

Natürliche Pyrrolidinyloxyindole als Vorlagen für die Entwicklung medizinischer Wirkstoffe

Chris V. Galliford und Karl A. Scheidt*

Antitumorwirkstoffe · Medizinische Chemie ·
Naturstoffe · Spirooxyindole · Totalsynthesen

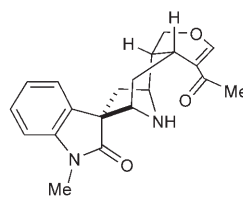
Professor W. Robert Scheidt zum
65. Geburtstag gewidmet

Das 3,3'-Pyrrolidinyloxyindol-System ist ein privilegiertes heterocyclisches Strukturmotiv, das die zentrale Einheit bei einer großen Familie von natürlichen Alkaloiden mit starken Bioaktivitätsprofilen und interessanten Struktureigenschaften bildet. Neue bedeutende Fortschritte bei der Synthese dieses kondensierten heterocyclischen Systems haben ein starkes Interesse an der Entwicklung verwandter Verbindungen als mögliche Wirkstoffe oder biologische Sonden hervorgerufen.

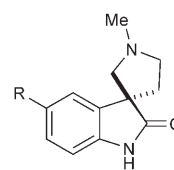
1. Der 3,3'-Pyrrolidinyloxyindol-Heterocyclus als Strukturmotiv in Naturstoffen

Die Spirooxyindol-Alkaloide, die auf einem von Tryptamin abgeleiteten Strukturmotiv basieren, gehören zu einer Familie von Naturstoffen, die erstmals aus Pflanzen der *Apo-cynaceae*- und *Rubiaceae*-Familien isoliert wurden.^[1] Das wesentliche Strukturmerkmal dieser Verbindungen ist die Spiro-Ringverknüpfung an der 3-Position der Oxindoleinheit, wobei die Pyrrolidin- und Oxindolringe unterschiedlich stark substituiert sein können. Neben der interessanten Molekülarchitektur und dem dicht funktionalisierten Zentrum zeigen mehrere Naturstoffe, die dieses heterocyclische Motiv aufweisen, beträchtliche Bioaktivitäten (Abbildung 1). Alstonisin (**1**) wurde zuerst aus *Alstonia muelleriana* isoliert,^[2] und eine Reihe biomimetischer Umsetzungen von **1** wurden durch LeQuesne und Garnick untersucht.^[3] Der wenig substituierte Spirooxyindol-Kern des 1991 isolierten (–)-Horsfilins^[4] (**2a**) erwies sich als interessantes Strukturmotiv, und zahlreiche Synthesen verwandter Moleküle wurden beschrieben. Die verwandte Verbindung Coerulescin (**2b**), die eine noch einfachere Struktur aufweist, wurde 1998 isoliert; ihre Synthese wird oft zusammen mit der von Horsfilin beschrieben.^[5] Chitosenin (**3**) ist ein weiterer Naturstoff mit interessanter Struktur, der in vivo bei Ratten und Kaninchen eine kurzlebige inhibitorische Aktivität gegenüber der ganglionären Transmission zeigt.^[6]

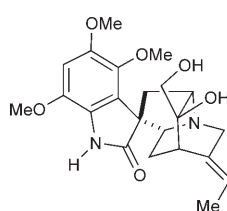
Strychnofolin (**4**) inhibiert die Mitose bei mehreren Zelllinien, einschließlich Mausmelanom B16, Ehrlich und Hepatom HW165.^[7] Die Spirotryprostatine A und B (**5** und **6**) wurden aus der Fermentationsbrühe von *Aspergillus fumigatus* isoliert, und es wurde nachgewiesen, dass sie bei



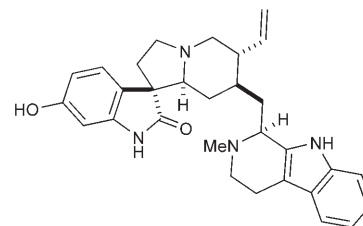
Alstonisin (**1**)



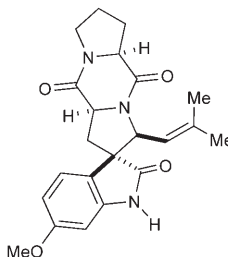
Horsfilin (**2a**), R = MeO
Coerulescin (**2b**), R = H



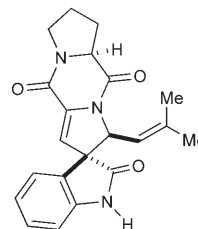
Chitosenin (**3**)



Strychnofolin (**4**)



Spirotryprostatin A (**5**)



Spirotryprostatin B (**6**)

Abbildung 1. Repräsentative Pyrrolidinyloxyindole.

[*] C. V. Galliford, Prof. K. A. Scheidt
Chemistry Department, Northwestern University
2145 Sheridan Road, Evanston IL 60201 (USA)
Fax: (+1) 847-467-2184
E-Mail: scheidt@northwestern.edu
Homepage: <http://www.chem.northwestern.edu/~scheidt/>

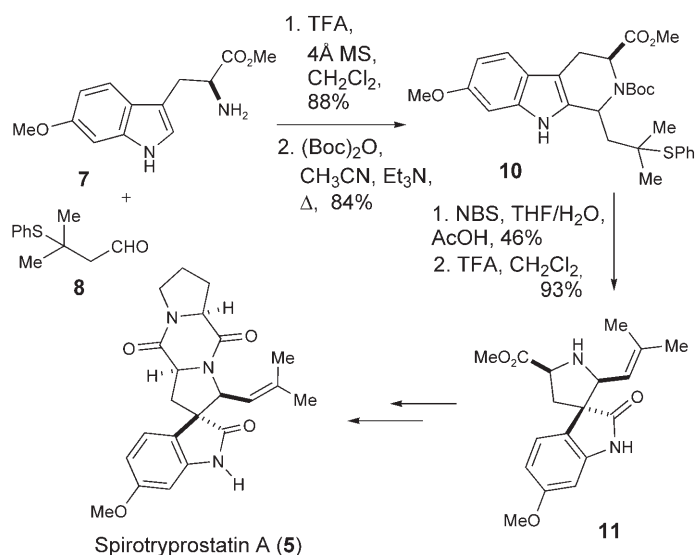
Konzentrationen über 12.5 mg mL^{-1} die G2/M-Progression von tsFT210-Säugetierzellen vollständig inhibieren.^[8]

2003 publizierten Carreira und Marti eine Übersicht zur Synthese von Naturstoffen, die dieses kondensierte heterocyclische System enthalten.^[9] Die Autoren diskutierten Zugänge, die auf intramolekularen Mannich-Reaktionen beruhen,^[10,19c] verschiedene Methoden, die eine klassische oxidative Umlagerung von Tetrahydro- β -carbolinen einbeziehen,^[11,19a,b] radikalische Cyclisierungen,^[12] intramolekulare Heck-Reaktionen,^[13] eine Nitroolefinierungsstrategie,^[14] eine neuartige Umlagerung von 3-[(Aziridinyl)(methylthio)methylen]-2-oxindolen^[15] und dipolare Cycloaditionen^[16] sowie ihre eigene MgI_2 -katalysierte Ring-erweiterungsmethode.^[17,20–22] Seit Erscheinen dieser Übersicht wurden mehrere alternative Methoden beschrieben.^[18]

Ein wichtiger Antrieb für die methodischen Fortschritte war die Tatsache, dass viele der hergestellten Moleküle über bioaktive Eigenschaften verfügten. Insbesondere die Arbeiten von Carreira, Danishefsky und Williams zur Synthese von Pyrrolidinyloxyindolen wie den Spirotryprostatinen führten zu immer neuen Strategien zum Aufbau dieser kompakten Alkaloide. Im Gegenzug konnten mithilfe der entwickelten Synthesestrategien ausreichende Substanzmengen für die biologische Evaluierung sowie vielseitige Derivate für die Untersuchung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SARs) zugänglich gemacht werden. Die vielversprechenden biologischen Daten, die hierbei erhalten wurden, führten unmittelbar zu der Frage, ob natürliche Spirooxindole in therapeutische Wirkstoffe umgewandelt werden können.

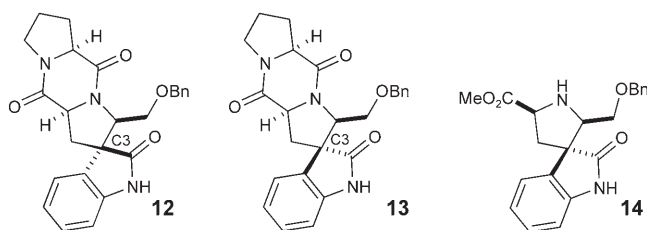
1.1. Synthesemethode nach Danishefsky

1998 beschrieben Danishefsky und Edmonton die erste Totalsynthese von Spirotryprostatin A (**5**), wobei sie eine NBS-vermittelte oxidative Umlagerung des entsprechenden β -Carbolins einsetzten (Schema 1).^[19a] Eine 1999 beschriebene, verbesserte Synthese nutzte die gleiche NBS-vermittelte oxidative Umlagerung im Schlüsselschritt. Der Naturstoff und mehrere Derivate wurden auf ihre Wirkung gegen



Schema 1. Synthese der Kernstruktur von **5** nach Danishefsky. Boc = *tert*-Butyloxycarbonyl, MS = Molekularsieb, NBS = *N*-Bromsuccinimid, TFA = Trifluoressigsäure.

humane MCF7- und MDA-MB-468-Brustkrebszellen getestet. Bei beiden Zelllinien waren die Derivate **12–14** dem Naturstoff Spirotryprostatin A (**5**) überlegen (Abbildung 2).^[19b] Das hoch aktive Spirooxindol **14** ist dabei in nur



adhäsionsabhängige humane Brustkrebszelllinie

	5	12	13	14
IC_{50} MDA MB-468	110 μM	25 nM	20 nM	20 nM
IC_{50} MCF7	>>300 μM	10 μM	80 μM	40 μM

Abbildung 2. Erhöhte Wirksamkeit der synthetischen Derivate von **5**. Bn = Benzyl.



