

Epothilonderivate

Der Weg zu Fludelon: ein Tumorthapeutikum mit außergewöhnlichen Eigenschaften

Alexey Rivkin, Ting-Chao Chou und Samuel J. Danishefsky*

Stichwörter:

Epothilone · Naturstoffe · Totalsynthese ·
Tumorthapeutika · Wirkstoff-Design

Professor George Olah gewidmet

Ein Prinzip der Biosynthese von niedermolekularen Naturstoffen ist die Optimierung ihrer Fähigkeit, an bestimmte Proteine oder andere Zielmoleküle zu binden. Die Rahmenbedingungen, innerhalb derer ein zu synthetisierender Wirkstoff funktionieren muss, mögen letztlich ganz anders aussehen – dennoch kann der Einsatz solcher Naturstoffe als Leitsubstanzen zu einem signifikanten Vorsprung bei der Suche nach neuen, klinisch relevanten Wirkstoffen führen. In diesem Kurzaufsatze beschreiben wir, wie die chemische Synthese zu wirksameren Epothilonderivaten führte und wie dies wiederum die Entwicklung neuer Synthesewege inspirierte. Dies demonstriert den Nutzen von zielgerichteten Totalsynthesen bei der Suche nach neuen Wirkstoffen.

1. Einführung

Im Verlauf der Evolution hat die Natur eine große Vielfalt strukturell komplexer niedermolekularer Naturstoffe hervorgebracht, von denen bis heute nur ein kleiner Bruchteil entdeckt worden sein dürfte.^[1] Sicher ist in der Literatur über Naturstoffe eine Fülle wenig inspirierender „Wir-auch“-Beiträge zu finden, aber manchmal werden Forscher auch belohnt, die sich mit der Isolierung, dem biologischen Screening, der Reinigung und der Aufklärung der Struktur von Naturstoffen beschäftigen: Sie entdecken Verbindungen mit wirklich neuartigen Strukturen, deren Eigenschaften die biologische und sogar die klinische Forschung in eine neue Richtung lenken.^[2]

Die Entwicklung eines neuen Medikaments, das den Patienten wirklich nutzt und gleichzeitig die kritischen Vorgaben der Aufsichtsbehörden erfüllt, ist eine entmutigende Aufgabe, die oft fehlschlägt. Wer einen neuen Wirkstoff entwickeln will, muss sich der überwältigenden Zahl von Risikofaktoren bewusst sein, die den komplizierten Weg vom Entwurf bis zum zugelassenen Medikament beeinflussen. In diesem Zusammenhang haben sich das Auffinden und die Untersuchung von niedermolekularen Naturstoffen als produktiver Ansatz für das Wirkstoff-Design erwiesen.^[3] Zwar sind wir offensichtlich noch weit davon entfernt, die evolutionären Kräfte zu verstehen, die die Biosynthesen niedermolekularer Substanzen in Pflanzen, Korallen, Bakterien, Pilzen und höheren Organismen beeinflusst haben – zumindest aber können wir feststellen, dass wir mithilfe von Leitsubstanzen aus dem Bereich dieser niedermolekularen Naturstoffe (z.B. Steroide, Prostaglandine, β -Lactame, Polyketide, Aminoglycoside und Statine) die Entwicklung von Wirkstoffen in einem fortgeschrittenen Stadium beginnen können als mithilfe anderer Ansätze wie dem Screening umfangreicher Proben sammlungen in Pharmaunternehmen oder von kommerziellen kombinatorischen Bibliotheken.

Warum bieten die Strukturen niedermolekularer Naturstoffe einen derartigen Vorteil? Sie sind dazu optimiert, an bestimmte Proteine oder andere Zielmoleküle zu binden – die Bindung an Protein-Targets ist ein zentrales Merkmal nahezu aller Wirkstoffe. Niedermolekulare Naturstoffe haben den Vorteil, dass sie per Definition bereits in einer biologisch nutzbaren Form vorliegen und ihre Strukturen im Verlauf der Evolution im Hinblick auf ihre Fähigkeit zur Wechselwirkung mit den entsprechenden Biomolekülen ständig verfeinert worden sind. Auch wenn ein potenzielles Medikament letztlich in einer ganz anderen Situation wirken muss und die

[*] Dr. A. Rivkin, Prof. S. J. Danishefsky
Laboratory for Bioorganic Chemistry
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research
1275 York Avenue, New York, NY 10021 (USA)
Fax: (+1) 212-772-8691
E-mail: s-danishefsky@ski.mskcc.org
Prof. S. J. Danishefsky
Department of Chemistry
Columbia University, Havemeyer Hall
3000 Broadway, New York, NY 10027 (USA)
Dr. T.-C. Chou
Preclinical Pharmacology Core Facility
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research
1275 York Avenue, New York, NY 10021 (USA)

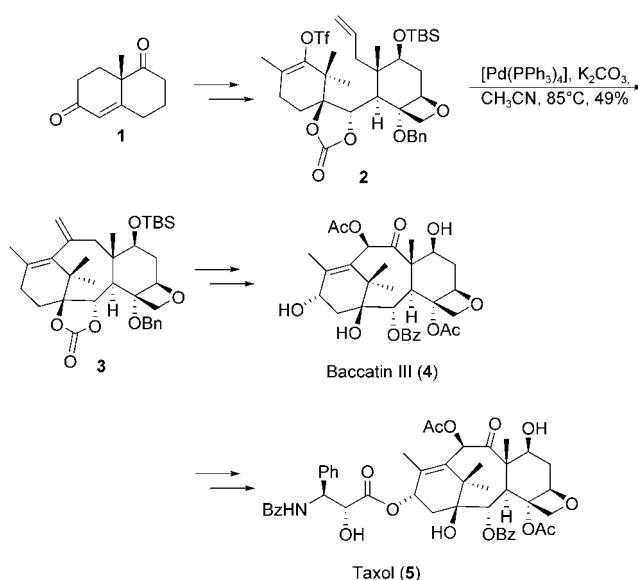
pharmakodynamischen Eigenschaften und Sicherheitsprofile kaum vorhersagbar sind, liefert dies sicherlich einen beträchtlichen Vorsprung bei der Suche nach neuen, klinisch wertvollen Wirkstoffen.

2. Naturstoffe als Tumorthерапеutika: von Taxol zu den Epothilonen

2.1. Totalsynthese

Naturstoffe spielen bei der Wirkstoff-Entwicklung eine überaus wichtige Rolle, besonders bei der Suche nach neuen Tumorthерапеutika.^[4] Ein wohlbekanntes Beispiel für einen wichtigen klinischen Wirkstoff, der zuerst beim Screening von pflanzlichen Naturstoffen entdeckt wurde, ist Taxol (**5**).^[5] Die Wirksamkeit von Taxol (später in Paclitaxel umbenannt) hat sich bei der Behandlung verschiedener Tumorarten im Anfangsstadium und sogar bei manchen metastatischen Tumoren bewährt.^[6] Auch die Wirksamkeit von Taxotere, einer halbsynthetischen Variante von Taxol, ist bekannt.^[7] Beide Verbindungen inhibieren die Depolymerisation der Microtubuli bei der Mitose. Weitere halbsynthetische Taxoide befinden sich in unterschiedlichen Entwicklungsstadien.

Das Interesse unserer Arbeitsgruppe an der Untersuchung von Taxol war anfangs chemisch motiviert.^[8] Die strukturelle Vielfalt niedermolekularer Naturstoffe war üblicherweise ein Element unserer Syntheseplanungen. Im Fall von Taxol versuchten wir, von einem einfachen Zugang zu jedem der beiden Enantiomere des Wieland-Miescher-Ketons (**1**; Schema 1) zu profitieren. Außerdem erhofften wir uns, die stereochemischen Vorgaben im Wieland-Miescher-Keton in einer geeigneten Abbaustrategie zu nutzen, um den Zugang zu Baccatin III (**4**), einer Taxol-Vorstufe, zu erleichtern. Dabei gelang J. Masters eine entscheidende Transformation (**2**→**3**); allerdings wurde der anfängliche Optimismus, hervorgerufen durch Masters verbüffende Anwendung einer intramolekularen Heck-Reaktion, bald von Frustration abgelöst, da sich der Weg von **3** nach **4** wegen Schwierigkeiten bei der selektiven Entfernung der externen Methylengruppe als äußerst schwierig erwies. Nur durch den Einfallsreichtum und die Beharrlichkeit von W. Young, J. T. Link und J. Masters gelang uns doch noch die Totalsynthese des Naturstoffs, wobei wir das gewünschte Enantiomer von Taxol (**5**)



Schema 1. Synthese von Taxol. Bn = Benzyl, Bz = Benzoyl, Tf = Trifluormethansulfonyl, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl.

herstellen konnten, ohne auf Racematspaltung oder Relay-Synthese (bei der ein Fragment des Naturstoffs als Ausgangsmaterial verwendet wird) zurückzugreifen. Bei den zwei vorangegangenen Totalsynthesen von Taxol waren diese Bedingungen nicht erfüllt.^[9,10]

Ungeachtet der Leistungen auf chemischem Gebiet wurde bei unserer Taxolsynthese eines der zentralen Ziele nicht erreicht: Wir hatten gehofft, auch die Intermediaten der letzten Synthesestufen, mit den für die Bioaktivität von Taxol entscheidenden Seitenketten und Pharmakophoren, herstellen zu können. Allerdings hatten die Komplikationen während der letzten Stufen der Totalsynthese zur Folge, dass wir nur noch sehr wenig Material (und Energie!) für Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen zur Verfügung hatten.

Dieser Fehlschlag war besonders bedauerlich, da Taxol keineswegs ein idealer Wirkstoff ist.^[11] Zwar sind cytotoxische Nebenwirkungen bei einem an Tubulin bindenden Wirkstoff nicht unerwartet, aber Taxol bringt noch zwei weitere Nachteile mit sich: Der erste resultiert aus Problemen mit seiner Formulierung. Dies führt dazu, dass verschiedene Transportermoleküle eingesetzt werden müssen, die wieder-



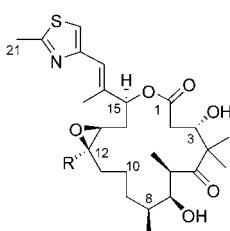
Alexey Rivkin erhielt 1996 seinen BSc in Chemie und Biochemie von der University of California in San Diego. Er schloss 2001 seine Dissertation an der University of Pittsburgh ab, wo er sich bei Dennis P. Curran mit der Synthese des strukturell faszinierenden Naturstoffs Penitrem D beschäftigte. Danach arbeitete er als NIH-Postdoc mit Samuel Danishefsky am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, wo seine präparativen Arbeiten an den Epothilonen zur Entwicklung und Entwicklung der (E)-9,10-Dehydroepothilone führten. Zur Zeit arbeitet er als medizinischer Chemiker bei Merck.



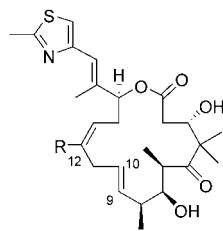
Ting-Chao Chou erhielt seinen PhD von der Yale University und ist zurzeit Direktor des Preclinical Pharmacology Core Laboratory am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center in New York. Von 1988 bis 2000 war er Professor für Pharmakologie an der Cornell University, seit 1993 ist er Honorarprofessor an der Chinese Academy of Medical Sciences. Er entwickelte die Median-effect-Gleichung und die Combination-index-Gleichung (zusammen mit P. Talalay) sowie die Computersoftware Biosoft, UK, die zusammen mehr als 2000-mal in über 250 biomedizinischen Zeitschriften zitiert wurden.

um in der klinischen Verwendung ihre eigenen Sicherheits- und Toleranzprobleme aufweisen. Möglicherweise noch schwerwiegender ist die Neigung von Paclitaxel, aufgrund angeborener oder erworbener Multi-Wirkstoff-Resistenz (MDR, multidrug resistance) seine Wirksamkeit zu verlieren. Allzu oft erweist es sich als unmöglich, eine MDR durch höhere Dosen des toxischen Wirkstoffs zu kompensieren. Zusammen führen diese Komplikationen in der Klinik oft zum „Versagen“ von Taxol und zum Wiederausbruch der Krankheit in metastatischer Form.

