

**Hybride von Naturstoffstrukturen****Naturstoffhybride als neue Leitstrukturen bei der Wirkstoffsuche\*\****Lutz F. Tietze,\* Hubertus P. Bell und Srivari Chandrasekhar***Stichwörter:**

Biologische Aktivität · Hybride · Kombinatorische Chemie · Naturstoffe · Wirkstoffdesign

Professor Helmut Schwarz  
zum 60. Geburtstag gewidmet



**Angewandte  
Chemie**

Bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe spielen Naturstoffe eine wichtige Rolle. Besondere Bedeutung kommt ihnen auf den Gebieten Antiinfektiva, Krebstherapeutika und Immunsuppressiva zu. Die Zahl der natürlich vorkommenden Substanzen ist jedoch begrenzt, wohingegen durch die Kombination von Teilen unterschiedlicher Naturstoffe Millionen von Naturstoffhybriden mit vielfältigen und verschiedenartigen Eigenschaften zugänglich sein sollten. Dieser Ansatz ist für die Entwicklung neuer Leitstrukturen für sowohl medizinische als auch agrochemische Anwendungen sehr vielversprechend, da die biologische Aktivität dieser Hybride in vielen Fällen diejenige der entsprechenden Mutterverbindungen übersteigt. Der Vorteil dieses Konzepts gegenüber einem auf dem Zufall beruhenden kombinatorischen Ansatz besteht in der Vielfalt und der inhärenten biologischen Aktivität der gebildeten Hybride.

## 1. Einführung

Bevor sich die moderne Synthesechemie in der Mitte des 19. Jahrhunderts zu entfalten begann, hatte die Natur bereits Millionen von Jahren Zeit gehabt, eine Unmenge vielfältiger Substanzen zu entwickeln. Viele dieser Verbindungen verschafften ihrem Produzenten einen evolutionären Vorteil im Überlebenskampf in einer mehr oder weniger unwirtlichen Umgebung, sodass der Anteil biologisch aktiver Verbindungen aus natürlichen Quellen relativ hoch ist. Tatsächlich hat der Mensch die Natur immer als Apotheke genutzt: Etwa 40% der Wirkstoffe, die in den letzten Jahren ihre Zulassung erhielten, sind entweder Naturstoffe oder aber Naturstoffderivate oder -analoga.<sup>[1]</sup> Bei den Krebstherapeutika und Antiinfektiva wird ihr Anteil sogar auf über 60% geschätzt, darunter wohlbekannte Verbindungen wie Penicillin G (**1**), Erythromycin A (**2**) sowie Colchicin (**3**), Vinblastin (**4a**), Vincristin (**4b**) und Paclitaxel (Taxol, **5**). Organtransplantationen wären ohne immunsuppressive Naturstoffe wie Cyclosporin A (**6**), FK-506 (**7**) oder Rapamycin (**8**) undenkbar. Nicht nur die Pharmakologie profitiert von Naturstoffen und deren Analoga, sondern auch der moderne Pflanzenschutz.<sup>[2]</sup> Sie spielen eine wichtige Rolle als hochwirksame Insektizide (z. B. Pyrethrin (**9**) und Spinosyn A (**10a**) und D (**10b**)) oder Fungizide (z. B. Analoga von Strobilurin A (**11**)).

Die moderne kombinatorische Chemie<sup>[3]</sup> erlaubt heutzutage die Synthese von Millionen neuer Verbindungen in relativ kurzen Zeiträumen. Die biologische Aktivität derartiger Substanzbibliotheken kann mit Hochdurchsatz-Screening-Techniken (high throughput screening, HTS) ausgewertet werden.<sup>[4]</sup> Dennoch haben sich bisher keine deutlichen Vorteile dieses rein zufallsgesteuerten Ansatzes gezeigt; dies mag auf einen Mangel an struktureller Diversität zurückzuführen sein. Daher erscheint es nur konsequent, von der Diversität der Natur zu profitieren und zwei oder mehr Naturstoffe miteinander zu einem Hybrid zu kombinieren.

Natürlich stellt sich die Frage, ob eine derartige Strategie bei der Entwicklung biologisch aktiver Therapie-Wirkstoffe mit neuartigen Eigenschaften von Nutzen sein kann, oder ob es schon Beispiele für die Stärken dieser Methodik gibt.

## Aus dem Inhalt

|   |      |
|---|------|
| <b>1. Einführung</b>                    | 4129 |
| <b>2. Natürlich vorkommende Hybride</b> | 4131 |
| <b>3. Synthetische Hybride</b>          | 4133 |
| <b>4. Zusammenfassung und Ausblick</b>  | 4156 |

Genau betrachtet ist die Strategie gar nicht neu, sie wird sogar in der Natur gefunden: z. B. bei Vitamin E, bei dem die terpenoide Phytolketten die Wechselwirkung mit der Zellmembran

sicherstellt und das von der Shikimisäure abgeleitete Phenol als Radikalfänger fungiert. Ein weiteres natürlich auftretendes Naturstoffhybrid ist das bereits erwähnte Indol-Alkaloid Vincristin (**4b**), das die Überlebenschancen an lymphatischer Leukämie erkrankter Kinder deutlich verbessert hat: Früher verlief diese Krankheit tödlich, heutzutage können die jungen Patienten mit Vincristin mit einer Erfolgsquote von über 60% geheilt werden. Vincristin ist aufgebaut aus Vindolin – einem Alkaloid der *Aspidosperma*-Untergruppe – und Catharanthin – das zur *Iboga*-Untergruppe der Indol-Alkalioide gehört. Besonders interessant ist, dass keines der Monomere eine ausgeprägte biologische Wirksamkeit aufweist. Da das Konzept noch recht jung ist, sind bisher keine künstlichen Naturstoffhybride als Wirkstoffe zugelassen, doch zeigen mehrere in den vergangenen Jahren entwickelte Verbindungen vielversprechende biologische Aktivität, was in diesem Aufsatz diskutiert wird.

Die Hybride können entweder durch klassische präparative-organische Methoden synthetisiert werden oder aber durch die Hybridisierung der entsprechenden Biosynthesesysteme, namentlich durch einen Transfer von Genclustern in einen neuen Wirtsorganismus, der dann neue – nichtnatürliche – Naturstoffe herstellt. Diese Methode bezeichnet man als „kombinatorische Biosynthese“.<sup>[5]</sup> Sie findet zurzeit hauptsächlich bei der Synthese neuer Polyketide Anwendung.

[\*] Prof. Dr. L. F. Tietze, Dipl.-Chem. H. P. Bell

Institut für Organische Chemie  
Georg-August-Universität Göttingen

Tammannstraße 2, 37077 Göttingen (Deutschland)

Fax: (+49) 551-39-9476

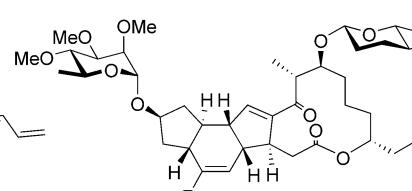
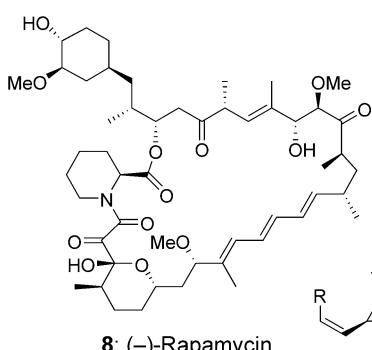
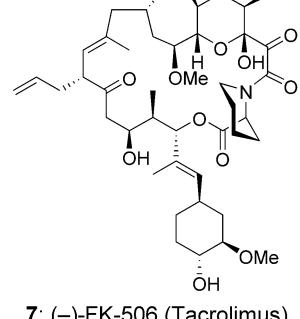
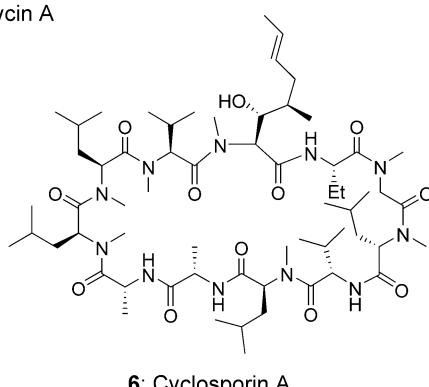
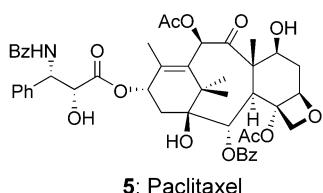
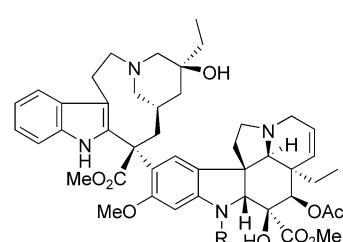
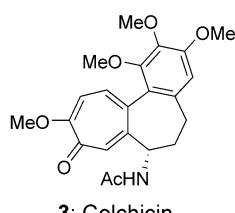
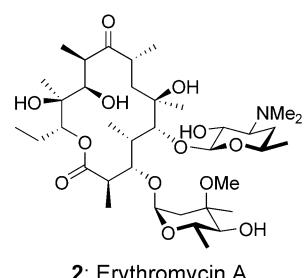
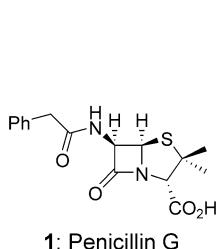
E-mail: ltietze@gwdg.de

Dr. S. Chandrasekhar

Indian Institute of Chemical Technology

Hyderabad, 500 007 (Indien)

[\*\*] Das Titelbild zeigt Ganesha, den indischen Gott der Weisheit und des Wohlstands, in einem Dreieck aus den Naturstoffen Östron und Talaromycin B sowie einem synthetischen Hybrid aus beiden. Einer Legende zufolge schlug Schiwa seinem Sohn in blinder Eifersucht den Kopf ab und gab ihm reumütig den eines Elefanten, des ersten vorbeikommenden Lebewesens.



**9a: Pyrethrin I** R = Me  
**9b: Pyrethrin II** R = CO<sub>2</sub>Me

**10b: (-)-Spinosyn D** R = Me

Im vorliegenden Aufsatz werden zum ersten Mal<sup>[6]</sup> aktuelle Entwicklungen auf den Gebieten Design, Synthese und biologische Evaluierung von Naturstoffhybriden und verwandten Verbindungsklassen diskutiert. Da es bereits exzellente Literaturübersichten über die kombinatorische Biosynthese und die Herstellung von Hybridverbindungen mittels genetisch veränderter Organismen gibt,<sup>[5]</sup> werden diese Gebiete hier nicht erörtert.

Wir haben die Naturstoffhybride in vier Klassen unterteilt: 1. Natürlich vorkommende Hybride, die ganze Naturstoffe oder deren Analoga miteinander verknüpfen, 2. natür-

lich vorkommende Hybride, die Teilstrukturen von Naturstoffen oder deren Analoga miteinander verknüpfen, 3. synthetische Hybride, die ganze Naturstoffe oder deren Analoga miteinander verknüpfen und 4. synthetische Hybride, die Teilstrukturen von Naturstoffen oder deren Analoga miteinander verknüpfen. Unser Hauptaugenmerk gilt der zuletzt genannten Klasse, es werden jedoch auch einige Beispiele für die anderen Gebiete vorgestellt. Schwerpunkt dieses Aufsatzes ist die Diskussion von künstlichen Hybriden, ihren Synthesen sowie ihren biologischen Eigenschaften, die sich oftmals von denjenigen ihrer Stammverbindungen unterscheiden.



**Lutz F. Tietze**, geboren 1942, studierte Chemie an den Universitäten Kiel und Freiburg und promovierte 1968 bei B. Franck. Nach Aufenthalten bei G. Büchi am MIT, Cambridge (USA), und A. R. Battersby in Cambridge (Großbritannien), habilitierte er 1975 an der Universität Münster. 1977 erfolgte die Berufung zum Professor an die Universität Dortmund, 1978 an die Universität Göttingen. Unter seinen Auszeichnungen sind der Literaturpreis des Fonds der Chemischen Industrie und die Ehrendoktorwürde der Universität Szeged. Er ist Coautor des Buches „Reaktionen und Synthesen in der Organischen Chemie“.

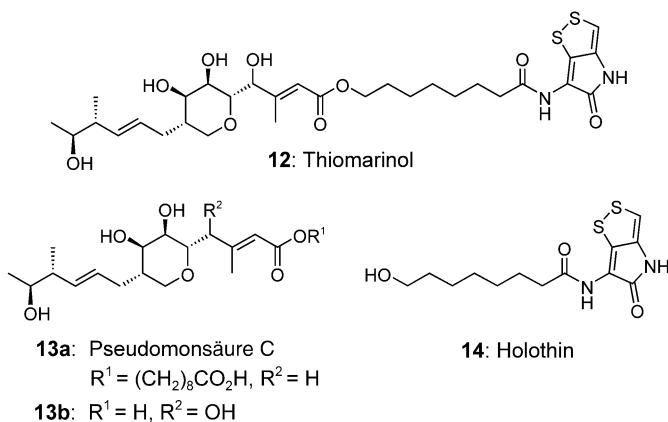


**Srivari Chandrasekhar**, geboren 1964, studierte Chemie an der Osmania University in Hyderabad und promovierte 1991 bei A. V. Rama Rao am Indian Institute of Chemical Technology (IICT), Hyderabad. Nach Aufenthalten bei J. R. Falck an der University of Texas South-Western Medical School und L. F. Tietze an der Universität Göttingen wurde er Assistant Director am IICT. Für seine Arbeiten wurde er mit dem Indian Young Scientist Award ausgezeichnet. Seine Forschung konzentriert sich auf kombinatorische Chemie und die Totalsynthese bioaktiver Moleküle, darunter auch Naturstoffhybride.

## 2. Natürlich vorkommende Hybride

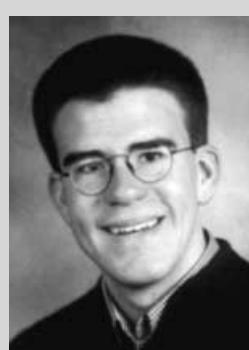
### 2.1. Natürlich vorkommende Hybride, die ganze Naturstoffe oder deren Analoga miteinander verknüpfen

Ein interessantes Beispiel für diese Klasse natürlicher Hybride ist das antimikrobiell wirksame Antibiotikum Thiomarinol (**12**), das aus der Kulturbrühe des marinen Bakteriums *Alteromonas rava* sp. nov. SANK 73390 isoliert wurde. Die Struktur von **12** ist ein Hybrid aus einem Pseudomonosäure-C-Analogon (**13b**) und Holothin (**14**).<sup>[7]</sup> Entscheidend



ist, dass das antimikrobielle Spektrum von Thiomarinol gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien (z. B. multiresistente *Staphylococcus-aurea*-Stämme) Charakteristika beider Mutterverbindungen aufweist – deren Wirksamkeit wird jedoch vom Hybrid **12** deutlich übertroffen.

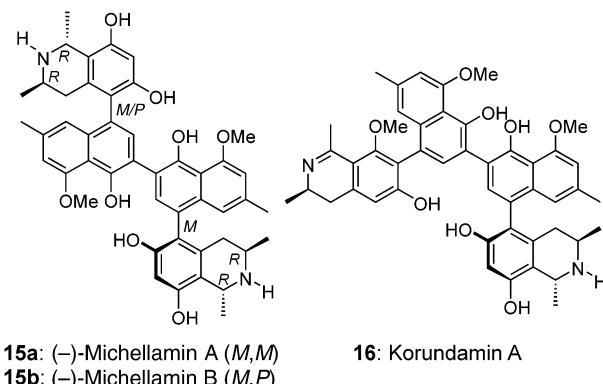
Die Bildung von Dimeren aus Naturstoffen ist in der Natur häufig anzutreffen. Derartige Verbindungen zeigen normalerweise eine andere biologische Aktivität als die entsprechenden Monomere. Zu den bekanntesten Beispiele zählen die erwähnten Alkaloide Vinblastin (**4a**) und Vincristin (**4b**), die beide klinisch eingesetzt werden. Weitere Beispiele sind Bisbenzylisochinolin-Alkaloide wie Tubocurarin, die in der Chirurgie lange Zeit als Muskelrelaxantien Verwendung fanden. Sie wurden mittlerweile durch Amino-



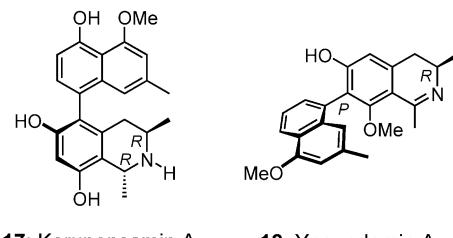
Hubertus P. Bell, geboren 1976, studierte Chemie an der Universität Göttingen und der Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris (ENSCP). Er fertigte 2000 unter der Leitung von L. F. Tietze seine Diplomarbeit „Synthese eines Haptens für eine neuartige Immuntherapie von Tumoren“ an. Derzeit arbeitet er an seiner Doktorarbeit.

steroid-Derivate wie Vecuroniumbromid und Rocuroniumbromid ersetzt.

Einige neue Beispiele für natürlich auftretende dimere Naturstoffdimere sind die Naphthylisochinolin-Alkaloide Michellamin A (**15a**) und B (**15b**) sowie Korundamin A (**16**).<sup>[8]</sup> Michellamin A ist in jeglicher Hinsicht das Homodi-

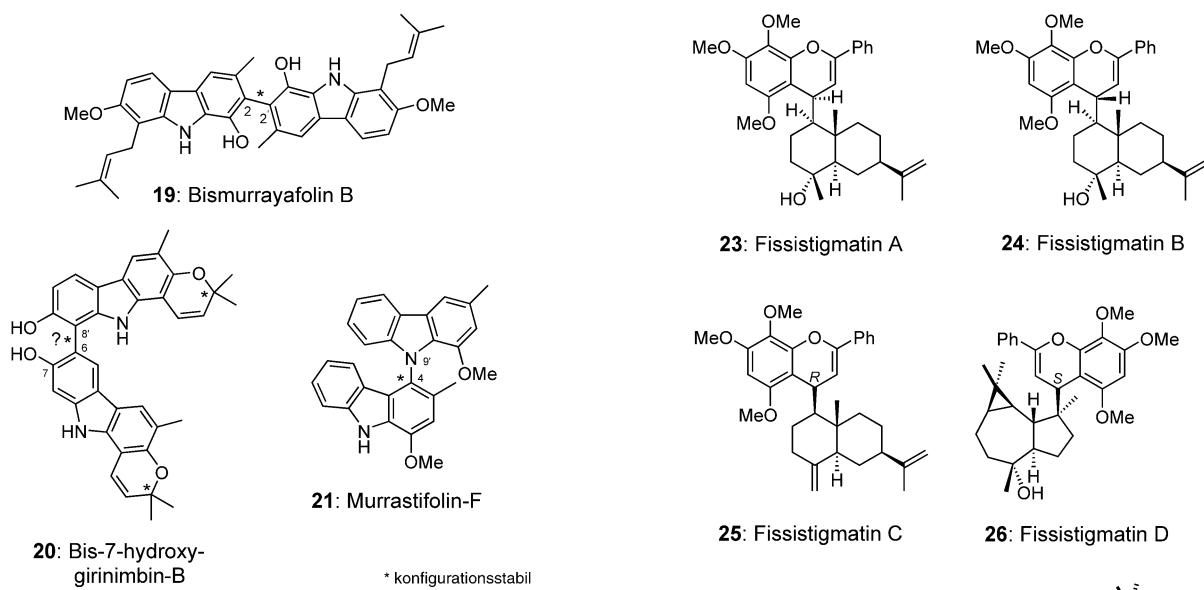


mer des Alkaloids Korupensamin A (**17**), wohingegen Michellamin B die gleiche Konstitution, aber eine andere Konfiguration an einer der beiden stereogenen Achsen aufweist. Dagegen ist Korundamin A das Heterodimer aus Korupensamin A und Yaoundamin A (**18**).

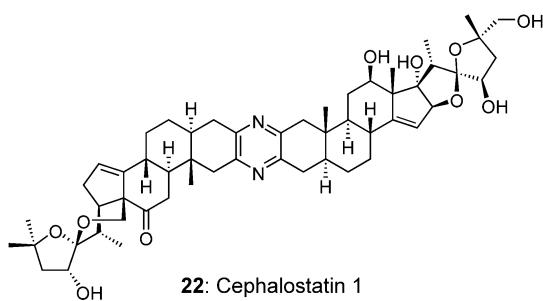


Während monomere Naphthylisochinolin-Alkaloide in den Pflanzenfamilien *Ancistrocladaceae* und *Diocophyllaceae* weit verbreitet sind, wurden die dimeren Verbindungen bisher nur in *Ancistrocladus korupensis* gefunden. Michellamin B und Korundamin A zeigen starke Anti-HIV-Aktivität mit  $EC_{50}$ -Werten um  $2 \mu\text{M}$ . Darüber hinaus weist Korundamin A in vitro einen  $IC_{50}$ -Wert von  $1.1 \mu\text{g mL}^{-1}$  gegen den Malariaerreger *Plasmodia falciparum* auf.

Eine weitere interessante Klasse von Dimeren sind die Biaryliscarbazol-Alkaloide, z. B. **19** und **20**. Hiervon sind lediglich 14 Verbindungen bekannt, die alle aus Pflanzen der zwei *Rutaceae*-Gattungen, *Clausena* und *Murraya* S., isoliert wurden.<sup>[9]</sup> Das charakteristische Strukturmerkmal dieser Alkaloide ist ebenfalls eine stereogene Achse. In diesen Pflanzen werden auch über eine C-N-Bindung verknüpfte Dimere wie **21** gefunden. Die biologische Aktivität der Biaryliscarbazol-Alkaloide ist nicht so ausgeprägt wie die der dimeren Naphthylisochinolin-Alkaloide, einige von ihnen sind jedoch wirksam gegen *Leishmania donovani* sowie gegen Pilzinfektionen.



Cephalostatine und Ritterazine sind Beispiele für dimere Naturstoffhybride mit besonders hoher biologischer Aktivität, die vollkommen andere Eigenschaften haben als ihre Monomere. Beide Substanzklassen enthalten eine Pyrazineinheit, die auf beiden Seiten von einem hochoxygenierten Steroidsystem flankiert wird. Das Cephalostatin 1 (**22**), der



potenteste Vertreter dieses Typs, wurde aus dem marinen Wurm *Cephalodiscus gilchristi* isoliert.<sup>[10]</sup> Beim In-vitro-Screening gegen die 60 humanen Karzinomstandardzelllinien des National Cancer Institute (NCI) wird ein GI<sub>50</sub>-Wert von nur ca. 2.20 nm ermittelt.

Darüber hinaus kennt man viele weitere Beispiele für die Kombination von Naturstoffen, in denen jeweils zwei Xanthon-Einheiten miteinander verknüpft sind, z.B. die Cebeitine,<sup>[11]</sup> Anthrachinon-Xanthon-Konjugate und die Secalon-säuren.<sup>[12]</sup>

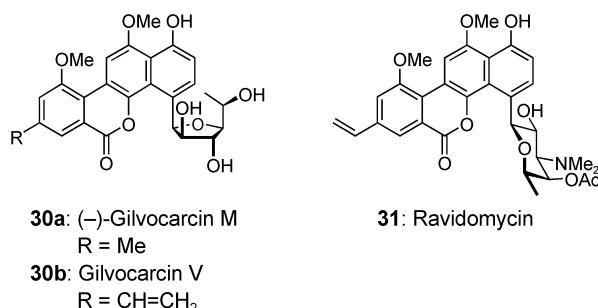
## 2.2. Natürlich vorkommende Hybride, die Teilstrukturen von Naturstoffen oder deren Analoga miteinander verknüpfen

In diesem Abschnitt werden Naturstoffhybride behandelt, in denen mindestens einer der Komponenten ein Molekülteil fehlt, z. B. eine Hydroxygruppe oder ein Kohlenstoffatom. Ein Beispiel sind die Fissistigmatine A–D (**23–26**),

die aus *Fissistigma bracteolatum* Chatt. (Annonaceae), einer Kletterpflanze aus Nordvietnam, isoliert und als Hybride aus einem Flavonoid und einer Sesquiterpen-Einheit charakterisiert wurden.<sup>[13]</sup> In der traditionellen südostasiatischen Medizin wird der Extrakt dieser Pflanze zur Wundstillung sowie als Antiinfektivum eingesetzt.<sup>[14]</sup> Die Biosynthese wurde bisher noch nicht aufgeklärt, aber man geht davon aus, dass sie über einen gemischten Biosynthesepfad verläuft, auf dem eine Chalcon-Einheit **27** und eine Germacren-Einheit **28** bzw. Bicyclogermacren-Einheit **29** miteinander verknüpft werden.

Es gibt Tausende von O- und N-glycosidischen Naturstoffen wie die Saponine, Flavone, Ribonucleoside und anthracyclischen Glycoside, die einen Kohlenhydratteil und einen weiteren Naturstoff, das so genannte Aglycon, enthalten. Diese Substanzen werden in diesem Aufsatz nicht behandelt, gleichwohl erwähnen wir einige C-Glycoside. C-glycosidische Antitumor-Antibiotika, Hybride aus Kohlenhydraten und Tetracyclinen, werden generell zur Naturstoffklasse der Anthracycline gezählt, die bereits in zahlreichen Übersichtsartikeln beschrieben wurde.<sup>[15]</sup>

Gilvocarcin und Ravidomycin repräsentieren eine neue Klasse Aryl-C-glycosidischer Antitumor-Antibiotika. Sowohl **30** als auch das biologisch wirksamere **31** weisen einen

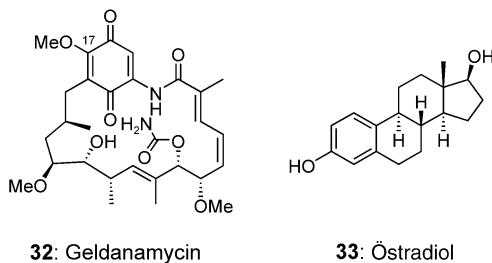


Benzonaphthopyron-Tetracyclus auf; sie unterscheiden sich in der Kohlenhydrateinheit an der C-4-Position (**30**: Fucose; **31**: ein Aminozucker).<sup>[16]</sup>

### 3. Synthetische Hybride

#### 3.1. Synthetische Hybride, die ganze Naturstoffe oder deren Analoga miteinander verknüpfen

Geldanamycin (**32**), ein Ansamycin-Antibiotikum, das zuerst aus *Streptomyces hygroscopicus* isoliert wurde, bindet



an das Hsp90-Chaperonsystem und bewirkt den Abbau mehrerer wichtiger Signalproteine. Deswegen erhoffte man vom Design eines Hybrids aus **32** und Östradiol (**33**) einen selektiven Abbau des Östrogen-Rezeptors (ER).<sup>[17]</sup>

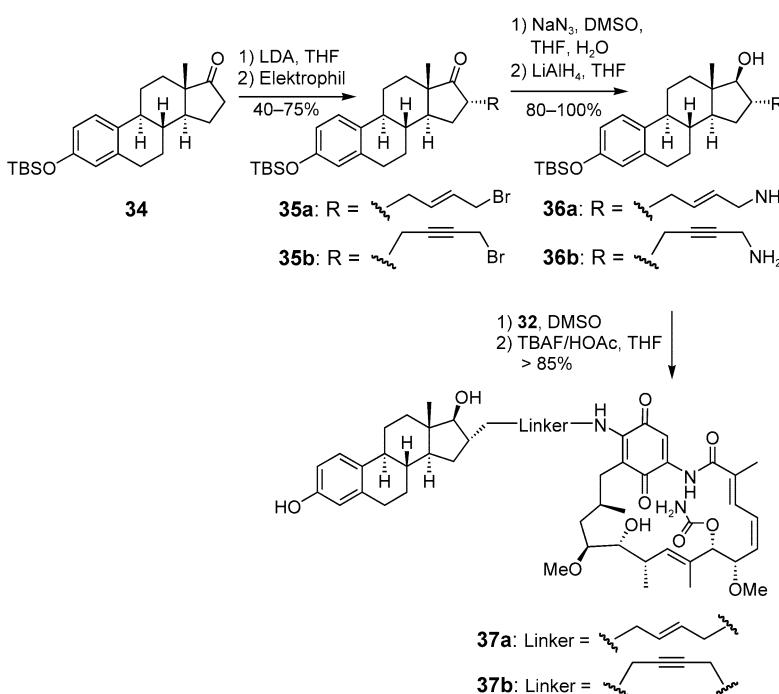
Ausgehend vom geschützten Östron-Derivat **34** wurde der Linker über  $\alpha$ -Alkylierung des Enolats mit einer 1,4-Dihalogenverbindung eingeführt (Schema 1). Die Aminofunktion konnte durch nucleophile Substitution mit Azid und anschließende Reduktion mit  $\text{LiAlH}_4$  erhalten werden. Bei der Verknüpfung mit Geldanamycin (**32**) wurden dessen

Michael-Acceptor-Eigenschaften an C-17 genutzt. Die Spaltung des TBS-Phenolethers lieferte schließlich das Östradiol-Geldanamycin-Hybrid **37**, das auf biologische Wirkung untersucht wurde. Tabelle 1 zeigt die zur Verminderung der Expression verschiedener tumorrelevanter Proteine in MCF7-Brustkrebszellen (HER2, ER und Raf-1) notwendigen Konzentrationen. In einem weiteren Experiment mit den genannten Proteinen und IGF1R konnte gezeigt werden, dass das Hybrid **37a** in der Tat über eine höhere Selektivität beim Abbau von HER2 und ER verfügt als Geldanamycin (**32**) und Östradiol (**33**).