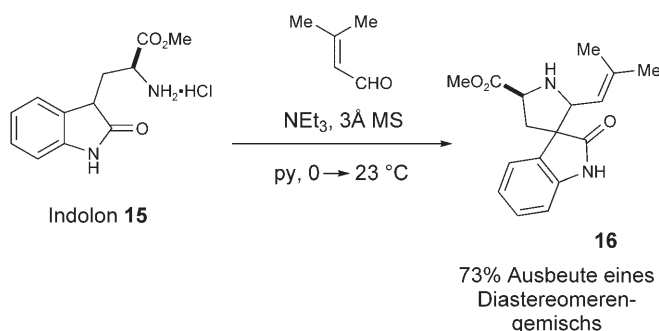
Karl Scheidt promovierte 1999 in Chemie bei William Roush an der Indiana University. Nach einem Postdoc-Aufenthalt (NIH-Stipendiat) bei David A. Evans an der Harvard University wurde er 2002 Assistant Professor für Chemie an der Northwestern University in Evanston. Seine Forschungen gelten der Entwicklung von Methoden für die organische Synthese und der Synthese bioaktiver Moleküle. Er ist Stipendiat der Sloan Foundation und Novartis Lecturer, und er erhielt Auszeichnungen von den Abbott Laboratories, Amgen, AstraZeneca, Boehringer-Ingelheim und 3M.



Chris Galliford, geboren 1975 in Bridgend (Wales), studierte Chemie an der Universität Manchester, wo er 2000 unter der Anleitung von Jonathan Clayden seine Masterarbeit anfertigte. Von 2000 bis 2002 war er in der medizinisch-chemischen Abteilung bei RiboTargets beschäftigt und wechselte 2002 in die Arbeitsgruppe von Karl Scheidt nach Evanston. In seiner Promotion, die in Teilen von der Elizabeth Tuckerman-Stiftung unterstützt wird, befasst er sich mit Mehrkomponentenreaktionen zur Synthese von Heterocyclen und erforscht neue Synthesemethoden unter Verwendung von Acylsilanen.

drei Schritten aus kommerziell erhältlichen Ausgangsmaterialien zugänglich. Interessanterweise scheint die Konfiguration des stereogenen Spirooxindol-Zentrums (C3) keine Rolle zu spielen, in Anbetracht der gleichermaßen hohen Aktivitäten der Epimere **12** und **13**. Das Derivat **14**, dem sowohl die Prenylgruppe als auch der Diketopiperazinrest von **5** fehlen, weist ebenfalls ein unverändert hohes Maß an Aktivität auf.

Die Totalsynthese des aktiveren Spirotryprostatin B (**6**) folgte im Jahr 2000 ebenfalls durch die Arbeitsgruppe von Danishefsky (Schema 2).^[19c] Die Synthesestrategie beruht

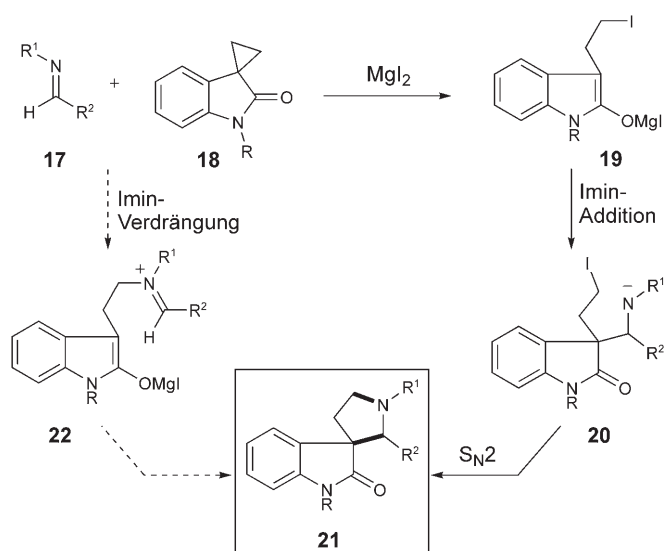


Schema 2. Schlüsselschritt in der Synthese von Spirotryprostatin B (**6**) nach Danishefsky. Py = Pyridin.

diesmal nicht auf einer oxidativen Umlagerungsstrategie, wie sie für Spirotryprostatin A (**5**) genutzt worden war, sondern auf einer intramolekularen Mannich-Reaktion zwischen dem von L-Tryptophan abgeleiteten Methylester **15** und einem Aldehyd. Diese Mannich-Reaktion lieferte ein Diastereomergemisch, das in einem späteren Syntheseschritt getrennt wurde. Nach dieser Route konnte Spirotryprostatin B (**6**) über eine fünfstufige Sequenz in Mengen von 500 mg pro Charge erhalten werden. Beide Zugänge zu **5** und **6** waren nicht enantioselektiv, es konnten aber jeweils ausreichende Mengen hergestellt werden, um sowohl die Synthese von Derivaten als auch biologische Studien zu ermöglichen.

1.2. MgI_2 -vermittelte Ringerweiterung von Cyclopropyloxindolonen

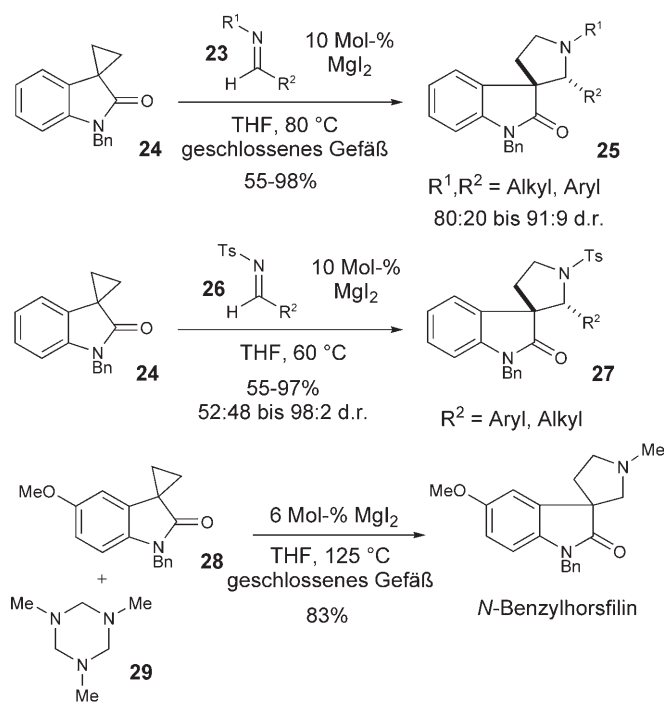
Carreira und Mitarbeiter haben eine zuverlässige Methode zur Synthese von Pyrrolidinylspirooxindolen ausgehend von Iminen und Spiro(cyclopropyloxindolen) entwickelt.^[17,20–22] Für MgI_2 wird eine doppelte Funktion angenommen: Es fungiert als Lewis-saurer Aktivator und als nucleophiles Gegenion, das die Ringerweiterung beschleunigt. Der von den Autoren vorgeschlagene Mechanismus ist in Schema 3 dargestellt. Demnach entsteht zunächst das Intermediat **19** als erstes Produkt der Ringöffnung. Anschließend folgt entweder ein Enolatangriff des Oxindols auf das Imin und die nucleophile Verdrängung des Iodids zur Bildung des Pyrrolidinrings (**20** dann **21**), oder aber die beiden Schritte verlaufen in umgekehrter Reihenfolge. Wahrscheinlich ist, dass die elektronische Struktur des eingesetzten Imins



Schema 3. Von Carreira vorgeschlagener Reaktionsweg für die MgI_2 -katalysierte Ringerweiterung.

über die Reihenfolge dieser beiden Schritte entscheidet. Die alternative Möglichkeit, dass eine direkte Ringöffnung des Cyclopropan durch das Imin direkt zu **22** führt, wurde von den Autoren als weniger plausibel eingeschätzt.

Die Reaktion kann mit verschiedenen Iminen ablaufen und liefert die Pyrrolidinylloxindole in guten bis sehr guten Ausbeuten und mit brauchbaren Diastereoselektivitäten (Schema 4). Eine Reihe von Alkyl- und Aryliminen, *N*-Tosyliminen **26** und sogar *N*-Tosylisocyanate können als Substrate eingesetzt werden.^[17] Die Cyclopropyleinheit kann auch



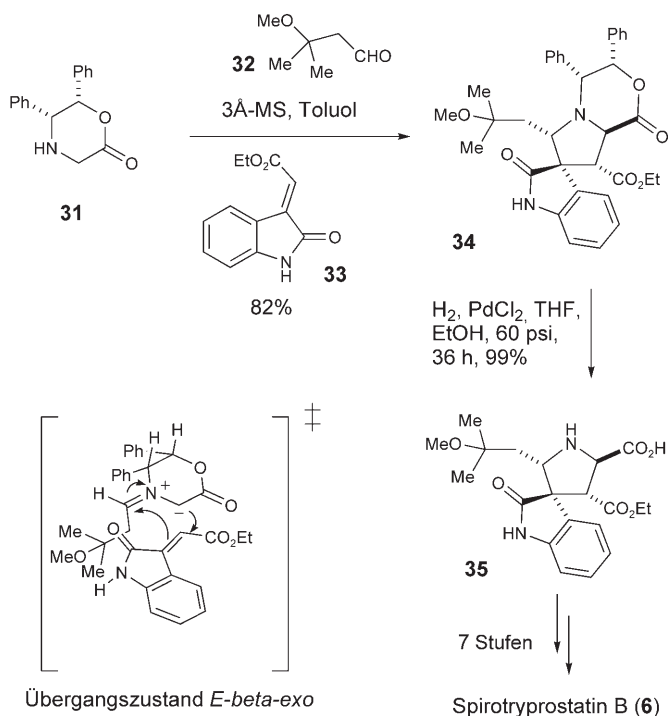
Schema 4. Substratbreite der katalytischen Ringerweiterung. Ts = Toluolsulfonyl.