Auf der Suche nach einem Wirkstoff, der Taxol ablösen könnte, erfuhren wir von einem neuen Tumortherapeutikum, dessen Wirkungsweise auf dem Taxol-Mechanismus beruht: der Familie der Epothilone, die durch die Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH (GBF) von Höfle und Mitarbeitern im Rahmen eines sorgfältig ausgeführten Pharmakognosie-Programms entdeckt wurde. Die Arbeitsgruppe von Höfle hatte mögliche Anwendungen von Epothilonen in der Agrarwirtschaft postuliert.^[12] Ein fachübergreifendes Interesse an den Epothilonen entwickelte sich als Folge einer bahnbrechenden Veröffentlichung der Arbeitsgruppe von Bollag bei Merck.^[13] Die bedeutendste Aussage dieser Veröffentlichung war, dass die Naturstoff-Familie der Epothilone (Schema 2) ihre Cytotoxizität gegen verschiedene Tumorzell-



6: Epothilon A (EpoA), R = H
7: Epothilon B (EpoB), R = CH₃



8: (E)-9,10-Dehydro-dEpoB, R = CH₃
9: 26-Trifluor-(E)-9,10-dehydro-dEpoB,
R = CF₃ (Fludelon)

Schema 2. Epothilonstrukturen.

kulturen offenbar demselben Wirkungsmechanismus verdankt wie Taxol. Besonders interessant war dabei, dass Epothilon A (**6**) und B (**7**), anders als Taxol, bemerkenswert effektiv gegen ansonsten MD-resistente Zellkulturen wirkten.^[14] Zwar war die absolute Konfiguration der Epothilone



Samuel Danishefsky erhielt 1956 seinen BSc an der Yeshiva University und seinen PhD an der Harvard University bei Peter Yates. Nach einer Zeit als Postdoc an der Columbia University bei Gilbert Stork begann er 1963 seine eigene akademische Laufbahn an der University of Pittsburgh, wo er 1971 Professor wurde. Im Jahr 1980 wechselte er zur Yale University, ging aber 1993 als Professor für Chemie an der Columbia University und Kettering Professor am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center zurück nach New York. Seine Forschungsinteressen umfassen die Themen Synthesestrategie, Reagensentwicklung, cytotoxische Naturstoffe und vollsynthetische, kohlenhydratbasierte Tumorantigene.

zur damaligen Zeit nicht bekannt, ihre allgemeine Struktur ließ aber darauf schließen, dass sie leichter zu synthetisieren sein sollten als Taxolderivate.

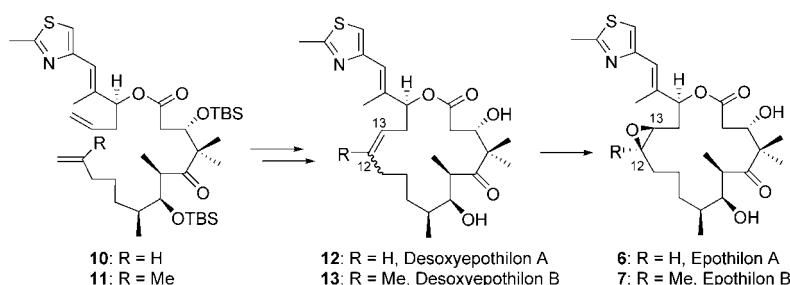
Die Synthese der Epothilone konnte allerdings nicht vor einer Aufklärung ihrer Stereostrukturen unternommen werden. Die Merck-Gruppe war offenbar nicht an der vollständigen Aufklärung der Stereostruktur interessiert.^[13] Wie oben beschrieben^[12] geht die eigentliche Entdeckung der Epothilone auf die wegweisenden Arbeiten von Höfle et al. zurück, und sie waren es auch, die schließlich die Stereostrukturen von Epothilon A und B beschrieben.^[15] Da wir keine Möglichkeit hatten, Epothilone auch nur in geringen Mengen für unabhängige Untersuchungen zu erhalten, mussten wir auf die Totalsynthese von Epothilon A (EpoA, **6**) und B (EpoB, **7**) zurückgreifen. Wir begannen mit Epothilon A, in dem die Methylgruppe an C12 fehlt, und hofften, dass die dabei gewonnenen Erfahrungen uns bei der Synthese von Epothilon B, der wirksameren der beiden Verbindungen, helfen würden.^[16]

Wir möchten im Folgenden auf die wechselseitige Beziehung zwischen chemischer Synthese und Wirkstoff-Optimierung bei unseren Forschungen zu den Epothilonen eingehen, die zur Entdeckung der außergewöhnlichen Verbindung (*E*)-9,10-Dehydro-12,13-desoxyepothilon (**8**) und der verwandten Verbindung **9** führte, die anstelle der Methylgruppe eine Trifluormethylgruppe an C12 trägt.^[17]

Wir möchten auch einen Grundsatz hervorheben, der den Entwurf unserer Synthesen erheblich beeinflusst hat: Von Anfang an war es unser eigentliches Ziel, ausreichende Mengen an präklinischen Leitsubstanzen herzustellen, die *in vivo* an Xenotransplantat-Tumoren in Mäusen getestet werden konnten. Diese Zielsetzung hatte für uns ein viel größeres Gewicht als das In-vitro-Screening einer großen Zahl von Einzelverbindungen. Unsere Bevorzugung des Tests der *In vivo*-Effektivität hatte zur Folge, dass wir weniger Verbindungen herstellen würden, diese dafür aber in größeren Mengen als bei Totalsynthesen im akademischen Bereich sonst üblich. Dies wiederum bedeutete, dass bei den einzelnen Synthesestufen besonderes Augenmerk auf eine hohe Stereoselektivität gelegt werden musste.

Aus diesen Gründen konnten wir es uns nicht leisten, mit komplexen Mischungen von Stereoisomeren zu arbeiten. Wir glaubten von Anfang an, dass eine Ringschlussmetathese (ring-closing metathesis, RCM), damals eine sehr populäre Methode zur Synthese cyclischer Olefine,^[18] im Fall der Epothilone bei Verwendung von Vorstufen wie **10** oder **11** zu einer *E/Z*-Diastereomerenmischung an der C12-C13-Doppelbindung führen würde (Schema 3);^[19] diese Erwartung erwies sich als zutreffend. Wir bevorzugten daher Kreuzkupplungsstrategien, bei denen die gewünschte C12-C13-Doppelbindungskonfiguration bereits in den Olefinvorstufen festgelegt war. Wir waren uns auch darüber im Klaren, dass unsere Betonung auf gut geplanten Syntheserouten und sorgfältig durchdachten Zielstrukturen von den damals vorherrschenden Trends abwich, die eher auf stochastischen Ansätzen basierten. Wir werden am Ende dieses Kurzaufsatzes darauf noch einmal zurückkommen.

Für die Knüpfung der C12(sp²)-C11(sp³)-Bindung schien uns die palladiumvermittelte B-Alkyl-Suzuki-Kreuzkupplung

**Schema 3.** Synthese von Epothilonen mit Ringschlussmetathese.

vielversprechend, eine zur damaligen Zeit unterschätzte Reaktion.^[20] Die Synthese von EpoA begann mit der Herstellung von **16**, wobei wir auf größtenteils in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Verfahren zurückgriffen.^[20] So konnten wir mit einer Lewis-sauer katalysierten Dien-Aldehyd-Cyclo kondensation^[21] von **14** und **15** das Dihydropyron **16** in hoher Ausbeute und mit hoher relativer und absoluter Stereoselektivität erhalten (Schema 4). Diese Verbindung wurde in das Intermediat **18** umgewandelt, das die entscheidende B-Alkyl-Suzuki-Reaktion mit **19** einging und so **21** lieferte. Eine sehr ungewöhnliche Enolatester-Aldehyd-Makrocyclisierung^[22] und nachfolgende Manipulationen der funktionellen Gruppen führten zum Desoxyepothilon A (dEpoA, **12**). Die Epoxidierung des 12,13-Alkens mit Dimethyldioxiran lief mit sehr hoher Regio- und Stereoselektivität ab (15–20:1 zugunsten des β-Epoxids^[23]), womit die erstmalige Totalsynthese von Epothilon A (EpoA, **6**) abgeschlossen war.^[24] Erfreulicherweise ließ sich der Syntheseweg auch

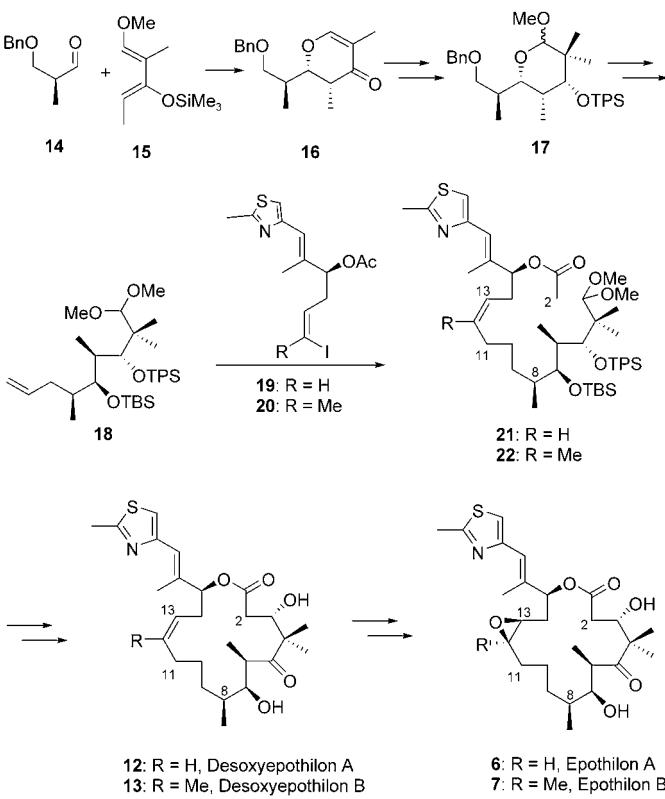
leicht für die Synthese von EpoB (**7**) modifizieren.^[16b] Die zentralen Merkmale dieser wegweisenden Leistung sind in Schema 4 skizziert. Die experimentellen Einzelheiten wurden in der Literatur im Detail beschrieben.

2.2. Biologische Aktivität

Mit dem nun zur Verfügung stehenden synthetischen Material konnten wir die Aussagen in der Literatur zur Inhibierung der Dissoziation von Mikrotubuli und die Cytotoxizität von Epothilon A und B rasch bestätigen.^[25] Bemerkenswerterweise ergaben In-vitro-Experimente, dass die 12,13-Desoxyvorstufe von EpoB (d.h. dEpoB) ebenfalls Tubulin-stabilisierende Eigenschaften in ähnlichem Umfang wie EpoB aufwies, obwohl ihre Cytotoxizität verringert war.^[12] Durch Abwandlungen der oben beschriebenen Totalsynthese synthetisierten wir eine Familie von Epothilonderivaten, mit der das erste In-vitro-SAR-Schema (SAR: structure-activity relationship) der Epothilone erstellt werden konnte.^[20] Auf diese Weise bestimmten wir, welche Strukturelemente der Epothilone ohne Verlust der Cytotoxizität oder der Tubulin-bindenden Eigenschaften modifiziert werden konnten.