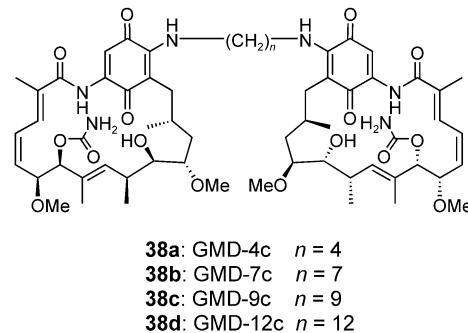
**Tabelle 1:** Wirkung von Geldanamycin **32** und den Hybriden **37a–b** auf HER2, ER und Raf-1 in MCF7-Brustkrebszellen.

| Verbindung | Linker | $\text{IC}_{50}$ -HER2<br>[ $\mu\text{M}$ ] | $\text{IC}_{50}$ -ER<br>[ $\mu\text{M}$ ] | $\text{IC}_{50}$ -Raf-1<br>[ $\mu\text{M}$ ] |
|------------|--------|---|---|--|
| <b>32</b>  | –      | 0.05  | 0.06                                      | 0.2  |
| <b>37a</b> |        | 0.1   | 0.08                                      | 1.5  |
| <b>37b</b> |        | 0.1   | 0.22                                      | 1.5  |

HER-Kinasen, die von Geldanamycin besonders stark inhibiert werden, dimerisieren bei ihrer Aktivierung. Deshalb wurde vermutet, dass beide Einheiten des HER-Kinase-Dimers mit Hsp90 interagieren.<sup>[18]</sup> Folglich wurden die Geldanamycin-Homodimere **38a–d** entwickelt, die mit beiden



**Schema 1.** Synthese von Hybriden aus Geldanamycin (**32**) und Östradiol (**33**).



Untereinheiten des HER-Kinase-Dimers interagieren können. Die beiden Monomere wurden über Diaminoalkyl-Linker unterschiedlicher Länge am jeweiligen C-17-Atom verbunden, da dieses Atom Kristallstrukturanalysen zufolge als einziges nicht in die Bindungstasche hineinragt. Mit steigender Kettenlänge des Linkers wird eine Abnahme der Selektivität beobachtet (Tabelle 2). Die besten Selektivitäten zeigte das Dimer **38a** mit einem Butyl-Linker; es ist besonders aktiv gegen SKBR3, eine Zelllinie, in der das HER2-Gen verstärkt auftritt und folglich das entsprechende Protein deutlich überexprimiert wird. Da die Effekte des Dimers auf andere Schlüsselproteinrezeptoren schwächer sind, sollte GMD-4c (**38a**) weniger toxisch sein als Geldanamycin selbst.

**Tabelle 2:** Wirkung verschiedener Homodimere von Geldanamycin **32** auf Protein-Herabregulierung und Zellwachstum.

| Wirkstoff  | MCF7   |   | SKBR3                                   |   |
|------------|--|---|---|---|
|            | IC <sub>50</sub> <sup>[a]</sup> (HER2)<br>[nM] | IC <sub>50</sub> <sup>[a]</sup> (Raf-1)<br>[nM] | IC <sub>50</sub> <sup>[b]</sup><br>[nM] | IC <sub>50</sub> <sup>[b]</sup><br>[nM] |
| <b>32</b>  | 45   | 200   | 25                                      | 3                                       |
| <b>38a</b> | 60   | 2200  | 100                                     | 20                                      |
| <b>38b</b> | 70   | 500   | 600                                     | 200                                     |
| <b>38c</b> | 500  | 3800  | 700                                     | 500                                     |
| <b>38d</b> | 750  | 3500  | 700                                     | 650                                     |

[a] Wirkstoffkonzentration, bei der das Steady-State-Niveau von HER2 bzw. Raf-1 nach einer Behandlungsdauer von 24 h auf 50% desjenigen einer Vergleichsprobe abgesenkt wird. [b] IC<sub>50</sub> der Wachstumsinhibition: Wirkstoffkonzentration, bei der das Zellwachstum nach viertägiger Behandlungsdauer auf 50% einer Vergleichsprobe abgesenkt wird.

### 3.2. Synthetische Hybride, die Teilstrukturen von Naturstoffen oder deren Analoga miteinander verknüpfen

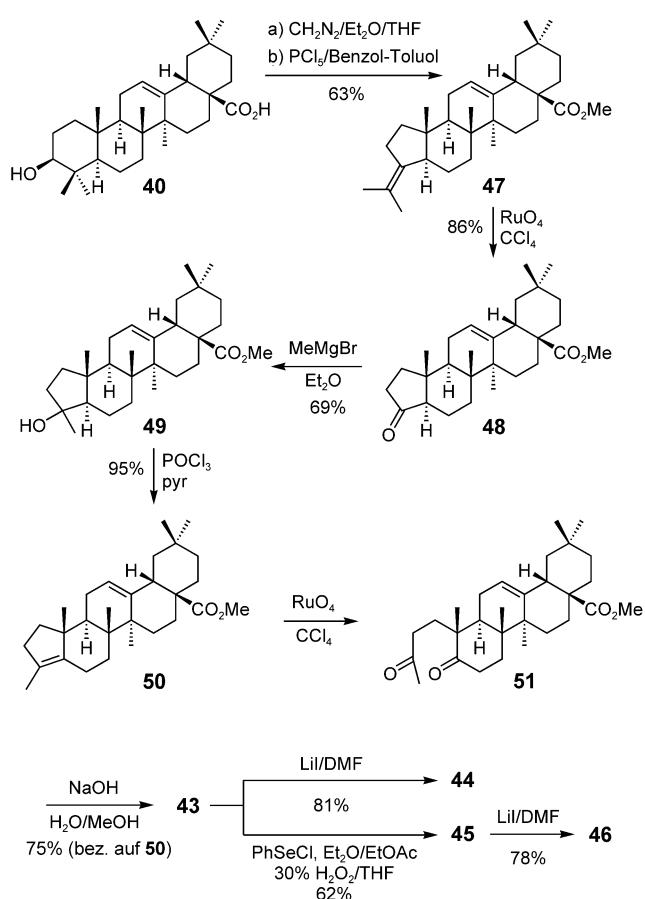
#### 3.2.1. Hybride mit Steroid-Substrukturen

Im Mammakarzinom, Ovarkarzinom, Prostatakarzinom und in endometrialen Karzinomen liegen höhere Konzentrationen von Östrogen-Rezeptoren vor als im Normalgewebe. Dieser Befund führte zur Etablierung von Östrogenen als Teilstrukturen für cytotoxische Verbindungen, um durch eine gesteigerte Organ- und/oder Gewebespezifität die selektive Anreicherung der cytotoxischen Verbindung in den Tumorzellen zu erzielen.<sup>[19]</sup> Da die phenolische Hydroxygruppe an C-3 und die Sauerstoff-Funktionalität an C-17 für die molekulare Erkennung von entscheidender Bedeutung zu sein scheinen, sind sie in den meisten neu entwickelten Hybriden enthalten.<sup>[20]</sup> Dagegen können die Positionen 16 $\alpha$  und 17 $\alpha$  weitgehend frei modifiziert werden, ohne dass dies die Erkennung beeinträchtigt.

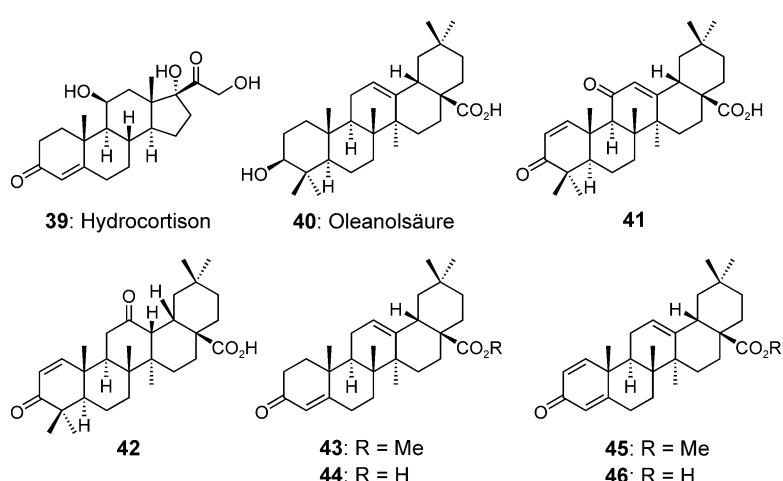
Neben Östrogenen wurden auch andere Steroide wie Corticoide als Vektoren verwendet. Ihre biologische Aktivität beruht auf einer 4-En-3-on- oder 1,4-Dien-3-on-Funktionalität im Ring A, z.B. bei Hydrocortison (**39**) oder Dexamethason. Darüber hinaus konnte gezeigt werden,

dass Derivate der Oleanolsäure (**40**) mit einer 1-En-3-on-Funktionalität im Ring A, z.B. **41** und **42**, eine signifikante inhibitorische Aktivität gegen Interferon- $\gamma$ -induzierte Stickstoffmonoxid-Bildung in Mausmakrophagen aufweisen.<sup>[21]</sup> Deswegen erschien die Entwicklung von Hybridverbindungen, die Teile von **39** und **40** enthalten, interessant für die Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen.<sup>[22]</sup> Die vier Analoga **43–46** wurden synthetisiert und mit induzierbarer NO-Synthase (iNOS) auf biologische Aktivität getestet: Dabei wies **46** eine moderate inhibitorische Aktivität von etwa 1  $\mu$ M auf.

Bei der Synthese von **43–46** (Schema 2) wurde Oleanolsäure (**40**) mit Diazomethan zu Methyloleanolat verestert, das dann mit  $\text{PCl}_5$  dehydratisiert wurde. Hierbei entstand das

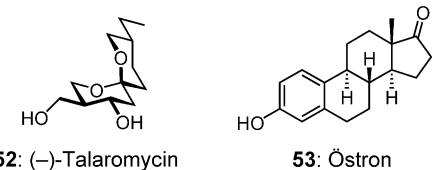


**Schema 2.** Synthese von Hybriden aus Hydrocortison (**39**) und Oleanolsäure (**40**).



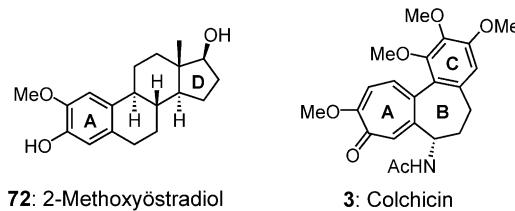
umgelagerte Ringkontraktionsprodukt **47**, das mit  $\text{RuO}_4$  zum Keton **48** oxidiert wurde. Die Addition von Methylmagnesiumbromid führte zum tertiären Alkohol **49**, der mit  $\text{POCl}_3$  in das Alken **50** überführt wurde. Nach oxidativer Ringöffnung mit  $\text{RuO}_4$  wurde das Diketon **51** erhalten, das durch Aldolkondensation erneut cyclisiert wurde. Die Esterfunktion wurde anschließend mit Lithiumiodid abgespalten, wobei man **44** erhielt. Die zweite Doppelbindung im A-Ring konnte durch Umsetzung von **43** mit Phenylselanylchlorid, Oxidation mit

Wasserstoffperoxid und anschließende 2,3-sigmatrope Umlagerung eingeführt werden. Die Dienonsäure **46** wurde danach ebenfalls durch Umsetzung mit Lithiumiodid erhalten.



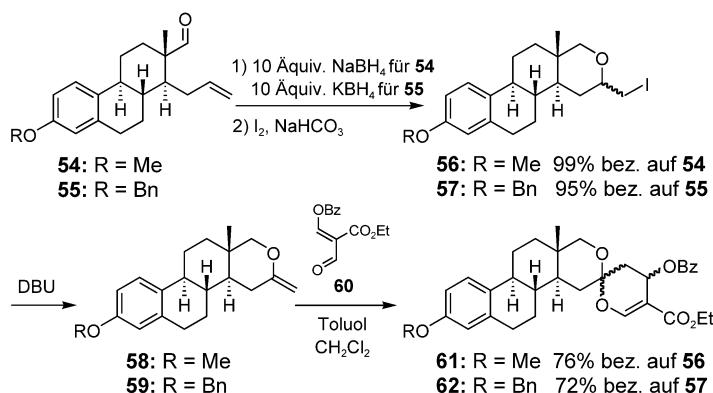
Talaromycin (**52**) ist ein biologisch hochaktives spirocyclisches Mycotoxin.<sup>[23]</sup> Die Kombination dieses Naturstoffs mit Östron (**53**) könnte zu einer neuen Klasse cytotoxischer Substanzen führen.<sup>[24]</sup> Die Synthese der entsprechenden Hybride geht von  $\alpha$ -Secoöstron (**55**) aus, das aus Östron (**53**) leicht in fünf Schritten erhalten werden kann.<sup>[25]</sup> Die Reduktion von **55** mit  $\text{KBH}_4$  führt zum entsprechenden Alkohol, der in einer Veretherung zu einer 2.5:1-Mischung der Iodether-Epimeren **57** umgesetzt wurde (Schema 3). Die Bildung von Stereoisomeren ist hierbei nicht störend, da das neue Stereozentrum bei der nachfolgenden Eliminierung verloren geht. Der dabei entstandene Enolether **59** reagiert als Dienophil in der Hetero-Diels-Alder-Reaktion mit dem Heterodien **60** zum Spiroacetal **62**. Weitere Transformationen

führen zu den neuartigen Naturstoffhybriden **69–71** (Schema 4). Auf ähnliche Weise wurden auch die Methyl-ether **65** und **67** hergestellt. Die Cytotoxizität dieser Verbindungen wurde durch HTCFA-Tests (HTCFA = human tumor colony forming ability) an humanen Lungenkrebszellen (A549) bestimmt. Die  $\text{ED}_{50}$ -Werte lagen bei 23 (**65**), 30 (**67**), 95 (**70**) und 73  $\mu\text{M}$  (**71**) und sind vergleichbar mit denen des weit verbreiteten Tumortherapeutikums Cyclophosphamid.

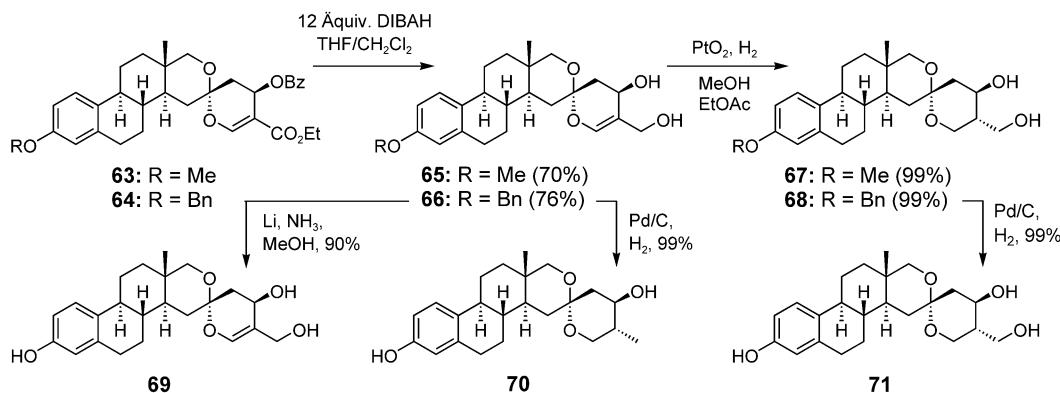


2-Methoxyöstradiol (**72**), ein Metabolit von Östradiol (**33**), ist einer der potentesten endogenen Tubulinpolymerisations-Inhibitoren, die in Säugern entdeckt wurden. Seine Aktivität beruht wahrscheinlich auf einer Wechselwirkung mit dem Colchicin-bindenden Rezeptor von Tubulin.<sup>[26]</sup> Umfangreichere Informationen über Struktur-Wirkungs-Beziehungen erhält man aus Untersuchungen einer Serie von Östradiol-Colchicin-Hybriden, die einen Steroidkörper und ein dem Colchicin ähnliches Tropon-System im Ring A aufweisen.<sup>[27]</sup> Diese Östratropone, z.B. **76** und **78**, inhibieren die Polymerisation von Tubulin mit größerer Wirksamkeit als die Naturstoffe (Tabelle 3). Einige Derivate mit den aktivsten Leitstrukturen sind als Wirkstoffe zur Behandlung von Erkrankungen, die mit abnormalen Gefäßbildungen einhergehen, in der präklinischen Untersuchung.

Die Synthese der Hybride **76** und **78** erfolgte literaturgemäß<sup>[28]</sup> durch selektive Methylierung von Östradiol (**33**) und nachfolgende Birch-Reduktion zu **73**, das nach basenkatalysierter Isomerisierung **74** lieferte (Schema 5). Die beiden Diene **73** und **74** wurden mit Dibrom- oder Dichlorcarben umgesetzt, wobei sich die entsprechenden Cyclopropane **75** und



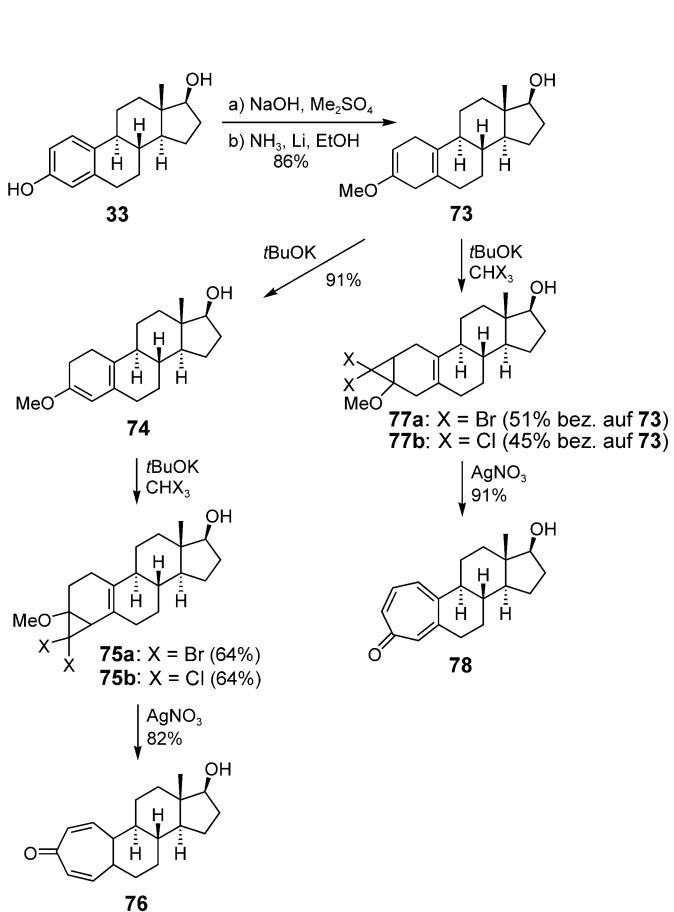
Schema 3. Synthese von Vorstufen verschiedener Östron-Talaromycin-Hybride.



Schema 4. Synthese von Östron-Talaromycin-Hybriden.

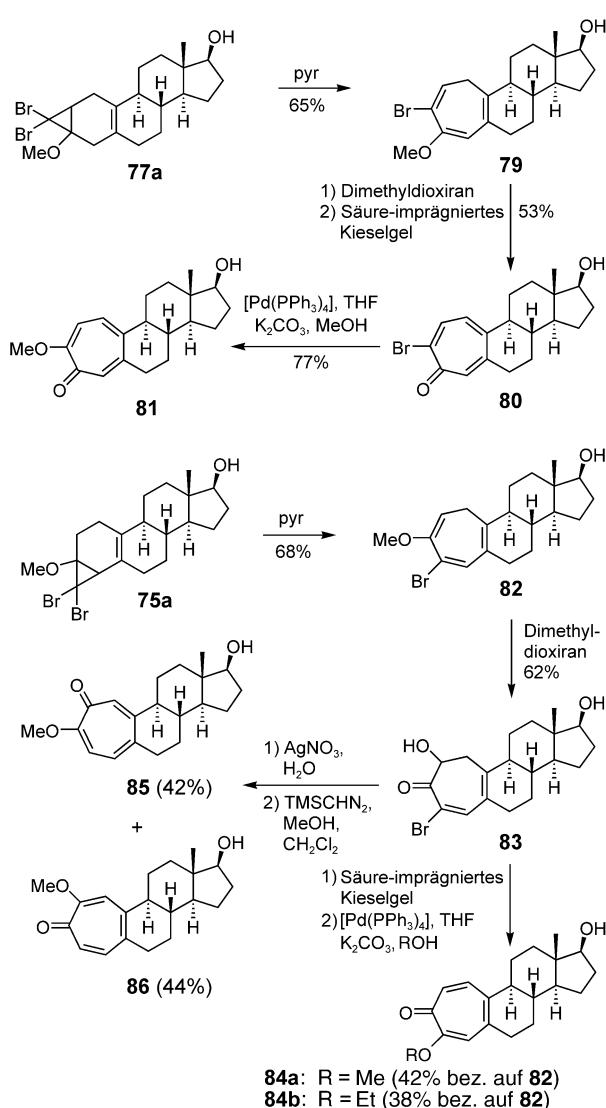
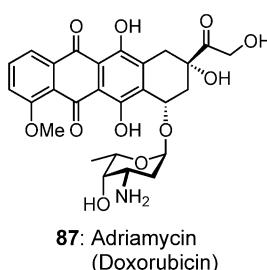
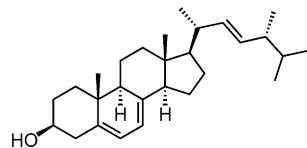
**Tabelle 3:** Wirkung von Östratroponen auf die Tubulin-Polymerisation.

| Verbindung | Inhibition der Tubulin-Polymerisation<br>$IC_{50}$ [ $\mu$ M] | Aktivität<br>( $IC_{50}$ Colchicin/ $IC_{50}$ Wirkstoff) |
|------------|---|--|
| 3          | 11.2 $\pm$ 5.0  | 1  |
| 72         | 14.2 $\pm$ 1.2  | 0.79   |
| 76         | 4.4 $\pm$ 1.7   | 2.5  |
| 78         | 7.2 $\pm$ 1.7   | 1.5  |
| 80         | 2.9 $\pm$ 0.7   | 3.9  |
| 81         | 8.1 $\pm$ 4.1   | 1.4  |
| 84a        | 2.1 $\pm$ 0.5   | 5.3  |
| 84b        | 5.9 $\pm$ 1.1   | 1.9  |
| 85         | 27.5 $\pm$ 5.2  | 0.41   |
| 86         | 29.8 $\pm$ 2.9  | 0.38   |

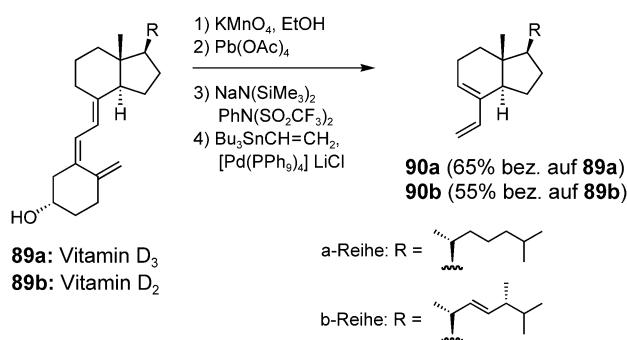

**Schema 5.** Synthese von Hybriden aus 2-Methoxyöstradiol (72) und Colchicin (3) Teil I.

77 bildeten, die in die Homoöstrane 76 und 78 überführt wurden. Auf ähnliche Weise wurden auch die Analoga 81–86 hergestellt (Schema 6).

Ein weiterer Versuch, sich Steroide als Vektoren für die gezielte Entwicklung von Wirkstoffen zunutze zu machen, kombiniert den Anthrachinon-Teil von hochwirksamen anti-neoplastischen Anthracyclin-Antibiotika wie Adriamycin (87) mit Steroid-Elementen.<sup>[29]</sup> Zu diesem Zweck wurden die Hybride 98–101 synthetisiert, indem die beiden durch oxidative Spaltung aus Vitamin D<sub>3</sub> (89a) bzw. D<sub>2</sub> (89b) gewonnenen Diene (90a und 90b, Schema 7) in einer Diels-


**Schema 6.** Synthese von Hybriden aus 2-Methoxyöstradiol (72) und Colchicin (3) Teil II.

**87:** Adriamycin  
(Doxorubicin)

**88:** Ergosterol

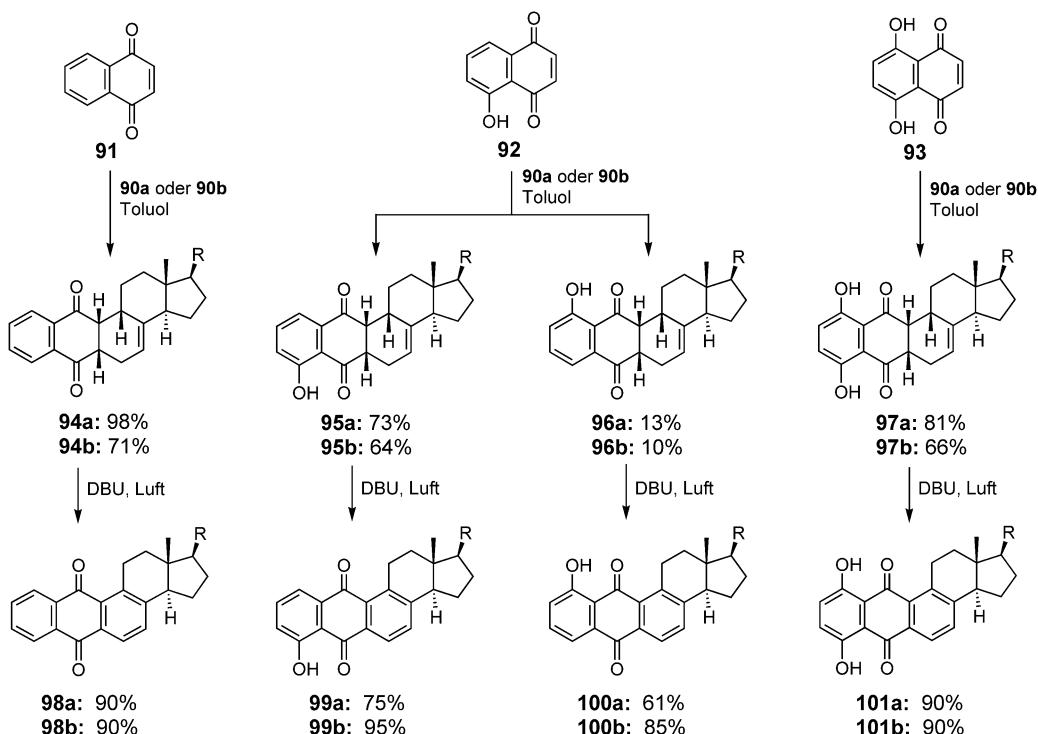
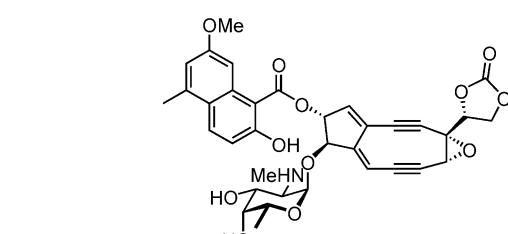
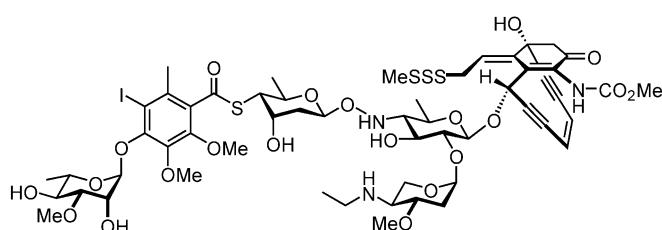
Alder-Reaktion mit den Naphthochinonen 91–93 zu den Addukten 94–97 umgesetzt wurden (Schema 8); nachfolgende Aromatisierung führte zu den Zielverbindungen. 98–101 wurden mit Adriamycin (87) als Standard in vitro gegen vier Tumorzelllinien getestet (Tabelle 4). Die Hybride 98b–101b mit ungesättigter Seitenkette waren cytotoxischer als ihre Analoga 98a–101a mit gesättigter Seitenkette. Die



Schema 7. Synthese der Indan-Derivate 90.