(mono)substituiert sein, sodass die zunächst erhaltenen Produkte leicht weiter derivatisiert werden können.

Modifizierte Imin-Äquivalente oder komplexere Imine und passend substituierte Spirocyclopropylindolone wurden in dieser Reaktion eingesetzt, um eine Reihe von Naturstoffen zu synthetisieren. Die erste und einfachste dieser Totalsynthesen ist in Schema 4 unten gezeigt. Racemisches Horsfilin wurde mit Trimethyltriazinan (**29**) in nur fünf Schritten und mit 41 % Gesamtausbeute synthetisiert.^[20] Weitere Moleküle, die nach dieser Methode synthetisiert wurden, sind Strychnofolin (**4**)^[21] und Spirotryprostatin B (**6**).^[22]

1.3. Asymmetrische 1,3-dipolare Cycloaddition

Bei ihrer Synthese von Spirotryprostatin B (**6**) erhielten Williams und Sebehar beide Enantiomere des Zielmoleküls, und sie stellten außerdem Derivate des Naturstoffs her.^[23] Der sehr elegante Zugang nutzt eine Dreikomponentenreaktion (3-CR) von Morpholinon **31**, Aldehyd **32** und Oxindolyldenacetat **33** zum Aufbau der Spirooxindol-Kernstruktur (Schema 5). **31** und **32** bilden ein chirales Azome-



Schema 5. Die asymmetrische 3-CR von Williams zur Synthese von Spirotryprostatin B (**6**).

thinyld mit *E*-Konfiguration, das eine bereitwillig ablaufende [3+2]-Cycloaddition mit dem Dipolarophil **33** eingeht und das Cycloaddukt **34** liefert.^[24] Als Produkt entsteht in 82 % Ausbeute ein einziges Diastereoisomer mit der gewünschten Konfiguration des Naturstoffs, wie durch Einkristall-Röntgenstrukturanalyse bestätigt wurde. Die für diese Cycloaddition benötigte Geometrie des Übergangszustandes („*E*-beta-exo“) ist in Schema 5 gezeigt (*E* bezeichnet die Konfi-

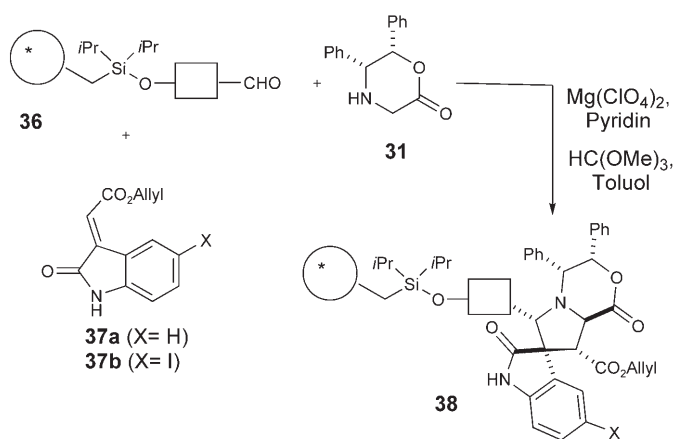
guration des Ylids, *beta* den „von oben“ erfolgenden Angriff des Dipolarophils und *exo* die Geometrie des Übergangszustandes). Der Dibenzylteil der Oxazinongruppe ließ sich leicht abspalten, sodass die Aminosäure **35** erhalten wurde.

Die Synthese wurde in weiteren sieben Stufen vervollständigt, wobei zunächst die Diketopiperazin-Einheit durch eine Kupplungsreaktion mit D-Prolinbenzylester und die Isoprenylgruppe durch Umsetzung mit TsOH in Toluol unter Rückfluss (ohne die Bildung anderer Doppelbindungs-isomere) eingeführt wurde. Schließlich wurde in einer dreistufigen Sequenz, die die Hydrolyse und eine nachfolgende modifizierte Hunsdieker-Reaktion umfasste, die Estergruppe entfernt, um (–)-Spirotryprostatin B (**6**) zu erhalten. 2003 beschrieben Williams et al. die Synthese von Spirotryprostatin A (**5**) nach einer ähnlichen Route.^[25]

2. Diversitätsorientierte Synthese nach Schreiber

Schreiber und Mitarbeiter führten die diversitätsorientierte Synthese (DOS) als Methode zur Bildung kleiner Moleküle mit nützlichen biologischen Eigenschaften ein.^[26] Die starre dreidimensionale Struktur des Pyrrolidinylspirooxindol-Kerns eignet sich hervorragend zur Untersuchung des angrenzenden Strukturraums entlang verschiedenster Trajektorien. Zudem ist diese Architektur in zahlreichen bioaktiven Alkaloiden und medizinischen Wirkstoffen vertreten, was sie zu einem idealen Gerüst für die diversitätsorientierte Synthese macht. Schreiber et al. haben einen kombinatorischen Zugang zur Entwicklung aktiver naturstoffähnlicher Verbindungen für die biologische Evaluierung beschrieben.^[27] Als Schlüsselreaktion zur Bildung des Pyrrolidinylspirooxindol-Kerns wurde die stereoselektive 3-CR von Williams et al. gewählt (Schemata 5 und 6), die für den Aufbau der kombinatorischen Bibliothek besonders geeignet war, da sie einen hoch konvergenten Zugang bietet und eine einfache Diversifizierung der Konfiguration und Struktur ermöglicht.

Im ersten Schritt wurde das Spirooxindol-Gerüst über eine hoch diastereoselektive Cycloaddition aufgebaut. Hierzu wurden an Makrokügelchen immobilisierte Aldehyde, eines der beiden Enantiomere des chiralen Auxiliars **31** nach Williams und ein von Isatin abgeleitetes Dipolarophil **37**, das den Allylester trägt, verwendet. Die Spirooxindole wurden dann mit Bausteinen, die unterschiedliche Strukturmerkmale und passende Funktionalitäten aufwiesen, weiter aufgebaut. Nachdem erste Versuche, die 3-CR unter den von Williams beschriebenen Lösungsbedingungen (3-Å-Molekularsieb, Toluol) auszuführen, misslangen, untersuchten Schreiber et al. einige Lewis-Säuren als mögliche Katalysatoren und fanden, dass Mg(ClO₄)₂ die Reaktion beschleunigt und die Produkte der Dreikomponentenreaktion in hoher Reinheit und ausgezeichneter Diastereoselektivität liefert. Das Reaktionsmedium wurde mit Pyridin gepuffert, um die saure Abspaltung des Aldehyds vom Silicium-Anker zu minimieren, und die Molekularsiebe wurden gegen Methylorthoformiat als Dehydratisierungsmittel ausgetauscht. Diese neuen Reaktionsbedingungen ermöglichten die Umsetzung aromatischer Aldehyde mit vielseitigen Substitutionsmustern und ergaben gute Ausbeuten sowie hohe Diastereoselektivitäten



Nr	Aldehyd	Dipolarophil	Umsatz [%]	d.r.
1		37a	89	88:12
2		37b	89	>95:5
3		37a	>95	>95:5
4		37b	>95	>95:5
5		37a	>95	>95:5
6		37b	>95	>95:5
7		37a	>95	91:9
8		37b	94	92:8
9		37a	>95	77:23
10		37b	>95	72:28
11		37a	>95	82:18
12		37b	>95	85:15

Schema 6. Aufbau der ursprünglichen Verbindungsbibliothek aus 3-CR-Makrokügelchen nach Schreiber et al.

von 72:28 bis > 95:5, je nach Struktur des eingesetzten Aldehyds.

Die gewünschte Bibliothek wurde durch eine Split-Pool-Festphasensynthese erzeugt.^[28] Die Derivatisierungsreaktionen wurden nach zwei Kriterien ausgewählt: 1) nach ihrer Fähigkeit, effiziente Festphasenumwandlungen einzugehen, und 2) nach ihrer Fähigkeit, die ursprünglichen chemischen Eigenschaften des Ausgangsmaterials zu modifizieren (z.B. die Zahl drehbarer Bindungen oder den *clogP*-Wert (*clogP*: berechneter Verteilungskoeffizient *P* zwischen 1-Octanol und Wasser)). Zur Umsetzung des immobilisierten heterocyclischen Kerns wurden drei Syntheseoperationen geprüft:

- a) die Palladium-katalysierte Bildung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen mit gleichzeitiger Allylesterspaltung;
- b) die Amidbildung zwischen der resultierenden Carbonsäure und Aminen;
- c) die *N*-Acylierung von δ -Lactamen mit Elektrophilen.

Die Autoren stellten fest, dass die Sonogashira-Kupplung mit Aryliodspirooxindolen am zuverlässigsten erfolgt, und die Alkine in Abbildung 3 erwiesen sich als gute Kupplungspartner, die in den weiterführenden Studien verwendet wurden. Hohe Beladungen der Palladium- und Kupferkatalysatoren wurden verwendet, um eine zuverlässige Kupplung am festen Träger sicherzustellen. Die überschüssigen Metallreagentien wurden anschließend mit Glyoxalbis(thiosemicarbazon) als Abfangreagens sorgfältig entfernt.