Zwar waren unsere ersten Synthesen von EpoA und EpoB recht aufwändig, aber unser neu angesetztes Programm zur Wirkstoff-Entwicklung profitierte erheblich von ihrer hohen Stereoselektivität, und wir konnten ausreichende Mengen des potenziellen Wirkstoffs für aussagefähige In-vivo-Experimente erhalten. Die Experimente umfassten die Implantation von menschlichen Tumorzellen in immunschwäche Mäuse und die anschließende Beobachtung der Wirkstoff-Effekte auf die Wachstumsprofile der Tumoren. Außerdem führten wir Paralleluntersuchungen an Tumoren durch, die als Folge von MDR gegen verschiedene bekannte Antitumorwirkstoffe resistent waren. So konnten wir mithilfe dieser synthetischen Proben auch prüfen, ob die Aussagen von Bollag und Mitarbeitern über die Unempfindlichkeit gegen MDR (z.B. im Fall von Epothilon B)^[12] auch in einer In-vivo-Situation gültig waren. Wir führten die ersten In-vivo-Untersuchungen mit Epothilon B durch, und unsere Ergebnisse waren sehr beunruhigend: Zwar zeigte EpoB eine gewisse Wirksamkeit, aber auch ein ernstes Toxizitätsprofil – selbst so geringe Dosen wie 0.6 mg kg^{-1} hatten erhebliche Gewichtsverluste und Todesfälle zur Folge (Tabelle 1).

Durch Anpassen der Dosierung wäre es wahrscheinlich möglich gewesen, aus EpoB einen therapeutischen Nutzen zu ziehen, der weitere Untersuchungen auf seine klinische Tauglichkeit gerechtfertigt hätte. Tatsächlich begann Novartis

**Schema 4.** Erste veröffentlichte Totalsynthese von EpoA und EpoB.**Tabelle 1:** Toxizität von EpoB und dEpoB bei normalen Nacktmäusen.

Gruppe	Dosis [mg kg^{-1}] ^[a]	Todesfälle
Kontrolle	–	0/4
EpoB (7)	0.6	8/8 ^[b]
dEpoB (13)	25	0/6

[a] QDx4 (verabreicht jeden Tag, insgesamt vier Dosen), intraperitoneal (i.p.). [b] Die Todesfälle traten an den Tagen 5,6,6,7,7,7,7,7 auf.

klinische Tests der Phase I mit diesem Wirkstoff.^[26] Allerdings befürchteten wir, dass die Toxizitätsprobleme letztlich verhindern würden, dass mit EpoB der gewünschte Durchbruch erreicht würde. Wir nahmen an, dass die starke Toxizität von EpoB aus einer nichtspezifischen Toxizität resultiert, welche die auf Tubulin gerichteten Antimitose-Eigenschaften überlagert, möglicherweise verursacht durch das 12,13-Epoxid von EpoB.^[16] Wir fragten uns daher, ob eine Modifizierung des Epoxids zugunsten eines *cis*-12,13-Alkens die Herstellung von Wirkstoffen mit einer geringeren Toxizität und daher breiteren und besser nutzbaren therapeutischen Indices ermöglichen würde.

3. Epothilone der zweiten Generation

3.1. Desoxyepothilon B: Synthese und Aktivität

Da dEpoB *in vitro* cytotoxische und Tubulin-bindende Eigenschaften aufwies, die mit denen von Taxol vergleichbar waren, und gleichzeitig eine ähnliche Aktivität bei MDR-Zellkulturen zeigte wie EpoB, entschlossen wir uns, diese Verbindung *in vivo* zu testen. Dazu wurden mehrere Gramm von synthetischem dEpoB (**13**) benötigt, die aus weiterentwickelten Synthesen (siehe unten) erhalten wurden.

In umfassenden In-vivo-Untersuchungen erwies sich dEpoB im Hinblick auf eine therapeutische Anwendbarkeit viel erfolgversprechender als EpoB selbst (Tabelle 1).^[25e] Daraufhin überprüften wir die Effekte von verschiedenen Formulierungen, Routen und Zeitabständen bei der intravenösen (i.v.) Verabreichung. Wir fanden, dass dEpoB bei Xenotransplantat-Tumoren wie MX-1 eine ähnliche Wirkung wie Paclitaxel zeigte, nämlich eine vollständige Remission des Tumors. Auch bei der Behandlung des Darmtumors HT-29 und des Eierstocktumors SK-OV-3 wurden mit dEpoB und Taxol ähnliche Ergebnisse erhalten. Deutlich bessere Wirkungen als Taxol wies dEpoB allerdings gegen MDR-Tumoren auf. Beispielsweise führte dEpoB (30 mg kg^{-1} , 6 h intravenöse Infusion, Q2Dx5 = verabreicht jeden zweiten Tag, insgesamt fünf Dosen) zur vollständigen Heilung bei Nacktmäusen, die resistente humane Tumoren der lymphoblastischen T-Zellenleukämie vom Typ CCRF-CEM/Paclitaxel trugen, die gegen Paclitaxel eine 57-fache Resistenz aufwiesen (Abbildung 1 a).

Die Überlegenheit von dEpoB gegenüber anderen gebräuchlichen Tumortherapeutika zeigt sich auch deutlich, wenn adriamycinresistente Xenotransplantat-Tumore (MCF-7/Adr) mit der jeweils maximal tolerierten Dosis der modernsten chemotherapeutischen Wirkstoffe, d.h. Paclitaxel (24 mg kg^{-1}), Adriamycin (3 mg kg^{-1}), Vinblastin (0.8 mg kg^{-1}) und Etoposid (VP-16, 30 mg kg^{-1}), behandelt werden. Bei diesen Tests zeigte Adriamycin selbst bei fast letaler Dosis keinen therapeutischen Effekt, Vinblastin, Etoposid und Paclitaxel zeigten nur einen geringen Effekt. Bei Behandlung mit dEpoB wurde dagegen eine deutliche Verkleinerung des Tumors beobachtet (Abbildung 1b).

Wegen dieser vielversprechenden präklinischen Erfolge mit dEpoB nahmen wir die Entwicklung einer effizienteren Synthese in Angriff. Zu den Nachteilen der Synthese der

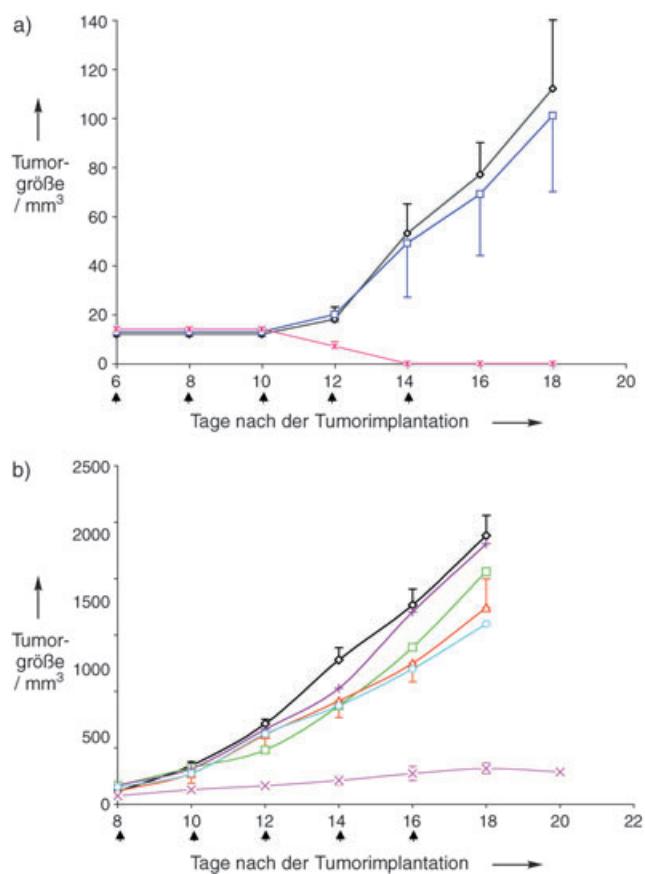
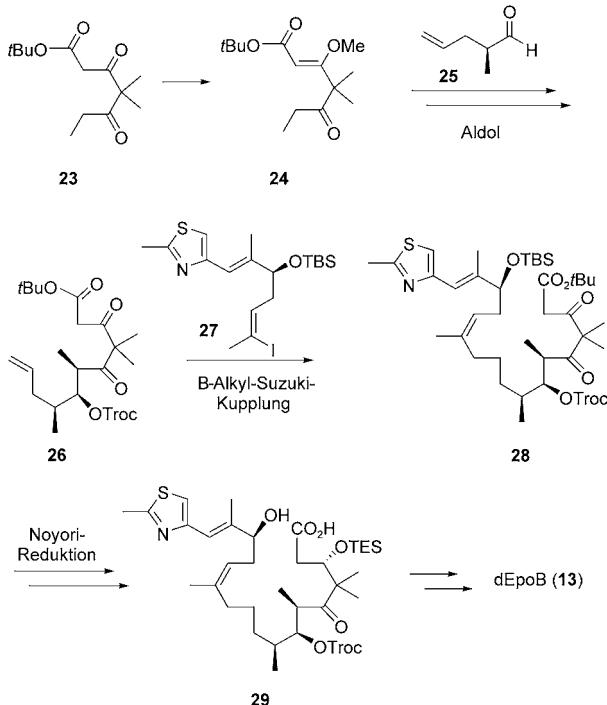


Abbildung 1. Aktivität von dEpoB gegen a) paclitaxelresistente Tumoren und b) einen adriamycinresistenten Brustdrüsentumor:
a) \diamond Kontrollgruppe; \square Paclitaxel, 20 mg kg^{-1} ; \times dEpoB, 30 mg kg^{-1} ;
b) \diamond Kontrollgruppe; \square Vinblastin, 0.8 mg kg^{-1} ; \triangle Paclitaxel, 24 mg kg^{-1} ; \times dEpoB, 30 mg kg^{-1} ; \pm Adriamycin, 3 mg kg^{-1} ; \circ Etoposid (VP-16), 30 mg kg^{-1} .

„ersten Generation“^[20] hatten die ungeschickte Einführung der *gem*-Dimethylgruppe an C4, die mehrstufige Kettenverlängerung des C9-Benzylethers und die umständliche Öffnung des Pyransystems zum Erhalt des C3-Aldehyds gehört. Diese Probleme sollten unter Beibehaltung der stereoselektiven B-Alkyl-Suzuki-Reaktion bewältigt werden.

Wir konnten die gesteckten Ziele schließlich in unserer dEpoB-Synthese der „zweiten Generation“ (Schema 5) erreichen.^[27] Diese Synthese begann mit dem leicht erhältlichen β -Ketoester **23**. Nach der Umwandlung von **23** in den Enolether **24** lieferten eine Aldoladdition mit dem Aldehyd **25** und weitere Manipulationen schließlich den β -Ketoester **26**. Das dem Aldehyd **25** entgegengesetzte Enantiomer wurde bereits von Overman und Mitarbeitern^[28] mithilfe der Oxazolidinon-Methode von Evans^[29] hergestellt, bei der ein geeignetes Auxiliar den diastereofacialen Sinn der C2-C3-Verknüpfung steuert. Die Suzuki-Kupplung von **26** und **27** lieferte **28**. Das Stereozentrum an C3 wurde mit der von Noyori et al. entwickelten, Ru-binap-katalysierten Reduktion^[30] eingeführt. Schließlich führten die Makrolactonisierung von **29** und die anschließende Entfernung der Schutzgruppen

Epothilon-Derivate



Schema 5. Eine rationellere Synthese von dEpoB. TES = Triethylsilyl, Troc = Trichlorethoxycarbonyl.

zu dEpoB (**13**). Insgesamt wurden etwa 60 g vollsynthetisches dEpoB über diesen Weg hergestellt.