Wirkung einiger dieser Verbindungen überstieg sogar die von Adriamycin.

Das Steroidmotiv wurde auch zum Design neuer anti-neoplastischer Wirkstoffe auf der Basis von Calicheamicin (**102**), Neocarzinostatin (**103**) und ähnlichen bakteriellen Antibiotika verwendet. Die Endiin-Einheit dieser hoch-



Schema 8. Synthese der Steroid-Anthrachinon-Hybride 98–101.

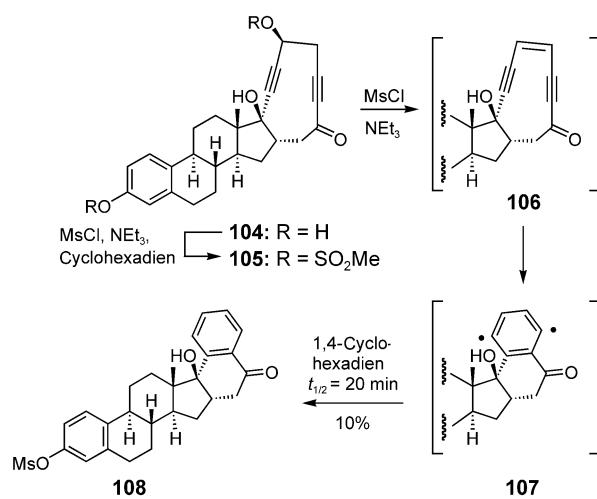
Tabelle 4: In-vitro-Cytotoxizität der Verbindungen **98–101** und Adriamycin (**87**) gegen murine Monozyten/Makrophagen (J774), bovine Aorta-Endothel(GM7373)-, humane Melanom(IGR-1)- und murine Leukämie(P388)-Zelllinien.

| Zelllinie | <b>98 a</b> [ $\mu$ M] <sup>[a]</sup> | <b>98 b</b> [ $\mu$ M] | <b>99 a</b> [ $\mu$ M] | <b>99 b</b> [ $\mu$ M] | <b>100 a</b> [ $\mu$ M] | <b>100 b</b> [ $\mu$ M] | <b>101 a</b> [ $\mu$ M] | <b>101 b</b> [ $\mu$ M] | <b>87</b> [ $\mu$ M] |
|-----------|---------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|
| J774      | 263                                   | 57                     | 216                    | 22                     | 141                     | 95                      | 289                     | 23                      | 100                  |
| GM7373    | 167                                   | 79                     | 192                    | 49                     | 114                     | 120                     | 96                      | 34                      | 32                   |
| IGR-1     | n.b. <sup>[b]</sup>                   | 100                    | 250                    | 67                     | 44                      | 191                     | 502                     | 23                      | 21                   |
| P388      | 639                                   | 411                    | 369                    | 76                     | 169                     | 274                     | 378                     | 49                      | 19                   |

[a] Wirkstoffkonzentration, die bei einer Behandlungsdauer von 48 h zur 50%igen Inhibition des Zellwachstums notwendig ist. [b] Nicht bestimmt.

cytotoxischen Verbindungen bildet in einer Bergman-Cycloaromatisierung ein Diylradikal, das einen DNA-Einzel- oder Doppelstrangbruch induzieren kann. Die Verbindungen haben aufgrund ihrer Toxizität schwere Nebenwirkungen.<sup>[30]</sup>

Um Effizienz und Selektivität zu verbessern, wurde die Endiin-Einheit als Diradikal-Vorstufe sowohl mit DNA-bindenden Einheiten verknüpft<sup>[31]</sup> als auch an ein Östradiol-Molekül gebunden.<sup>[32]</sup> Ein Hybrid aus Östradiol und Calicheamicin (Estramycin) könnte den selektiven Transfer in die Zellkerne humaner Mammakarzinomzellen ermöglichen, die reich an Östrogenrezeptoren (ER $\alpha$  und  $\beta$ ) sind. Durch Reaktion des Steroid-Diinol-Derivates **104** mit Triethylamin und Methansulfonylchlorid konnte über **105** das Östradiol-Endiin **106** als Intermediat erzeugt werden (Schema 9). Die Bergman-Cyclisierung führt zum Diradikal **107**, das in Gegenwart von 1,4-Cyclohexadien mit einer Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 20$  min zum Aren **108** reagiert.

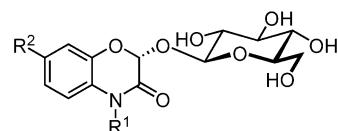


Schema 9. Synthese und Bergman-Cyclisierung des Östradiol-Endiin-Hybrids **106**.

Eine zweite Strategie<sup>[33]</sup> geht vom kommerziell erhältlichen Kontrazeptivum Ethinylöstradiol (**109**) aus (Schema 10). Monosilylierung, Carboxylierung, EDC·HCl-

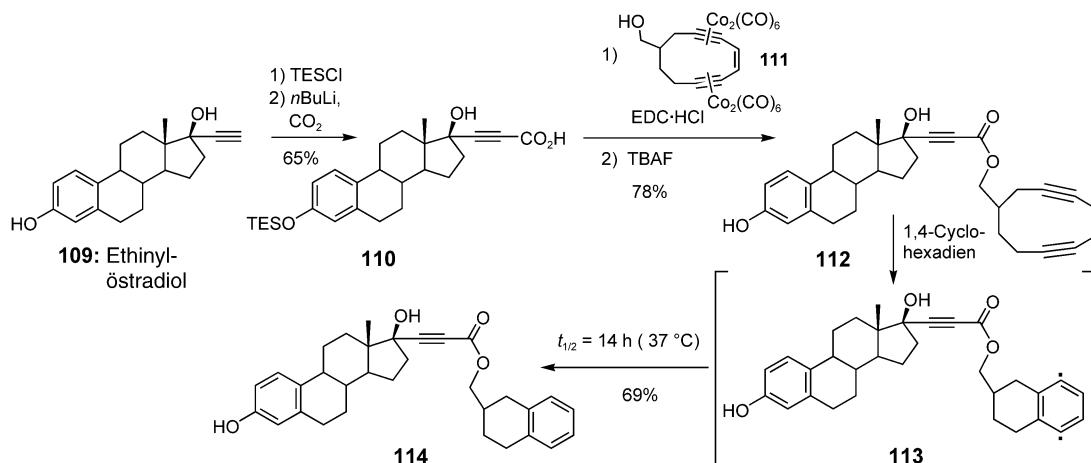
katalysierte Veresterung mit dem geschützten Endiin-Alkohol **111** und Entschützung lieferte das Hybrid **112**, dessen Bindungsaffinität zu HER $\alpha$  zu  $0.51 \mu\text{M}$  bestimmt wurde. Der Wachstumsinhibitionstest an einer HER $\alpha$ -reichen Zelllinie (MCF7:  $\text{IC}_{50} = 31 \mu\text{M}$ ), einer HER $\alpha$ -defizienten Zelllinie (MDB-231:  $\text{IC}_{50} = 48 \mu\text{M}$ ), einer Androgen-Rezeptor(AR)-positiven Zelllinie (LNCCaP:  $\text{IC}_{50} = 33 \mu\text{M}$ ) und einer AR-negativen Zelllinie (HEK-293:  $\text{IC}_{50} = 10 \mu\text{M}$ ) zeigte in allen vier Fällen eine mehr oder weniger ausgeprägte Inhibition, was einen ER-unabhängigen Wirkmechanismus nahelegt.

Acetalglycoside wie **115a-c** mit einer Benzoxazin-Untereinheit und ihre Aglucone haben interessante pharmakolo-

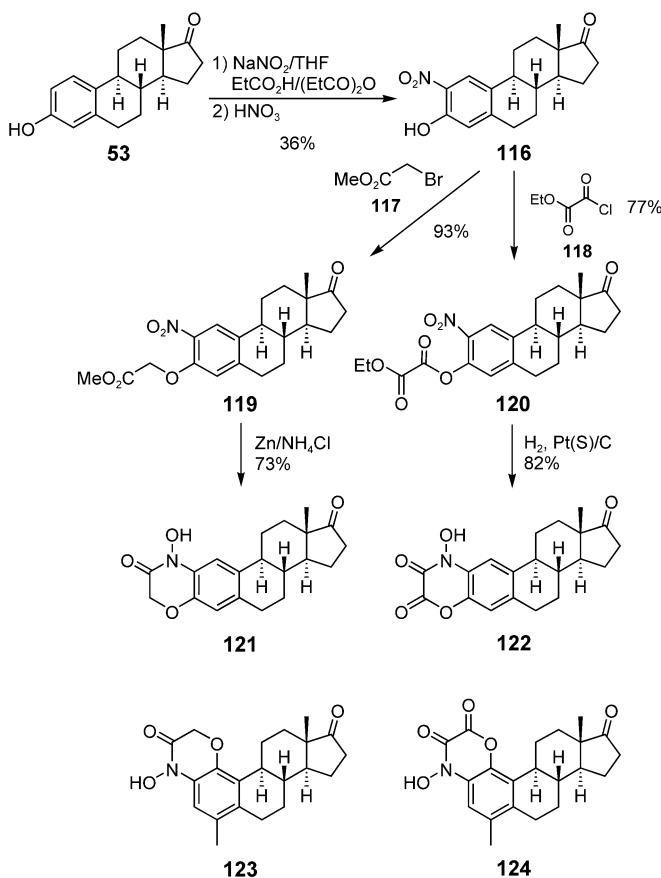


**115a:**  $\text{R}^1 = \text{OH}$ ,  $\text{R}^2 = \text{H}$   
**115b:**  $\text{R}^1 = \text{OH}$ ,  $\text{R}^2 = \text{OMe}$   
**115c:**  $\text{R}^1 = \text{OMe}$ ,  $\text{R}^2 = \text{OMe}$

gische und biologische Eigenschaften wie entzündungshemmende, antibakterielle und antimycotische Wirkung; sie dienen in Pflanzen auch als Resistenzfaktoren, z.B. in Mais gegen den Maiszünsler. Trotz der Bedeutung dieser Substanzen wurde eine Totalsynthese erst in den frühen neunziger Jahren beschrieben.<sup>[34]</sup> Eine derartige Benzoxazin-Untereinheit wurde mit dem Steroidgerüst zweier Substanzen der Östra-1,3,5(10)-trien-Serie kombiniert.<sup>[35]</sup> bisher ist jedoch kein biologisches Datenmaterial verfügbar, das den Nutzen dieser Hybride belegt. Zur Synthese von **121** und **122** wurde Östron (**53**) mit Natriumnitrit umgesetzt und anschließend mit  $\text{HNO}_3$  zur Nitroverbindung **116** oxidiert (Schema 11). Alkylierung mit 2-Bromessigsäuremethylester (**117**) bzw. Ethyloxalylchlorid (**118**) und Reduktion der Nitrogruppe führten in situ durch Cyclisierung der intermediären Arylhydroxylamine zu den gewünschten Verbindungen. Die Hybride **123** und **124** wurden in ähnlicher Weise ausgehend



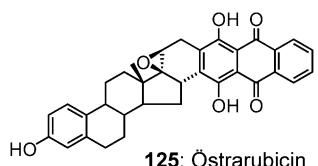
Schema 10. Synthese und Bergman-Cyclisierung des Östradiol-Endiin-Hybrids **112**.



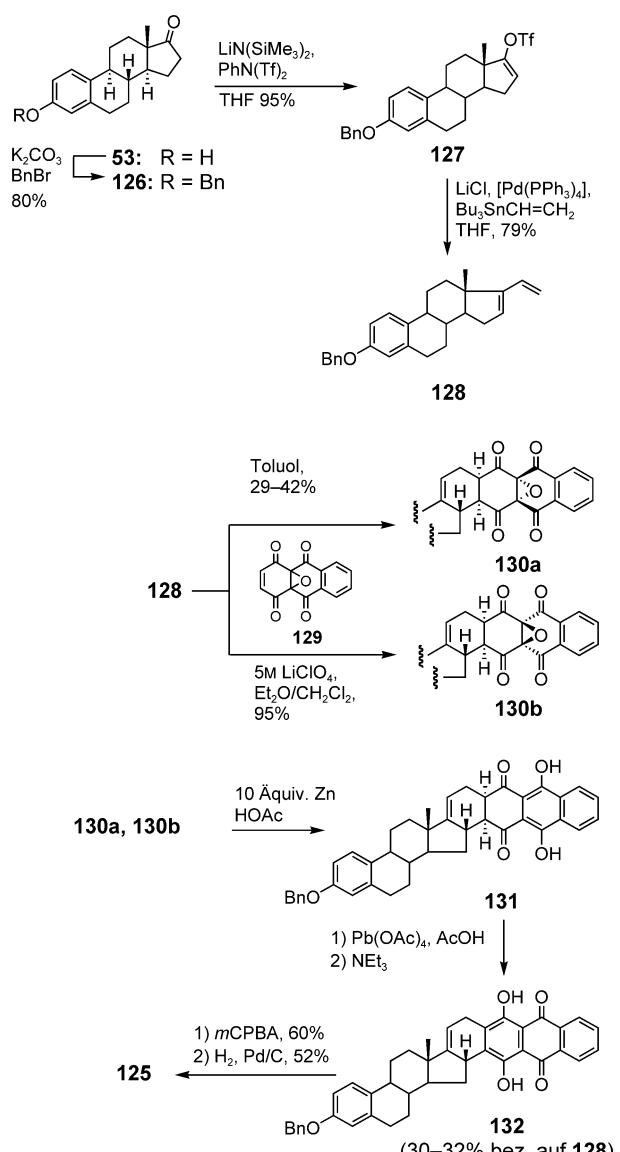
Schema 11. Synthese der Steroid-Benzoxazin-Hybride 121–124.

von 1-Hydroxy-4-methylöstra-1,3,5(10)-trien-17-on hergestellt.

Anthrachinon-Untereinheiten verleihen zahlreichen Molekülen mit antineoplastischer Aktivität die Fähigkeit zur DNA-Strangspaltung.<sup>[36]</sup> Deswegen erschien die Synthese des Östrogen-Anthrachinon-Hybrids Östrarubicin (125) attraktiv.<sup>[37]</sup>



Ausgehend von Östron (53), das nach McMurry<sup>[38]</sup> über 126 in das Enoltriflat 127 überführt wurde (Schema 12), gelingt die Synthese in insgesamt acht Schritten. Durch Pd-katalysierte Umsetzung mit Tributylvinylzinn wurde das Dien 128 für die anschließende Diels-Alder-Reaktion mit 4a,9a-Epoxy-4a,9a-dihydroanthracen-1,2,9,10-tetron 129<sup>[39]</sup> erhalten. Bei der Synthese wurden zwei Stereoisomere (130a und 130b) mit unterschiedlicher Stellung der Epoxid-Funktion erhalten, die jedoch bei Reduktion mit Zink in Eisessig beide 131 lieferten. Durch Oxidation mit Bleitetraacetat und nachfolgende Tautomerisierung mit Triethylamin wurde der

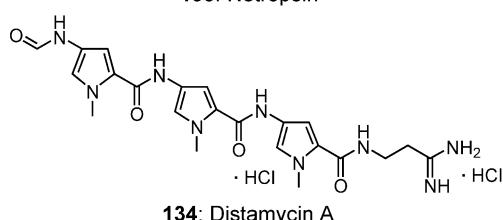
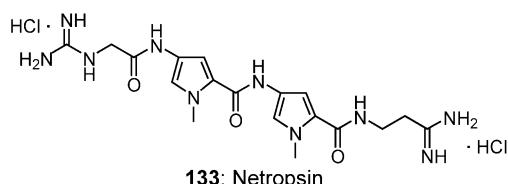


Schema 12. Synthese von Estrarubicin (125).

Octacyclus 132 erhalten, der sich mit *m*CPBA epoxidieren und anschließend zur gewünschten Verbindung 125 debenzylieren ließ. Ergebnisse von biologischen Tests wurden noch nicht veröffentlicht.

### 3.2.2. Hybride mit einer DNA-bindenden Lexitropsin-Substruktur

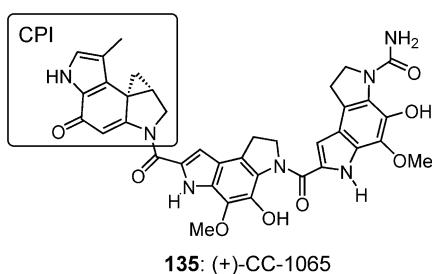
Die Verbindungen Netropsin<sup>[40]</sup> (133) und Distamycin A<sup>[41]</sup> (134) gehören zur Substanzklasse der Lexitropsine. Sie sind strukturell eng verwandt mit natürlich vorkommenden Oligopeptiden, in denen zwei bzw. drei *N*-Methylpyrrol-2-carboxamid-Einheiten miteinander verknüpft sind. Sie zeigen eine relativ hohe Affinität zu AT-reichen Regionen in der kleinen Furche doppelsträngiger B-DNA. Diese Selektivität wurde damit begründet, dass AT-Basenpaare eine Verengung der kleinen Furche bewirken und die langgestreckten, sichelförmigen Distamycin- und Netropsin-Moleküle eine gute Passgenauigkeit erlauben. Darüber



hinaus verhindert die Aminogruppe N-2 des Guanins durch ihren größeren sterischen Anspruch ein ähnlich tiefes Verankern der Pyrrolamid-Kette in der kleinen Furche GC-reicher DNA-Abschnitte.<sup>[42]</sup> Dennoch zeigen **133** und **134** selbst nur schwache Cytotoxizität, was darauf zurückgeführt werden kann, dass keine kovalente Bindung an die DNA erfolgt; es kommt lediglich zu einer reversiblen Koordination durch elektrostatische Kräfte, van-der-Waals-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken.

In den vergangenen Jahren wurde häufig versucht, Lexitropsine („informationserkennende“ Oligopeptide) als DNA-selektive Vehikel mit bekannten Antitumor-Substanzen wie Nitrosoharnstoffen, Lost-Derivaten, CC-1065, Psonalenen, Bleomycin, Flavinen und Acridinen zu kombinieren.<sup>[43]</sup> Getreu der Fragestellung dieses Aufsatzes werden wir lediglich jene Hybride diskutieren, die durch Kupplung von Lexitropsinen an andere Naturstoffe oder deren Derivate entstehen. Die vom Distamycin A (**134**) abgeleiteten Substanzen sind dabei deutlich cytotoxischer als das Alkylierungsmittel allein, was einen kooperativen Effekt nahelegt. Dieser kann jedoch nicht immer auf rationale Weise vorhergesagt werden.

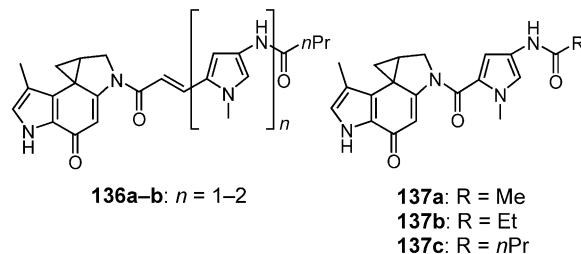
Das Antibiotikum (+)-CC-1065 (**135**) wurde erstmals aus *Streptomyces zelensis* isoliert. Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von etwa



30 pm gegen einige Zelllinien (z.B. L1210) zählt es zu den stärksten Antitumor-Agentien.<sup>[44]</sup> Es enthält eine Spirocyclopropylindolinone (CPI)-Einheit, die Adenin-Einheiten in AT-reichen Regionen der kleinen Furche von B-DNA an der N-3-Position alkylieren kann. Da CC-1065 eine verzögerte Hepatotoxizität aufweist, wird die Substanz nicht in der klinischen Behandlung maligner Tumoren eingesetzt.<sup>[45]</sup> Untersuchungen zeigten, dass die pharmakophore CPI-Kom-

ponente nicht für die schwere Nebenwirkung des Moleküls verantwortlich ist. Folglich wurden Versuche unternommen, den CPI-Teil oder seine Derivate mit anderen DNA-bindenden Einheiten zu kombinieren, unter anderem mit Lexitropsinen. CPI-Lexitropsin-Hybride sind darüber hinaus häufig besser wasserlöslich als die ursprünglichen Verbindungen, was ein weiteres Problem bei der klinischen Anwendung von CC-1065 (**135**) behebt.

Als neuere Beispiele von Hybriden, in denen die CPI-Einheit mit verschiedenen Lexitropsinen kombiniert ist, sind **136a–b** und **137a–c** zu nennen.<sup>[46]</sup> Unter diesen Verbindungen



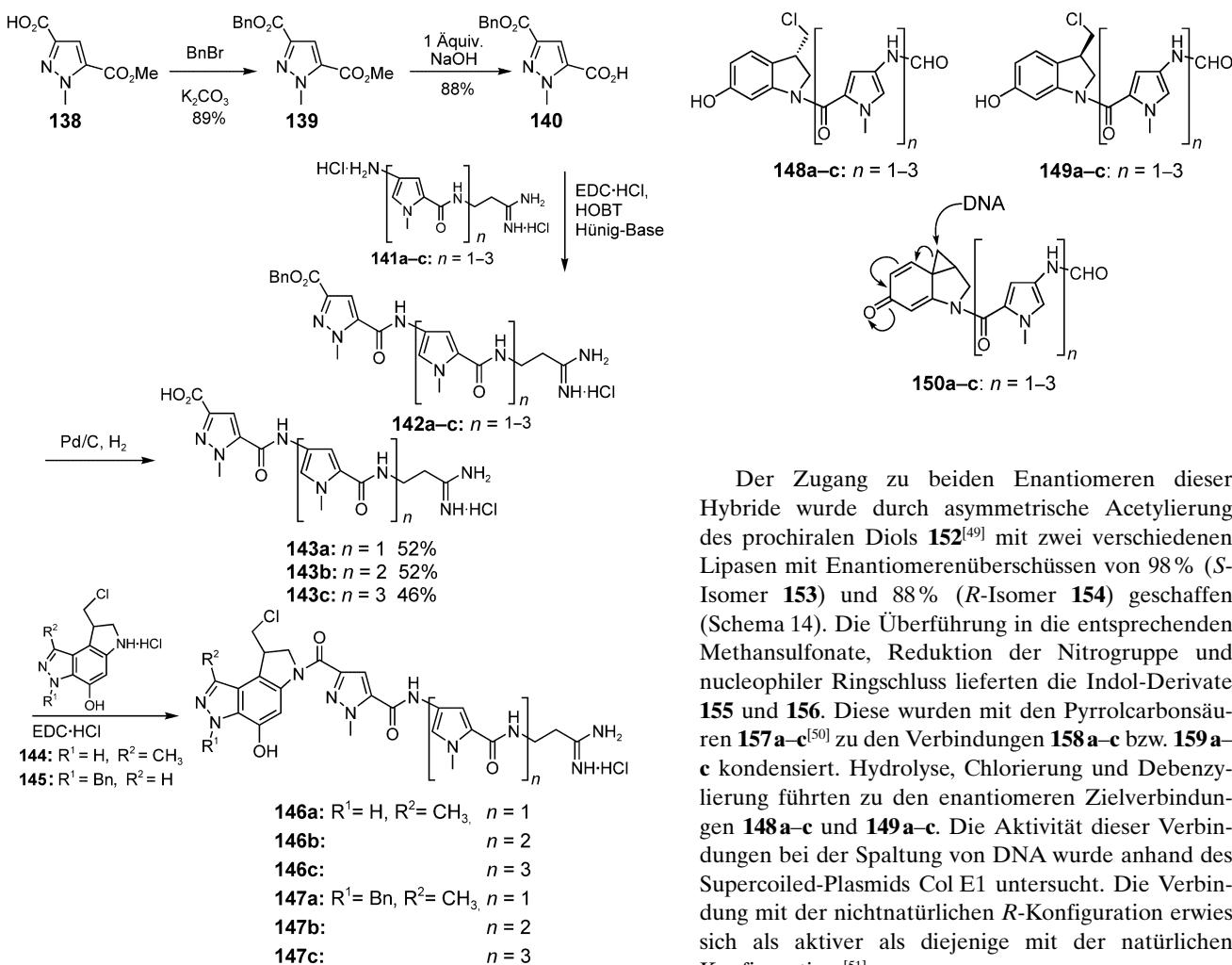
waren **136a** und **136b**, in denen die beiden Komponenten über eine *trans*-konfigurierte Doppelbindung miteinander verbunden sind, die beiden potentesten antineoplastischen Wirkstoffe. Die Gründe hierfür sind noch nicht geklärt.

Es gibt viele Beispiele, in denen nicht die CPI-Einheit, sondern eine seco-CPI-Komponente mit einer Chlormethylgruppe verwendet wird. So konnte gezeigt werden, dass derartige seco-Verbindungen oft eine ähnliche Wirkung zeigen wie die entsprechenden Spirocyclopropylindolinone-Derivate, da diese in situ durch eine Winstein-Cyclisierung aus den seco-Verbindungen gebildet werden. Eine neuartige Klasse von seco-CPI-Verbindungen repräsentieren die Verbindungen **144** und **145**, in denen eine Pyrazoloindolin- statt einer Pyrroloindolin-Einheit auftritt.

Zur Synthese der seco-CPI-Hybride **146–147** wurde das Pyrazolderivat **138**<sup>[47]</sup> zu **139** benzyliert (Schema 13). Anschließend wurde durch Hydrolyse der Methylester-Gruppe die Säure **140** erhalten. Die Kupplung mit den Aminen **141a–c**<sup>[48]</sup> zu **142a–c** und die nachfolgende Entschützung durch Hydrierung lieferte die Carbonsäuren **143a–c**, die unter klassischen Peptid-Kupplungsbedingungen mit den seco-CPI-Analoga **144** und **145** zu den gewünschten Verbindungen **146–147** verknüpft wurden.