Die Amid-Kupplungen am festen Träger wurden mit PyBOP/(*i*Pr)₂NET ausgeführt und verliefen durchweg erfolgreich (Schema 7). Schließlich wurden aus einer Gruppe von Isocyanaten und Chlorformiaten drei Elektrophile für die *N*-Acylierung identifiziert, wobei die optimalen Reaktionsbedingungen für diese Umsetzung stark vom verwendeten Elektrophil abhingen.

Mit diesen drei zur Diversifizierung ausgewählten und validierten Reaktionskandidaten wurde dann die Synthese der Bibliothek vorgenommen. Ausgehend von trägergebundenen Aldehyden wurde eine Lewis-Säure-vermittelte 3-CR mit vier Aldehyden, zwei Morpholinonderivaten und zwei Dipolarophilen durchgeführt, wodurch 16 Spirooxindol-Ker-

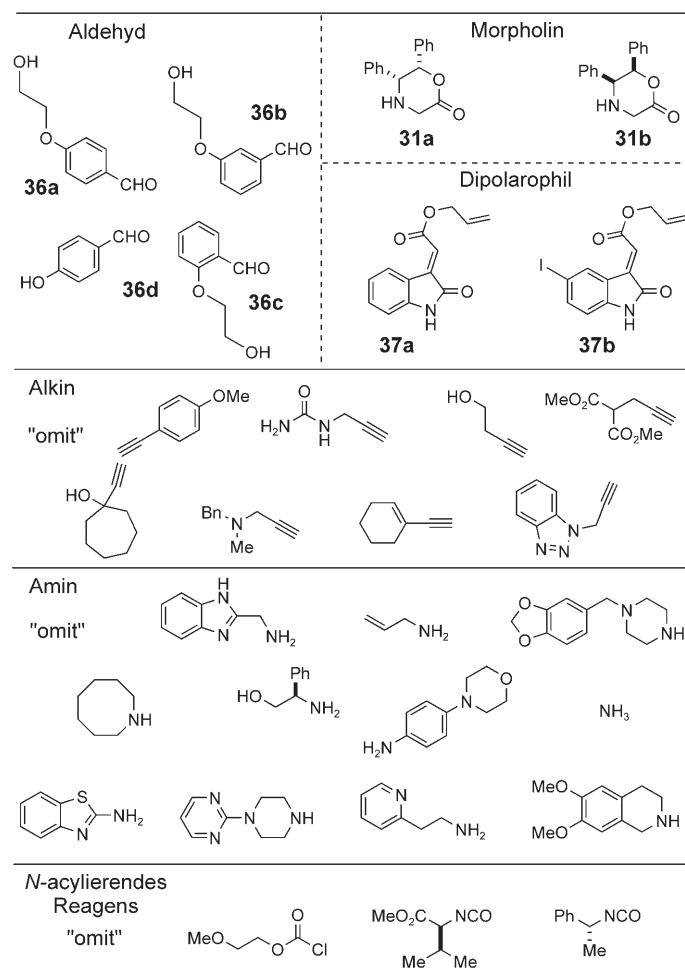
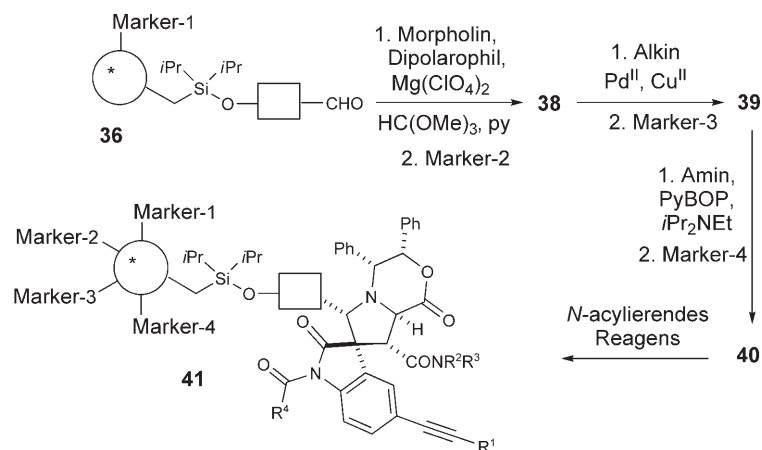


Abbildung 3. Diversitätselemente, die zur Derivatisierung der 3-CR-Template verwendet wurden. „omit“ bedeutet, dass das betreffende Reagens weggelassen wurde.



Schema 7. Strategie zur Gerüst-Diversifizierung der Bibliothek. PyBOP=1-Benzotriazolyl-oxy-tris(pyrrolidino)phosphonium.

ne erzeugt wurden. In jedem Diversifizierungsschritt wurde ein Marker zur späteren Identifizierung der Makrokügelchen angebracht.^[29] Die Reaktionssequenz für die acht Kernstrukturen, die das Aryliodid enthalten, ist in Schema 7 gezeigt.

Nach dieser Reaktionsfolge wurden mehr als 3000 Verbindungen gebildet. Die Reaktionssequenz für die acht Kernstrukturen ohne Aryliodid war: a) Esterspaltung („omit“ + Entschützung), b) Amidierung („omit“ + elf Amine) und c) *N*-Acylierung („omit“ + drei *N*-acylierende Reagentien). („omit“ bedeutet, dass das betreffende Reagens an dieser Stelle weggelassen wurde.) Diese Sequenz lieferte zusätzliche 416 Verbindungen, sodass insgesamt theoretische 3520 Verbindungen erhalten wurden. Die Auswahl der Bausteine beruhte auf Faktoren, die auf eine Maximierung der Diversität abzielen (z.B. funktionelle Gruppen, Heterocyclen, Substitutionsgrad), sowie auf Berechnungen, die eine möglichst hohe Diversifizierung der *clogP*-Werte ergeben. Um den Erfolg dieses Ansatzes zu überprüfen, wurden dreizehn Verbindungen der Bibliothek – jeder Baustein war wenigstens einmal vertreten – zufällig für die Synthese am Makrokügelchen ausgewählt und vollständig charakterisiert. Mit den vorhandenen robusten und bewährten Bedingungen wurde eine Split-Pool-Synthese zum Aufbau der Bibliothek ausgeführt. Die vier aromatischen Aldehyde **36** (Abbildung 3) wurden am festen Träger immobilisiert.^[30] Bei zwei der Bausteine ergaben sich Codierungsprobleme im Verlauf der Umsetzungen. Die betreffenden Kügelchen wurden daher abgetrennt und parallel zu den übrigen, in der Bibliothek verbliebenen Proben umgesetzt. Als Folge davon verringerte sich die Zahl der Bibliotheksmitglieder auf 3232.^[31]

Schreiber und Mitarbeiter nutzten eine chemisch-genetische Screeningmethode, um nach bioaktiven Verbindungen zu suchen. Sie entwickelten ein Testsystem zur Identifizierung von Verbindungen, die die durch Latrunculin B verursachte Wachstumshemmung verstärken. Latrunculin B ist ein Naturstoff, der monomeres Actin maskiert und die Bildung von Actin-Mikrofilamenten verhindert.^[32] Das ursprüngliche

Screening wurde in 384er Titerplatten mit Hefe (Wildtyp) in nährstoffreichem Medium ausgeführt. Latrunculin B wurde bis zu einer Endkonzentration von 7 μM zugegeben, und anschließend wurden mit der Pin-Transfer-Technik Stammlösungen der Bibliothek bis auf eine Endkonzentration von ca. 33 μM zugesetzt. Durch einen Vergleich der Testkammern mit Kontrollkammern ohne Bibliotheksmitglieder wurden insgesamt 36 Verbindungen mit Verstärkungswirkung verzeichnet. Zwei Bausteine, Aldehyd **36d** und (5*R*,6*S*)-Morpholinon **31**, waren unter den positiven Ergebnissen besonders stark vertreten.

Verbindung **42** wurde für eine erneute Synthese ausgewählt und weiter getestet (Abbildung 4). Hierzu wurde die Menge an Latrunculin B auf 1.0 μM gesenkt, was 12.5 % des experimentell bestimmten EC_{50} -Werts entspricht. In dieser Konzentration hat Latrunculin B keine be-

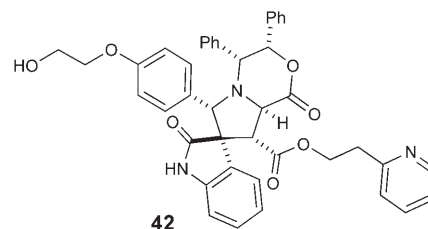


Abbildung 4. Von Schreiber identifizierte Leitstruktur.

obachtbare Wirkung auf das Hefewachstum. Gab man zu diesem Medium noch **42** hinzu, wurde die Inhibitorwirkung von Latrunculin B verstärkt. Für **42** wurde ein EC_{50} -Wert von 550 nM bestimmt. Als Kontrollversuch wurden Hefezellen nur mit **42** bis zur Löslichkeitsgrenze von 30 μM behandelt, wobei keine Wirkung auf das Hefewachstum auftrat. Dieser Versuch belegt, dass **42** nicht den gleichen Phänotyp wie Latrunculin B zeigt und dass es nur in Kombination mit Latrunculin B letal wirkt.