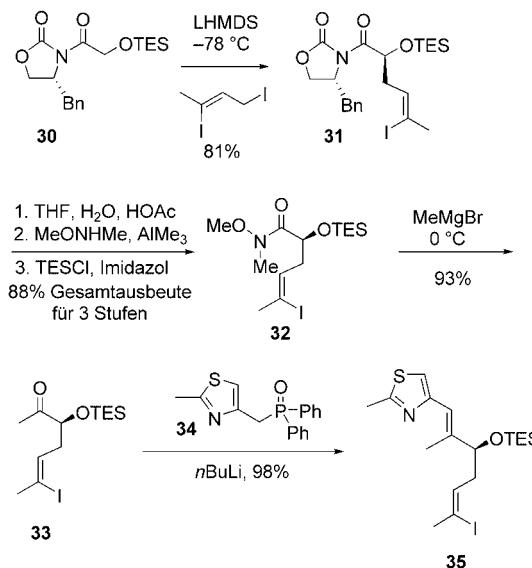
Wir waren nun in der Lage, dEpoB in Relation zu Taxol, Epothilon B und einem halbsynthetischen 15-Desoxy-15-aza-Analogon, das ebenfalls klinisch getestet wurde,^[31] zu evaluieren. Wir untersuchten auch die Stabilität von dEpoB hinsichtlich der Lactonringöffnung in verschiedenen In-vivo-Modellen sowie die In-vivo-Wirksamkeit von dEpoB gegen sensitive oder resistente Tumoren. In diesen Tests an Xenotransplantat-Tumoren zeigte dEpoB unseres Erachtens erhebliche Vorteile gegenüber möglichen Konkurrenzwirkstoffen im Hinblick auf seinen voraussichtlichen therapeutischen Index und seine Unempfindlichkeit gegen MDR. Diese Ergebnisse wurden ausführlich in der Literatur beschrieben.^[25c-e]

Schließlich übernahm Kosan Biosciences als Lizenznehmer des Sloan-Kettering-Zentrums die Weiterentwicklung dieser Verbindung, was ein weiterer bedeutender Schritt auf dem Weg hin zu klinischen Tests von Desoxyepothilon B war. Unseren kommerziellen Partnern gelang die Herstellung von Desoxyepothilon B mit Fermentationsmethoden.^[32] Ihr Erfolg dabei ging wesentlich auf ihre weit fortgeschrittenen Technik zurück, die die Expression von **13** über die Modifizierung bestimmter Polyketid-Metaboliten ermöglichte; diese Modifizierung erfolgte durch eine Steuerung der Polyketid-Biosynthese.^[32] So konnten unsere Partner eine ausreichende Menge für die klinischen Tests der Phase I herstellen. Die klinischen Tests an Menschen, die Ende 2001 begannen, haben inzwischen unter Beteiligung von Hoffmann-La Roche das Stadium der Phase II erreicht.^[33]

3.2. (E)-9,10-Dehydroepothilon-Derivate

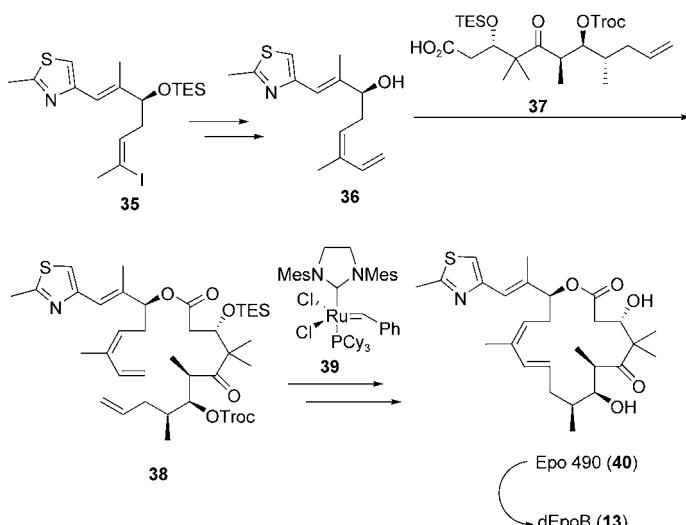
Die Beteiligung von Kosan hatte auch einen anderen wichtigen Fortschritt zur Folge: Im Verlauf ihrer Untersuchungen entdeckten und isolierten Wissenschaftler bei Kosan geringe Mengen eines Desoxy- und Dehydroderivats von Epothilon B, das sie als Epothilon 490 (Epo 490) bezeichneten.^[34] Die Forscher von Kosan erkannten, dass es sich bei Epo 490 um ein EpoB-Derivat ohne das 12,13-Epoxyd und mit einer zusätzlichen *E*-Doppelbindung zwischen C10 und C11 handelt. Wir sahen Epo 490 als eine Dehydroversion von dEpoB (**13**); allerdings war die Transformation von dEpoB in Epo 490 keineswegs einfach.

Wir wollten die für dEpoB entwickelte Totalsynthese so modifizieren, dass wir direkt Epo 490 erhalten würden. Als Reaktionspartner bei der Suzuki-Kupplung war das Vinyliodid **35** vorgesehen, das mit einer Synthesemethode hergestellt wurde, die zur damaligen Zeit zu den modernsten ihrer Art gehörte. Die zahlreichen Methoden, die wir im Verlauf unserer Untersuchungen erkundet hatten, wurden bereits beschrieben,^[35] daher wollen wir hier gleich die optimale Syntheseroute zu **35** vorstellen (Schema 6). Eine Idee von



Schema 6. Synthese des Fragments **35**.
LHMDS = Lithiumhexamethyldisilazid.

J. T. Njardarson, der bei uns als Postdoc arbeitete, veranlasste uns, noch einmal die Anwendung der RCM-Methode zu erwägen, die wir zunächst aus den oben diskutierten Gründen nicht berücksichtigt hatten. Die Kupplung von **35** mit einem geeigneten Vinylderivat sollte das Substrat **36** ergeben. Nach einer Veresterung mit **37** könnte eine Ringschlussmetathese durchaus zu dem gewünschten (*E*)-10,11-(*Z*)-12,13-Dien führen, aus dem man nach entsprechenden Transformationen der funktionellen Gruppen Epothilon 490 (**40**) erhalten sollte. Tatsächlich führte dieser Weg zum Ziel (Schema 7),^[36] wobei die Vinylgruppe über eine Stille-Kreuzkupplung von **35** mit Tri-*n*-butylvinylstannan eingeführt wurde. Da Epo 490 durch



Schema 7. Totalsynthese von Epothilon 490 mit Ringschlussmetathese.
Mes = 2,4,6-Trimethylphenyl.

eine selektive Imid-Reduktion leicht in **13** umgewandelt werden konnte, gelang hiermit eine zweite Totalsynthese von dEpoB.

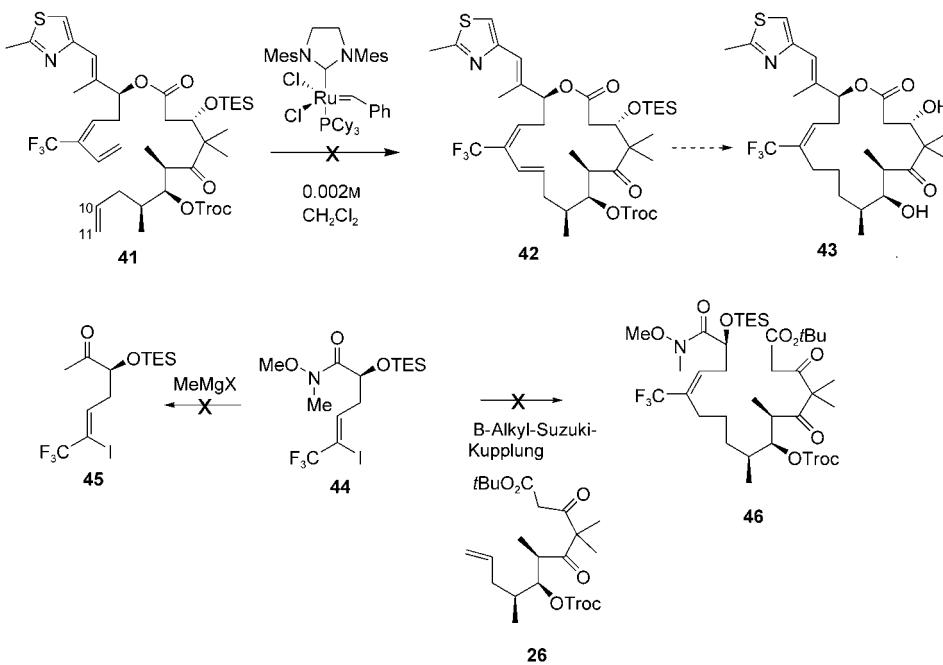
Leider ließen sich die sehr guten In-vitro-Ergebnisse von Epothilon 490 nicht auf In-vivo-Experimente übertragen, die mit unserem vollsynthetischen Wirkstoff an Xenotransplantat-Tumoren bei Mäusen durchgeführt wurden. Zwar wurde das Tumorwachstum eindeutig gehemmt, aber eine Rückbildung des Tumors, geschweige denn ein Verschwinden, war nicht zu beobachten.^[21] Aufgrund von Untersuchungen der Biostabilität nahmen wir an, dass die Nichtübertragbarkeit auf eine In-vivo-Umgebung spezifisch für den Maus-Tumorfaktor sein könnte: Untersuchungen zur Pharmakostabilität ließen darauf schließen, dass Epo 490 besonders gegen Este-

rase-Reaktionen in Mäuseseren instabil war, während die Verbindung in menschlichen Seren von Zellhomogenaten recht stabil blieb. Allerdings hängt die Entwicklung onkostatischer Wirkstoffe entscheidend vom Erfolg des Wirkstoffs bei Mäusen ab, weshalb wir dieses Projekt nicht weiterverfolgten.

Während das Epo-490-Projekt lief, synthetisierten und testeten wir auch ein 26-Trifluorepoxithonderivat. Die strategische Einführung von Fluoratomen kann beträchtliche Auswirkungen auf die Wirkstoff-Aktivität haben und kann z. B. zu veränderter Lipophilizität, zunehmender Stabilität gegen eine Metabolisierung sowie modifizierten Bindungsaffinitäten führen.^[37] Wir begannen daher, dEpoB-Derivate mit einer Trifluormethylgruppe an C12 zu synthetisieren.