Die Ergebnisse der biologischen Tests fasst Tabelle 5 zusammen: Die Hybride **146a–c** zeigen eine deutlich höhere Cytotoxizität als die Stammverbindungen. Diese gesteigerte Aktivität könnte auf effizientere Intercalation in die DNA und nachfolgende kovalente Reaktion an ausgewählten Positionen zurückgeführt werden.<sup>[45]</sup> Mit IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 7.4 und 71 nm – abhängig von der verwendeten Zelllinie – zeigte besonders **146c** eine bemerkenswerte Aktivität. Diese Cytotoxizität liegt jedoch immer noch um etwa drei Größenordnungen unter derjenigen von CC-1065 (**135**).

Obwohl die CPI-Einheit wie auch ihr Benzoanalogon und ihre seco-Verbindungen die höchste biologische Aktivität aufweisen, wurde auch eine reduzierte CPI-Einheit – CI



**Schema 13.** Synthese der Hybride 146–147 aus seco-CC-1065-Analoga und einer Lexitropsin-Komponente.

**Tabelle 5:** In-vitro-Aktivität der Hybride 146 und 147 und der Alkylantien 144 und 145 gegen die Proliferation muriner Leukämie(L1210)-, muriner Mammakarzinom(FM3A)-, humaner T-Lymphoblast-(Molt/4 und CEM)- und humaner B-Lymphoblastzellen (Daudi).

| Verbindung | L1210      | FM3A         | IC <sub>50</sub> [nM] <sup>[a]</sup> |             |           |
|------------|------------|--------------|--------------------------------------|-------------|-----------|
|            |            |              | Molt/4                               | CEM         | Daudi     |
| 144        | 520 ± 6.6  | 1400 ± 40    | 1740 ± 50                            | 1260 ± 30   | 680 ± 150 |
| 145        | 2710 ± 490 | 18300 ± 200  | 8550 ± 280                           | 6720 ± 1040 | 7520 ± 30 |
| 146a       | 58 ± 17    | 1600 ± 50    | 340 ± 20                             | 230 ± 10    | 150 ± 40  |
| 146b       | 19 ± 2     | 190 ± 6      | 45 ± 1                               | 39 ± 1      | 22 ± 10   |
| 146c       | 7.4 ± 0.4  | 31 ± 11      | 17 ± 4                               | 71 ± 9      | 8.8 ± 0.1 |
| 147a       | 240 ± 30   | 4000 ± 1000  | 130 ± 20                             | 70 ± 21     | 11 ± 6.0  |
| 147b       | 600 ± 90   | 5600 ± 1400  | 160 ± 60                             | 210 ± 110   | 38 ± 7.0  |
| 147c       | 400 ± 16   | 19300 ± 3400 | 310 ± 70                             | 400 ± 50    | 100 ± 10  |

[a] Wirkstoffkonzentration, die zur 50%igen Inhibition der Tumorzellproliferation notwendig ist.

genannt – für die Synthese der Hybride 148a–c und 149a–c mit einer Lexitropsin-Gruppe verwendet. Auch hier kam die seco-CI-Einheit mit einer Chlormethylgruppe zum Einsatz; in vitro oder in vivo werden wahrscheinlich 150a–c als Wirkstoffe gebildet.

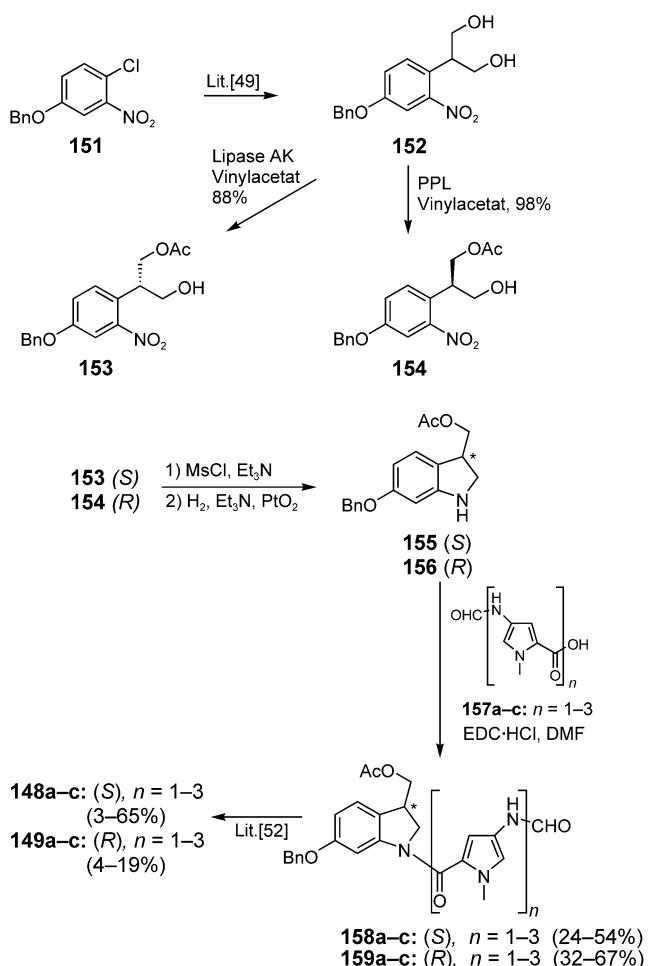
Der Zugang zu beiden Enantiomeren dieser Hybride wurde durch asymmetrische Acetylierung des prochiralen Diols 152<sup>[49]</sup> mit zwei verschiedenen Lipasen mit Enantiomerenüberschüssen von 98% (S-Isomer 153) und 88% (R-Isomer 154) geschaffen (Schema 14). Die Überführung in die entsprechenden Methansulfonate, Reduktion der Nitrogruppe und nucleophiler Ringschluss lieferten die Indol-Derivate 155 und 156. Diese wurden mit den Pyrrolcarbonsäuren 157a–c<sup>[50]</sup> zu den Verbindungen 158a–c bzw. 159a–c kondensiert. Hydrolyse, Chlorierung und Debenzylierung führten zu den enantiomeren Zielverbindungen 148a–c und 149a–c. Die Aktivität dieser Verbindungen bei der Spaltung von DNA wurde anhand des Supercoiled-Plasmids Col E1 untersucht. Die Verbindung mit der nichtnatürlichen R-Konfiguration erwies sich als aktiver als diejenige mit der natürlichen Konfiguration.<sup>[51]</sup>

Die Gruppe der Pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepine (PBD),<sup>[52]</sup> die auch die Naturstoffe Anthramycin (160)

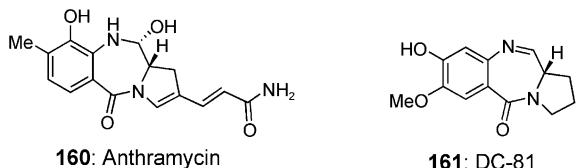
und DC-81 (161) umfasst, verdankt ihre Fähigkeit, kovalent an die C-2-Aminogruppe von Guanin-Einheiten in der kleinen Furche der DNA zu binden, einer N,O-Acetal- oder Imin-Funktion im zentralen B-Ring. Diese Affinität zu GC-reichen DNA-Sequenzen wurde mit dem entgegengesetzten Erkennungsmuster der Lexitropsine kombiniert.<sup>[53]</sup>

Zur Synthese der Hybridverbindungen 169a–c und 170a–c wurde Vanillin (162) durch Alkylierung der phenolischen Hydroxygruppe mit  $\gamma$ -Brombuttersäuremethylester, Nitrierung und Oxidation der Aldehydfunktion über 163 zur

Carbonsäure 164 funktionalisiert (Schema 15). Überführung in das Säurechlorid und Kupplung mit Pyrrolidin-2-carbaldehyddiethylthioacetal (165) lieferten das Amid 166. Verseifung der Esterfunktion und Kupplung mit den Lexitropsinaminen 167a–c in Gegenwart von EDC-HCl und HOBT lieferte die

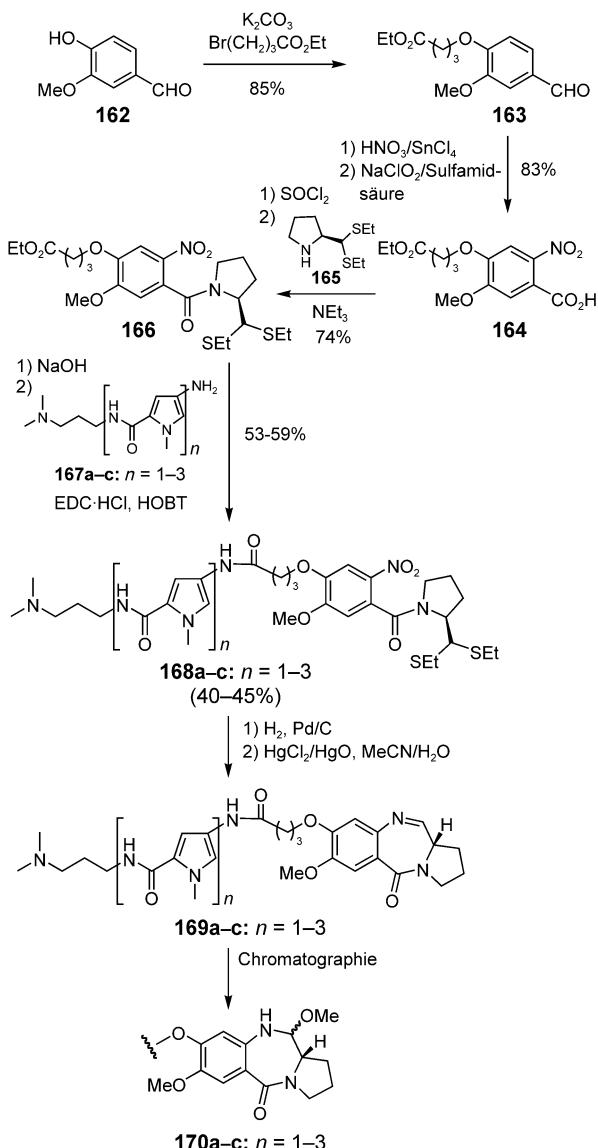


**Schema 14.** Synthese der seco-Cl-Lexitropsin-Hybride **148–149**.



Verbindungen **168a–c**, die durch Hydrierung der Nitrogruppe und anschließende Entschützung mit  $HgCl_2/HgO$  in die Imine **169a–c** überführt werden konnten. Wegen der hohen Polarität dieser Verbindungen war bei der Säulenchromatographie die Verwendung von Methanol/Chloroform als Laufmittel erforderlich, was teilweise zur Bildung der N,O-Acetale **170a–c** führte. Die Daten für biologische Tests von **169** und **170** liegen bisher nicht vor.

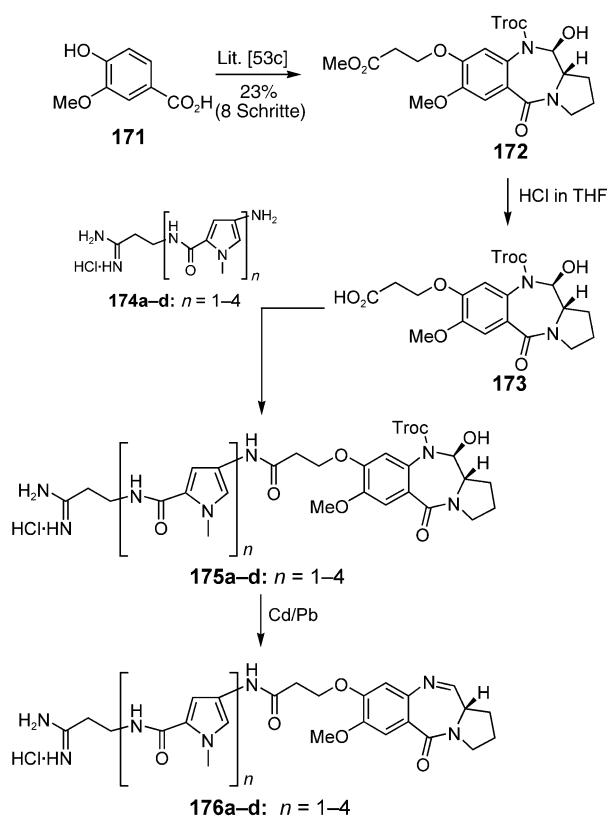
Die biologische Wirkung der vier Hybride **176a–d** mit Imin-Funktionen (Schema 16) wurde *in vitro* getestet und mit derjenigen der Stammverbindungen **134**, **161** und **174d** verglichen. Die Ergebnisse der Tests auf antiproliferative Aktivität gegen chronisch-myeloische Leukämie-Zellen (K562) und T-lymphoblastische Jurkat-Zellen sowie gegen die PCR-Amplifikation des humanen Östrogen-Rezeptor-Gens, des *c-myc*-Onkogens und des Long-Terminal-



**Schema 15.** Synthese der Anthramycin-Lexitropsin-Hybride **169–170**.

Repeat(LTR)-Bereichs des humanen Immunschwäche-Virus Typ 1 (HIV-1 LTR) sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Auch in diesem Fall ging mit der Hybridisierung zweier Naturstoffe ein drastischer Anstieg der Wirksamkeit einher, besonders bei Verbindung **176d**. Bei einer allgemeinen Synthese des Anthramycin-Teils der Hybridverbindungen **176a–d** wurde Vanillinsäure (**171**) in sieben Stufen in den Ester **172** überführt (Schema 16).<sup>[53b]</sup> Hydrolyse lieferte die Säure **173**, die mit den Aminopolypyrrrolamiden **174a**,<sup>[48a]</sup> **174b**,<sup>[48b]</sup> **174c**<sup>[54]</sup> und **174d**<sup>[55]</sup> in Gegenwart von EDC·HCl zu den Konjugaten **175a–d** umgesetzt wurden. Entfernung der Troc-Gruppe mit Cd/Pb-Legierung lieferte die gewünschten Hybride **176a–d**.

Die beiden Antitumor-Antibiotika Azinomycin A (**177**) und B (**178**) wurden aus der Kulturbrühe von *Streptomyces griseofuscus* S42227 isoliert.<sup>[56]</sup> Im Zuge der Entwicklung künstlicher DNA-spaltender Wirkstoffe auf Naturstoffbasis wurden die Azinomycin-Lexitropsin-Hybride **179–181** enantiomerenrein synthetisiert und auf ihre Aktivität unter-

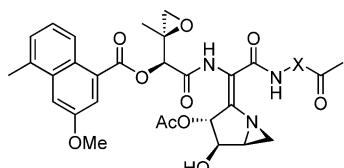


**Schema 16.** Synthese der DC-81-Lexitropsin-Hybride 176a-d.

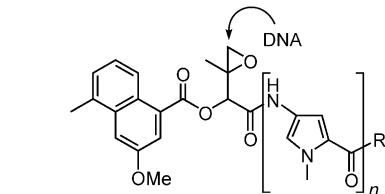
**Tabelle 6:** In-vitro-Wirkung auf K562- und Jurkat-Zellen: PCR-Experimente anhand des humanen *c-myc*-Onkogens, des humanen Östrogenrezeptors (ER) und des HIV-1 LTR.

| Verbindung | IC <sub>50</sub> [μM] |      | PCR IC <sub>50</sub> [μM] <sup>[a]</sup> |                     |                     |
|------------|-----------------------|------|--|---------------------|---------------------|
|            | Jurkat                | K562 | <i>c-myc</i>                             | ER                  | HIV-1 LTR           |
| 134        | 20                    | 12   | 25                                       | 5                   | 50                  |
| 161        | 2.2                   | 1    | n.b. <sup>[b]</sup>                      | n.b. <sup>[b]</sup> | n.b. <sup>[b]</sup> |
| 174d       | 25                    | 12   | 12                                       | 0.5                 | 20                  |
| 176a       | 80                    | >100 | 4  | 3                   | 1                   |
| 176b       | 50                    | 6    | 6  | 2                   | 0.8                 |
| 176c       | 0.8                   | 0.7  | 2.5                                      | 0.8                 | 2                   |
| 176d       | 0.07                  | 0.04 | 2  | 0.2                 | 2                   |

[a] Wirkstoffkonzentration, bei der die Bildung von PCR-Produkten der entsprechenden *c-myc*-, Östrogenrezeptor- und HIV-1-LTR-Sequenzen zu 50% inhibiert wurde. [b] Nicht bestimmt.

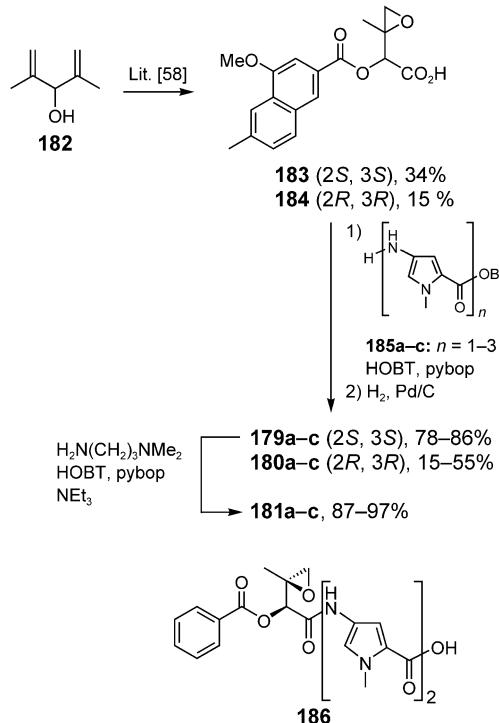


sucht.<sup>[57]</sup> Die Herstellung geht von den enantiomerenreinen Carbonsäuren 183 und 184 aus, die aus 182 auf bekanntem Weg<sup>[58]</sup> durch Sharpless-Epoxidierung, Kondensation mit 3-Methoxy-5-methylnaphthalin-1-carbonsäure und oxidative



179a-c: R = OH, (2S, 3S), n = 1-3  
180a-c: R = OH, (2R, 3R), n = 1-3  
181a-c: R = NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NMe<sub>2</sub>, (2S, 3S), n = 1-3

Spaltung der verbleibenden Doppelbindung erhalten wurden (Schema 17). 183 und 184 wurden mit den N-Methyl-4-aminopyrrol-2-carbonsäuren 185a-c zu den



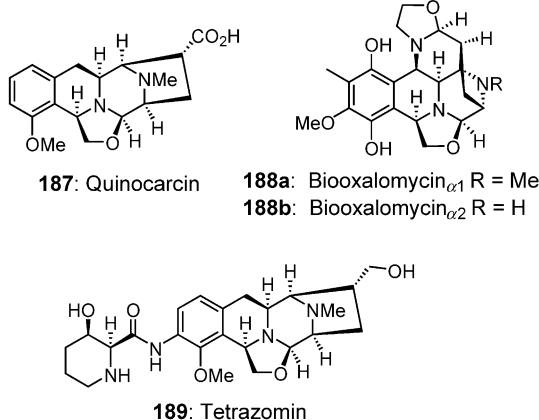
**Schema 17.** Synthese der Hybride 179-181 und Struktur der Referenzverbindung 186.

gewünschten Hybriden 179a-c bzw. 180a-c umgesetzt. Zur Einführung der Dimethylaminopropylseitenkette an der terminalen Position derivatisierte man 179a-c mit 3-Dimethylaminopropylamin in Gegenwart von pybop, HOBT und Triethylamin zu den Verbindungen 181a-c.

Die Aktivitäten der Hybride 179-181 bei der Spaltung von DNA wurden wieder anhand des Supercoiled-Plasmids Col E1 überprüft. Mit 181b und insbesondere 181c erfolgte die Spaltung am schnellsten und effektivsten. Die Verbindungen 180a-c mit nichtnatürlicher Konfiguration waren dagegen weniger aktiv, das Derivat 186 mit einer Phenylanstelle einer Naphthylgruppe sogar inaktiv. Das legt nahe, dass beide Molekülteile, die Azinomycin-Einheit mit natür-

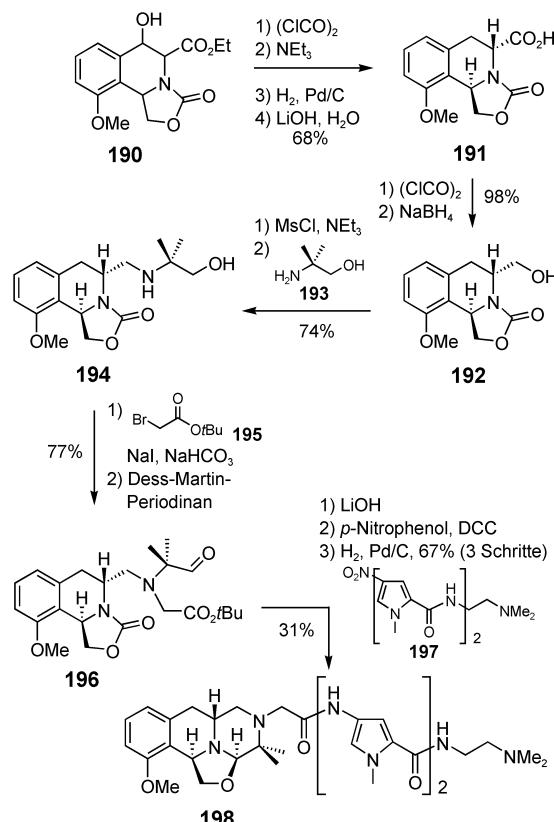
licher Konfiguration und die trimere Pyrrolamidgruppe der Lexitropsine, für eine hohe Wirksamkeit unerlässlich sind.<sup>[59]</sup>

Die meisten bis jetzt beschriebenen Naturstoffhybride weisen gegenüber den Stammverbindungen eine gesteigerte biologische Aktivität auf. Dass dies natürlich nicht immer der Fall ist, zeigen einige der folgenden Beispiele: Die starke Antitumorwirkung der Oxazolidin-haltigen Naturstoffe Quinocarcin (**187**), Bioxalomycin (**188**) und Tetrazomin (**189**) aus

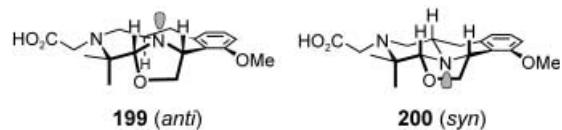


verschiedenen *Actinomycetes*-Stämmen führte zur Entwicklung des Hybrids **198** mit Netropsin (**133**).<sup>[60]</sup> Man nimmt an, dass die Aktivität der Naturstoffe **187–189** auf einer spontanen Disproportionierung beruht: In Gegenwart von molekularem Sauerstoff entsteht ein Superoxid-Radikal anion, das den Bruch des DNA-Strangs induzieren kann.

Im ersten Schritt der Synthese von **198** lieferte die Umsetzung von **190** mit Oxalylchlorid nach Eliminierung den entsprechenden  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ester, der dann katalytisch hydriert wurde (Schema 18). Dabei wurde eine Mischung der epimeren gesättigten Ester (ca. 1:1) erhalten; nach der Verseifung wurde infolge Epimerisierung jedoch hauptsächlich die *anti*-Säure **191** isoliert. Die Carbonsäurefunktion wurde durch selektive Reduktion des Säurechlorids, Methylsulfonierung von **192** und nucleophile Substitution mit 2-Methyl-2-aminopropanol (**193**) in den Aminoalkohol **194** überführt. Alkylierung von **194** mit Bromessigsäure-*tert*-butylester (**195**) und Dess-Martin-Oxidation lieferten den Aldehyd **196**. Durch Umsetzung mit Lithiumhydroxid wurde die Oxazolidinon-Einheit unter  $\text{CO}_2$ -Eliminierung gespalten; erneuter Ringschluss des dabei entstandenen Aminoalkohols ergab den gewünschten Oxazolidin-Ring. Nach Hydrolyse des *tert*-Butylesters wurde die Verbindung reduktiv mit **197** gekuppelt, um die Zielverbindung **198** zu erhalten. Es stellte sich jedoch heraus, dass weder **198** noch das Zwischenprodukt **199** über die Fähigkeit zur Superoxid-Produktion verfügte, während das *syn*-Analogon **200**, das in kleinen Mengen aus dem *syn*-Epimer der Säure **191** erhalten werden konnte, eine mäßige Superoxid-Produktion von  $0.82 \times 10^{-9} \text{ M s}^{-1}$  aufwies (zum Vergleich:  $1.0 \mu\text{M}$  Lösung von Quinocarcin:  $4.2 \times 10^{-9} \text{ M s}^{-1}$ ). Des Weiteren wurden in Inkubationsversuchen mit **198** weder Alkylierung noch oxidative DNA-Spaltung beobachtet. Daraus folgerten die Autoren, dass die stereo-elektronischen Verhältnisse des Stickstoffatoms in **187–189**

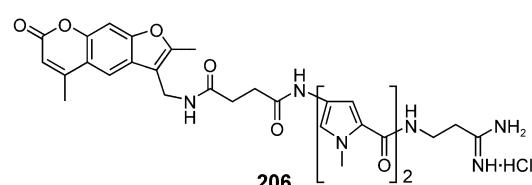
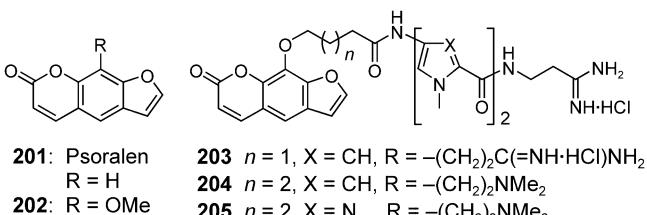


**Schema 18.** Synthese des Quinocarcin-Netropsin-Hybrids **198**.



von großer Bedeutung für die biologische Aktivität sind. Eine solche Aktivität ist in den *anti*-Verbindungen **198** und **199** nicht gegeben und nur in geringem Maße im einfachen *syn*-Oxazolidin **200**.

