika

- [1] G. M. Cragg, D. J. Newman, *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 7–24.
- [2] B. A. Posner, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2005**, *8*, 487–494.
- [3] M. D. Burke, S. L. Schreiber, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 48–60; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 46–58.
- [4] R. Breinbauer, I. R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3002–3015; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2878–2890.
- [5] a) M. A. Koch, H. Waldmann, *Drug Discovery Today* **2005**, *10*, 471–483; b) M. A. Koch, A. Schuffenhauer, M. Scheck, S. Wetzel, M. Casaulta, A. Odermatt, P. Ertl, H. Waldmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 17272–17277; c) M. A. Koch, L.-O. Wittenberg, S. Basu, D. A. Jeyaraj, E. Gourzoulidou, K. Reinecke, A. Odermatt, H. Waldmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 16721–16726.
- [6] a) F. Cachoux, T. Isarno, M. Wartmann, K.-H. Altmann, *Chem-BioChem* **2006**, *7*, 54–57; b) F. Cachoux, T. Isarno, M. Wartmann, K.-H. Altmann, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7636–7640; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7469–7473; c) F. Cachoux, F. Schaal, A. Teichert, T. Wagner, K.-H. Altmann, *Synlett* **2004**, 2709–2712; d) K.-H. Altmann, A. Flörsheimer, G. Bold, G. Caravatti, M. Wartmann, *Chimia* **2004**, *58*, 686–690.
- [7] Neuere Übersichtsartikel zu Epothilonen: a) G. Höfle, H. Reichenbach in *Anticancer Agents from Natural Products* (Hrsg.: G. M. Cragg, D. G. I. Kingston, D. J. Newman), CRC, Boca Raton, **2005**, S. 413–450; b) K.-H. Altmann, *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *11*, 1595–1613; c) K.-H. Altmann, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2137–2152; d) C. R. Harris, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8434–8456; e) K. C. Nicolaou, F. Roschangar, D. Vourloumis, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2120–2153; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2014–2045.

- [8] Zum früheren Gebrauch des Begriffs „nicht-natürliche Naturstoffe“ siehe: L. F. Tietze, H. P. Bell, S. Chandrasekar, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4128–4160; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3996–4028.
- [9] Als Übersichtsartikel siehe z. B.: C. A. Walsh, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 598–606.
- [10] Der Name „Azathilon“ soll im Vergleich mit der Struktur der Epothilone auf das Fehlen des Epoxid-Sauerstoff-Atoms bei gleichzeitigem Ersatz von C12 durch ein Stickstoff-Atom hinweisen. Streng genommen sollten **2a** und **2b** wegen des nicht vorhandenen Thiazolrings, von dem sich das „thil“ in „Epothilon“ ableitet (siehe K. Gerth, N. Bedorf, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 560–564), eigentlich nicht als Azathilone bezeichnet werden.
- [11] K.-H. Altmann, G. Bold, G. Caravatti, A. Flörsheimer, V. Guagnano, M. Wartmann, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2765–2768: Das Ausmaß der Aktivitätszunahme nach Einführung einer Benzimidazol-Seitenkette hängt von der Art des Polyketid-Makrocyclus ab. So ist der Aktivitätsanstieg in der Desoxyepothilon-Reihe (Epo C und D) wesentlich stärker ausgeprägt als bei den entsprechenden Analoga von Epothilon A oder B (siehe auch Lit. [6a,b]).
- [12] a) A. Rivkin, T.-C. Chou, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2898–2910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2838–2850; b) A. Rivkin, F. Yoshimura, G. Fumihiko, A. E. Gabarda, Y. S. Cho, T.-C. Chou, H. Dong, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10913–10922; c) R. L. Arslanian, L. Tang, S. Blough, W. Ma, R.-G. Qiu, L. Katz, J. R. Carney, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1061–1064; d) I. H. Hardt, H. Steinmetz, K. Gerth, F. Sasse, H. Reichenbach, G. Höfle, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 847–856.
- [13] J. D. White, R. G. Carter, K. F. Sundermann, M. Wartmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5407–5413. Aldehyd **3** wurde durch Swern-Oxidation des entsprechenden primären Alkohols hergestellt und ohne weitere Reinigung in Schritt (a) in Schema 2 verwendet. Bei der für diesen Schritt angegebenen Ausbeute wird davon ausgegangen, dass die Oxidation quantitativ verlaufen ist.
- [14] a) K.-H. Altmann, G. Bold, G. Caravatti, D. Denni, A. Flörsheimer, A. Schmidt, G. Rihs, M. Wartmann, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 4086–4110; b) D. Schinzer, A. Bauer, O. M. Böhm, A. Limberg, M. Cordes, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2483–2491.
- [15] Olefin **10** wurde in drei Schritten aus der Acylsultam-Vorstufe von Aldehyd **13** hergestellt (siehe Lit. [11]). Details dieser Synthese werden an anderer Stelle veröffentlicht werden. Zu einer alternativen Herstellung von Carbonsäure **7** siehe Lit. [12b].
- [16] Als aktuellen Übersichtsartikel siehe z. B.: a) R. H. Grubbs, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117–7140; b) T. M. Trnka, R. H. Grubbs, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18–29.
- [17] a) F. Yoshimura, A. Rivkin, A. E. Gabarda, T.-C. Chou, H. Dong, G. Sukenick, F. F. Morel, R. E. Taylor, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2622–2625; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2518–2521; b) K. Biswas, H. Lin, J. T. Njardson, M. D. Chappell, T.-C. Chou, Y. Guan, W. P. Tong, L. He, S. B. Horwitz, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9825–9832.
- [18] J. Inanaga, K. Hirata, H. Saeki, T. Katsuki, M. Yamaguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 1989–1993.
- [19] Im Rahmen unserer bisherigen Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen an Azathilonen **1** wurde auch die N-unsubstituierte Version dieser Verbindungen untersucht, die sich aber als völlig inaktiv erwies. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit auf die Untersuchung des **2a** und **2b** entsprechenden freien Amins (N12-unsubstituiert) verzichtet.
- [20] R. M. Williams, J. Cao, H. Tsujishima, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2640–2644; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2540–2544.
- [21] F. Cachoux, T. Isarno, M. Wartmann, K.-H. Altmann, *Synlett* **2006**, 1384–1388.
- [22] E. Hamel, A. A. del Campo, J. Lustbader, C. M. Lin, *Biochemistry* **1983**, *22*, 1271–1279.
- [23] a) T. Meyer, U. Regenass, D. Fabbro, E. Alteri, J. Rösel, M. Müller, G. Caravatti, A. Matter, *Int. J. Cancer* **1989**, *43*, 851–856; b) K. C. Nicolaou, R. Scarpelli, B. Bollbuck, B. Werschkun, M. M. Pereira, M. Wartmann, K.-H. Altmann, D. Zaharevitz, R. Gussio, P. Giannakakou, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 593–599.
- [24] F. Feyen, K.-H. Altmann, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [25] J. Gertsch, F. Feyen, K.-H. Altmann, unveröffentlichte Ergebnisse.