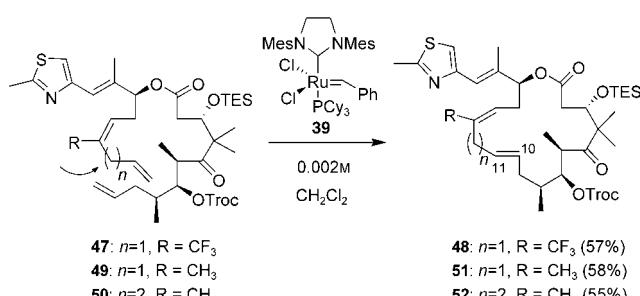
Naiv nahmen wir an, dass die bei der Synthese von dEpoB mühsam gewonnenen Erfahrungen einfach auf diese neue Aufgabenstellung übertragen werden könnten. Wir legten daher zu Beginn 26-Trifluorverbindungen sowohl in der Epo-490- (siehe **42**) als auch in der dEpoB-Familie (siehe **43**) als Syntheseziele fest.^[38] Überraschenderweise versagten die Methoden, die bei den Synthesen der nichtfluorierten Verbindungen gut funktioniert hatten, in Gegenwart der Trifluormethylgruppe. So waren nach Einführung der Trifluormethylgruppe weder die Ringschlussmetathese (**41**→**42**) noch die nucleophile Methylierung des Weinreb-Amids (**44**→**45**) oder die B-Alkyl-Suzuki-Kupplung (**44**+**26**→**46**) erfolgreich (Schema 8).^[39]

Offenbar hatten wir die Auswirkungen einer Trifluormethylgruppe auf unsere Synthesen beträchtlich unterschätzt. Da eine Stille-Kreuzkupplung die Herstellung der Vorstufe **41** ermöglicht hatte, untersuchten wir die Möglichkeit, am zukünftigen C12-Vinyl-Kohlenstoffatom eine Allylgruppe einzuführen und so einen Weg zu einem 26-Trifluorepoxithonderivat zu finden. Wir hofften, dass bereits der Einbau eines Methylen-Spacers den Einfluss der Trifluormethylgrup-



Schema 8. Fehlgeschlagene Ansätze für die Synthese von 26-Trifluor-dEpoB.

pe so weit abschwächen würde, dass eine RCM-Reaktion durchgeführt werden konnte. Tatsächlich ergab nach Einführung des Ein-Kohlenstoff-Spacers die RCM-Reaktion mit **47** in einer guten Ausbeute das Produkt **48** (Schema 9). Nun



Schema 9. Erfolgreiche Ringschlussmetathese.

lagen natürlich die Epothilonfunktionen nicht an einem 16-gliedrigen, sondern an einem 17-gliedrigen Ring vor. Erwartungsgemäß konnte mit der gleichen Reaktionsfolge das Analogon **51** synthetisiert werden, das ein Dehydrohomodesoxyepothilon-B-Gerüst und eine Methylgruppe an C12 enthält.^[40] Um unsere SAR-Basis zu verbreitern, führten wir auch eine Butenylfunktion am C12-Vinyl-Kohlenstoffatom ein. Eine RCM dieser Verbindung führte zum Epothilon-Macrolid **52**. Erstaunlicherweise lagen alle Doppelbindungen, die in den RCM-Reaktionen gebildet wurden, ausschließlich in der *E*-Konfiguration vor.

In einer entscheidenden Reihe von Experimenten untersuchten wir die In-vitro-Aktivität dieser Epothilone mit erweiterten Ringen. Verbindung **52** mit dem 18-gliedrigen Ring erwies sich als völlig inaktiv, wogegen **51** mit dem 17-gliedrigen Ring eine beträchtliche In-vitro-Aktivität zeigte. Dieses Ergebnis verwirrte uns zunächst, denn Nicolaou und Mitarbeiter hatten berichtet, dass ein Monodihydro-Analogon von **51** mit einer gesättigten C10-C11-Bindung keine nutzbare Epothilon-Aktivität erkennen ließ.^[41] Diese Beobachtung führte uns zu dem Schluss, dass möglicherweise die in unserer Verbindung vorhandene zweite Doppelbindung auch bei den Epothilonen mit dem üblichen 16-gliedrigen Ring zu einer erhöhten biologischen Aktivität führen könnte.

Die Einschränkungen, die sich für unsere Synthesen aus der Trifluormethylgruppe ergaben, ließen uns nur eine Möglichkeit übrig, wenn wir die von uns gewählte Route nicht völlig verlassen wollten: Wir würden die Tatsache nutzen, dass die Trifluormethylgruppe die Stille-Allylierung nicht behindert. Außerdem ließ sich bei Einführung eines Methylen-Spacers die Olefinmetathese zum Ringschluss verwenden. Um wieder einen 16-gliedrigen Ring zu erhalten, mussten wir nun ein Kohlenstoffatom aus der Komponente entfernen, die die Carbonsäurefunktion für die Veresterung enthält. Eine zentrale Reaktion bei der Synthese dieser Komponente würde nun eine chelatkontrollierte Aldolreaktion von **53** und **54** sein (Schema 10). Der Aldehyd **54** wurde problemlos aus der leicht erhältlichen 2-Hydroxybuttersäure hergestellt, einer zentralen Verbindung des chiralen Pools. Ein günstiger Nebeneffekt der Synthese des Dehydro-dEpoB-Systems war also, dass wir nicht mehr auf ein chirales

Auxiliar zurückgreifen mussten, um den zuvor verwendeten Aldehyd **25** herzustellen.^[28] Die Ringschlussmetathese von **60** in Gegenwart des kürzlich entwickelten Katalysators **39** lieferte ausschließlich das *E*-Isomer **61** zusammen mit der siebgliedrigen cyclischen Verbindung **62** im Verhältnis 1:3 und in 82 % Gesamtausbeute.

Endlich hatten wir die 12,13-Desoxyverbindung mit dem 16-gliedrigen Ring und der erwünschten Trifluormethylgruppe synthetisiert – allerdings war das Hauptprodukt der RCM-Reaktion die unerwünschte Verbindung **62**, die sich durch Verdrängung der Thiazolseitenkette bildete. Wir überlegten, dass dieses Problem durch eine Veränderung der Reihenfolge der Synthesestufen gelöst werden könnte, nämlich indem die RCM-Reaktion durchgeführt wurde, wenn noch die Ketonvorstufe der Thiazolseitenkette vorhanden war. Wir testeten dies an dem 12-Methylsubstrat **63** und erhielten erfreulicherweise das gewünschte RCM-Addukt in 78 % Ausbeute. Die Olefinierung des Ketons und die Einführung der Thiazoleinheit gelangen in hoher Ausbeute und ergaben nach Entschüttung die gewünschte Verbindung **8**.^[42]

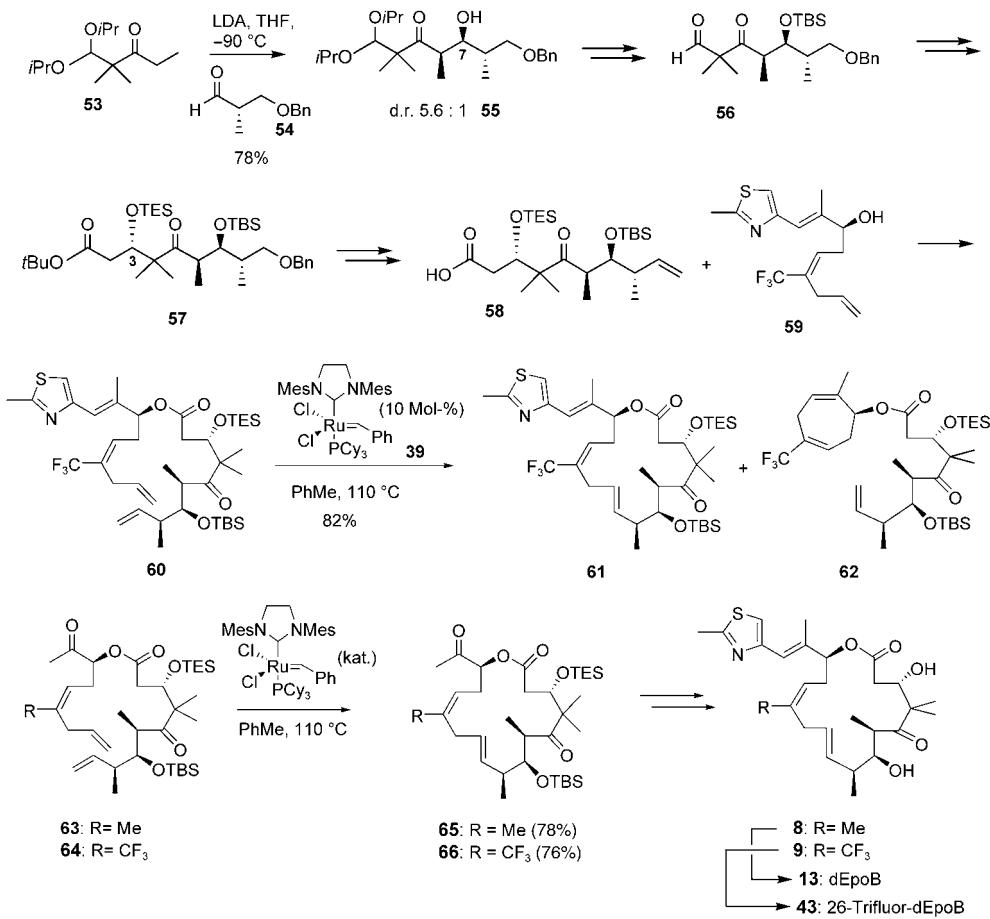
Wir gingen zunächst davon aus, dass **8** bereits zuvor synthetisiert worden war. Für die entsprechende Verbindung war nur eine geringe Cytotoxizität berichtet worden.^[43] Wir waren überrascht, als wir feststellten, dass die spektroskopischen Eigenschaften unserer Verbindung **8** nicht mit denen der zuvor hergestellten Verbindung übereinstimmten. Bei der genauen Überprüfung der Struktur der früher synthetisierten Verbindung zeigte sich, dass es sich hier um ein Isomer handelte, in dem die C12-C13-Doppelbindung in der *E*-Konfiguration vorlag.^[44] Die wirkliche Verbindung **8** war also vorher noch nie hergestellt und auf ihre Wirksamkeit als Tumorthapeutikum getestet worden.

Nachdem wir mit dem Methylsubstrat **63** die modifizierte Route über eine RCM und nachfolgende Olefinierung als geeignete Strategie etabliert hatten, wandten wir uns wieder unserem eigentlichen Ziel zu: der Synthese von 26-Trifluor-9,10-dehydro-dEpoB (**9**). Glücklicherweise konnten wir aus dem Keton **64** über die gleiche Reaktionsroute in hoher Ausbeute das Produkt **9** erhalten, das wir Fludelon nannten (Schema 10).^[17b, 42]

Wie bereits im Titel dieses Kurzaufsatzen angekündigt, wollten wir hier unseren Weg zu neuen Wirkstoffen beschreiben. Wir hatten eine spezielle und hochselektive Abfolge von Reaktionen für die Totalsynthese der Epothilone entwickelt. Im Verlauf dieser Arbeiten mussten wir, um die 12-CF₃-Gruppe einführen zu können, den Zugang zur 9,10-Dehydro-Reihe erhalten, mit der wir eine neue Familie von Epothilon-Wirkstoffen mit äußerst vielversprechender biologischer Aktivität fanden. Im nächsten Abschnitt fassen wir die außergewöhnlichen und vielversprechenden Ergebnisse der Untersuchungen dieser 9,10-Dehydroverbindungen zusammen.

4. Biologische Aktivität von Fludelon

Nachdem wir als Test unserer Synthesestrategie das 12-Proteo-Analogon **8** hergestellt hatten, untersuchten wir seine biologische Aktivität, auch um einen Vergleich für Fludelon (**9**) zu erhalten. Tatsächlich scheint **8** ein vielversprechender



Schema 10. Synthese von 9,10-Dehydroepothilonen mit Ringschlussmetathese.