Die Tatsache, dass Spirooxindol **42** die Hemmung der Actinpolymerase durch Latrunculin B synergistisch aktiviert, macht diese Verbindung zu einem interessanten Kandidaten für ein biologisches Screening. Schreiber merkt jedoch an, dass Spirooxindol **42** keine sehr aussichtsreiche Zukunft als mögliches molekulares Therapeutikum hat. Dennoch macht diese vierstufige Bibliothekssynthese deutlich, dass die parallele Synthese von naturstoffinspirierten Verbindungen zu Fortschritten in der medizinisch- oder chemisch-biologischen Forschung führen kann, sobald leistungsfähige Synthesemethoden vorhanden sind.

3. Strukturbasiertes Design von MDM2-Inhibitoren

Wang et al. haben eine strukturbasierte Strategie angewendet, um eine nichtpeptidische niedermolekulare Verbindung zu entwickeln, die die Wechselwirkung zwischen dem

Tumorsuppressor p53 und seinem Regulatorprotein MDM2 (MDM steht für „murine double minute“) inhibiert.^[33] Als Ausgangspunkt nutzten die Autoren die bekannte Struktur des p53-MDM2-Komplexes, die durch Röntgenkristallstrukturuntersuchungen gelöst wurde. Die Kristallstruktur ergab auch, dass die Wechselwirkung zwischen p53 und MDM2 in erster Linie durch drei hydrophobe Reste (Phe 19, Trp 23 und Leu 26) von p53 und eine kleine und tiefe hydrophobe Furche in MDM2 vermittelt wird.^[34] Die Autoren vermuteten diese hydrophobe Furche als eine ideale Bindungsstelle für kleine Inhibitoren, die die p53-MDM2-Wechselwirkung blockieren können. Der Indolring des Trp23-Rests von p53 ist tief im Innern eines hydrophoben Hohlraums in MDM2 verborgen (Abbildung 5). Da zwischen der Aminogruppe und einer Rückgrat-Carbonylgruppe des MDM2 eine Wasserstoffbrücke gebildet wird, scheint Trp23

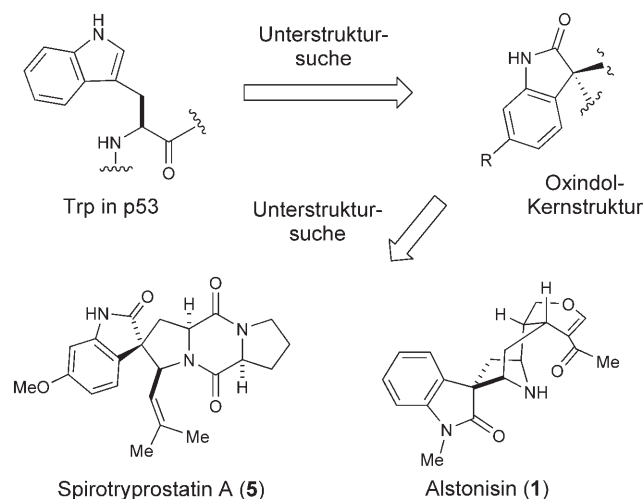


Abbildung 5. Strukturbasierter Ansatz von Wang et al.

der entscheidende Rest für die Bindung von p53 an MDM2 zu sein. Die Autoren wählten diese Schlüsselwechselwirkung für das strukturbasierte Design eines kleinen Moleküls, das die Wechselwirkung von Trp23 mit MDM2 nachahmen kann.

Zunächst führte eine Unterstruktursuche zur entscheidenden Beobachtung, dass die Oxindol-Kernstruktur ein möglicher Ersatz für den Tryptophanrest darstellt. Die Autoren identifizierten dann die bioaktiven Naturstoffe Spirotryprostatin A (5) und Alstonisin (1), die beide eine Spirooxindol-Kernstruktur enthalten (Abbildung 6). Molecular-Modeling-Studien ergaben, dass diese Verbindungen infolge sterischer Hinderung schlecht in die MDM2-Tasche passen. Trotz dieses anfänglichen Rückschlags wurde die heterocyclische Kernstruktur als Gerüst für die Entwicklung von Molekülen mit Bindungsaffinität für MDM2 herangezogen.

Die nächste wichtige Erkenntnis war, dass das Oxindol die Trp23-Seitenkette in p53 sehr gut nachahmen kann, sowohl bei der Bildung der Wasserstoffbindung als auch bei den hydrophoben Wechselwirkungen mit MDM2. Zudem lieferte

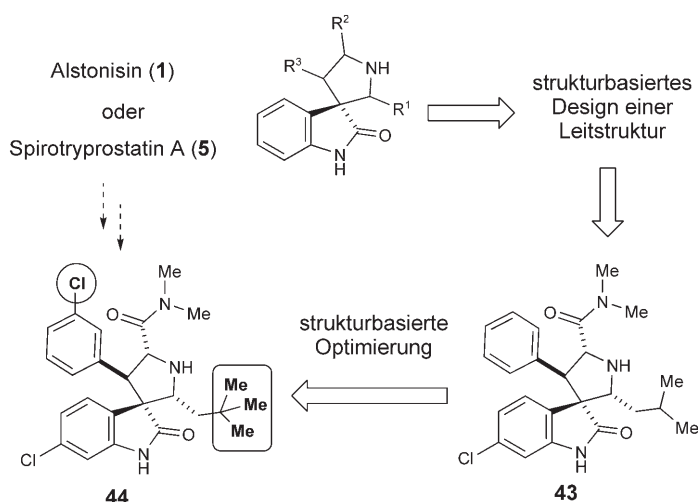


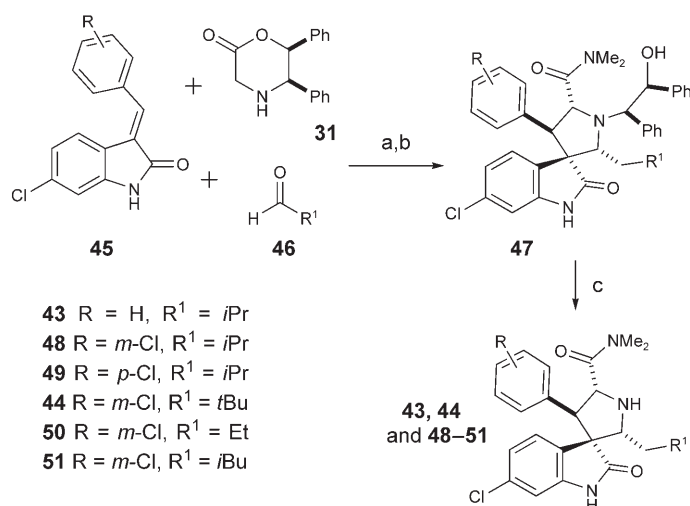
Abbildung 6. Entwicklung und Optimierung einer potenten MDM2-bindenden Verbindung.

der Spiropyrrolidin-Ring ein starres Gerüst, von dem zwei hydrophobe Gruppen wegragen und so die Seitenketten von Phe 19 und Leu 26 nachahmen können. Kandidaten mit unterschiedlichen Substituenten und Konfigurationen wurden per Computersimulation in der MDM2-Bindungsfurche andockt. Der Oxindolring von 43 trägt einen Chlor-Substituenten, der dazu bestimmt ist, einen zweiten, kleineren hydrophoben Hohlraum in MDM2 zu besetzen. Wie die Andockstudien deutlich zeigten, konnte Spirooxindol 44 p53 in seiner Wechselwirkung mit MDM2 sehr präzise nachahmen (Abbildung 6).

Ein auf der Methode von Sebehar und Williams beruhender enantioselektiver Ansatz lieferte die optisch aktive Verbindung 43 für biologische Studien.^[33] Mit einem auf Fluoreszenzpolarisierung (FP) basierenden Bindungstest bewiesen Wang und Mitarbeiter in vitro die Wirksamkeit von 43 als Inhibitor der MDM2-p53-Wechselwirkung. Das Testsystem enthält ein p53-basiertes Peptid, das mit einem Fluoreszenzmarker und einem rekombinanten humanen MDM2-Protein markiert ist. Das Peptid hat eine große Affinität zu MDM2 ($K_d = 1$ nM). Verbindung 43 weist im FP-Test einen K_i -Wert von $8.46 \mu\text{M}$ auf und ist daher recht gut mit einem natürlichen p53-Peptid (16–27 Reste) vergleichbar, dessen K_i -Wert zu $1.52 \mu\text{M}$ bestimmt wurde. Daher erschien das Spirooxindol 43 als Leitstruktur sehr vielversprechend.

Die detaillierte Analyse des vorhergesagten Modells für die Bindung von 43 an MDM2 zeigte einen Weg für die weitere Verfeinerung der Leitstruktur auf. So beobachteten die Autoren, dass der Phenylring die hydrophobe Bindungstasche für die Seitenkette von Phe 19 besetzt und die Isobutylgruppe fast vollständig die hydrophobe Bindungstasche für Leu 26 ausfüllt. Für diese beiden hydrophoben Wechselwirkungen war jedoch in den jeweiligen Hohlräumen zusätzlicher Raum vorhanden. Daher wurden weitere Analoga der Leitstruktur 43 eigens entworfen, um die Wechselwirkungen in diesen beiden hydrophoben Bindungsstellen weiter zu optimieren (Schema 8).