Psoralen (**201**) ist der Prototyp einer Gruppe von Furocumarinen, die als Phytoalexine in mehreren Pflanzen-



familien natürlich auftreten. Psoralene wie 8-Methoxypsoralen (**202**) werden seit Jahren in der Photochemotherapie zur Behandlung von Psoriasis und Vitiligo sowie von cutanen T-Zell-Lymphomen eingesetzt. Sie intercalieren in DNA und reagieren unter Bestrahlung mit Thymin-Einheiten, insbesondere mit 5'-TA-Sequenzen.<sup>[61]</sup>

Um die Wechselwirkung der Psoralene mit DNA zu verbessern, wurden Lexitropsin-Konjugate hergestellt. Psoralen-Lexitropsin-Hybride wie **203** und **206** binden an Poly(dA-dT) mit  $K_{app}$ -Werten von 2.8 und  $0.9 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ , größer bzw. etwa gleich demjenigen von Netropsin ( $K_{app} = 1.0 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ). Ihre Effizienz bei der photoinduzierten Quervernetzung von DNA ist hoch, jedoch weniger ausgeprägt als die des Psoralen-Derivats **202**.<sup>[62]</sup> Dagegen waren die Hybride **204** und **205** in Photoinduktionsexperimenten mit leukämischen K562-Zellen 333- bzw. 22-mal cytotoxischer als 8-Methoxypsoralen **202**. Obwohl **202** unter den Testbedingungen (Plasmid-DNA; UV-Licht mit  $\lambda = 366 \text{ nm}$ ) bereits ein effizienter DNA-Quervernetzer ist, waren **204** und **205** mehr als 300- bzw. 10-mal effizienter.<sup>[63]</sup>

Podophyllotoxin (**207**) wurde ursprünglich aus den Rhizomen der nordamerikanischen Pflanze *Podophyllum peltatum* L. isoliert. Sein halbsynthetisches Analogon Etoposid wird als Chemotherapeutikum gegen Krebs klinisch angewendet, es wirkt als Topoisomerase-II-Inhibitor. Deswegen wurden die 4'-Demethylepipodophyllotoxin-Lexitropsin-Hybride **211a–c** hergestellt, sie zeigen jedoch nur eine geringe Topoisomerase-II-Inhibition.<sup>[64]</sup>

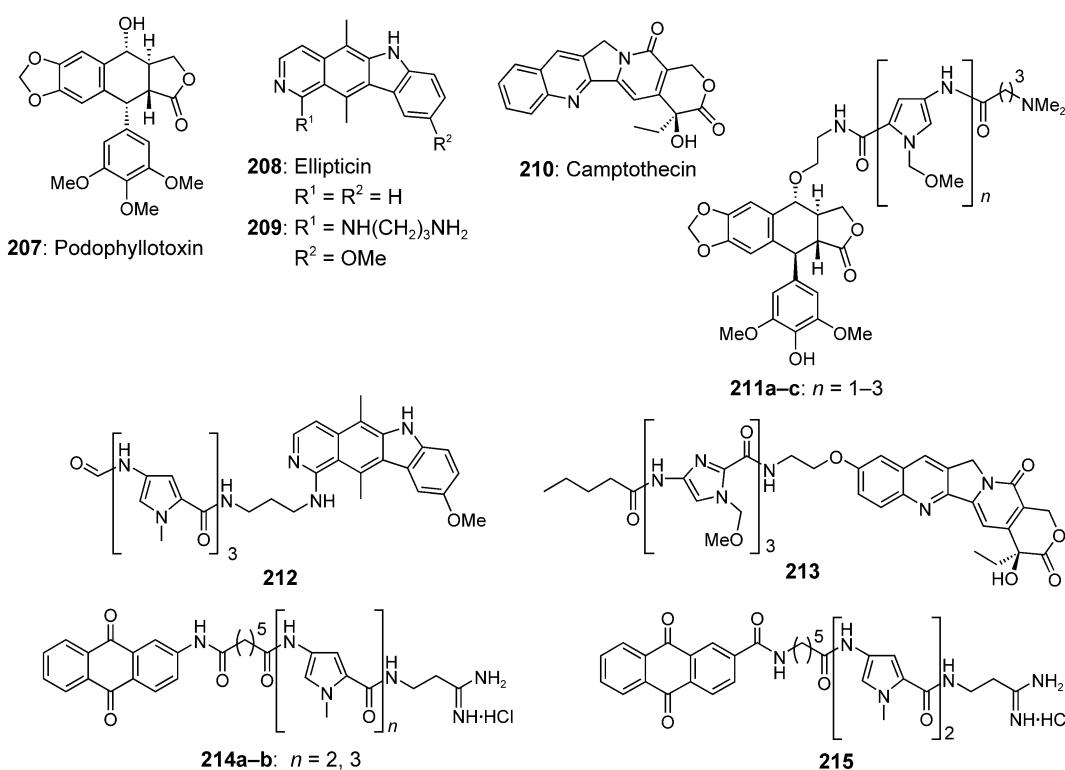
Eine weitere cytotoxische Verbindung, die mit Distamycin A (**134**) verknüpft wurde, ist das Ellipticin-Derivat **209**. Es wurde hauptsächlich wegen seiner antineoplastischen Eigenschaften ausgewählt.<sup>[65]</sup> Das Hybrid **212** wurde in vitro auf

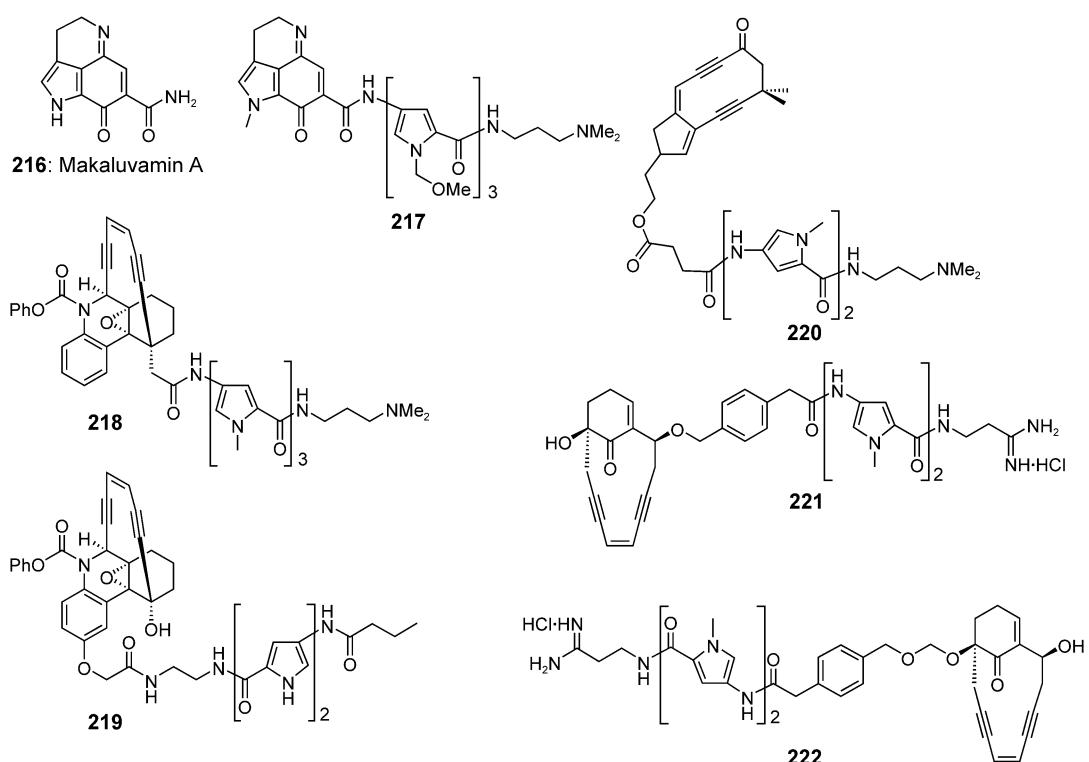
cytostatische und cytotoxische Wirkung gegen L1210-Leukämiezellen untersucht: **212** wirkt zwar stark cytostatisch, ist aber um eine Größenordnung weniger cytotoxisch als Ellipticin (**208**). Wegen des Pyridocarbazol-Chromophors konnte die zelluläre Aufnahme des Hybrids **212** und der Verbindung **209** durch Fluoreszenz-Mikroskopie vergleichend verfolgt werden. Die Zellkerne mit dem Hybrid **212** behandelter Zellen fluoreszierten deutlich weniger stark als diejenigen mit **209** behandelter Zellen. Daher könnte ein Unterschied der intrazellulären Konzentrationen für die Differenz der Cytotoxizitäten der beiden Verbindungen verantwortlich sein.

Das Hybrid **213** aus Camptothecin (**210**), einem aus dem Stammholz des chinesischen Baums *Camptotheca acuminata* isolierten Alkaloid, und Lexitropsin ist um ein bis zwei Größenordnungen weniger cytotoxisch als Camptothecin (**210**). Dennoch zeigt es eine signifikante Topoisomerase-I-Inhibition, die nur wenig unter der von Distamycin A (**134**) liegt.<sup>[66]</sup>

Anthrachinone mit Antitumor-Aktivität wie Adriamycin (**87**) und Mitoxantron können DNA nach enzymatischer Aktivierung spalten.<sup>[67]</sup> Aus diesem Grund wurden die Anthrachinon-Lexitropsin-Hybride **214a–b** und **215** synthetisiert.<sup>[68]</sup> Informationen über ihre biologische Aktivität wurden jedoch nicht veröffentlicht.

Das Konjugat **217** aus Makaluvamin A (**216**),<sup>[69]</sup> einem Vertreter einer Klasse von Cytotoxinen aus marinen Schwämmen, und *N*-Methoxymethylpyrrol-Oligopeptiden zeigt eine dem Makaluvamin A (**216**) vergleichbare Cytotoxizität. Makaluvamin A fungiert als Inhibitor der Topoisomerase II, außerdem intercaliert es in DNA. Zahlreiche Endiin-Lexitropsin-Hybride (z. B. **218**,<sup>[70]</sup> **219**,<sup>[70]</sup> **220**,<sup>[72b]</sup> **221**<sup>[71]</sup> und **222**<sup>[72c]</sup>) wurden mit dem Ziel hergestellt, die Wirksamkeit



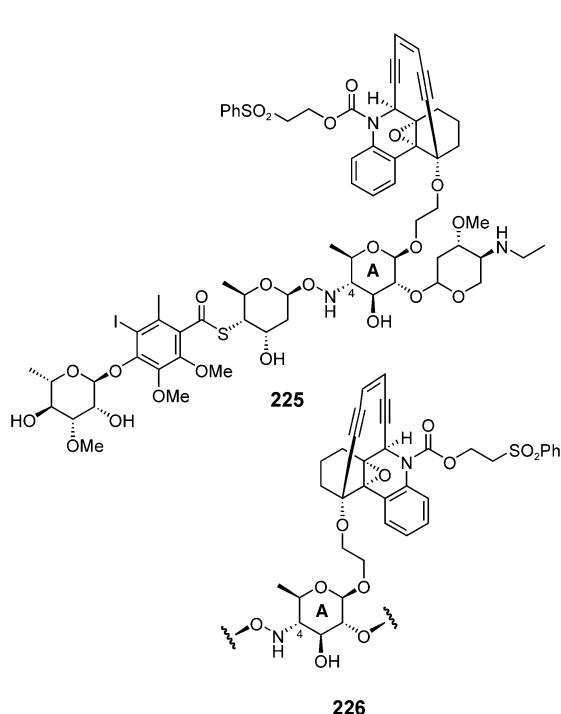
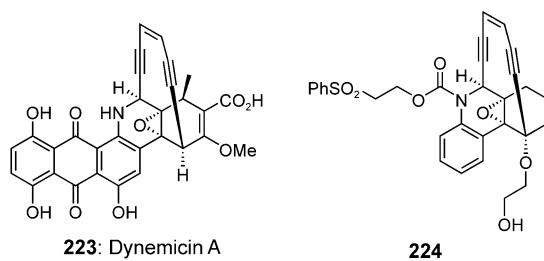


synthetischer Endiine durch Verbesserung ihrer Affinität zu DNA bei gleichzeitiger Minimierung der cytoplasmatischen Toxizität zu steigern.<sup>[70]</sup> Die  $IC_{50}$ -Werte der Hybride nach einer Applikationszeit von 96 Stunden liegen im Bereich von 14–48  $\mu\text{M}$ , der erwartete drastische Wirkungsanstieg erfolgt demnach nicht. Möglicherweise verbietet die Struktur der Hybride die präzise Anlagerung der Endiin-Einheit an die DNA, die erforderlich ist, um den in situ gebildeten Radikalen die H-Abstraktion vom Rückgrat der DNA zu ermöglichen.<sup>[72]</sup>

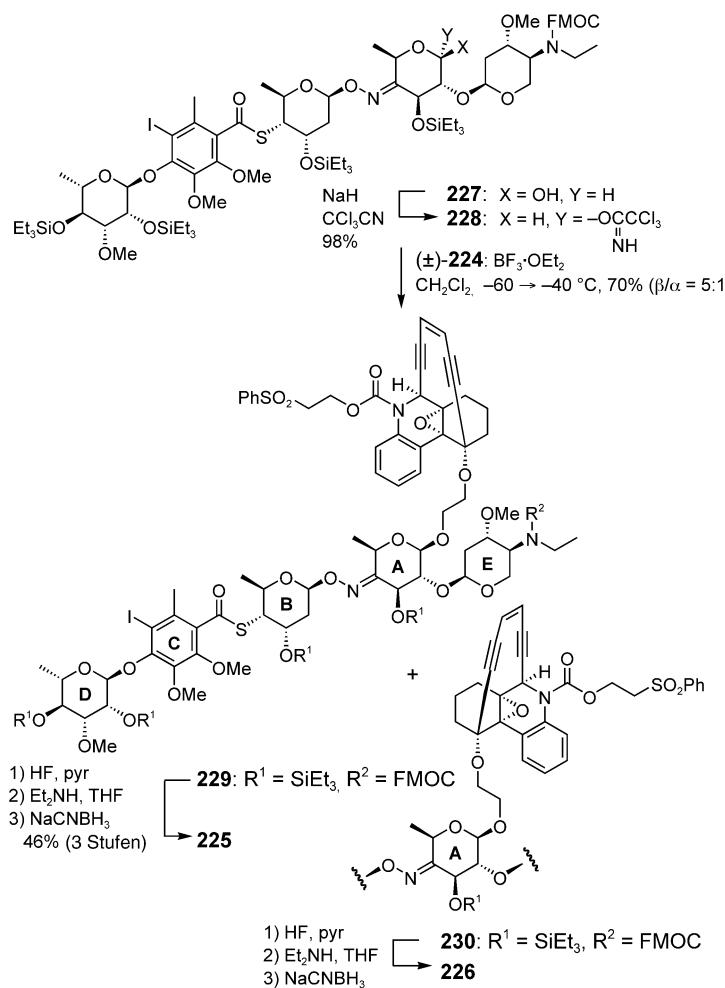
### 3.2.3. Hybride mit einer Endiin-Untereinheit

In den Abschnitten 3.2.1 und 3.2.2 haben wir bereits Konjugate von Endiinen mit Steroiden und Lexitropsinen vorgestellt. Hier beschreiben wir Hybride aus Endiinen und anderen Naturstoffen.

Die Antitumor-Antibiotika der Endiin-Klasse wie Calicheamicin (102)<sup>[73]</sup> und Dynemicin A (223)<sup>[74]</sup> riefen nach ihrer Entdeckung aufgrund ihrer einzigartigen Struktur, ihres beispiellosen Wirkmechanismus und ihrer hohen biologischen Aktivität großes Interesse unter Chemikern, Biologen und Medizinern hervor. Zahlreiche Untersuchungen beschäftigten sich damit, die biologische Wirkungen dieser Naturstoffe zu imitieren, zu kombinieren oder sogar zu übertreffen. Beispielsweise wurden in den komplexen Hybriden 225 und 226 das Oligosaccharid-Fragment von Calicheamicin  $\gamma_1^1$  (102) und die Endiin-Substruktur 224 von natürlichem Dynemicin A (223) oder dessen Enantiomer als „Sprengkopf“ und „Auslöser“-Funktion miteinander kombiniert.<sup>[75]</sup> Die Evaluierung der Antitumor-Aktivität von 225 und 226 anhand von Molt-4-Leukämie-T-Zellen ergab  $IC_{50}$ -Werte von ca. 0.1 bzw. 1 nM; gegen UCLAP-3-Lungenkarzinomzellen wurden



IC<sub>50</sub>-Werte von ca. 0.16 bzw. 78 nm beobachtet. Folglich ist das Hybrid **225** mit dem natürlich vorkommenden Enantiomer **224** wirksamer als das mit seinem nichtnatürlichen Enantiomer (**226**). Diese Beobachtung ist nicht allzu überraschend, allerdings gibt es auch Tumortherapeutika wie CC-1065 (**135**) oder die Duocarmycine, bei denen beide Enantiomere ungefähr gleiche Aktivität aufweisen. Einen deutlich ausgeprägteren Unterschied der biologischen Aktivität als Folge unter-



**Schema 19.** Synthese der Calicheamicin-Dynemicin-Hybride **225** und **226**.

schiedlicher Konfigurationen fand man bei den von **225** bzw. **226** abgeleiteten A-Ring- $\alpha$ -Glycosiden; in diesem Fall wurde kein signifikanter biologischer Effekt festgestellt.

Zur Synthese der  $\beta$ -glycosidischen Hybride **225** und **226** sowie der entsprechenden  $\alpha$ -Glycoside wurde das geschützte Oligosaccharid **227**<sup>[76]</sup> in das Trichloracetimidat **228** überführt und anschließend in Gegenwart von  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$  mit racemischem **224**<sup>[77]</sup> gekuppelt. Dabei wurde eine Mischung aus vier Diastereomeren (**229**, **230** und ihre A-1-Anomere) erhalten, die  $\beta$ -Anomere **229** und **230** waren die Hauptprodukte. Letztere wurden anschließend in die gewünschten

Hybride **225**, **226** und deren A-4-Epimere überführt (Schema 19).

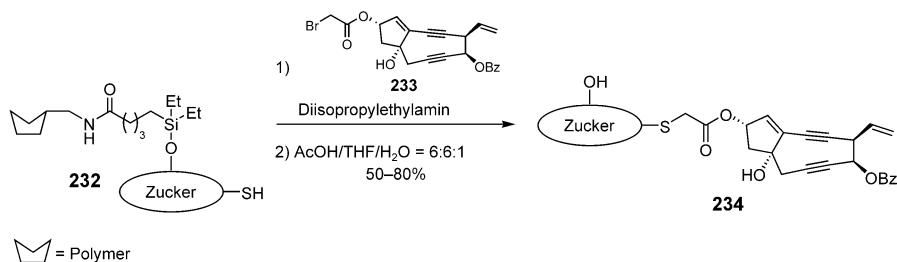
Bei einem kombinatorischen Ansatz zum Aufbau einer Bibliothek von Hybriden **231** mit einem Neocarzinostatin-artigen Chromophor und verschiedenen Monosacchariden, 1,6-verknüpften Disacchariden und Trisacchariden kam ein neuer, von 4-Pentensäure abgeleiteter Silyl-Linker zum Einsatz (Schema 20).<sup>[78]</sup> Die über diesen Silyl-Linker an ein Polymer gebundenen 2-Sulfanylethyl-Glycoside **232** wurden durch S-Alkylierung mit der Bromessigsäurefunktion des Endiins **233** gekuppelt, abschließend wurden die Hybride **234** vom Polymer abgespalten. Biologische Tests der neuen Hybride wurden bisher nicht veröffentlicht.

Das Hybrid **241** sollte die Tubulin-bindende Wirkung von Paclitaxel (Taxol) und Docetaxel (Taxotere) mit der zellschädigenden Wirkung von Esperamicin und Calicheamicin kombinieren.<sup>[79]</sup> Die Synthese von **241** ist in Schema 21 dargestellt: Sie umfasst die Addition des Ceracetylids von **236** an den Ketoester **235**, einen Cr-katalysierten Ringschluss und eine Veresterung mit dem Oxazolidin **240** als geschützte Form der Docetaxel-Seitenkette. Das Hybrid **241** hatte nur einen unbedeutenden Effekt auf die Polymerisation von Tubulin. Seine Cytotoxizität war ebenfalls relativ schwach (70% Zelltod bei 100  $\mu\text{M}$  in humanen HT-29-Zelllinien).

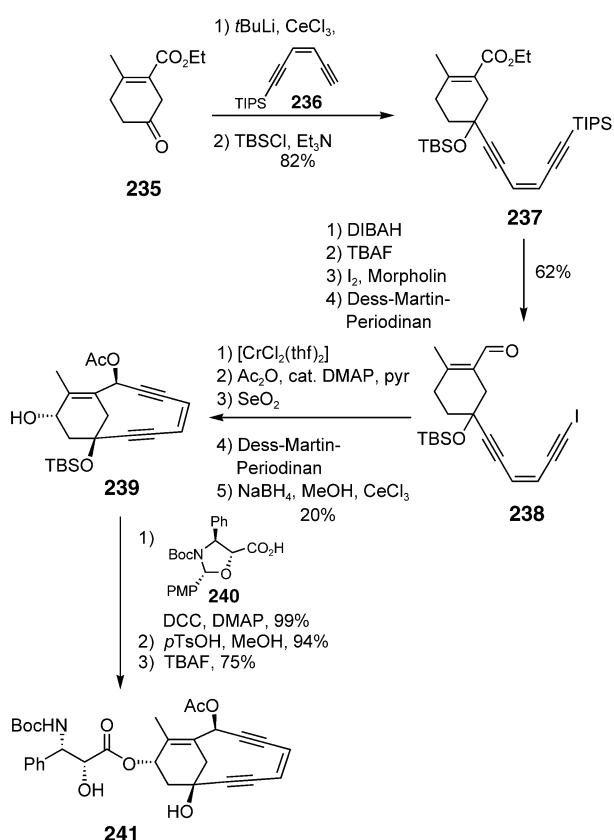
### 3.2.4. Hybride mit einer Peptid-Substruktur

Der Synthese peptidischer Hybride, z.B. aus Cecropin A (**242**)<sup>[80]</sup> und Melittin (**243**)<sup>[81]</sup> wurde ebenfalls einige Aufmerksamkeit gewidmet (Schema 22).<sup>[82]</sup> Die potennten Peptid-Antibiotika **242** und **243** wurden aus Insekten und Schweinen

bzw. aus Honigbienen isoliert. Alle Analoga von CA(1-13)M(1-13)-NH<sub>2</sub> waren gegen fünf Bakterienstämme biologisch ebenso aktiv wie die Stammverbindungen. Sogar die



**Schema 20.** Festphasensynthese der Kohlenhydrat-Neocarzinostatin-Hybride **234**.

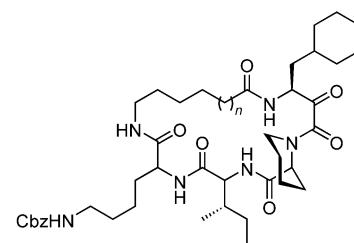
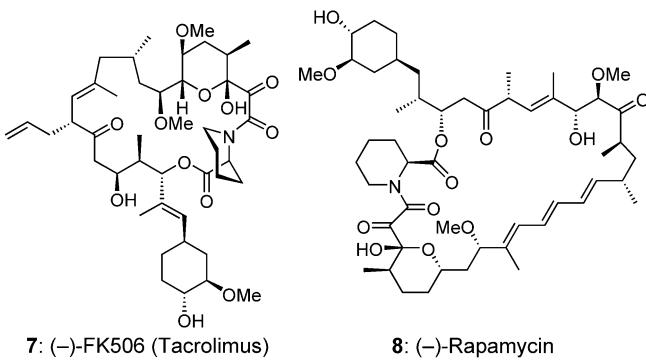


**Schema 21.** Synthese des Paclitaxel-Esperamicin-Hybrids Taxamycin (241).

Retro- und die Retro-enantio-Derivate, in denen die Aminosäuren des natürlichen Peptids in entgegengesetzter Richtung bzw. mit anderer Konfiguration vorliegen, zeigten erstaunlicherweise in den meisten Fällen keinen signifikanten Aktivitätsunterschied. Daraus wurde geschlossen, dass die Konfiguration des Peptids kein kritischer Faktor ist und dass die volle Aktivität auch mit Peptiden erreicht werden kann, die entweder nur L- oder nur D-Aminosäuren in den

entsprechenden rechts- oder linksgängigen helicalen Konformationen aufweisen.

Eine mögliche Erklärung für die biologische Aktivität einiger Naturstoffe besteht darin, dass sie als Mimetika für endogene peptidische Substanzen wirken, die durch Bindung an einen Rezeptor für einen Effekt sorgen. Dies wird z.B. schon seit langem für die Wirkungsweise des Alkaloids Morphin angenommen, das die Encephalin-Peptide imitiert. Es gibt nun einige Hinweise darauf, dass der natürliche Makrocyclus FK506 (7),<sup>[83]</sup> der über eine hohe Immunsuppression und Antitumorwirkung verfügt, nichtpeptidische Strukturelemente nutzt, um an den intrazellulären Immunoophilin-Rezeptor zu binden. Um einen tieferen Einblick in die Rezeptorbindung von FK506 (7) und Rapamycin (8),<sup>[84]</sup>



246: *n* = 1

247: *n* = 2

248: *n* = 3

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Glu-Lys-Val-Gly-Gln-Asn-Ile-Arg-Asp-Gly-Ile-Ile-Lys-Ala-Gly-Pro-Ala-Val-Ala-Val-Gly-Gln-Ala-Thr-Gln-Ile-Ala-Lys-NH<sub>2</sub>

242: Cecropin A

Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-Thr-Thr-Gly-Leu-Pro-Ala-Leu-Ile-Ser-Trp-Ile-Lys-Arg-Lys-Arg-Gln-Gln-NH<sub>2</sub>

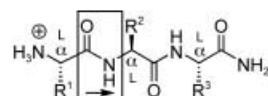
243: Melittin

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Glu-Lys-Val-Gly-Gln/Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-Thr-Thr-Gly-Leu-NH<sub>2</sub>

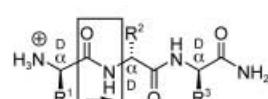
244: CA(1-13)M(1-13)-NH<sub>2</sub>

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys/Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-NH<sub>2</sub>

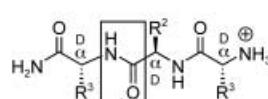
245: CA(1-7)M(2-9)-NH<sub>2</sub>



L-Peptide (normal)



Retro-enantio

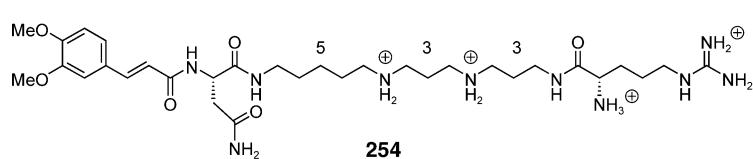
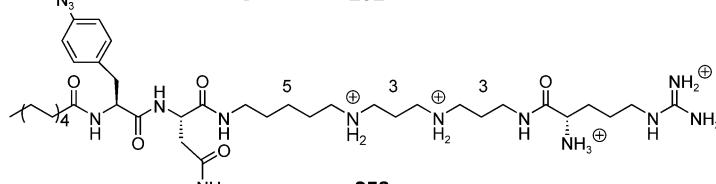
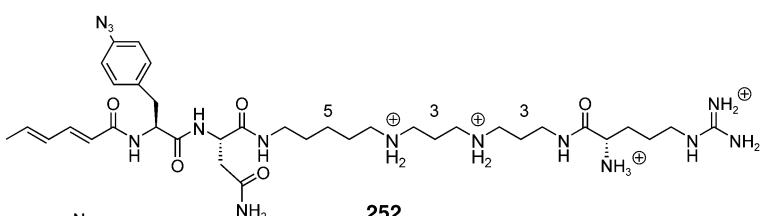
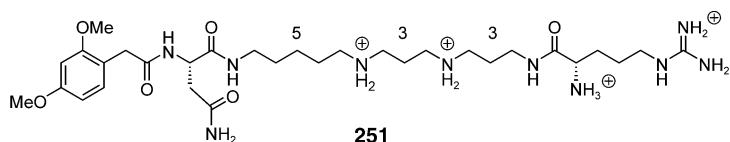
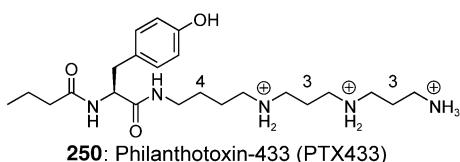
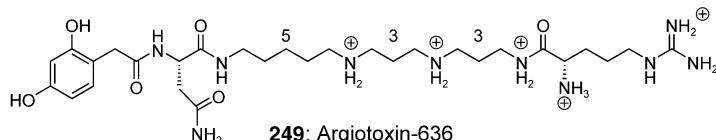


Retro-enantio (gedreht um 180°)

**Schema 22.** Peptidsequenzen von Cecropin A (242) und Melittin (243) sowie der Hybride 244 und 245.

einem weiteren potenteren Immunsuppressivum, zu gewinnen, wurden die cyclischen FK506-Hybride **246–248** synthetisiert,<sup>[85]</sup> bei denen Strukturteile durch eine Peptidgruppe ersetzt wurden. Dieser Ansatz unterscheidet sich vom wohlbekannten Design beständiger Peptidmimetika, in denen ein aktives Peptid z.B. durch N-Heterocyclen nachgeahmt wird, um enzymatische Spaltung durch Peptidasen zu vermeiden. Bei der Synthese der makrocyclischen Hybride **246–248** wurden Ketten verschiedener Länge eingebaut. Interessanterweise zeigen röntgenkristallographische Untersuchungen des Komplexes aus dem Rezeptor und dem Hybrid **247** eine nahezu gleiche Proteintopologie wie im FKBP12-FK506-Komplex. Die Affinitäten der Hybride **246–248** zum Rezeptor waren erwartungsgemäß deutlich niedriger als die Affinität von FK506.