Wirkstoff-Kandidat der „zweiten Generation“ zu sein: Es ist deutlich wirksamer und in einer Vielzahl biologischer Systeme viel stabiler als dEpoB (**13**).^[17] Bei In-vivo-Tests führte die Behandlung verschiedener Xenotransplantat-Tumoren mit **8** zu einer erheblichen Abnahme der Tumogröße (Abbildung 2). Zwar unterdrückte **8** das Tumorgrowth vollständig, eine völlige Rückbildung konnte aber nicht erreicht werden. Das Problem war, dass die größere Toxizität von **8** (die maximal tolerierte Dosis in der Xenotransplantat-Tumor-Behandlung beträgt etwa 4 mg kg^{-1}) eine ausreichend hohe Dosierung zur Beseitigung der letzten Tumorspuren erschwerte. Der nutzbare therapeutische Index von **8**, speziell im klinischen Einsatz, muss noch weitergehend untersucht werden.

Im Unterschied dazu weist das 26-Trifluorderivat Fludelon (**9**) bei In-vivo-Tests an Xenotransplantat-Tumoren einen bemerkenswert breiten therapeutischen Index auf. Bei vielen Tumoren werden beeindruckende Resultate erzielt; tatsächlich hat sich Fludelon als das herausragende Mitglied der Epothilon-Reihe erwiesen. Die folgenden Daten sind die wichtigsten Ergebnisse unserer präklinischen Studien.

Alle chemotherapeutischen In-vivo-Experimente wurden mit xenotransplantierten humanen Tumoren in immunschwächten Nacktmäusen durchgeführt. Trotz aller Unzulänglichkeiten ist dies die meistverwendete Testmethode bei

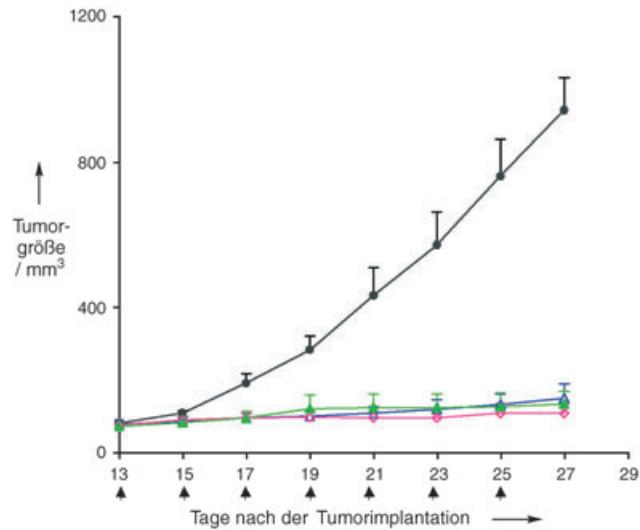


Abbildung 2. Therapeutische Wirksamkeit von **8** am Xenotransplantat-Tumor HCT-116 in Nacktmäusen (intravenöse Infusion über 6 h (mit Ausnahme der 5 mg kg^{-1} -Dosierung: intravenöse Injektion), Q2Dx7 = verabreicht jeden zweiten Tag, insgesamt sieben Dosen, $n=3$; die Pfeile markieren die Verabreichungen des Wirkstoffs): ● Kontrollgruppe; △ 3 mg kg^{-1} ; ◇ 4 mg kg^{-1} , ($n=4$); ▲ 5 mg kg^{-1} .

der Evaluierung von Antitumor-Leitsubstanzen vor den klinischen Tests. Bemerkenswerterweise führte die Behandlung von xenotransplantierten MX-1-Tumoren mit einer Fludelon-Dosierung von 25 mg kg^{-1} zu einem völligen Verschwinden des Tumors sowie einem vollständigen Ausbleiben von Rückfällen über einen Zeitraum von mehr als zwei Monaten nach Absetzen der Behandlung (siehe Abbildung 3). Eines der wichtigsten Ergebnisse ist, dass diese therapeutischen Erfolge mit einer sechsständigen intravenösen Infusion (Abbildung 3), aber auch bei oraler Verabreichung (Abbildung 4) erzielt werden können. Dagegen hatte

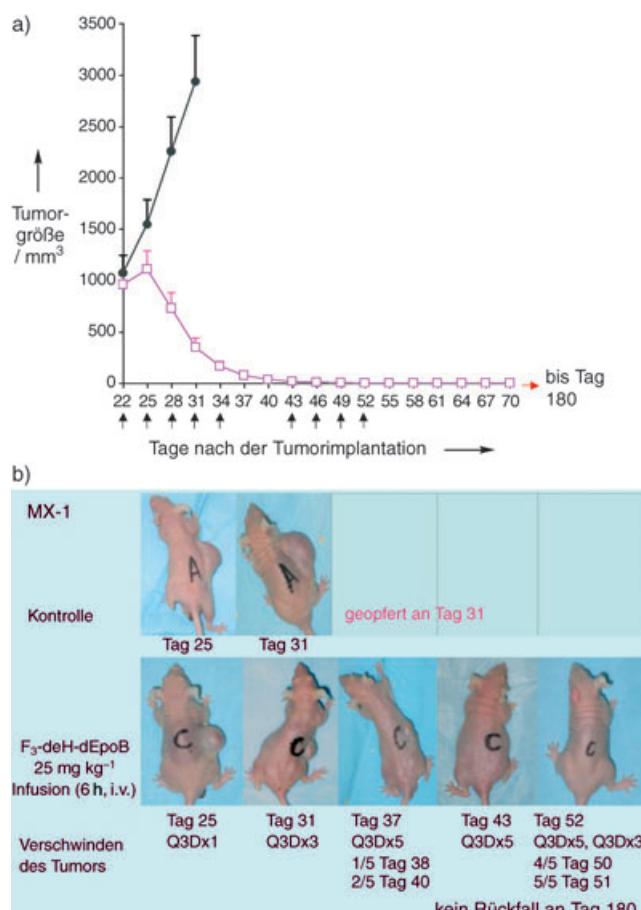


Abbildung 3. Behandlung eines sehr großen MX-1-Xenotransplantat-Tumors: a) MX-1-Tumorgewebe (50 mg) wurde subkutan (s.c.) am Tag 0 implantiert. Die Änderungen der Tumogröße wurden in der mit dem Transporter behandelten Kontrollgruppe (●) und in der mit Fludelon behandelten Gruppe (25 mg kg^{-1} , □; $n=5$ in jeder Gruppe) registriert. Die Behandlung mit Fludelon wurde am Tag 22 (D22) begonnen, nachdem der Tumor eine Größe von $960 \pm 132 \text{ mg}$ (etwa 3.4% des Körpermengenwerts) erreicht hatte. Fludelon (25 mg kg^{-1} , Infusion, 6 h, i.v., Q3Dx5) wurde an den Tagen D22, D25, D28, D31 und D34 verabreicht (siehe Pfeilmarkierungen). Nach einer neuntägigen Ruhephase wurden weitere Gaben an den Tagen D43, D46, D49 und D52 verabreicht. In der mit Fludelon behandelten Gruppe verschwanden 5/5 der Tumore (an den Tagen D38, D40, D50, D50, D51). Die Beobachtung wurde bis Tag D180 (Q3D) fortgesetzt, und noch 128 Tage nach dem Ende der Behandlung an Tag D52 wurde kein Rückfall beobachtet. b) Photographien der Nacktmäuse (jeweils eine Maus aus der Kontrollgruppe und der behandelten Gruppe) aufgenommen an den Tagen D25, D31, D37, D43 und D52.

eine Behandlung von xenotransplantierten MX-1-Tumoren mit oral verabreichtem Taxol keinen merklichen Einfluss auf den Tumor, was einen weiteren signifikanten Vorteil von Fludelon unterstreicht (siehe Abbildung 4). Die Behandlung

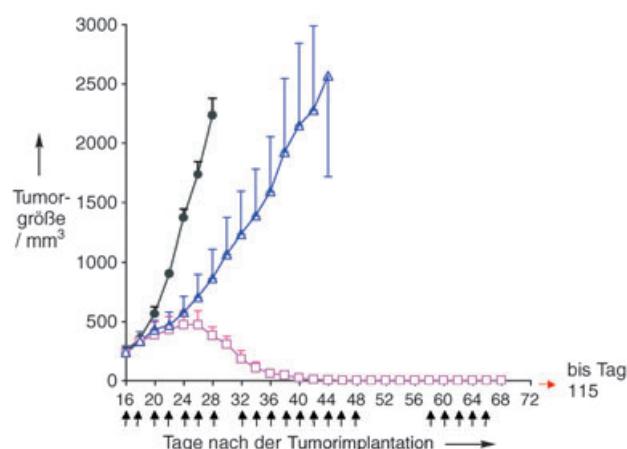


Abbildung 4. Therapeutische Wirksamkeit von oral verabreichtem Fludelon oder Paclitaxel (Taxol) bei humanen xenotransplantierten MX-1-Brusttumoren. Verwendet wurden weibliche Nacktmäuse. Fludelon (30 mg kg^{-1} , □, $n=3$) wurde oral verabreicht, zuerst Q2Dx7 beginnend an Tag D16 nach der Tumorentfernung und dann Q2Dx9 von D32 bis D48 (siehe Pfeilmarkierungen). Bei allen drei Mäusen verschwanden die Tumoren (an den Tagen D40, D45 und D48). Nachdem alle Mäuse am Tag D48 tumorfrei waren, wurde zur Konsolidierung ein dritter Behandlungszyklus durchgeführt (Q2Dx5 von D58 bis D66). Bis Tag D115 (49 Tage nach Ende der Behandlung) wurde kein Rückfall beobachtet. Die Kontrollgruppe (●, $n=2$) erhielt nur den Transporter. Parallel dazu wurde ein Vergleichsexperiment mit oraler Verabreichung von Taxol (30 mg kg^{-1} , △, $n=3$) durchgeführt, beginnend am Tag D16, Q2Dx3; die Dosis wurde erhöht auf 40 mg kg^{-1} , Q2Dx3 (D22–D26) und dann auf 60 mg kg^{-1} , Q2Dx3 (D28–D40).

von taxolresistenten Xenotransplantat-Tumoren mit einer sechsständigen intravenösen Fludelon-Infusion kann zu einem völligen Rückgang des Tumors führen (Abbildung 5), und die Behandlung von humanen Darmtumoren (HCT-116, Abbildung 6) mit einer Fludelon-Infusion (6 h, i.v.) kann eine vollständige „Heilung“ ergeben. Die Experimente mit xenotransplantierten humanen Brusttumoren (MX-1) und humanen Darmtumoren (HCT-116) in Nacktmäusen dauerten 6.0 bzw. 6.6 Monate. In keinem der beiden Experimente kam es zu einem Wiederauftreten des Tumors in einem Zeitraum von 4.3 bzw. 5.3 Monaten nach Absetzen der Behandlung. Im Fall des HCT-116-Experiments wurden sowohl Taxol als auch Fludelon mit einer Dosierung von 20 mg kg^{-1} verabreicht, und beide Wirkstoffe hatten ein Verschwinden des Tumors zur Folge. Allerdings traten bei der mit Taxol behandelten Gruppe 1.1 Monate nach Ende der Behandlung Rückfälle auf, während die mit Fludelon behandelten Versuchstiere mehr als 5.3 Monate lang tumorfrei blieben.