Die Syntheseführung ergab sich aus den Modeling-Studien, die vorhersagten, dass zwei geringfügige Modifizierungen



Scheme 8. Modifizierte 3-CR nach Williams zur Synthese von Inhibitoren der p53-MDM2-Wechselwirkung. Reagentien und Bedingungen: a) 4Å-MS, Toluol, 70°C; b) Dimethylamin; c) Pd(OAc)₂, CH₂Cl₂/MeOH (1:1), 0°C.

gen der Kernstruktur **43** zur Besetzung des zusätzlichen Raums an der Bindungsstelle führen würden. An der *meta*-Position des Phenylrings von **43** wurde ein Chloratom eingeführt, um die bestehenden hydrophoben Wechselwirkungen zu verbessern. Außerdem wurde Verbindung **47** (mit einem *meta*-Cl-Substituenten) synthetisiert und festgestellt, dass diese einen K_i -Wert von 300 nM aufweist, d.h. 28-mal wirksamer ist als die frühere Verbindung **43**. Um die Vorhersagen der Modeling-Studien weiter zu untermauern, wurde **49** mit einem *para*-Cl-Substituenten synthetisiert. Diese Verbindung zeigte mit einem K_i -Wert von 7.68 μ M eine 26fach geringere Wirkung als **48**.

Als nächstes befassten sich Wang et al. mit der Isobutylgruppe in **43** und optimierten – unter Verwendung von **48** als Templat – die hydrophobe Wechselwirkung an dieser Stelle. Wieder dienten Modeling-Studien als Grundlage für Voraussagen, und die Isobutylgruppe wurde durch eine Neopentylgruppe (R¹ = *t*Bu) ersetzt, um die hydrophoben Wechselwirkungen zu verstärken (Abbildung 7). Die resultierende Verbindung **44** hatte einen K_i -Wert von 86 nM im FP-Test und war 98-mal wirksamer als die Leitverbindung **43**. Um die Bedeutung der hydrophoben Wechselwirkung weiter zu untermauern, synthetisierten die Autoren **50** und **51**, die eine kleinere bzw. größere hydrophobe Gruppe als **44** aufweisen. Die Vorhersage, dass **50** und **51** weniger wirksam sein sollten

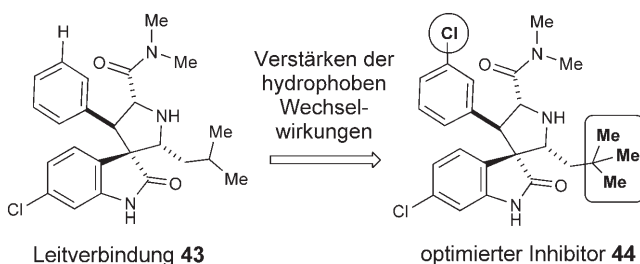


Abbildung 7. Leitverbindung **43** und optimierter MDM2-Inhibitor **44**.

als **44**, wurde durch FP-Bindungsexperimente bestätigt (K_i = 0.65 (**50**) und 0.39 μ M (**51**)).

Ein Nachteil peptidbasierter MDM2-Inhibitoren gegenüber nichtpeptidischen Inhibitoren ist ihre geringere Zellpermeabilität, sodass nicht-peptidische Varianten bevorzugt werden.^[35] Die MDM2-Inhibitoren von Wang und Mitarbeitern wurden auf ihre Fähigkeit zur Hemmung des Zellwachstums humaner LNCaP-Prostatakrebszellen (p53-Wildtyp) überprüft.^[36] Spirooxindol **44** ist ein sehr wirksamer Inhibitor des Zellwachstums in dieser Tumorzelllinie mit einem IC₅₀-Wert von 830 nM. Dagegen inhibieren die strukturverwandten Verbindungen **43**, **48**, **49**, **50** und **51** das Zellwachstum von LNCaP-Zellen mit höheren IC₅₀-Werten von 9.7, 2.1, 6.7, 2.7 bzw. 1.9 μ M.

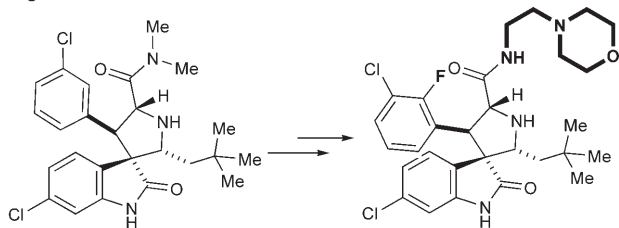
In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Selektivität dieser Verbindungen in p53-freien humanen Prostatakrebszellen (PC-3) evaluiert. In diesen Zellen ist Spirooxindol **44** mit einem IC₅₀-Wert von 22.5 μ M deutlich weniger wirksam. Die

beobachtete Selektivität ist im Einklang mit dem auf p53 abzielenden Inhibitor-Design: Die Hemmwirkung von **44** gegen PC-3 ist 27-mal schwächer als gegen LNCaP-Zellen, die Wildtyp-p53 exprimieren. Ein anderes wichtiges Resultat ist die relative Giftwirkung dieser MDM2-Inhibitoren gegen normale Zellen mit Wildtyp-p53. Die Autoren untersuchten Verbindung **44** in normalen humanen Prostataepithelzellen mit Wildtyp-p53 und bestimmten einen IC₅₀-Wert von 10.5 μ M für die Inhibition des Zellwachstums, entsprechend einer 13-mal geringeren Giftwirkung als gegen LNCaP-Krebszellen.

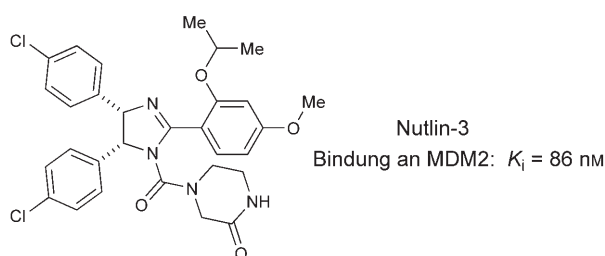
In einer Folgestudie optimierten Wang et al. die Bindungsaffinität von Spirooxindol **44** zu MDM2 von K_i = 86 nM auf bis zu 3 nM, wobei sie den Bindungsmodus der entworfenen Spezies im Komplex mit MDM2 genauer untersuchten (Abbildung 8).^[37] Unter anderem wurde auch ein direkter Vergleich der Bindungsfähigkeit des wirksamsten nichtpeptidischen Inhibitors der p53-MDM2-Wechselwirkung (Nutlin-3) und der Verbindungen **44** und **52** der ersten und zweiten Generation vorgenommen (Abbildung 8).^[38] Die Analyse zeigte klar, dass die optimierte Struktur **52** der zweiten Generation erheblich wirksamer ist als Nutlin-3. Spirooxindol **52** hat einen K_i -Wert für die Bindung zu MDM2 von 3 nM, verglichen mit 36 nM für Nutlin-3. Allerdings ist zu bedenken, dass Nutlin über die spezifische Bindung an das Zielmolekül hinaus nach zahlreichen pharmakokinetischen Kriterien optimiert worden ist, während solche praktischen Herausforderungen bei neuen möglichen Therapeutika wie **52** noch zu bewältigen sind.

Die Wirksamkeit, mit der die beiden optimierten Verbindungen das Zellwachstum hemmen, wurde in weiterführenden Studien evaluiert. Zum Vergleich wurden wieder LNCaP-Prostatakrebszellen mit Wildtyp-p53 herangezogen, und erneut übertraf das Spirooxindol **52** mit einem IC₅₀-Wert von 280 nM die Wirkung von Nutlin-3 (IC₅₀ = 1500 nM). In humanen PC-3-Prostatakrebszellen mit deletiertem p53 behält Verbindung **52** mit einem IC₅₀-Wert von 18 μ M seine

Wang und Mitarbeiter

optimierter Inhibitor
der ersten Generation **44**Bindung an MDM2: $K_i = 86 \text{ nm}$ optimierter Inhibitor
der zweiten Generation **52**Bindung an MDM2: $K_i = 3 \text{ nm}$

Hoffmann-La Roche



Nutlin-3

Bindung an MDM2: $K_i = 86 \text{ nm}$

Abbildung 8. Optimierte nichtpeptidische Inhibitoren der p53-MDM2-Wechselwirkung.

Selektivität bezüglich der Zellspezifität bei. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass die Spirooxindole **44** und **52** auf die selbe Weise wirken.

4. Zusammenfassung

Die bioaktiven Eigenschaften von Pyrrolidinyloxyindolen wie Spirotryprostatin B (**6**) und Strychnofolin (**4**) waren ein wichtiger Antrieb für die bemerkenswerten Entwicklungen bei der Totalsynthese dieser Naturstoffklasse mit privilegierter heterocyclischer Struktur. Mithilfe dieser neu entwickelten Methoden wurden Analoga und Derivate zugänglich, die in vielen Fällen wirksamer und selektiver als die Naturstoffe selbst sind.