Glutamat-Rezeptoren (Glu-R) umfassen eine Klasse stimulierender Aminosäurerezeptoren, die in die Signalübertragung im zentralen Nervensystem von Vertebraten eingebunden sind.<sup>[86]</sup> Argiotoxin-636 (**249**) (ArgTX; Molekulmasse  $M_r = 636$ ), eines der Polyamin-Amide aus dem Gift der Spinne Argiope, ist ein starker Glu-R-Antagonist.<sup>[87]</sup>



Philanthotoxin-433 (**250**) (PhTX; die Ziffern geben die Zahl der Methylengruppen im Polyamin an) ist die aktivste Verbindung im Gift des Bienenwolfs *Philanthus triangulum* F.<sup>[88]</sup> Die Beobachtung, dass strukturelle Veränderungen, z.B. von Sequenz und Länge des Polyamin- und Nichtpolyaminteils, großen Einfluss auf die Wirksamkeit von Glu-R-Antagonisten haben, führte zur Entwicklung der ArgTX-PhTX-Hybride **251–254**; in diesen Verbindungen wurde die 2,4-Dihydroxyphenylacetyl-Gruppe von ArgTX-636 durch den Nichtpolyaminteil von PhTX-343 ersetzt.<sup>[89]</sup>

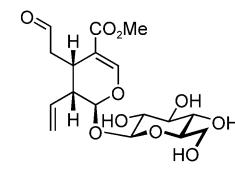
Die Synthese dieser Hybride und weiterer Analoga erfolgte durch Standard-Transformationen ausgehend von geeigneten  $\alpha,\omega$ -Diaminen sowie Phenylessigsäure- und Zimtsäure-Derivaten.<sup>[90]</sup> Bei der Bestimmung der inhibitorischen Aktivitäten wurden Heuschrecken-Skelettmuskeln verwendet, da sie viele Quisqualat-sensitive Glutamatrezeptoren (QUIS-R) aufweisen. Alle Verbindungen waren reversible QUIS-R-Antagonisten, die Verbindungen **253** und **254** zeigten die höchsten Aktivitäten (Tabelle 7). Nach UV-Bestrahlung von Muskelpräparaten, die **252** oder **253** mit einer Azid-Funktion als Photoaffinitäts-Marker enthielten, wirkten die beiden Antagonisten irreversibel.

**Tabelle 7:** Aktivität von ArgTX-636/PhTX-343-Hybriden in einem Heuschrecken-Skelettmuskel-Assay gegen Quisqualat-sensitive Glutamatrezeptoren (QUIS-R).

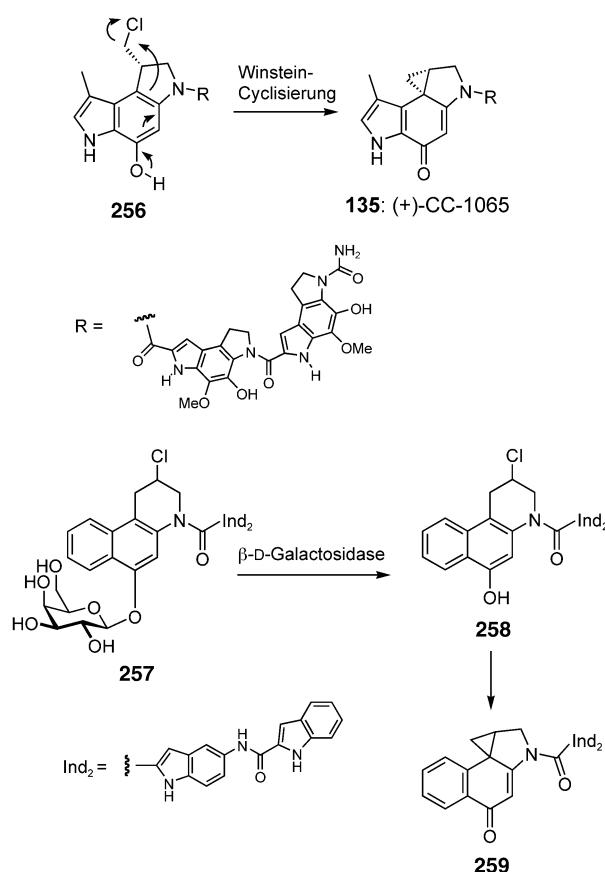
| Verbindung | $IC_{50}$ [ $\mu$ M] | rel. Aktivität |
|------------|----------------------|----------------|
| PhTX-343   | 23                   | 1              |
| <b>251</b> | 2.9                  | 8              |
| <b>252</b> | 2.9                  | 8              |
| <b>253</b> | 1.4                  | 16             |
| <b>254</b> | 1.5                  | 15             |

### 3.2.5. Hybride mit einer Kohlenhydrat-Substruktur

Da die Umwandlung des seco-Derivats **256** in das spirocyclische Antitumor-Antibiotikum CC-1065 (**135**) durch Winstein-Cyclisierung eine freie phenolische Hydroxygruppe in *para*-Position voraussetzt (Schema 23), kam die Idee auf, diese Funktion mit einer Zuckerkontrolle zu schützen, die erst im Tumorgewebe selektiv abgespalten werden sollte.<sup>[91]</sup> Kohlenhydrate werden auch in der Natur als Schutzgruppen eingesetzt, z.B. in Secologanin (**255**), einem Hybrid aus einem Monoterpen und Glucose. Secologanin ist eine Schlüsselverbindung in der Biosynthese der Secoiridoide sowie der Indol-, Ipecacuanha-, Cinchona- und Pyrrolochinolin-Alkaloide.<sup>[92]</sup>



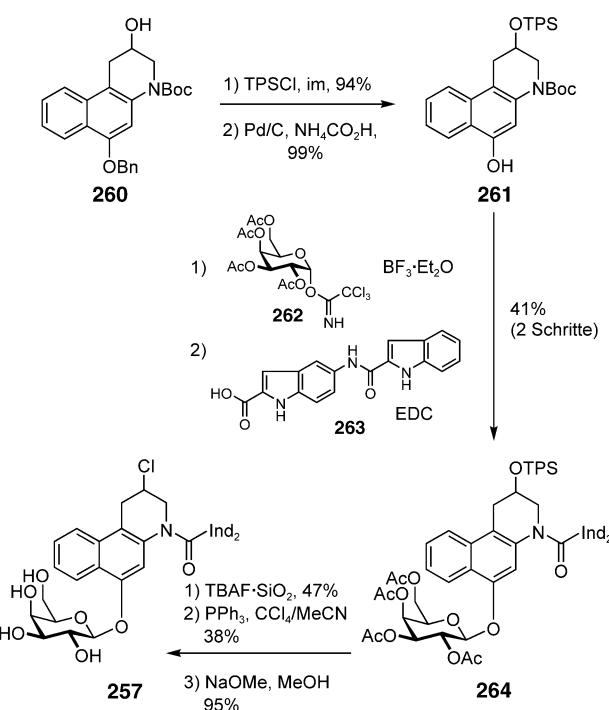
Um die selektive und konzentrierte Wirkstoff-Freisetzung aus einem seco-CC-1065-Analogon, einer Wirkstoffvorstufe vergleichsweise geringer



**Schema 23.** Winstein-Cyclisierung von seco-Analoga von CC-1065 (135); enzymatische Aktivierung der Wirkstoffvorstufe 257 zum CC-1065-Analogon 259.

Toxizität, zu ermöglichen, benötigt man ein Konjugat aus einem monoklonalen Antikörper, der an tumorassoziierte Antigene bindet, und einem Enzym, das die gewünschte Entschützung unter physiologischen Bedingungen erlaubt. Zu diesem Zweck wurde die Wirkstoffvorstufe 257 entwickelt, ein Hybrid aus Galactose und einem seco-Analogon von CC-1065.<sup>[93]</sup> Die enzymatische Abspaltung der Zuckereinheit in 257 führt zum Phenol 258, das dann zu 259 cyclisiert (Schema 23). Für 257 wurde eine deutlich geringere Cytotoxizität gefunden als für 259 oder 257 in Gegenwart von Galactosidase. So zeigte die Wirkstoffvorstufe 257 in einem Cytotoxizitätstest gegen A549-Krebszellen und die humane pankreatische duktale Adenokarzinom-Zelllinie PancTu1 IC<sub>50</sub>-Werte von 320 nm bzw. 410 nm, während in Gegenwart von  $\beta$ -D-Galactosidase IC<sub>50</sub>-Werte von 0.2 nm bzw. 0.13 nm gefunden wurde; dies entspricht Selektivitätsfaktoren von 1600 bzw. 3140. Darüber hinaus führte die Behandlung humaner Bronchialkarzinomzellen (A549) mit der Wirkstoffvorstufe 257 sowie einem Konjugat aus Galactosidase und einem monoklonalen Antikörper, der an humane Epithelzellen bindet, in einem SCID-Maus-Versuch in vielen Fällen zu einer vollständigen Remission des Tumors, ohne dass bei den Versuchstieren toxische Effekte auftraten.

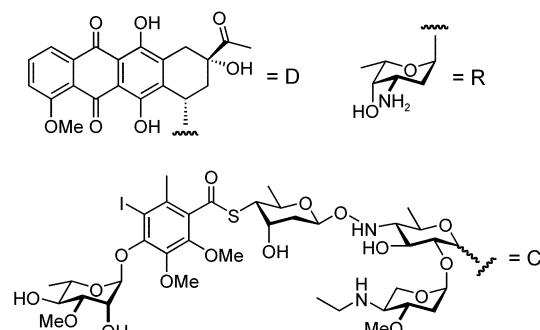
Zur Synthese von 257 wurde der racemische Alkohol 260 in einen Silylether überführt (Schema 24), die Phenolfunktion mit Pd/C und Ammoniumformiat unter Bildung der



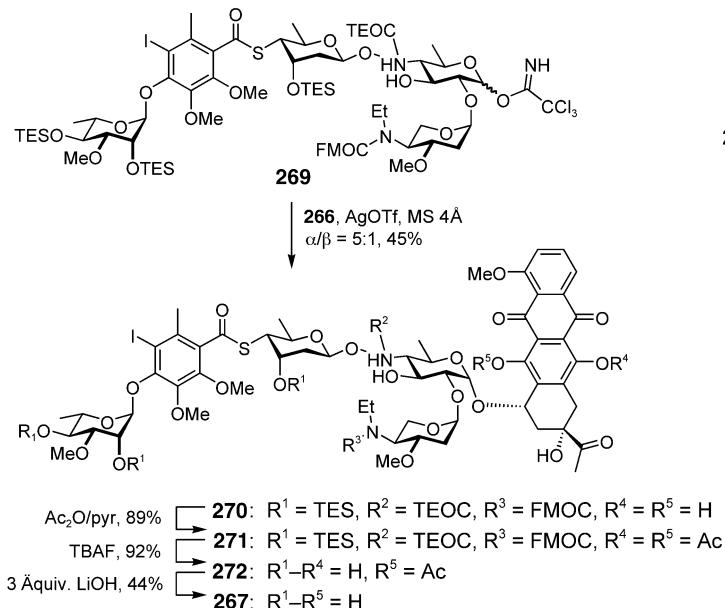
**Schema 24.** Synthese der Wirkstoffvorstufe 257 für eine selektive Krebstherapie.

Verbindung 261 entschützt, die nachfolgend mit 262, dem Trichloracetimidat der Tetraacetylgalactose, in Gegenwart von  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$ <sup>[94]</sup> glycosyliert wurde. Dabei wurde auch die Boc-Gruppe abgespalten, so dass das freie Amin mit der Bisindolylcarbonsäure 263, die in diesem Fall als DNA-bindende Einheit dient, zu 264 gekuppelt werden konnte. Die Entschützung des sekundären Alkohols, Substitution der Hydroxygruppe durch einen Chlorsubstituenten<sup>[95]</sup> und abschließende Verseifung führten zum gewünschten Hybrid 257.

Ein anderes Hybrid kombiniert die Zuckereinheit von Calicheamicin mit dem Aglucon von Daunorubicin (265), einem Anthracyclin-Antibiotikum.<sup>[96]</sup> Sowohl das potente Tumortherapeutikum Daunorubicin (265) als auch das ähn-



lich wirksame Adriamycin (**87**) wurden aus *Streptomyces peceutius* isoliert.<sup>[97]</sup> Zur Synthese der Hybride Caliclearubicin A (**267**) und Caliclearubicin B (**268**) wurde der Trichlor-acetimidat-Donor **269** ( $\alpha:\beta = 5:1$ ) mit Daunorubicinon (**266**) und AgOTf umgesetzt (Schema 25). Acetylierung der phe-

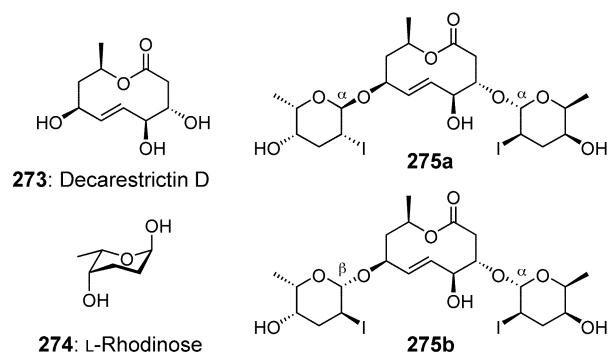


**Schema 25.** Synthese des Calicheamicin-Daunorubicin-Hybrids Caliclearubicin A (**267**).

nolischen Hydroxygruppen, Entschützung der Zuckerkationen und anschließende Verseifung der Acetyl-ester lieferten die Zielverbindung **267**; Caliclearubicin B (**268**) wurde auf ähnliche Weise hergestellt.

Eine Möglichkeit, die Wechselwirkung von Verbindungen mit DNA abzuschätzen, ist die Messung der UV-Absorption.<sup>[98]</sup> Da der Unterschied zwischen den Chromophoren von Daunorubicin (**265**) und seinen Hybriden **267** und **268** gering ist, sollte der Vergleich der bathochromen Absorptionsverschiebung in Gegenwart von DNA Rückschlüsse auf das Ausmaß der Intercalation geben. Während mit Daunorubicin (**265**) in Gegenwart von DNA eine Rotverschiebung von 29 nm gemessen wurde, ließ **267** nahezu keinen Unterschied in der Lage der Absorptionsmaxima in An- und Abwesenheit von DNA erkennen. Dagegen zeigte **268** mit einer Ethoxyethyl-Gruppe als Spacer fast das gleiche Verhalten wie Daunorubicin. Folglich ermöglicht ein  $\beta$ -glycosidischer fünfatomiger Spacer eine bessere Intercalation und Interaktion mit der kleinen Furche der DNA; Molecular-Modeling-Studien und NMR-Untersuchungen bestätigen dieses Ergebnis.

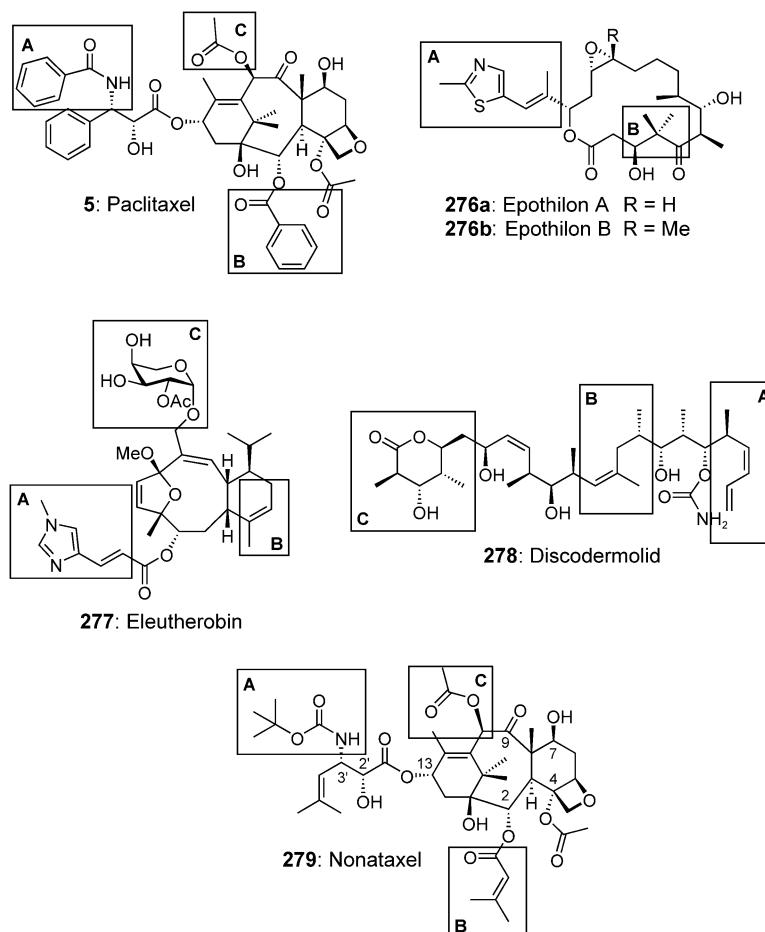
Da die Zahl der Resistzenzen gegen bekannte Antibiotika zunimmt, wird die Hybridisierung als wichtiger Ansatz zur Entwicklung neuer Therapeutika für Bakterieninfektionen betrachtet. Die Glycosylierung von Decarestrictin D (**273**), einem natürlich vorkommenden zehngliedrigen Lacton, mit einem Iodderivat von L-



Rhodinose (**274**), einem der seltenen Zuckern, die gewöhnlich als Teilstrukturen in Angucyclin-Antibiotika auftreten, führte zur Bildung der anomeren Glycoside **275a** und **275b**.<sup>[99]</sup> Erste Ergebnisse sprechen für DNA-bindende Eigenschaften dieser Hybride.

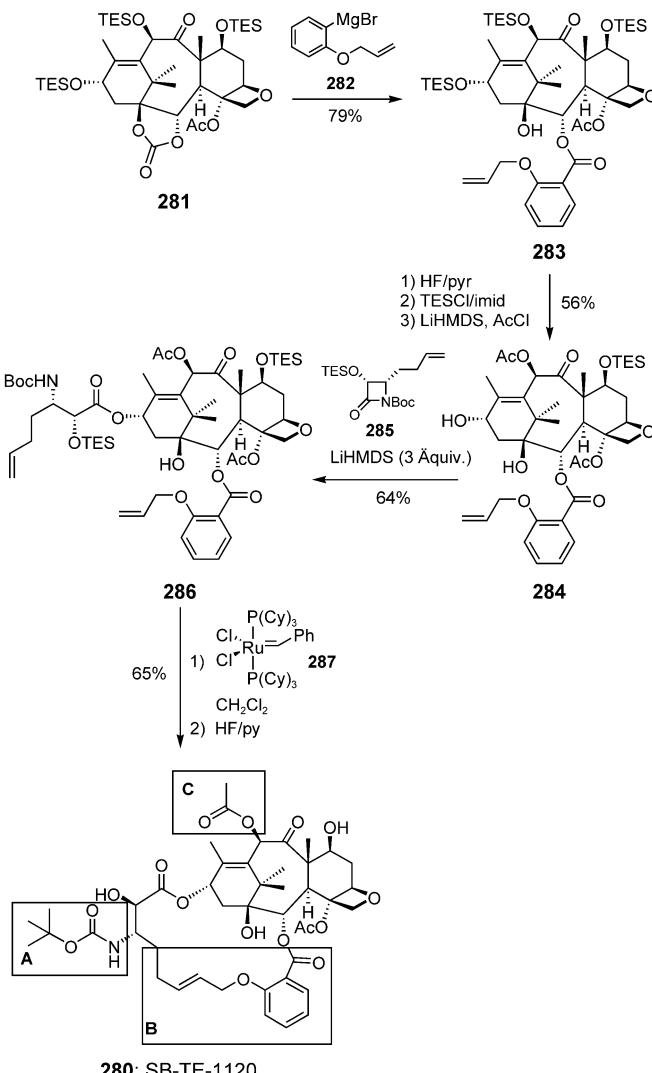
### 3.2.6. Hybride mit einer Mikrotubuli-stabilisierenden Substruktur

Naturstoffe wie Paclitaxel (**5**), Eleutherobin (**277**), die Epothilone A (**276a**) und B (**276b**) und Discodermolid (**278**) sowie das Nonataxel (**279**)



genannte, nichtaromatische Analogen von Paclitaxel können eine Stabilisierung der Mikrotubuli induzieren, was zu Arretierung der Mitose führt; beispielsweise ist Paclitaxel (**5**) ein wirksames Tumortherapeutikum. Auch wenn die Strukturen der Verbindungen **5** und **276–279** recht unterschiedlich sind, kann man aufgrund des ähnlichen Wirkmechanismus doch annehmen, dass sie alle ein gemeinsames Pharmakophor haben, das an denselben Rezeptor bindet. Dieser Idee folgend wurde das nachweisbar cytotoxische und tubulinbindende Hybrid **280** (SB-TE-1120) entwickelt.<sup>[100]</sup> Für **280** wurde ein  $IC_{50}$ -Wert von  $0.39 \mu\text{M}$  gegen die Humanbrustkrebs-Zelllinie MDA-435/LCC6-WT ermittelt; in einem Tubulinpolymerisations-Assay verfügt es über 37% der Aktivität von Paclitaxel. Interessant ist, dass **280** in Bezug auf die Cytotoxizität und Tubulinbindungsfähigkeit eine ähnliche Empfindlichkeit gegenüber sperrigen Substituenten an der C- $2\alpha$ -Position zeigt wie **279**. Die Entwicklung einer neuen Generation von Antitumorwirkstoffen mit Tubulin als Angriffspunkt ist das Ziel weiterer Arbeiten.

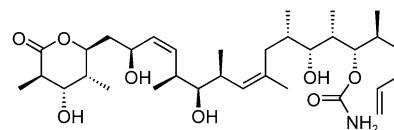
Die Synthese von **280** ging vom Baccatinderivat **281** aus (Schema 26). Eine nucleophile Ringöffnung mit 2-Allyloxy-



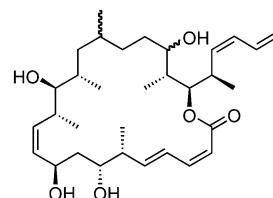
Schema 26. Synthese des Hybrids **280**.

phenylmagnesiumbromid (**282**) und anschließende Schutzgruppenoperationen lieferten über **283** das Baccatin (**284**). Kupplung mit dem  $\beta$ -Lactam **285** zu **286** und eine Ringschlussmetathese mit dem Ruthenium-Katalysator **287** lieferten einen 18-gliedrigen Makrocyclus, aus dem das Hybrid-Konstrukt **280** durch Entschützung freigesetzt werden konnte.

Eine weitere Untersuchung beschreibt **289**, ein Konjugat aus Teilen von Discodermolid (**278**) und Dictyostatin-1 (**288**)



278: Discodermolid



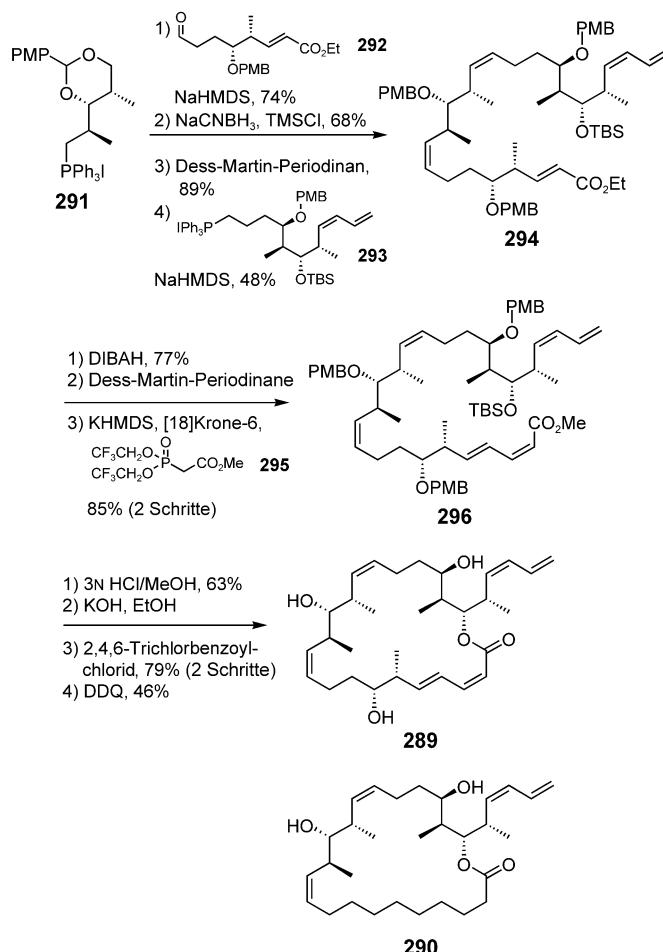
288: Dictyostatin-1

als einem anderen discodermolidartigen Makrocyclus.<sup>[101]</sup> Zum Vergleich wurde auch ein vereinfachtes Discodermolid-Analogon, **290**, hergestellt und getestet, in dem die Lacton-Carboxygruppe und die Doppelbindung über eine nicht funktionalisierte Alkylkette verknüpft sind. **290** zeigte jedoch nur mäßige Aktivität gegen eine Mammakarzinom- und eine Ovarkarzinom-Zelllinie, während das Hybrid **289** mit dem komplexeren unteren Teil von Dictyostatin-1 (**288**) deutlich wirksamer war und einen  $GI_{50}$ -Wert von  $1.0\text{--}1.4 \mu\text{M}$  aufwies. Des Weiteren verdrängte **289** im Gegensatz zu dem anderen Analogon stöchiometrisch an Mikrotubuli gebundenes  $^3\text{H}$ -Paclitaxel mit einem Drittel der Wirksamkeit von **278**. Die Synthese umfasste die Kupplung der drei Bausteine **291**, **292** und **293** durch sequenzielle Wittig-Transformationen und eine Makrocyclisierung (Schema 27).

### 3.2.7. Hybride mit einer Porphyrin-Substruktur

Obwohl Porphyrine in der Natur weit verbreitet sind und in der Photosynthese und Atmungskette eine überaus wichtige Rolle spielen, gibt es bisher nur wenige Beispiele für Kombinationen mit anderen Naturstoffen.

Einige Hybride für die photodynamische Krebstherapie (PDT) verbinden Porphyrine als Photosensibilisatoren mit Naturstoffen, die zu DNA-Bindung oder Elektronentransfer befähigt sind. Die PDT beruht auf der photochemischen Bildung von cytotoxischem  $^1\text{O}_2$  in Gegenwart von Sensibilisatoren. Allerdings werden bei dieser Behandlungsform häufig nach der Behandlung noch unerwünschte phototoxische Reaktionen beobachtet. Deswegen werden in der Literatur zahlreiche Ansätze zur gezielten Wirkstoff-Adressierung beschrieben, in denen photoaktive Porphyrine mit selektiv an DNA bindenden Wirkstoffen kombiniert werden.



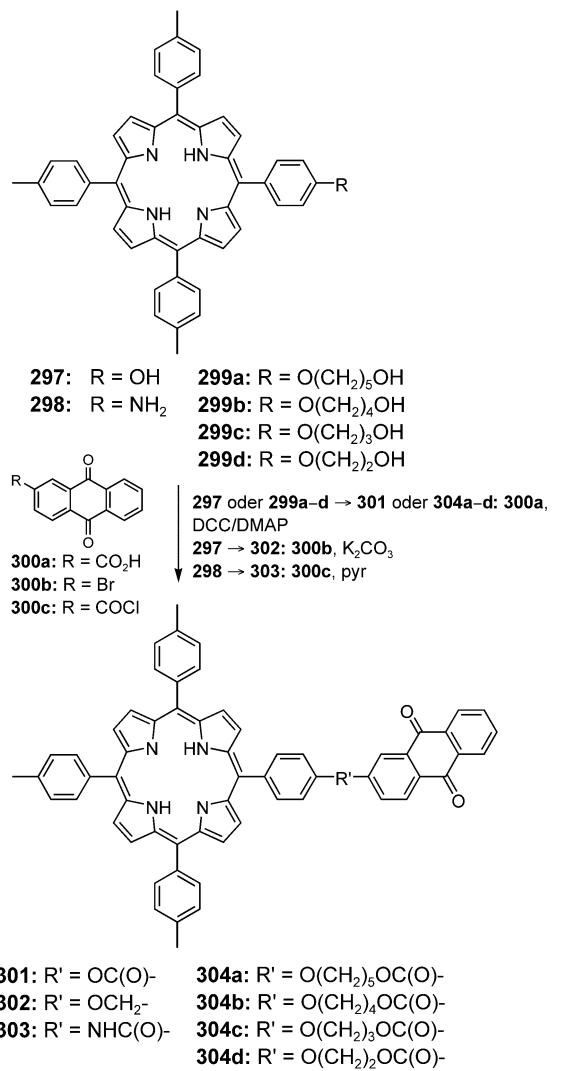
Schema 27. Synthese des Discodermolid-Dictyostatin-1-Hybrids 289.