Diese Ergebnisse einer besonders umfangreichen Studie mit Xenotransplantat-Tumoren entsprechen den längsten Zeiträumen völliger Remission, die bisher für einen einzelnen Antitumorwirkstoff bei parenteraler oder oraler Verabreichung gefunden wurden. Verbindungen, die Tumorzachstum unterdrücken, werden relativ häufig gefunden – seltener

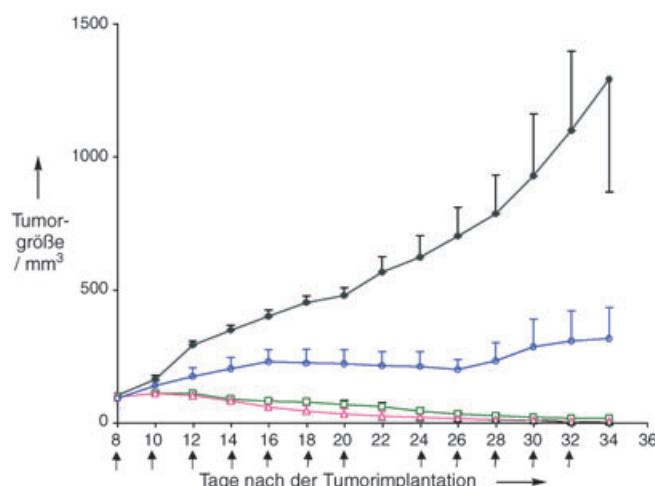


Abbildung 5. Therapeutische Wirksamkeit von Fludelton und Taxol gegen taxolresistente xenotransplantierte humane Tumoren der lymphoblastischen T-Zellenleukämie vom Typ CCRF-CEM/Taxol. CCRF-CEM/Taxol-Tumorgewebe (44-fache Resistenz in vitro) wurde am Tag 0 s.c. in Nacktmäuse implantiert (50 mg/Maus). Die Behandlung (Infusion, 6 h, i.v.) begann am Tag D8 mit Fludelton (15 mg kg^{-1} , □, $n=3$ und 30 mg kg^{-1} , △, $n=4$) oder Taxol (20 mg kg^{-1} , ○, $n=4$), Q2Dx7 (D8–D20); an Tag D22 wurde keine Dosis verabreicht, danach wurde die Behandlung wieder aufgenommen (Q2Dx5 an den Tagen D24, D26, D28, D30 und D32, siehe Pfeilmarkierungen). Die Kontrollgruppe (●, $n=4$) erhielt nur den Transporter. Bei der Fludelondosis von 15 mg kg^{-1} verschwand der Tumor bei einer von drei Mäusen am Tag D37, bei der Dosis von 30 mg kg^{-1} verschwand der Tumor bei drei von vier Mäusen an den Tagen D22, D22 und D32.

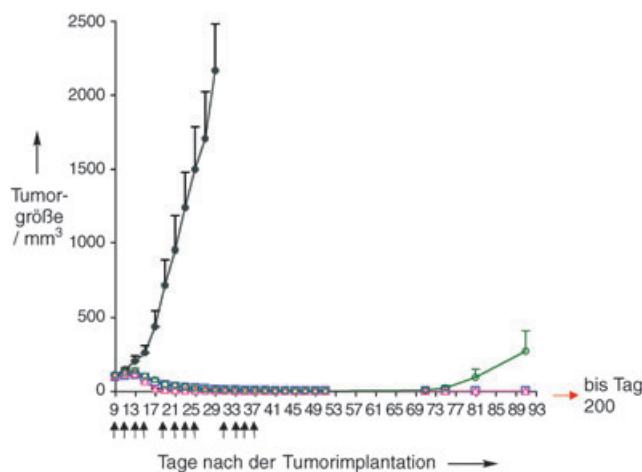


Abbildung 6. Therapeutische Wirksamkeit von Fludelton und Taxol gegen humane xenotransplantierte HCT-116-Darmtumore. HCT-116-Tumorgewebe wurde am Tag 0 s.c. in Nacktmäuse implantiert (50 mg/Maus). Die Behandlung (Q2Dx4, Infusion, 6 h, i.v.) wurde mit Fludelton (20 mg kg^{-1} , □ und 30 mg kg^{-1} , △) und Taxol (20 mg kg^{-1} , ○) in drei Zyklen (D9, D11, D13, D15; D19, D21, D23, D25; D31, D34, D35, D37) durchgeführt; Kontrollgruppe: ●; $n=4$ in jeder Gruppe. Bei allen Mäusen verschwand der Tumor vollständig (an den Tagen D33, D35, D41, D45 bei Fludelton (20 mg kg^{-1}), an den Tagen D21, D23, D33, D41 bei Fludelton (30 mg kg^{-1}) und an den Tagen D33, D33, D41, D45 bei Taxol (20 mg kg^{-1})). In den beiden mit Fludelton behandelten Gruppen trat bis Tag D200 kein Rückfall auf. In der mit Taxol behandelten Gruppe (○) wurden allerdings an den Tagen D71, D75, D81 und D81 (also am 34., 38., 41. und 41. Tag nach Ende der Behandlung) Rückfälle beobachtet.

findet man dagegen einen Wirkstoff, der einen Tumor schrumpfen lässt, und besonders selten sind Verbindungen, die einen Tumor so weit schrumpfen lassen, bis er nicht mehr nachweisbar ist. Das aufregende Ergebnis bei Fludelon ist, dass selbst innerhalb von 4.3 Monaten und länger (das entspricht mehr als 20 % der typischen Lebensdauer von Mäusen) kein Tumor mehr auftrat. Ein solches Resultat ist in der Literatur nur selten zu finden.^[45] Der Erfolg einer vollständigen Tumorrückbildung ohne Rückfälle über einen langen Zeitraum bei oraler Verabreichung könnte in der Zukunft eine ambulante Behandlung von Patienten zuhause ermöglichen. Außerdem könnte so die Verwendung von Cremophor-Transportern, die selbst schwerwiegende allergische Reaktionen auslösen können, für den Wirkstoff-Transport vermieden werden.

Das eigentliche Ziel der chemotherapeutischen Forschung ist die Entwicklung einer wirksamen klinischen Behandlung von Krebspatienten, und die hier diskutierten Resultate sind in diesem Zusammenhang zwar sehr ermutigend, jedoch bleibt abzuwarten, ob sie sich auch auf menschliche Patienten übertragen lassen werden. Der tatsächliche Wert dieser neuartigen, fortgeschrittenen Epothilone als wirksame Krebstherapeutika kann nur in klinischen Tests ermittelt werden. Auf jeden Fall können wir schon jetzt vorhersagen, dass die aufregenden präklinischen Ergebnisse, die mit den 9,10-Dehydro-dEpoB-Epothilonen erhalten wurden, noch viele Untersuchungen in den Bereichen der Synthese, der Verbindungsoptimierung sowie der Identifizierung von Zielmolekülen anregen werden.

5. Schlussbemerkungen

Die Fortschritte bei Isolierung, Reinigung und Charakterisierung könnten die Zahl der Naturstoffe, die in Zukunft zum Screening zur Verfügung steht, und damit auch die Zahl der Leitstrukturen für die Wirkstoff-Entwicklung erheblich ansteigen lassen. Das fortwährende Interesse an den Epothilonen ist ein Beleg für den Wert zielgerichteter Totalsynthesen bei der Suche nach neuen Substanzen von klinischem Nutzen.

In der aktuellen Forschung wird dem Screening einer möglichst großen Zahl von Verbindungen der Vorzug gegenüber der Untersuchung einer kleineren Zahl von Verbindungen gegeben, deren Strukturen von natürlichen Leitsubstanzen abgeleitet wurden. Wir geben gerne zu, dass erfolgreiche Wirkstoff-Kandidaten in der Tat aus völlig zufälligen Ansammlungen unterschiedlicher Strukturen hervorgehen können, bestehen aber auch darauf, dass die den Naturstoffen innenwohnende Weisheit, die nun auch durch die chemische Synthese bereichert wird, eine wertvolle Ressource ist, die bisher kaum gewürdigt wurde.^[46] Wir glauben, dass man bei der Wirkstoff-Entwicklung im Wesentlichen zwei Wege einschlagen kann: Die eine Möglichkeit ist, ein Problem mithilfe einer übergroßen Zahl von Verbindungen lösen zu wollen – dieser Ansatz hat sicherlich seine Vorteile. Vom persönlichen Geschmack her ziehen wir es aber vor, weniger Verbindungen herzustellen, indem wir uns die reichlichen Hinweise, die die Natur uns liefert, mithilfe menschlicher Kreativität und

Improvisation zunutze machen. Diese Lektion an sich könnte sich als ein weiterer wertvoller Gewinn unseres Weges zu Fludelon erweisen.