In zwei unterschiedlichen Herangehensweisen haben die Arbeitsgruppen von Schreiber und Wang versucht, aus der einfachen Synthese von Derivaten sowie dem vielversprechenden biologischen Potenzial dieser Heterocyclenstrukturen Kapital zu schlagen. Die von Schreiber und Mitarbeitern entwickelte Bibliothek von über 3000 naturstoffinspirierten Verbindungen stellt eine erhebliche Syntheseleistung dar und führte zur Identifizierung einer Verbindung, die die Hemmwirkung von Latrunculin B gegen Actin-Polymerase verstärkt.^[39] Zudem lieferte diese Arbeit wichtige Fortschritte im Bereich der Synthesemethodik, denn die beschriebene Festphasenvariante der Dreikomponentenreaktion von Williams erwies sich als hinreichend robust für die Synthese einer großen Verbindungsbibliothek. Besonders hervorzuheben ist, dass ausreichend hohe Grade an Diastereoselektivität erreicht wurden, um die strukturelle Integrität der Biblio-

theksmittglieder aufrechtzuerhalten. Einschränkend ist jedoch zu bemerken, dass die identifizierte Verbindung **42** ein nur begrenztes Potenzial als mögliches Therapeutikum hat. Eine analoge Bibliothek verwandter bioaktiver Verbindungen, den Furanyloxyindolen mit Silylgruppen als Substituenten, wurde kürzlich ebenfalls durch Schreiber et al. beschrieben.^[40]

Der Erfolg der von Wang und Mitarbeitern gewählten Strategie beruhte einmal auf der ausgeklügelten Analyse von Computerstudien und zum anderen auf der Intuition der Autoren für die Synthese und Erprobung von Analoga. Mit diesem Ansatz gelang das strukturbasierte Design der ersten und zweiten Generation einer neuen Klasse von hoch wirksamen niedermolekularen, nichtpeptidischen MDM2-Inhibitoren, die auf die p53-MDM2-Wechselwirkung abzielen. Dieser strukturbasierte Ansatz ist eine häufig verfolgte Strategie, mit der eine Reihe von Verbindungsklassen erhalten wurde, und die hier beschriebenen Spirooxindole sind ähnlich erfolgversprechend wie die meisten anderen nichtpeptidischen Verbindungen, die auf diese Weise zugänglich sind.^[41,38b] Da zudem Wirkungsweise und Selektivitätsprofil der Spirooxindole bekannt sind, besteht ein beträchtliches Potenzial für eine Weiterentwicklung als Tumorthapeutika.

Die Synthesestrategien von Schreiber und Wang beruhen auf einer modifizierten stereoselektiven Dreikomponentenreaktion nach Williams als Schlüsselreaktion für die Herstellung von Leitstrukturen. Die vielen bemerkenswerten Fortschritte bei den Synthesemethoden zum Aufbau des privilegierten Pyrrolidinyloxyindol-Kerns haben den schnellen Zugriff auf höchst erfolgversprechende Leitverbindungen ermöglicht, die es wert sind, weiter untersucht und entwickelt zu werden. Die kontinuierliche Forschung hin zur Synthese weiterer privilegierter Naturstoffe wird diese Methoden zweifellos bekannter machen. Indem man sich, in der Art wie es hier geschildert wurde, von bioaktiven Naturstoffen inspirieren lässt, könnte es tatsächlich gelingen, die herkömmliche Hit-to-Lead-Stufe medizinischer und chemisch-biologischer Entwicklungsprogramme zu umgehen.^[42]

Diese Arbeit wurde durch die Northwestern University, die NSF (CHE 0348979) und die Elizabeth Tuckerman Foundation (Stipendium für C.V.G.) unterstützt. Wir danken Professor Jared T. Shaw (University of California, Davis) für aufschlussreiche Diskussionen. Unsere Forschungsarbeiten werden durch die Alfred P. Sloan Foundation, die Abbott Laboratories, Amgen, 3M und Boehringer-Ingelheim großzügig unterstützt.

Eingegangen am 27. März 2007

Online veröffentlicht am 17. Oktober 2007

Übersetzt von Dr. Margit Knauer, Bensheim

[1] J. S. Bindra in *The Alkaloids*, Vol. 14 (Hrsg.: R. H. F. Manske), Academic Press, New York, **1973**, S. 84–121.

[2] a) R. C. Elderfield, R. E. Gilman, *Phytochemistry* **1972**, *11*, 339–343; b) K. Ghedira, M. Zeches-Hanrot, B. Richard, G. Massiot, L. Le Men-Oliver, T. Sevens, S. H. Goh, *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3955–3962; c) W. H. Wong, P. B. Lim, C. H. Chuah, *Phytochemistry* **1996**, *41*, 313–315.

- [3] R. L. Garnick, P. W. LeQuesne, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4213–4219.
- [4] A. Jossang, P. Jossang, H. A. Hadi, T. Sevenet, B. Bodo, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6527–6530.
- [5] N. Anderton, P. A. Cockrum, S. M. Colegate, J. A. Edgar, K. Flower, I. Vit, R. I. Willing, *Phytochemistry* **1998**, *48*, 3, 437–439.
- [6] a) S. Sakai, N. Aimi, K. Yamaguchi, H. Ohhira, K. Hori, J. Haginiwa, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 715–718; b) N. Aimi, K. Yamaguchi, S. Sakai, J. Haginiwa, A. Kubo, *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, *26*, 3444–3449; c) S. Sakai, N. Aimi, K. Yamaguchi, E. Yamanaka, J. Haginiwa, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1982**, 1257–1262.
- [7] O. Dideberg, J. Lamotte-Brasseur, L. Dupont, H. Campsteyn, M. Vermeire, L. Angenot, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1977**, *33*, 1796–1801.
- [8] a) C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 12651–12666; b) C. B. Cui, H. Kakeya, H. Osada, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 832–835.
- [9] C. Marti, E. M. Carreira, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2209–2219.
- [10] a) E. E. van Tamelen, J. P. Yardley, M. Miyano, W. B. Hinshaw, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 7333–7338; b) E. Wenkert, J. H. Udelhofen, N. K. Bhattacharyya, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 1320–1321; c) J. C. Seaton, M. D. Nair, O. E. Edwards, L. Marion, *Can. J. Chem.* **1960**, *38*, 1035–1042; d) E. Winterfeldt, A. J. Gaskell, T. Korth, H. E. Radunz, M. Walkowiak, *Chem. Ber.* **1969**, *102*, 3558–3572; e) Y. Ban, T. Oishi, M. Seto, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 2113–2116; f) Y. Ban, T. Oishi, M. Seto, *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, *23*, 2605–2613; g) D. Cartier, D. Patigny, J. Levy, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 1897–1900; h) S. I. Bascop, J. Sapi, J. Y. Laronze, J. Levy, *Heterocycles* **1994**, *38*, 725–732; i) J. Harley-Mason, R. F. Ingleby, *J. Chem. Soc.* **1958**, 3639–3642; j) R. T. Brown, R. Platt, *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 2721–2722; k) M. Seto, T. Oishi, H. Misuhashi, Y. Ban, *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 1393–1397; l) K. Freter, H. Weissbach B. Redfield, S. Udenfriend, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 983–987; m) A. B. A. Jansen, C. G. Richards, *Tetrahedron* **1965**, *21*, 1327–1331; n) P. Rosenmund, M. Hosseini-Merescht, C. Bub, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 151–158; o) E. Ali, P. K. Chakraborty, S. C. Pakrashi, *Heterocycles* **1982**, *19*, 1367–1370; p) D. Ponglux, S. Wongseripipatana, N. Aimi, N. Nishimura, M. Ishikawa, H. Sada, J. Haginiwa, S. Sakai, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 573–575; q) H. J. Borschberg, *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 15, 1465–1491; r) M. J. Kornet, A. P. Thio, *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 892–898.
- [11] a) A. Pictet, T. Spengler, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, *44*, 2030–2036; b) N. Finch, W. I. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 1318–1320; c) N. Finch, W. I. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3871–3877; d) J. Shavel, H. Zinnes, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 1320–1321; e) N. Finch, I. H. C. Hsu, C. W. Gemenden, W. I. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 1520–1523; f) H. Takayama, K. Masubuchi, M. Kitajima, N. Aimi, S. Sakai, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 1327–1336; g) S. F. Martin, M. Mortimore, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4557–4560; h) S. F. Martin, B. Benage, L. S. Geraci, J. E. Hunter, M. Mortimore, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6161–6171; i) H. Takayama, N. Seki, M. Kitajima, N. Aimi, H. Seki, S. Sakai, *Heterocycles* **1992**, *33*, 121–125; j) C. Pellegrini, C. Strässler, M. Weber, H. J. Borschberg, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 1979–1992; k) A. C. Peterson, J. M. Cook, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2651–2654; l) A. C. Peterson, J. M. Cook, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 120–129; m) R. Stahl, H. J. Borschberg, P. Acklin, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1361–1378; n) P. Yu, J. M. Cook, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8799–8802; o) P. Yu, J. M. Cook, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9160–9161; p) H. S. Wang, A. Ganesan, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4685–4693; q) M. Somei, K. Noguchi, R. Yamagami, Y. Kawada, K. Yamada, F. Yamada, *Heterocycles* **2000**, *53*, 7–10; r) P. Yu, T. Wang, J. Li, J. M. Cook, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3173–3191; s) X. Z. Wearing, J. M. Cook, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4237–4240.
- [12] a) K. Jones, J. Wilkinson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1767–1769; b) S. T. Hilton, T. C. T. Ho, G. Pljevaljcic, K. Jones, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2639–2641; c) C. Escolano, K. Jones, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8951–8955; d) C. Escolano, K. Jones, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1453–1464; e) J. Cossy, M. Cases, D. G. Pardo, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2331–2332.
- [13] a) M. M. Abelman, T. Oh, L. E. Overman, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4130–4133; b) W. G. Earley, T. Oh, L. E. Overman, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3785–3788; c) A. Ashimori, L. E. Overman, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4571–4572; d) A. Ashimori, B. Bachand, L. E. Overman, D. J. Poon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6477–6487; e) A. Ashimori, B. Bachand, M. A. Calter, S. P. Govek, L. E. Overman, D. J. Poon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6488–6499; f) A. Madin, C. J. O'Donnell, T. Oh, D. W. Old, L. E. Overman, M. J. Sharp, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3110–3112; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2934–2936; g) W. G. Beyersbergen van Henegouwen, R. M. Fieseler, F. P. J. T. Rutjes, H. Hiemstra, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2351–2355; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2214–2217; h) W. G. Beyersbergen van Henegouwen, R. M. Fieseler, F. P. J. T. Rutjes, H. Hiemstra, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8317–8325; i) L. E. Overman, M. D. Rosen, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4768–4771; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4596–4599.
- [14] a) M. Node, H. Nagasawa, K. Fuji, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7901–7903; b) M. Node, H. Nagasawa, K. Fuji, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 517–521; c) K. Fuji, T. Kawabata, T. Ohmori, M. Node, *Synlett* **1995**, 367–368; d) G. Lakshmaiah, T. Kawabata, M. H. Shang, K. Fuji, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1699–1704; e) T. D. Bagul, G. Lakshmaiah, T. Kawabata, K. Fuji, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 249–251.
- [15] U. K. Syam Kumar, H. Ila, H. Junjappa, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4193–4196.
- [16] a) R. Grigg, M. F. Aly, V. Sridharan, S. Thianpatanagul, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 182–183; b) R. Grigg, V. Xridharan, S. Thianpatanagul, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1986**, 1669–1675; c) R. Grigg, S. Thianpatanagul, J. Kemp, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 7283–7292; d) G. A. Kraus, J. O. Nagy, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3537–3545; e) R. Grigg, G. Donegan, H. Q. N. Gunaratne, D. A. Kennedy, J. F. Malone, V. Sridharan, S. Thianpatanagul, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 1723–1746; f) R. Grigg, E. L. Millington, M. Thornton-Pett, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2605–2608; g) A. Casaschi, G. Desimoni, G. Faita, A. G. Invernizzi, P. Grunanger, *Gazz. Chim. Ital.* **1993**, *123*, 137–143; h) A. Casaschi, G. Desimoni, G. Faita, A. G. Invernizzi, P. Grunanger, *Heterocycles* **1994**, *37*, 1673–1686; i) S. E. V. Bell, R. F. C. Brown, F. W. Eastwood, J. M. Horvath, *Aust. J. Chem.* **2000**, *53*, 183–190; j) I. Fejes, M. Nyerges, A. Szöllosy, G. Blasko, L. Toke, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1129–1137; k) G. Palmisano, R. Annunziata, G. Papeo, M. Sisti, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 1–4; l) G. Cravotto, G. B. Giovenzani, T. Pilati, M. Sisti, G. Palmisano, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8447–8453; m) N. Selvakumar, A. M. Azhagan, D. Srinivas, G. G. Krishna, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9175–9178; n) S. E. Bell, R. F. C. Brown, F. W. Eastwood, J. M. Horvath, *Aust. J. Chem.* **2000**, *53*, 183–190; o) G. Sridhar, R. Raghunathan, *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 21–29.
- [17] P. B. Alper, C. Meyers, A. Lerchner, D. R. Siegel, E. M. Carreira, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3379–3381; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3186–3189.
- [18] Hierzu gehören eine [5+2]-Cycloaddition (H. C. Malinkova, L. S. Liebeskind, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4083–4086), die Pd-katalysierte asymmetrische Alkylierung eines Oxindolenols in einer Synthese von Horsfilin (B. M. Trost, M. K. Brennan, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2027–2030) oder ein von uns beschriebener Mehrkomponentenansatz (C. V. Galliford, J. A. Martenson, C. Stern,