Hierbei kommen entweder Intercalation (z. B. bei Acridinon, Phenothiazin), Bindung an die kleine Furche (z. B. bei Ellipticin) oder Quervernetzung (z. B. bei Chlorambucil) in Betracht. Da viele natürliche Antitumor-Wirkstoffe wie Adriamycin (87) ihre Wirkung einer durch ein Anthrachinon-System hervorgerufenen Elektronentransfer/H-Abstraktions-Reaktion verdanken, erschien die Entwicklung von Hybrid-Molekülen wie 301–304 mit beiden Struktureinheiten als vielversprechend.<sup>[102]</sup> Die Synthese der Hybride 301–304 ist in Schema 28 gezeigt: Ein an der C-2-Position funktionalisiertes Anthrachinon 300 wird mit den entsprechenden Porphyrinderivaten 297–299 kombiniert.

Wie Tabelle 8 zeigt, sind Fluoreszenz und Singuletsauerstoff-Quantenausbeute für die Hybridverbindungen niedriger als für die Referenzverbindung 297. Dies kann unter Umständen auf einen photoinduzierten Elektronentransfer (PET) zurückzuführen sein. Interessant ist, dass die Hybride als wellenlängenabhängige DNA-Photonucleasen wirken.

Tabelle 8: Fluoreszenz( $\Phi_f$ )- und Singulett-Sauerstoff( $\Phi(^1O_2)$ )-Quantenausbeute für 297 und die Hybride 301–304.

| Verbindung    | 297  | 301   | 302   | 303   | 304 a | 304 b | 304 c | 304 d |
|---------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| $\Phi_f$      | 0.13 | 0.037 | 0.090 | 0.013 | 0.053 | 0.056 | 0.041 | 0.047 |
| $\Phi(^1O_2)$ | 0.65 | 0.43  | 0.65  | 0.49  | 0.49  | 0.50  | 0.43  | 0.46  |

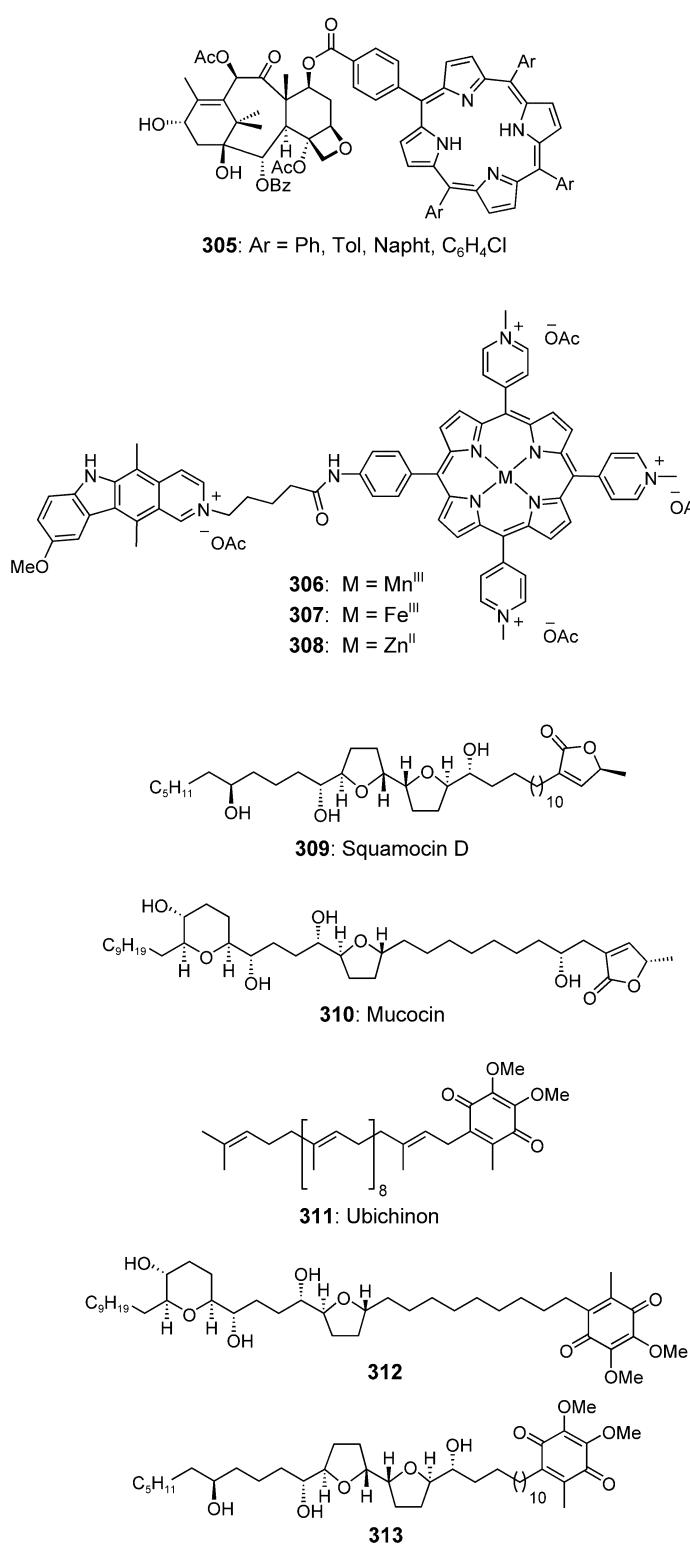


Schema 28. Synthese der Anthrachinon-Porphyrin-Hybride 301–304.

Ein weiteres Merkmal von Porphyrinen ist, dass sie häufig bevorzugt in Krebszellen aufgenommen werden. Daher könnte die Kombination bekannter wirksamer Antitumor-Wirkstoffe wie Paclitaxel (5) und Ellipticin (208) mit Porphyrinen deren Selektivität steigern. Dies war der Grund für die Synthese der Hybride 305<sup>[103]</sup> und 306–308.<sup>[104]</sup> Daten zur biologischen Aktivität dieser Verbindungen sind bisher nicht verfügbar.

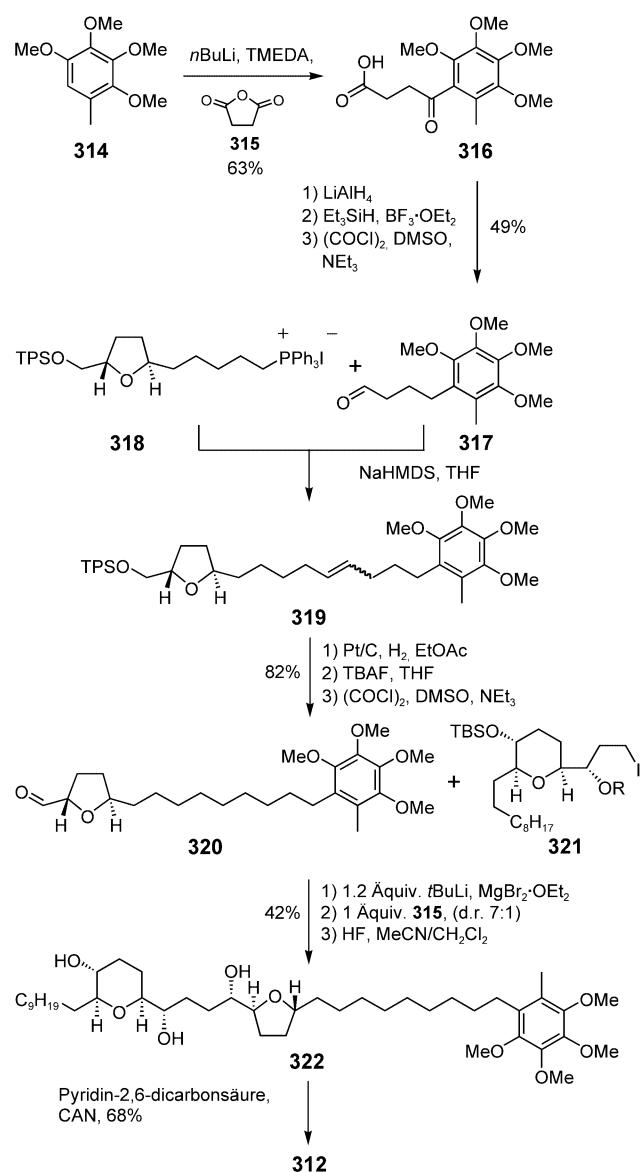
### 3.2.8. Verschiedene Hybride

Viele Acetogenine aus der *Annonaceae*-Familie zeigen interessante antineoplastische, immunsuppressive und antimikrobielle Aktivität.<sup>[105]</sup> Das charakteristische Merkmal dieser Verbindungen, z. B. Squamocin D (309)<sup>[106]</sup> und Mucocin (310)<sup>[107]</sup>, ist eine zentrale Ether-einheit aus ein oder zwei Tetrahydrofuranyl(THF)- oder Tetrahydropyranyl(THP)-Gruppen, die an beiden Seiten von langen Alkyl-



dem Komplex I entwickelt: Sie enthalten anstelle des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten  $\gamma$ -Butyrolactons der Acetogenine den Chinon-Teil des natürlichen Komplex-I-Substrats Ubichinon **311**.<sup>[109a]</sup>

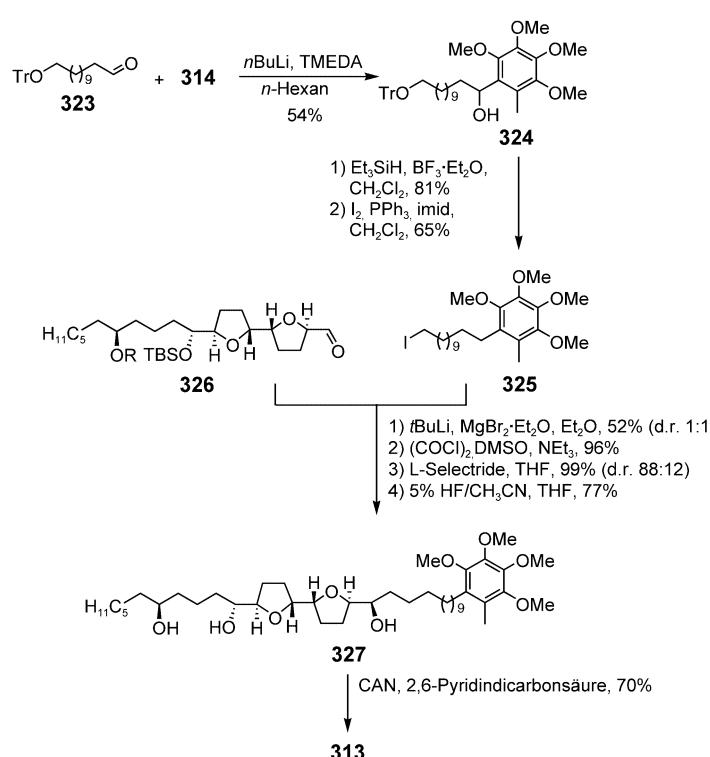
Die Synthesestrategie für **312** sieht die Verknüpfung der drei Bausteine **317**, **318** und **321** vor (Schema 29). Der erste



**Schema 29.** Synthese des Mucocin-Ubichinon-Hybrids **312**.

Baustein, aus dem später das Chinon entsteht, wurde aus 2,3,4,5-Tetramethoxytoluol (**314**)<sup>[110]</sup> durch Lithiierung und Addition an Bernsteinsäureanhydrid (**315**) gebildet. Die Carbonsäure **316** wurde dann in drei Stufen in den aliphatischen Aldehyd **317** überführt, der in einer Wittig-Olefinierung mit dem zweitem Baustein, dem Furan-Derivat **318**, gekuppelt wurde.<sup>[109c]</sup> Hydrierung, Entschützung und Swern-Oxidation lieferten den Aldehyd **320**, der mit dem Iodid **321** als drittem Baustein in einer chelatkontrollierten Grignard-Addition verknüpft wurde.<sup>[109d]</sup> Die Entschützung und Oxidation des Hydrochinonethers **322** lieferte schließlich die Hybridverbindung **312**.

Die Synthese des Hybrids **313** ging ebenfalls von Tetramethoxytoluol (**314**) aus (Schema 30). Hierbei wurde zunächst lithiertes **314** an Dodecanal **323** addiert und dann durch Reaktion mit  $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$  sowohl die neu



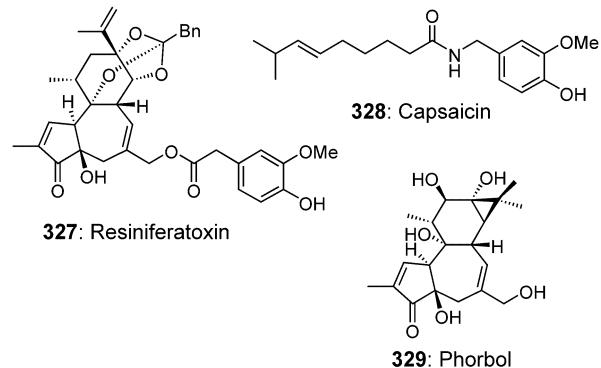
Schema 30. Synthese des Squamocin-D-Ubichinon-Hybrids **313**.

gebildete Alkoholfunktion als auch die Trityletherfunktion aus **324** entfernt. Das Iodid **325** wurde in die entsprechende Lithiumverbindung umgewandelt und an den Bisfuranaldehyd **326** addiert. Oxidation, stereoselektive Reduktion und Entschützung lieferten **327**, das mit CAN zum gewünschten Hybrid **313** mit einer Chinon-Einheit oxidiert wurde. Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse zur Komplex-I-Inhibition durch die beiden Hybride **312** und **313**. Das Chinon-Mucocin-Hybrid **312** war mit einem  $K_{150}$  von 3.6 nm etwa zehnmal aktiver als Mucocin (**310**) selbst, das Chinon-Squamocin D-Hybrid **313** war etwas weniger wirksam als Squamocin A.<sup>[109b]</sup>

Tabelle 9: Inhibition des mitochondrialen Komplexes I durch natürlich vorkommende Acetogenine und die Chinon-Naturstoff-Hybride **312** und **313**.

| Verbindung  | $K_{150}$<br>[nM] | $IC_{50}$<br>[ $\mu\text{mol mg}^{-1}$ Protein] | $IC_{50}$<br>[ $\mu\text{mol mg}^{-1}$ Protein] |
|-------------|-------------------|---|---|
| Squamocin A | 1.0               | 1.3   | 8.7   |
| <b>309</b>  |                   |   |   |
| <b>310</b>  | 34                | 45  | 33.3  |
| <b>312</b>  | 3.6               | 4.9   |   |
| <b>313</b>  | 1.7               | 2.3   |   |
| <b>322</b>  | 123               | 163   |   |
| <b>327</b>  | 4.7               | 6.2   |   |
| Rotenon     | 1.0               | 1.3   |   |

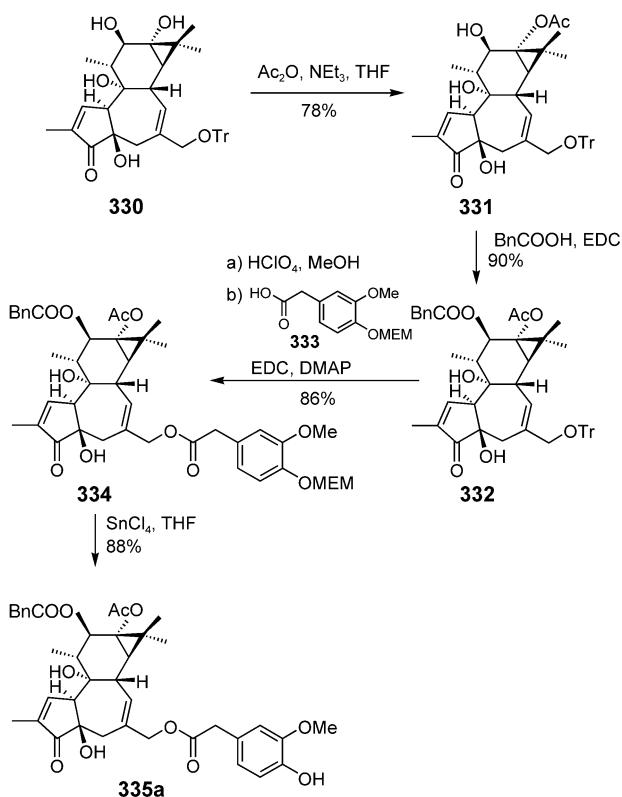
Resiniferatoxin (RTX; **327**)<sup>[111]</sup> ist ein Daphnan-Diterpen, das aus dem Harz von *Euphorbia resinifera* isoliert wurde. Aufgrund ihres einzigartigen Wirkmechanismus befindet sich die Verbindung zurzeit in klinischen Studien zur Schmerzbe-



kämpfung bei Diabetes-Neuropathien.<sup>[112]</sup> Die Entdeckung, dass RTX als komplexes Analogon von Capsaicin (**328**), dem schärfegebenden Inhaltsstoff des roten Pfeffers betrachtet werden kann, führte zur Charakterisierung eines spezifischen Rezeptors, dessen Aktivierung Desensibilisierung gegenüber Capsaicin verursacht.<sup>[113]</sup> Beide Verbindungen enthalten einen Vanillylrest, der Rezeptor wird daher als vanilloid bezeichnet. Da RTX (**327**) nicht in den benötigten Mengen erhältlich ist, wurden die Resiniferatoxin-Phorbol-Hybride **335a-f** synthetisiert, in denen die strukturverwandte Komponente des Phorbols (**329**) mit der Homovanillyl-Gruppe von RTX kombiniert ist. Zur Synthese von **335a** wurde im Phorbol zuerst die primäre Alkoholfunktion durch eine Trityletherfunktion, dann die reaktive tertiäre Hydroxygruppe in Nachbarschaft zur Cyclopropan-Einheit als Acetat **331** und schließlich die sekundäre Hydroxygruppe als Phenylacetat **332** geschützt (Schema 31). Nach Entschützung des primären Alkohols lieferte die Veresterung mit MEM-geschützter Homovanillinsäure (**333**) Verbindung **334**, aus der durch Spaltung des MEM-Ethers das Phorbol-RTX-Hybrid **335a** erhalten wurde.

Auch wenn es sich bei **335a** nicht um die ursprünglich geplante Verbindung handelt, war es doch sehr interessant zur Untersuchung des vanilloiden Rezeptors: **335a** und die Analoga **335b-f** zeigten eine Bindungsaffinität, die mit derjenigen von Capsaicin vergleichbar ist (Tabelle 10).<sup>[114]</sup> Allerdings ist zu berücksichtigen, dass einerseits Capsaicin (**328**) eine deutlich einfache Struktur als die Hybride **335a-f** aufweist und andererseits die Aktivität von Resiniferatoxin (**327**) etwa 10000-mal höher ist.

Um dem schwerwiegenden Problem der Resistenzbildung bei der Behandlung bakterieller Infektionen zu begegnen, wurden die Hybride **340-344** synthetisiert, die Teilstrukturen bekannter Antibiotika wie Chloramphenicol (**336**) (aus *Streptomyces venezuelae*), Sparsomycin (**337**) (aus *Streptomyces sparsogenes*), Lincomycin (**338**) (aus *Streptomyces lincolnensis*) und Puromycin (**339**) (aus *Streptomyces alboniger*)<sup>[115]</sup> mitein-



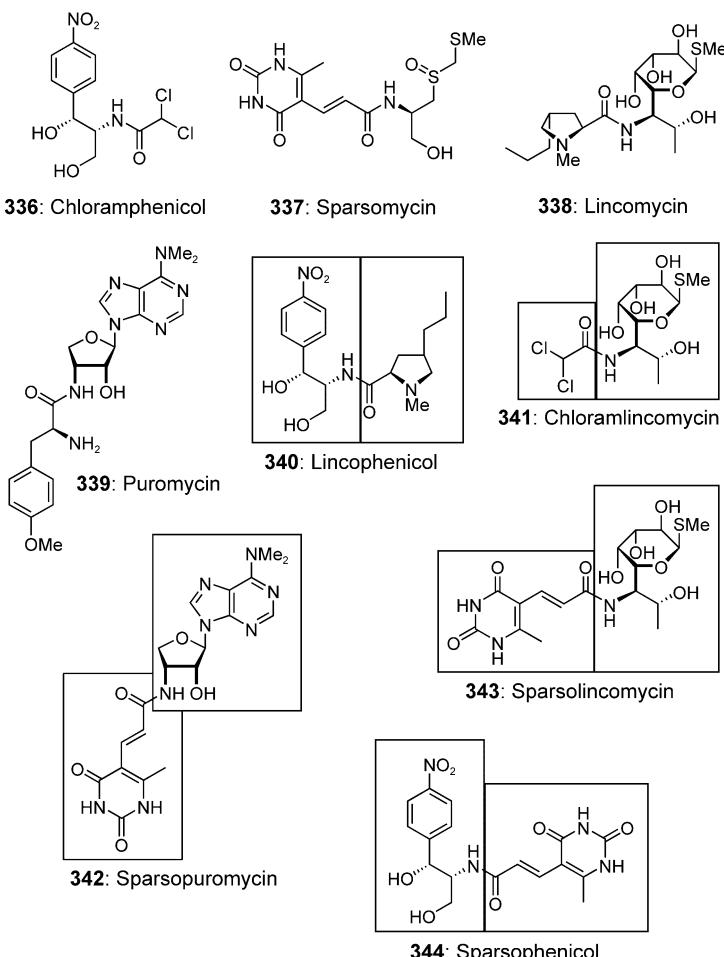
**Schema 31.** Synthese des Phorbol-RTX-Hybrids 335a.

**Tabelle 10:** Bindungsaffinität der Phorbol-RTX-Hybride **335 a–f** im Vergleich zu RTX (327) und Capsaicin (328) an den vanilloiden Rezeptor.

| Verbindung      | R  | Affinität $K_i$ [ $\mu\text{M}$ ] |
|-----------------|--|-----------------------------------|
| 335a            | Bn   | 0.6 $\pm$ 0.3                     |
| 335b            | Ph   | 0.4 $\pm$ 0.2                     |
| 335c            | <i>p</i> -N <sub>3</sub> PhCH <sub>2</sub>     | 0.2 $\pm$ 0.1                     |
| 335d            | <i>p</i> -N <sub>3</sub> Ph                    | 0.2 $\pm$ 0.2                     |
| 335e            | C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> CH <sub>2</sub> | 0.4 $\pm$ 0.1                     |
| 335f            | C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>                 | 2.2 $\pm$ 0.1                     |
| RTX (327)       | —  | 2 $\times$ 10 <sup>-5</sup>       |
| Capsaicin (328) | —  | 2.0 $\pm$ 0.2                     |

ander kombinieren. Die Synthese erfolgte durch einfache Amidbildung aus den Carbonsäuren oder ihren aktivierten Estern und den entsprechenden Aminen. Die biologische Wirksamkeit von **340–344** als Inhibitoren gewisser Prozesse der prokaryontischen und eukaryontischen Proteinbiosynthese wurde untersucht.

Die Ergebnisse der biologischen Tests waren jedoch wenig verheibungsvoll: Die einzigen in den untersuchten zellfreien Systemen aktiven Hybride waren Lincophenicol (340) und Sparsophenicol (344), beide von Chloramphenicol (336) abgeleitet. Erstaunlicherweise war Chloramlincomycin (341), das sich in allen zellfreien Systemen als vollkommen inaktiv erwiesen hatte, als einziges Hybrid beim Screening auf biologische Aktivität ungefähr so aktiv wie Chloramphenicol. Es inhibierte das Wachstum von *Streptococcus pyogenes* mit einer minimalen Inhibitionskonzentration (MIC) von



6.25 mg mL<sup>-1</sup>. Die Beobachtung, dass die Hybride **340** und **344** fast inaktiv waren, obwohl sie inhibitorische Aktivität in den *E.-coli*- und Rattenleber-Ribosom-Testsystemen aufwiesen, könnte auf zwei Gründe zurückzuführen sein: Entweder penetrieren diese Verbindungen nicht die Zellmembran über die aktiven Transportsysteme der Stammantibiotika und/oder sie sind nicht in der Lage, die Proteinbiosynthese in intakten Zellen zu hemmen. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um dieses Problem aufzuklären.

#### 4. Zusammenfassung und Ausblick

Beim Kampf gegen Krankheiten ist unsere Gesellschaft auf die Entwicklung neuer biologisch aktiver Verbindungen angewiesen. Eine neue Strategie bei der Wirkstoffsuche ist die Entwicklung von Naturstoffhybriden, die in nahezu unbegrenzter Zahl durch Kombinationen von Naturstofffragmenten erhalten werden können. Der Vorteil dieses Konzepts gegenüber einer ausschließlich auf dem Zufall beruhenden kombinatorischen Chemie besteht in der hohen Diversität und der inhärenten biologischen Aktivität der Hybride. Da diese Strategie noch recht jung ist, sind bisher erst wenige Kombinationen erkundet worden, hauptsächlich im Zuge der Entwicklung neuer Antitumorkomplexe und Antibiotika. Einige der neuen Hybride zeigen vielversprechende Aktivitäten.

täten, die häufig diejenige der Stammverbindungen übersteigen. So wird wohl selbst der kritische Betrachter zu dem Schluss kommen, dass dieser Ansatz zur Entwicklung neuer Leitstrukturen für Medizin und Pflanzenschutz aussichtsreich ist. Während der Entwicklung von Hybriden in den meisten beschriebenen Fällen ein rationales Design zu Grunde lag, sollte in Zukunft auch die kombinatorische Synthese von Hybriden sowie ihre Beurteilung durch viele verschiedene Untersuchungen stärker an Bedeutung gewinnen.