Eingegangen am 20. August 2004
Übersetzt von Dr. Christian Bahr, Schildow

- [1] S. F. Brady, C. J. Chao, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9968.
- [2] a) V. Knight, J. J. Sanglier, D. DiTullio, S. Braccili, P. Bonner, J. Waters, D. Hughes, L. Zhang, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *62*, 446; b) D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 215.
- [3] a) D. C. Myles, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2003**, *14*, 627; b) Y.-Z. Shu, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1053; c) L. A. Wessjohann, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 303; d) D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022.
- [4] A. G. Ravelo, A. Estevez-Braun, H. Chavez-Orellana, E. Perez-Sacau, D. Mesa-Siverio, *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *2*, 241, zit. Lit.
- [5] M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggan, A. T. McPhail, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325.
- [6] a) P. B. Schiff, S. B. Horwitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 1561; b) P. B. Schiff, S. B. Horwitz, *Nature* **1979**, *277*, 665; c) J. Parness, S. B. Horwitz, *J. Cell Biol.* **1981**, *91*, 479; d) K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, R. K. Guy, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 38; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 15; e) E. K. Rowinsky, *Annu. Rev. Med.* **1997**, *48*, 353.
- [7] D. Guenard, F. Gueritte-Vogelein, P. Potier, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 160.
- [8] S. J. Danishefsky, J. J. Masters, W. B. Young, J. T. Link, L. B. Snyder, T. V. Magee, D. K. Jung, R. C. A. Isaacs, W. G. Bornmann, C. A. Alaimo, C. A. Coburn, M. J. DiGrandi, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2843.
- [9] a) K. C. Nicolaou, Z. Yang, J. J. Liu, H. Ueno, P. G. Nantermet, R. K. Guy, C. F. Claiborne, J. Renaud, E. A. Couladouros, K. Paulvannan, E. J. Sorenson, *Nature* **1994**, *367*, 630; b) K. C. Nicolaou, P. G. Nantermet, H. Ueno, R. K. Guy, E. A. Couladouros, E. J. Sorenson, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 624; c) K. C. Nicolaou, J. J. Liu, Z. Yang, H. Ueno, E. J. Sorenson, C. F. Claiborne, R. K. Guy, C. K. Hwang, M. Nakada, P. G. Nantermet, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 634; d) K. C. Nicolaou, Z. Yang, J. J. Liu, P. G. Nantermet, C. F. Claiborne, J. Renaud, R. K. Guy, K. Shibayama, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 645; e) K. C. Nicolaou, H. Ueno, J. J. Liu, P. G. Nantermet, Z. Yang, J. Renaud, K. Paulvannan, R. Chadha, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 653.
- [10] a) R. A. Holton, C. Somoza, H. B. Kim, F. Liang, R. J. Biediger, P. D. Boatman, M. Shindo, C. C. Smith, S. C. Kim, H. Nadizadeh, Y. Suzuki, C. L. Tao, P. Vu, S. H. Tang, P. S. Zhang, K. K. Murthi, L. N. Gentile, J. H. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1597; b) R. A. Holton, H. B. Kim, C. Somoza, F. Liang, R. J. Biediger, P. D. Boatman, M. Shindo, C. C. Smith, S. C. Kim, H. Nadizadeh, Y. Suzuki, C. L. Tao, P. Vu, S. H. Tang, P. S. Zhang, K. K. Murthi, L. N. Gentile, J. H. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1599.
- [11] a) E. K. Rowinsky, E. A. Eisenhauer, V. Chaudhry, S. G. Arbusck, R. C. Donehower, *Semin. Oncol.* **1993**, *20*, 1; b) B. S. Fletcher, D. A. Kujubadu, D. M. Perrin, H. R. Herschman, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 4338; c) M. Tsuji, R. N. Dubois, *Cell*, **1995**, *3*, 493; d) D. M. Essayan, A. Kagey-Sobotka, P. J. Colarusso, L. M. Lichtenstein, R. F. Ozols, E. D. King, *J. Allergy Clin. Immunol.* **1996**, *97*, 42; e) P. Giannakakou, D. L. Sackett, Y.-K. Kang, Z. Zhan, J. T. Buters, T. Fojo, M. S. Poruchynsky, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 17118, zit. Lit.
- [12] G. Höfle, N. Bedorf, K. Gerth, H. Reichenbach (GBF), DE-B 4138042, **1993**; *Chem. Abstr.* **1993**, *120*, 52841.
- [13] D. M. Bollag, P. A. McQueney, J. Zhu, O. Hensens, L. Koupal, J. Liesch, M. Goetz, E. Lazarides, C. M. Woods, *Cancer Res.* **1995**, *55*, 2325. Wir danken Professor Gunda Georg von der University of Kansas, die uns auf diese Publikation aufmerksam machte, sowie Dr. D. M. Bollag von Merck Sharp and Dohme, der uns 1 mg Epothilon A zur Verfügung stellte, mit dem wir (letztlich erfolglose) Untersuchungen zur Bestimmung seiner Stereostruktur beginnen konnten.
- [14] a) Lit. [12]; b) R. J. Kowalski, E. Terhaar, R. E. Longley, S. P. Gunasekera, C. M. Lin, B. V. Day, E. Hamel, *Mol. Biol. Cell* **1995**, *6*, 2137; c) E. K. Rowinsky, E. A. Eisenhauer, V. Chaudhry, S. G. Arbusck, R. C. Donehower, *Semin. Oncol.* **1993**, *20*, 1; d) B. S. Fletcher, D. A. Kujubadu, D. M. Perrin, H. R. Herschman, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 4338; e) M. Tsuji, R. N. Dubois, *Cell* **1995**, *3*, 493; f) D. M. Essayan, A. Kagey-Sobotka, P. J. Colarusso, L. M. Lichtenstein, R. F. Ozols, E. D. King, *J. Allergy Clin. Immunol.* **1996**, *97*, 42; g) P. Giannakakou, D. L. Sackett, Y.-K. Kang, Z. Zhan, J. T. Buters, T. Fojo, M. S. Poruchynsky, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 17118, zit. Lit.
- [15] G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth, H. Reichenbach, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1671; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1567.
- [16] a) A. Balog, D. F. Meng, T. Kamenecka, P. Bertinato, D.-S. Su, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2976; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2801; b) D.-S. Su, D. F. Meng, P. Bertinato, A. Balog, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, Y. H. Zheng, T.-C. Chou, L. F. He, S. B. Horwitz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 775; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 757; c) D. F. Meng, P. Bertinato, A. Balog, D.-S. Su, T. Kamenecka, E. J. Sorensen, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10073.
- [17] a) A. Rivkin, F. Yoshimura, A. E. Gabarda, T.-C. Chou, H. Dong, W. P. Tong, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2899; b) T.-C. Chou, H. Dong, A. Rivkin, F. Yoshimura, A. E. Gabarda, Y. S. Cho, W. P. Tong, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4761; c) F. Yoshimura, A. Rivkin, A. E. Gabarda, T.-C. Chou, H. Dong, G. Sukanick, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2622; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2518.
- [18] In einem frühen RCM-Ansatz, den wir verfolgten, war das 12,13-Epoxid bereits vorhanden. Wir zogen eine RCM auch für die Herstellung des 12,13-Alkens in Betracht, aber nur im Rahmen einer eingehenden Prüfung unterschiedlicher Möglichkeiten. Übersichtsartikel über RCM: a) R. H. Grubbs, S. J. Miller, G. C. Fu, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 446; b) T. M. Trinka, R. H. Grubbs, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18; c) A. Fürstner, *Alkene Metathesis in Organic Chemistry*, Springer, Berlin, **1998**; d) A. Fürstner, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3140; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3012; e) R. R. Schrock, *Top. Organomet. Chem.* **1998**, *1*, 1.
- [19] Lit. [16c] und A. Rivkin, Y. S. Cho, A. E. Gabarda, Y. Fumihiiko, S. J. Danishefsky, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 139.
- [20] C. R. Harris, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8434, zit. Lit.
- [21] a) S. J. Danishefsky, *Aldrichimica Acta* **1986**, *19*, 59; b) S. J. Danishefsky, *Chemtracts* **1989**, *2*, 273.
- [22] Als wir diese ungewöhnliche Aldolisierung konzipierten, waren wir uns natürlich bewusst, dass der C3-Aldehyd in der C2-C3-Seco-Struktur nicht enolisiert werden konnte.
- [23] S. J. Stachel, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6785.
- [24] Lit. [16a]. Kurz nach unserer Synthese wurde über zwei weitere Synthesen berichtet, die jeweils eine Olefinmetathese nutzten: a) Z. Yang, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, K. C. Nicolaou, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 170; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 166; b) D. Schinzer, A. Limberg, A. Bauer, O. Böhm, M.

- Cordes, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 543; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 523.
- [25] Für das erste SAR-Schema siehe: a) D.-S. Su, A. Balog, D. Meng, P. Bertinato, S. J. Danishefsky, Y.-H. Zheng, T.-C. Chou, L. He, S. B. Horwitz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2178; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2093; siehe auch: b) K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, T. Li, J. Pastor, N. Winssinger, Y. He, S. Ninkovic, F. Sarabia, H. Vallberg, F. Roschanger, N. P. King, M. Ray, V. Finlay, P. Giannakakou, P. Verdier-Pinard, E. Hamel, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2181; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2097; für die ersten In-vivo-Untersuchungen von dEpoB siehe: c) T.-C. Chou, X. G. Zhang, C. R. Harris, S. D. Kuduk, A. Balog, K. A. Savin, J. R. Bertino, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 15798; d) T.-C. Chou, X. G. Zhang, A. Balog, D. Su, D. F. Meng, K. Savin, J. R. Bertino, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 9642; e) T.-C. Chou, O. A. O'Connor, W. P. Tong, Y. Guan, Z.-G. Zhang, S. J. Stachel, C. Lee, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 8113.
- [26] Novartis ist der Sponsor der klinischen Tests mit EpoB. Für die von Novartis veröffentlichten präklinischen EpoB-Daten siehe: a) K.-H. Altmann, M. Wartmann, T. O'Reilly, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1470*, M79; b) J. Rothermel, M. Wartmann, T. Chen, J. Hohneker, *Semin. Oncol.* **2003**, *6* (Suppl.30), 51.
- [27] C. R. Harris, S. D. Kuduk, A. Balog, K. Savin, P. W. Glunz, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7051.
- [28] N.-H. Lin, L. E. Overman, M. H. Rabinowitz, L. A. Robinson, M. J. Sharp, J. Zablocki, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9062.
- [29] D. A. Evans, J. V. Nelson, T. R. Taber, *Top. Stereochem.* **1982**, *13*, 1.
- [30] R. Noyori, T. Ohkuma, M. Kitamura, H. Takaya, N. Sayo, H. Kumobayahshi, S. Akutagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5856.
- [31] Bristol-Myers Squibb (BMS) ist der Sponsor der klinischen Tests des 15-Desoxy-15-aza-Analogons: a) R. M. Borzilleri, X. Zheng, R. J. Schmidt, J. A. Johnson, S.-H. Kim, J. D. DiMarco, C. R. Fairchild, J. Z. Gougoutas, F. Y. F. Lee, B. H. Long, G. D. Vite, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8890; b) F. Y. F. Lee, R. Borzilleri, C. R. Fairchild, S.-H. Kim, B. H. Long, C. Reventos-Suarez, G. D. Vite, W. C. Rose, R. A. Kramer, *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 1429; BMS ist auch der Sponsor der klinischen Tests eines anderen Epothilonderivats (BMS310705): c) R. M. Borzilleri, G. D. Vite, *Drugs Future* **2002**, *27*, 1149.
- [32] L. Tang, S. Shah, L. Chung, J. Carney, L. Katz, C. Khosla, B. Julien, *Science* **2000**, *287*, 640.
- [33] Für weitere Informationen zu den klinischen Tests von dEpoB siehe: www.kosan.com.
- [34] R. L. Arslanian, L. Tang, S. Blough, W. Ma, R. G. Qiu, L. Katz, J. R. Carn, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 570.
- [35] M. D. Chappell, S. J. Stachel, C. B. Lee, S. J. Danishefsky, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1633.
- [36] K. Biswas, H. Lin, J. T. Njardarson, M. D. Chappell, T.-C. Chou, Y. Guan, W. P. Tong, L. He, S. B. Horwitz, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9825.
- [37] a) B. E. Smart, *J. Fluorine Chem.* **2001**, *109*, 3; b) I. Ojima, T. Inoue, S. Chakravarty, *J. Fluorine Chem.* **1999**, *97*; c) R. A. Newman, J. Yang, M. R. V. Finlay, F. Cabral, D. Vourloumis, L. C. Stephens, P. Troncoso, X. Wu, C. J. Logothetis, K. C. Nicolaou, N. M. Navone, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2001**, *48*, 319; d) Themenheft „Fluorine in the Life Sciences“, *Chem-BioChem* **2004**, *5*, 557–726.
- [38] A. Rivkin, K. Biswas, T.-C. Chou, S. J. Danishefsky, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4081.
- [39] Unveröffentlichte Ergebnisse.
- [40] A. Rivkin, J. T. Njardarson, K. Biswas, T.-C. Chou, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7737.
- [41] K. C. Nicolaou, F. Sarabia, S. Ninkovic, M. Ray, V. Finlay, C. N. C. Boddy, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 85; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 81.
- [42] A. Rivkin, F. Yoshimura, A. E. Gabarda, Y. S. Cho, T.-C. Chou, H. Dong, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10913.
- [43] J. D. White, R. G. Carter, K. F. Sundermann, M. Wartmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5407.
- [44] J. D. White, R. G. Carter, K. F. Sundermann, M. Wartmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3190.
- [45] Für den aktuellen und beeindruckenden Fall einer langfristigen Heilung siehe: M. J. Towle, K. A. Salvato, J. Budrow, B. F. Wels, G. Kuznetsov, K. K. Aalfs, S. Welsh, W. Zheng, B. M. Seletsky, M. H. Palme, G. J. Habgood, L. A. Singer, L. V. DiPietro, Y. Wang, J. J. Chen, D. A. Quincy, A. Davis, K. Yoshimatsu, Y. Kishi, M. J. Yu, B. A. Littlefield, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1013. Unser Fall ist besonders bemerkenswert, weil die Heilungen durchweg bestätigt wurden. Darüber hinaus wurden sie bei hohen Tumorbelastungen erreicht, und der Wirkstoff kann oral verabreicht werden.
- [46] R. Breinbauer, I. R. Vetter, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3002; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2878.