- K. A. Scheidt, *Chem. Commun.* **2007**, 631–633). Siehe auch Lit. [10q] und [16o].
- [19] a) S. D. Edmondson, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1190–1193; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1138–1140; b) S. D. Edmondson, L. Sepp-Lorenzino, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2147–2155; c) F. von Nussbaum, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2259–2262; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2175–2178.
- [20] C. Fisher, C. Meyers, E. M. Carreira, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1175–1181.
- [21] a) A. Lerchner, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14826–14827; b) A. Lerchner, E. M. Carreira, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8208–8219.
- [22] a) C. Meyers, E. M. Carreira, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 718–720; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 694–696; b) C. Marti, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11505–11515.
- [23] a) P. R. Sebahar, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5666–5667; b) P. R. Sebahar, H. Osada, R. M. Williams, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6311–6322; c) P. R. Sebahar, R. M. Williams, *Heterocycles* **2002**, *58*, 563–575.
- [24] R. M. Williams, W. Zhai, D. J. Aldous, S. C. Aldous, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6527–6532.
- [25] a) T. Onishi, P. R. Sebahar, P. R. Williams, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3135–3137; b) T. Onishi, P. R. Sebahar, R. M. Williams, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 9503–9515.
- [26] a) S. L. Schreiber, *Science* **2000**, *287*, 1964–1969; b) D. R. Spring, S. Krishnan, H. E. Blackwell, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1354–1363; c) F. G. Kuruvilla, A. F. Shamji, S. M. Sternson, P. J. Hergenrother, S. L. Schreiber, *Nature* **2002**, *416*, 653–657; d) J. C. Wong, R. Hong, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5586–5587; e) A. N. Koehler, S. Shamji, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8420–8421.
- [27] M.-C. Lo, C. S. Neumann, S. Nagayama, E. O. Perlstein, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16077–16086.
- [28] a) K. C. Nicolaou, J. A. Pfefferkorn, H. J. Mitchell, A. J. Roegner, S. Barluenga, S. G.-Q. Cao, R. L. Affleck, J. E. Lillig, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9954–9967; b) H. E. Blackwell, L. Perez, R. A. Stavenger, J. A. Tallarico, E. E. Cope, M. A. Foley, S. L. Schreiber, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1167–1182; c) S. M. Sternson, J. B. Louca, J. C. Wong, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1740–1747; d) A. W. Czarnik, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 60–66; e) C. Barnes, R. H. Scott, S. Balasubramanian, *Recent Res. Dev. Org. Chem.* **1998**, *2*, 367–379.
- [29] H. E. Blackwell, L. Perez, S. L. Schreiber, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3529–3533; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3421–3425.
- [30] P. A. Clemons, A. N. Koehler, B. K. Wagner, T. G. Sprigings, D. R. Spring, R. W. King, S. L. Schreiber, M. A. Foley, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1183–1195.
- [31] Die Reinheitsgrade der Bibliotheksverbindungen wurden mit einer LC-MS/UV-Probenahmemethode bestimmt. Eine Verbindung wurde als rein beurteilt, wenn die UV-Spur bei 254 nm 80% Reinheit anzeigte und wenn das M^+ -Signal der Hauptverbindung dem beobachteten MS-Signal entsprach.
- [32] a) I. Spector, N. R. Shochet, Y. Kashman, A. Groweiss, *Science* **1983**, *219*, 493–495; b) J. R. Peterson, T. J. Mitchison, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 1275–1285.
- [33] a) K. Ding, Y. Lu, Z. Nikolovska-Coleska, S. Qiu, Y. Ding, W. Gao, J. Stuckey, K. Krajewski, P. P. Roller, Y. Tomita, D. A. Parrish, J. R. Deschamps, S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10130–10131; b) K. Ding, G. Wang, S. J. R. Deschamps, D. A. Parrish, S. Wang, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5949–5951.
- [34] P. H. Hussie, S. Gorina, V. Marechal, B. Elenbaas, J. Moreau, A. J. Levine, N. P. Pavletich, *Science* **1996**, *274*, 948–953.
- [35] a) P. Chène, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 102–109; b) L. T. Vassilev, B. T. Vu, B. Graves, D. Carvajal, F. Podlaski, Z. Filipovic, N. Kong, U. Kammlott, C. Lukacs, C. Klein, N. Fotouhi, E. A. Liu, *Science* **2004**, *303*, 844–848.
- [36] P. H. Hussie, S. Gorina, V. Marechal, B. Elenbaas, J. Moreau, A. J. Levine, N. P. Pavletich, *Science* **1996**, *274*, 948–953.
- [37] K. Ding, Y. Lu, Z. Nikolovska-Coleska, S. Qiu, G. Wang, S. Qiu, S. Shangary, W. Gao, D. Qin, J. Stuckey, K. Krajewski, P. P. Roller, S. Wang, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3432–3435.
- [38] a) Lit. [35b]; b) H.-D. Arndt, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4664–4673; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4552–4560.
- [39] a) G. Liu, Y. L. Li, F. J. Nan, *Prog. Chem.* **2007**, *18*, 734–742; b) D. P. Walsh, Y. T. Chang, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2476–2530; c) J. E. Bradner, O. M. McPherson, R. Mazitschek, D. Barnes-Seeman, J. P. Shen, J. Dhaliwal, K. E. Stevenson, J. L. Duffner, S. B. Park, D. S. Neuberger, P. Nghiem, S. L. Schreiber, A. N. Koehler, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 493–505; d) R. W. Liu, X. B. Wang, A. M. Song, T. Bao, K. S. Lam, *QSAR Comb. Sci.* **2005**, *24*, 1127–1140; e) R. E. Dolle, *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 739–798; f) S. Shang, D. S. Tan, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 248–258; g) A. Ulaczyk-Lesanko, D. G. Hall, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 266–276; h) C. Chen, X. D. Li, C. S. Neumann, M. M. C. Lo, S. L. Schreiber, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2289–2292; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2249–2252.
- [40] A. K. Franz, P. D. Dreyfuss, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1020–1021.
- [41] a) L. T. Vassilev, *Trends Mol. Med.* **2007**, *13*, 23–31; b) L. Römer, C. Klein, A. Dehner, H. Kessler, J. Buchner, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6590–6611; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6440–6460; c) S. C. Zondlo, A. E. Lee, N. J. Zondlo, *Biochemistry* **2006**, *45*, 11945–11957; d) K. Sakurai, C. Schubert, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11000–11001; e) S. Yi, *Molecular, Carcinogenesis* **2006**, *45*, 409–415; f) T. Hara, S. R. Durell, M. C. Myers, D. H. Appella, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1995–2004; g) J. X. Deng, R. Dayam, N. Neamati, *Expert Opin. Ther. Targets* **2006**, *16*, 165–188.
- [42] R. M. Wilson, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8329–8351.