### Liste der verwendeten Abkürzungen

|                  |   |
|------------------|---|
| Bn               | Benzyl  |
| Boc              | <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl   |
| Bz               | Benzoyl   |
| CAN              | Cer(IV)-ammoniumnitrat  |
| Cbz              | Benzylloxycarbonyl  |
| CI               | Cyclopropanindolin  |
| CPI              | Cyclopropanpyrroloindolin   |
| Cy               | Cyclohexyl  |
| DBU              | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en   |
| DCC              | <i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid  |
| DDQ              | 2,3-Dichlor-5,6-dicyan- <i>p</i> -benzochinon   |
| DIBAH            | Diisobutylaluminiumhydrid   |
| DMAP             | 4-Dimethylaminopyridin  |
| DMF              | <i>N,N</i> -Dimethylformamid  |
| DMSO             | Dimethylsulfoxid  |
| EC <sub>50</sub> | effektive Wirkstoffkonzentration, siehe ED <sub>50</sub>  |
| ED <sub>50</sub> | effektive Wirkstoffdosis, bei der 50 % der maximalen Wirkung auftritt oder 50 % der Testpopulation eine bestimmte Wirkung zeigt |
| EDC              | <i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid  |
| FMOC             | 9-Fluorenylmethoxycarbonyl  |
| GI <sub>50</sub> | Wirkstoffkonzentration, die 50 % Wachstumsinhibition hervorruft   |
| Glu-R            | Glutamat-sensitiver Rezeptor  |
| (H)ER            | (humaner) Östrogenrezeptor  |
| HMDS             | Hexamethyldisilazid   |
| HOBT             | 1-Hydroxy-1 <i>H</i> -benzotriazol  |
| HTCFA            | human tumor colony forming ability  |
| HTS              | Hochdurchsatzscreening  |
| IC <sub>50</sub> | Wirkstoffkonzentration, bei der 50 % Inhibition (z. B. eines Enzyms) auftritt   |
| IGF              | insulin-like growth factor, Insulinartiger Wachstumsfaktor  |
| imid             | Imidazol  |
| Ind              | Indol   |
| iNOS             | induzierbare NO-Synthase  |
| K <sub>i50</sub> | siehe IC <sub>50</sub>  |
| LDA              | Lithiumdiisopropylamid  |
| Lipase AK        | freie Lipase aus <i>Pseudomonas fluorescens</i>   |
| <i>m</i> CPBA    | <i>m</i> -Chlorperbenzoësäure   |
| MEM              | 2-Methoxyethoxymethyl   |
| MIC              | minimale inhibitorische Konzentration   |
| Ms               | Mesyl (Methansulfonyl)  |

|       |  |
|-------|--|
| NADH  | Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, reduzierte Form                      |
| PBD   | Pyrrolo[2,1- <i>c</i> ][1,4]benzodiazepin                            |
| PCR   | Polymerase-Kettenreaktion  |
| PDT   | photodynamische Therapie   |
| PET   | Photoelektronen-Transfer   |
| PMB   | <i>p</i> -Methoxybenzyl  |
| PPL   | Schweinepankreas-Lipase  |
| pybop | (Benzotriazol-1-yloxy)tritypyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat |
| pyr   | Pyridin  |
| RTX   | Resiniferatoxin  |
| SCID  | schwere kombinierte Immunschwäche                                    |
| TBAF  | Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid                                |
| TBS   | <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl                                      |
| TEOC  | 2-(Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl                                     |
| TES   | Triethylsilyl  |
| Tf    | Trifluormethansulfonyl   |
| TIPS  | Triisopropylsilyl  |
| TMEDA | <i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin                           |
| TMS   | Trimethylsilyl   |
| TPS   | <i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl                                      |
| Tr    | Triphenylmethyl  |
| Troc  | 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl   |
| Ts    | <i>p</i> -Toluolsulfonyl   |

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 416), dem Fonds der Chemischen Industrie (FCI) und dem Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie, der Europäischen Union, der Volkswagen-Stiftung und der Alexander von Humboldt-Stiftung sowie dem Land Niedersachsen für die großzügige Unterstützung unserer Arbeiten, die in diesem Aufsatz erwähnt wurden. Für fortwährende Chemikalienspenden und anderweitige Hilfe gilt unser Dank den Unternehmen Aventis, BASF AG, Bayer AG, Degussa AG, Dragoco Gerberding & Co. AG, Eli Lilly & Co., Organon, Schering AG, Solvay Fluor und Derivate GmbH und Wacker-Chemie GmbH. Die Autoren danken darüber hinaus M. Pretor für ihre Mithilfe bei der Erstellung dieses Manuskripts und S. Hellkamp für die Titelbildgestaltung. S.C. dankt der Alexander von Humboldt-Stiftung für ein Forschungsstipendium. H.P.B. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie und der Studienstiftung des deutschen Volkes für ein Doktorandenstipendium.

Eingegangen am 15. August 2002 [A553]

- [1] a) G. M. Cragg, D. J. Newman, K. M. Snader, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 52–60; b) G. A. Cordell, *Phytochemistry* **2000**, *55*, 463–480; c) A. Zeeck, G. Bach, H. Terlau, *Internist* **2001**, *42*, 1422–1427.  
 [2] J. Stetter, F. Lieb, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1792–1812; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1724–1744.  
 [3] a) L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555–600; b) *Combinatorial Chemistry and Molecular Diversity in Drug Discovery* (Hrsg.: E. M. Gordon, J. F. Kerwin, Jr.), Wiley-Liss, New York, **1998**; c) L. F. Tietze, M. Lieb, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 363–371; d) *Combinatorial Chemistry: A Practical Approach, Methods and Principles in Medicinal*

- Chemistry*, Vol. 9 (Hrsg.: W. Bannwarth, E. Felder), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**; e) F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2091–2158; f) P. Arya, M. Baek, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 292–301.
- [4] a) *High Throughput Screening: The Discovery of Bioactive Substances* (Hrsg.: J. P. Delvin), Dekker, New York, **1997**; b) S. L. Schreiber, *Science* **2000**, *287*, 1964–1969.
- [5] a) C. J. Tsoi, C. Khosla, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 355–362; b) C. Khosla, *Chemtracts* **1998**, *11*, 1–15; c) A. C. W. Waugh, P. F. Long, *Sci. Prog.* **2002**, *85*, 73–88; d) L. Katz, R. McDaniel, *Med. Res. Rev.* **1999**, *19*, 543–558; e) J. Staunton, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 339–345; f) R. McDaniel, S. Ebert-Khosla, D. A. Hopwood, C. Khosla, *Science* **1993**, *262*, 1546; g) J. Rohr, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 963–967; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 881–885; h) A. I. Scott, *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 557–573; i) E. Rodriguez, R. McDaniel, *Curr. Opin. Microbiol.* **2001**, *4*, 526–534.
- [6] Nach Einreichung des Manuskriptes erschien ein Übersichtsartikel, der Teile dieses Gebietes behandelt: G. Mehta, V. Singh, *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 324–334.
- [7] H. Shiozawa, T. Kagaasaki, T. Kinoshita, H. Haruyama, H. Domon, Y. Utsui, K. Kodama, S. Takahashi, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 1834–1842.
- [8] Y. F. Hallock, J. H. Cardellina II, M. Schäffer, G. Bringmann, G. Francois, M. R. Boyd, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1729–1734.
- [9] S. Tasler, G. Bringmann, *Chem. Rec.* **2002**, *2*, 113–126.
- [10] G. R. Pettit, M. Inoue, Y. Kamano, D. L. Herald, C. Arm, C. Dufresne, N. D. Christie, J. M. Schmidt, D. L. Doubek, T. S. Krupa, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2006–2007.
- [11] a) M. A. F. Jalal, M. B. Hossain, D. J. Robeson, D. van der Helm, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5967–5971; b) K. Matsuzaki, N. Tabata, H. Tomoda, Y. Iwai, H. Tanaka, S. Omura, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8251–8254.
- [12] a) D. J. Aberhart, Y. S. Chen, P. De Mayo, J. B. Stothers, *Tetrahedron* **1965**, *21*, 1417–1432; b) B. Franck, G. Baumann, *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 3863–3874.
- [13] A. Porzel, T. P. Lien, J. Schmidt, S. Drosihn, C. Wagner, K. Merzweiler, T. Van Sung, G. Adam, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 865–872.
- [14] L. M. Perry, *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*, MIT-Press, Cambridge, MA, **1980**, S. 19.
- [15] a) *Anthracycline antibiotics: New analogues, methods of delivery and mechanisms of action: ACS Symp. Ser.* **1995**, *574*; b) C. Monneret, *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 483–493.
- [16] a) K. Suzuki, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1783–1786; b) T. Matsumoto, T. Hosoya, K. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3568–3570; c) S. Futagami, Y. Ohashi, K. Imura, K. Hosoya, K. Ohmori, T. Matsumoto, K. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1063–1067.
- [17] S. D. Kuduk, F. F. Zheng, L. Sepp-Lorenzino, N. Rosen, S. J. Danishefsky, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1233–1238.
- [18] F. F. Zheng, S. D. Kuduk, G. Chiosis, P. N. Münster, L. Sepp-Lorenzino, S. J. Danishefsky, N. Rosen, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 2090–2094.
- [19] a) J. Raus, G. Le Clercq, H. Martens in *Cytotoxic Estrogens in Hormone Receptive Tumors*, Academic Press, London, **1980**; b) G. Le Clercq, J. C. Heuson, *Anticancer Res.* **1981**, *1*, 217–228, zit. Lit.; c) G. Le Clercq, J. C. Heuson, *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, *560*, 427–455.
- [20] T. Ojasoo, J. P. Raynaud, J.-P. Mornon in *Comprehensive Medicinal Chemistry*, Vol. 3 (Hrsg.: C. Hansch, P. G. Sammes, J. B. Taylor, J. C. Emmett), Pergamon, Oxford, **1990**, S. 1175.
- [21] a) D. Kunz, G. Walker, W. Eberhardt, J. Pfeilschifter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 255–259; b) T. Honda, H. J. Finlay, G. W. Gribble, N. Suh, M. B. Sporn, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1623–1628.
- [22] T. Honda, G. W. Gribble, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4846–4849.
- [23] a) D. G. Lynn, N. J. Phillips, W. C. Hutton, J. Shabanowitz, D. I. Fennell, R. J. Cole, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7319–7322; b) Übersichtsartikel zu Spiroketalen: F. Perron, K. F. Albizati, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1617–1661.
- [24] L. F. Tietze, G. Schneider, J. Wölfling, T. Nöbel, C. Wulff, I. Schuberth, A. Rübeling, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2644–2646; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2469–2470.
- [25] L. F. Tietze, G. Schneider, J. Wölfling, A. Fecher, T. Nöbel, S. Petersen, I. Schuberth, C. Wulff, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3755–3760.
- [26] R. J. D'Amato, C. M. Lin, E. Flynn, J. Folkman, E. Hamel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 3964–3968.
- [27] T. A. Miller, A. L. Bulman, C. D. Thompson, M. E. Garst, T. L. Macdonald, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3836–3841.
- [28] A. J. Birch, G. S. R. S. Rao, *Tetrahedron* **1966**, Suppl. 7, 391–395.
- [29] F. De Riccardis, I. Izzo, M. Di Filippo, G. Sodano, F. D'Acquisto, R. Carnuccio, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 10871–10882.
- [30] a) K. K. Wang, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 207–222; b) R. L. Funk, E. R. R. Young, R. M. Williams, M. F. Flanagan, T. L. Cecil, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3291–3292; c) C. Meert, J. Wang, P. J. De Clercq, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2179–2182; d) J. Wang, P. J. De Clercq, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1898–1901; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 4202–4204.
- [31] K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453–1481; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387–1416.
- [32] J. W. Grissom, G. U. Gunawardena, D. Klingberg, D. Huang, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 6453–6518.
- [33] G. B. Jones, G. Hynd, J. M. Wright, A. Purohit, G. W. Plourde II, R. S. Huber, J. E. Mathews, A. Li, M. W. Kilgore, G. J. Bubley, M. Yancisin, M. A. Brown, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3688–3695.
- [34] L. F. Tietze, M. Beller, A. Terfort, A. Dölle, *Synthesis* **1991**, 1118–1120.
- [35] I. Scherlitz-Hofmann, M. Dubs, R. Krieg, B. Schönecker, M. Kluge, D. Sicker, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 2345–2351.
- [36] S. A. Islam, S. Neidle, B. M. Gandecha, M. Partridge, L. H. Patterson, J. R. Brown, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 857–864, zit. Lit.
- [37] F. De Riccardis, D. Meo, I. Izzo, M. Di Filippo, A. Casapullo, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1965–1970.
- [38] J. E. McMurry, W. J. Scott, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 979–982.
- [39] M. Chandler, R. J. Stoodley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1980**, 1007–1012.
- [40] F. Arcamone, S. Penco, P. Orezzi, V. Nicolella, A. Pirelli, *Nature* **1964**, *203*, 1064–1065.
- [41] a) F. Arcamone, A. Di Marco, M. Gaetani, T. Scotti, *G. Microbiol.* **1961**, *9*, 83–90; b) C. Zimmer, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **1975**, *15*, 285–318.
- [42] a) M. Coll, C. A. Frederick, A. H. Wang, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 8385–8389; b) H. Iida, G. Jia, J. W. Lown, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1999**, *10*, 29–33.
- [43] a) P. Cozzi, N. Mongelli, *Curr. Pharm. Des.* **1998**, *4*, 181–201; b) P. G. Baraldi, B. Cacciari, A. Guiotto, R. Romagnoli, A. N. Zaid, G. Spalluto, *Curr. Pharm. Des.* **1998**, *4*, 249–276; c) F. Zunino, F. Animati, G. Capranico, *Curr. Pharm. Des.* **1995**, *1*, 83–94; d) S. M. Sondhi, B. S. P. Reddy, J. W. Lown, *Curr. Med. Chem.* **1997**, *4*, 313–358.
- [44] L. J. Hanka, A. Dietz, S. A. Gerpheide, S. L. Kuentzel, D. G. Martin, *J. Antibiot.* **1978**, *31*, 1211–1217.
- [45] P. G. Baraldi, G. Balboni, M. G. Pavani, G. Spalluto, M. A. Tabrizi, E. D. Clercq, J. Balzarini, T. Bando, H. Sugiyama, R. Romagnoli, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2536–2543.
- [46] a) N. L. Fregeau, Y. Wang, R. T. Pon, W. A. Wylie, J. W. Lown, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8917–8925; b) Y. Wang, R. Gupta,

- L. Huang, W. Luo, J. W. Lown, *Anti-Cancer Drug Des.* **1996**, *11*, 15–34.
- [47] H. H. Lee, B. F. Cain, W. A. Denny, J. S. Buckleton, G. R. Clark, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 428–431.
- [48] a) M. Lee, J. W. Lown, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5717–5721; b) J. W. Lown, K. Krowicki, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3774–3779.
- [49] M. A. Warpehoski, I. Gebhard, R. C. Kelly, W. C. Krueger, L. H. Li, J. P. McGovren, M. D. Prairie, N. Wicnienski, W. Wierenga, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 590–603.
- [50] E. Nishiaki, S. Tanaka, H. Lee, M. Shibuya, *Heterocycles* **1988**, *27*, 1945–1952.
- [51] K. Shishido, S. Haruna, C. Yamamura, H. Iitsuka, H. Nemoto, Y. Shinohara, M. Shibuya, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2617–2622.
- [52] D. E. Thurston, D. S. Bose, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 433–465.
- [53] a) P. G. Baraldi, B. Cacciari, A. Guiotto, A. Leoni, R. Romagnoli, G. Spalluto, N. Mongelli, P. W. Howard, D. E. Thurston, N. Bianchi, R. Gambari, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3019–3024; b) Y. Damayanthi, B. S. P. Reddy, J. W. Lown, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 290–292; c) P. G. Baraldi, G. Balboni, B. Cacciari, A. Guiotto, S. Manfredini, R. Romagnoli, G. Spalluto, D. E. Thurston, P. W. Howard, N. Bianchi, C. Rutigliano, C. Mischiati, R. Gambari, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5131–5141.
- [54] F. Arcamone, P. Orezzi, W. Barbieri, V. Nicolella, S. Penco, *Gazz. Chim. Ital.* **1967**, *97*, 1097–1109.
- [55] R. D'Alessio, C. Geroni, G. Biasioli, E. Pesenti, M. Grandi, N. Mongelli, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1467–1472.
- [56] K. Nagaoka, M. Matsumoto, J. Ono, K. Yokoi, S. Ishizeki, T. Nakashima, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1527–1532; K. Yokoi, K. Nagaoka, T. Nakashima, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 4554–4561.
- [57] K. Shishido, S. Haruna, H. Iitsuka, M. Shibuya, *Heterocycles* **1998**, *49*, 109–112.
- [58] K. Shishido, T. Omodani, M. Shibuya, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1992**, 2053–2054.
- [59] a) E. Nishiaki, H. Lee, T. Matsumoto, K. Toyooka, H. Sakurai, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1299–1302; b) Y. Sakai, Y. Bando, K. Shishido, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 957–960.
- [60] B. Herberich, J. D. Scott, R. M. Williams, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 523–532.
- [61] a) H. B. Gamper, J. Piette, J. E. Hearst, *Photochem. Photobiol.* **1984**, *40*, 29–34; b) W. P. Zhen, C. Jeppesen, P. E. Nielsen, *FEBS Lett.* **1988**, *229*, 73–76; c) W. P. Zhen, D. Buchardt, H. Nielsen, P. E. Nielsen, *Biochemistry* **1986**, *25*, 6598–6603; d) E. Sage, E. Moustacchi, *Biochemistry* **1987**, *26*, 3307–3314.
- [62] K. E. Rao, G. Gosselin, D. Mrani, C. Périgaud, J.-L. Imbach, C. Bailly, J.-P. Hénichart, P. Colson, C. Houssier, J. W. Lown, *Anti-Cancer Drug Des.* **1994**, *9*, 221–237.
- [63] J. A. Hartley, S. R. McAdam, S. Das, M. C. Roldan, M. K. Haskell, M. Lee, *Anti-Cancer Drug Des.* **1994**, *9*, 181–197.
- [64] R. Gupta, N. H. Al-Said, B. Oreski, J. W. Lown, *Anti-Cancer Drug Des.* **1996**, *11*, 325–338.
- [65] C. Bailly, V. Leclerc, N. Pommery, P. Colson, C. Houssier, C. Rivalle, E. Bisagni, J. P. Hénichart, *Anti-Cancer Drug Des.* **1993**, *8*, 145–164.
- [66] R. Zhao, N. H. Al-Said, D. L. Sternbach, J. W. Lown, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 216–225.
- [67] G. Powis, B. A. Svingen, P. Appel, *Mol. Pharmacol.* **1981**, *20*, 387–394.
- [68] P. Helissey, C. Bailly, J. N. Vishwakarma, C. Auclair, M. J. Waring, S. Giorgi-Renault, *Anti-Cancer Drug Des.* **1996**, *11*, 527–551.
- [69] a) L. R. Barrows, D. C. Radisky, B. R. Copp, D. S. Swaffar, R. A. Kramer, R. L. Warters, C. M. Ireland, *Anti-Cancer Drug Des.* **1993**, *8*, 333–347; b) R. Zhao, J. W. Lown, *Heterocycles* **1995**, *41*, 337–344; c) R. Ahero, B. Oreski, J. W. Lown, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2169–2172.
- [70] Y. Xie, G. G. Miller, S. A. Cubitt, K.-J. Soderlind, M. J. Allalunis-Turner, J. W. Lown, *Anti-Cancer Drug Des.* **1997**, *12*, 169–179.
- [71] M. D. Wittman, D. Langley, J. F. Kadow (Bristol-Myers Squibb), US Patent 5395849, **1995** [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 32861].
- [72] a) K. C. Nicolaou, A. L. Smith, E. W. Yue, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 5881–5888; b) M. Tokuda, K. Fujiwara, T. Gomibuchi, M. Hirama, M. Uesugi, Y. Sugiura, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 669–672; c) M. D. Wittman, J. F. Kadow, D. R. Langley, D. M. Vyas, W. C. Rose, W. Solomon, N. Zein, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1049–1052.
- [73] a) M. D. Lee, T. S. Dunne, M. M. Siegel, C. C. Chang, G. O. Morton, D. B. Borders, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3464–3466; b) M. D. Lee, T. S. Dunne, C. C. Chang, G. A. Ellestad, M. M. Siegel, G. O. Morton, W. J. McGahren, D. B. Borders, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3466–3468.
- [74] a) M. Konishi, H. Ohkuma, K. Matsumoto, T. Tsuno, H. Kamei, T. Miyaki, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 1449–1452; b) M. Konishi, H. Ohkuma, T. Tsuno, T. Oki, G. D. Van Duyne, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3715–3716.
- [75] K. C. Nicolaou, E. P. Schreiner, Y. Iwabuchi, T. Suzuki, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 317–319; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 340–342.
- [76] K. C. Nicolaou, R. D. Groneberg, T. Miyazaki, N. A. Stylianides, T. J. Schultze, W. Stahl, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8193–8195.
- [77] a) K. C. Nicolaou, E. P. Schreiner, W. Stahl, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 566–568; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 585–590; b) K. C. Nicolaou, C.-K. Hwang, A. L. Smith, S. V. Wendeborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7416–7418; c) K. C. Nicolaou, A. L. Smith, S. V. Wendeborn, C.-K. Hwang, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3106–3114.
- [78] A. Matsuda, T. Doi, H. Tanaka, T. Takahashi, *Synlett* **2001**, 1101–1104.
- [79] S. Py, C. W. Harwig, S. Banerjee, D. L. Brown, A. G. Fallis, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6139–6142.
- [80] a) D. Hultmark, H. Steiner, T. Rasmusson, H. G. Boman, *Eur. J. Biochem.* **1980**, *106*, 7–16; b) J. Y. Lee, A. Boman, C. X. Sun, M. Andersson, H. Jornvall, V. Mutt, H. G. Boman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 9159–9162.
- [81] E. Habermann, J. Jentsch, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1967**, *348*, 37–50.
- [82] R. B. Merrifield, P. Juvvadi, D. Andreu, J. Ubach, A. Boman, H. G. Boman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 3449–3453.
- [83] A. B. Smith III, S. M. Condon, J. A. McCauley, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 35–46.
- [84] A. Farooq, S. Anjum, M. I. Choudhary, Atta-ur-Rahman, *Curr. Org. Chem.* **1998**, *2*, 281–328.
- [85] Y. Ikeda, L. W. Schultz, J. Clardy, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4143–4144.
- [86] a) E. R. Kandel, J. H. Schwartz, Thomas M. Jessell, *Principles of Neural Science*, 4. Auflage, McGraw-Hill, New York, **2000**; b) C. Braestrup, P. Krogsgaard-Larsen in *A Textbook of Drug Design and Development* (Hrsg.: P. Krogsgaard-Larsen, H. Bundgaard), Harwood, Chur, **1991**, S. 335–433.
- [87] a) E. V. Grishin, T. M. Volkova, A. S. Arseniev, O. S. Reshetova, V. V. Onoprienko, L. G. Magazanik, S. M. Antonov, I. M. Fedorova, *Bioorg. Khim.* **1986**, *12*, 1121–1124; b) E. V. Grishin, T. M. Volkova, A. S. Arseniev, *Toxicon* **1989**, *27*, 541–549; c) M. E. Adams, R. L. Carney, F. E. Enderlin, E. T. Fu, M. A. Jarema, J. P. Li, C. A. Miller, D. A. Schooley, M. J. Shapiro, V. J. Venema, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *148*, 678–683.

- [88] A. T. Eldefrawi, M. E. Eldefrawi, K. Konno, N. A. Mansour, K. Nakanishi, E. Oltz, P. N. R. Usherwood, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 4910–4913.
- [89] S.-K. Choi, K. Nakanishi, P. N. R. Usherwood, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 5777–5790.
- [90] a) V. J. Jasys, P. R. Kelbaugh, D. M. Nason, D. Phillips, N. A. Saccomano, R. A. Volkman, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6223–6226; b) T. L. Shih, J. Ruiz-Sanchez, H. Mrozik, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 6015–6018.
- [91] a) L. F. Tietze, M. Lieb, T. Herzig, F. Haunert, I. Schuberth, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1929–1939; b) L. F. Tietze, T. Herzig, A. Fecher, F. Haunert, I. Schuberth, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 758–765.
- [92] a) L. F. Tietze, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 840–853; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 828–841; b) L. F. Szabo, *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2002**, *26*, 95–148 (Bioactive Natural Products, Part G); c) J. Leonard, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 319–338.
- [93] L. F. Tietze, T. Feuerstein, A. Fecher, F. Haunert, O. Panknin, U. Borchers, I. Schuberth, F. Alves, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 785–787; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 759–761.
- [94] a) R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213–236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212–235; b) W. Dullenkopf, J. C. Castro-Palomino, L. Manzoni, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1996**, *296*, 135–147.
- [95] R. Appel, *Angew. Chem.* **1975**, *87*, 863–874; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801–812.
- [96] K. M. Depew, S. M. Zeman, S. H. Boyer, D. J. Denhart, N. Ikemoto, S. J. Danishefsky, D. M. Crothers, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2972–2975; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2797–2800.
- [97] G. Cassinelli, P. Orezzi, *G. Microbiol.* **1963**, *11*, 167–174.
- [98] a) E. J. Gabbay, D. Grier, R. E. Fingerle, R. Reimer, R. Levy, S. W. Pearce, W. D. Wilson, *Biochemistry* **1976**, *15*, 2062–2070; b) A. Di Marco, F. Zunino, R. Silvestrini, C. Gambarucci, R. A. Gambetta, *Biochem. Pharmacol.* **1971**, *20*, 1323–1328.
- [99] G. Dräger, A. Garming, C. Maul, M. Noltemeyer, R. Thiericke, M. Zerlin, A. Kirschning, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1324–1332.
- [100] I. Ojima, S. Chakravarty, T. Inoue, S. Lin, L. He, S. B. Horwitz, S. D. Kuduk, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 4256–4261.
- [101] a) Y. Shin, N. Choy, R. Balachandran, C. Madiraju, B. W. Day, D. P. Curran, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4443–4446; Korrigendum: Y. Shin, N. Choy, T. R. Turner, R. Balachandran, C. Madiraju, B. W. Day, D. P. Curran, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 603; b) neuerer Übersichtsartikel zu Discodermolid: I. Paterson, G. J. Florence, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2193–2208.
- [102] G. Mehta, S. Muthusamy, B. G. Maiya, S. Arounaguiri, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7125–7128.
- [103] G. Mehta, B. G. Maiya, S. Muthusamy, M. Chanon, M. Julliard, , FR 2764605, **1998** [*Chem. Abstr.* **1999**, *130*, 153827], erhältlich unter <http://ep.espacenet.com>.
- [104] L. Ding, G. Etemad-Moghadam, S. Cros, C. Auclair, B. Meunier, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1711–1713.
- [105] a) F. Q. Alali, X.-X. Liu, J. L. McLaughlin, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 504–540; b) M. C. Zafra-Polo, B. Figadère, T. Gallardo, J. R. Tormo, D. Cortes, *Phytochemistry* **1998**, *48*, 1087–1117.
- [106] a) G.-X. Zhao, L. R. Miesbauer, D. L. Smith, J. L. McLaughlin, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1971–1974; b) M. Sahai, S. Singh, M. Singh, Y. K. Gupta, S. Akashi, R. Yuji, K. Hirayam, H. Asaki, H. Araya, N. Hara, T. Eguchi, K. Kakinuma, Y. Fujimoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 1163–1174.
- [107] G. Shi, D. Alfonso, M. O. Fatope, L. Zeng, Z.-m. Gu, G.-x. Zhao, K. He, J. M. MacDougal, J. L. McLaughlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10409–10410.
- [108] a) M. D. Esposti, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, *1364*, 222–235; b) J. R. Tormo, M. C. Gonzales, D. Cortes, E. Estornell, *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, *369*, 119–126; c) H. Miyoshi, M. Ohshima, H. Shimada, T. Akagi, H. Iwamura, J. L. McLaughlin, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, *1365*, 443–452; d) H. Shimada, J. B. Grutzner, J. F. Kozlowski, J. L. McLaughlin, *Biochemistry* **1998**, *37*, 854–866.
- [109] a) S. Hoppen, U. Emde, T. Friedrich, L. Grubert, U. Koert, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2181–2184; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2099–2102; b) S. Arndt, U. Emde, S. Bäurle, T. Friedrich, L. Grubert, U. Koert, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 993–1005; c) U. Koert, M. Stein, H. Wagner, *Liebigs Ann.* **1995**, 1415–1426; d) S. Bäurle, S. Hoppen, U. Koert, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1341–1344; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1263–1266.
- [110] L. Syper, K. Kloc, J. Mlochowski, Z. Szulc, *Synthesis* **1979**, 521–522.
- [111] M. Hergenhahn, W. Adolf, E. Hecker, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 1595–1598.
- [112] G. Appendino, A. Szallasi, *Life Sci.* **1997**, *60*, 681–696.
- [113] A. Szallasi, P. M. Blumberg, *Neuroscience* **1989**, *30*, 515–520.
- [114] G. Appendino, *Gazz. Chim. Ital.* **1997**, *127*, 461–469.
- [115] J. Zemlicka, M. C. Fernandez-Moyano, M. Ariatti, G. E. Zurenko, J. E. Grady, J. P. G. Ballesta, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1239–1244.