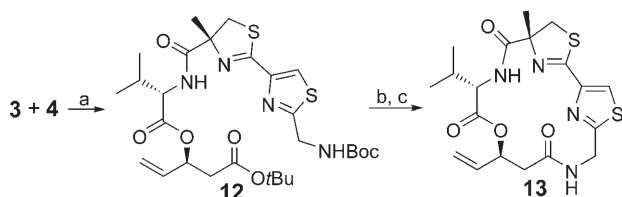




zol oxidiert wurde. Ammonolyse führte zum Amid **9**, das in einem weiteren Schritt mit Trifluoressigsäureanhydrid und Triethylamin zum Nitril **10** dehydratisiert wurde. Die anschließende Umsetzung von **10** mit  $\alpha$ -Methylcystein erforderte einige Optimierungsarbeit, da die von Pattenden et al. beschriebenen Methoden<sup>[8]</sup> das gewünschte Kondensationsprodukt nur in geringen Ausbeuten und Reinheiten ergaben. Unter unerwartet milden Bedingungen (pH-5.95-Phosphatpuffer/Methanol, 70 °C, 2 h)<sup>[9]</sup> konnte jedoch **10** mit (*R*)- $\alpha$ -Methylcystein-Hydrochlorid<sup>[10]</sup> umgesetzt werden, und eine einfache Säure-Base-Extraktion lieferte das Thiazolin-Thiazol **4** in nahezu quantitativer Ausbeute und hoher Reinheit.

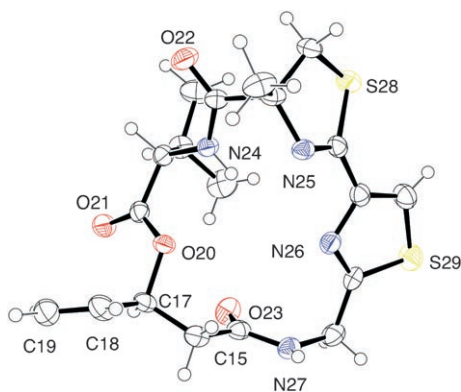
Die Carbonsäure **4** wurde anschließend unter Standardbedingungen mit dem Amin **3** und HATU zum Amid **12** umgesetzt (Schema 3). Im nächsten Syntheseschritt wurden



**Schema 3.** Reagentien und Bedingungen: a) HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT, 20 min, 96%; b) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C → RT, 1.5 h, 88%; c) HATU, Diisopropylethylamin, THF, 4 mM, 0 °C, 16 h, 77–89%. HATU = O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)tetramethyluronium-hexafluorophosphat, TFA = Trifluoressigsäure.

mit einem Gemisch aus Trifluoressigsäure und Triethylsilan sowohl der *tert*-Butylester gespalten als auch die Boc-Schutzgruppe entfernt. Die langsame Zugabe des dabei entstandenen Ammoniumsalzes zu einer auf 0 °C gekühlten, verdünnten Lösung von HATU und Hünig-Basis in THF führte zum gewünschten Ringschluss. Bei einer Ansatzgröße von 40  $\mu$ mol wurde das Lactam **13** in einer bemerkenswert hohen Ausbeute von 89% isoliert. Wurde die Ansatzgröße um das 25-Fache vergrößert, so sank die Ausbeute auf 77%.

Aus einer Röntgenkristallstrukturanalyse<sup>[11]</sup> lassen sich einige interessante Eigenschaften des Lactams **13** ableiten (Abbildung 1). Wegen der planaren Anordnung der Thiazo-

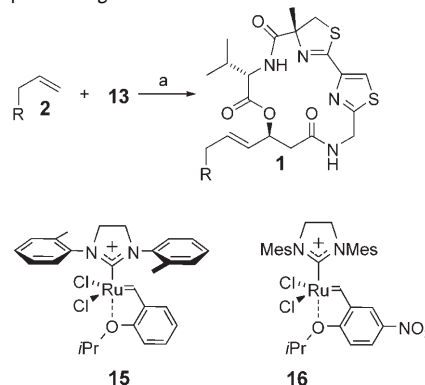


**Abbildung 1.** ORTEP-Darstellung von **13** (Ellipsoide bei 50% Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

lin-Thiazol-Einheit zeigen beide Stickstoffatome (N25 und N26) ins Ringinnere. Zusammen mit dem Amid-Stickstoffatom (N24) und Ester-Sauerstoffatom (O20) ergibt sich eine potenzielle chelatisierende Umgebung für Metallionen.<sup>[12]</sup> Ein weiteres bemerkenswertes Detail ist die nahezu perfekte orthogonale Ausrichtung der Estergruppe mit O20 zur Carbonylgruppe von C15 und zur Doppelbindung C18-C19. Somit ist die Estergruppe für eine *anti*-Eliminierung ausgerichtet, was die Basenempfindlichkeit von **13** erklärt.

Als nächstes wurde die entscheidende Kreuzmetathese optimiert. Der Schwefelsubstituent in  $\delta$ -Stellung an Verbindung **2a** erwies sich erwartungsgemäß als problematisch. Ein Screening von Ruthenium-Metathesekatalysatoren ergab, dass ausschließlich in 1,2-Dichlorethan bei 80–100 °C in Gegenwart von 10–15% Katalysator signifikante Umsätze erhalten werden (Tabelle 1). Der Hoveyda-Grubbs-II-Kataly-

**Tabelle 1:** Optimierung der Kreuzmetathese.<sup>[a]</sup>



Nr.	Katalysator	2	R	Produkt	Ausb. [%] <sup>[b]</sup>
1	Grubbs-I	2a	CH <sub>2</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1	5 <sup>[c]</sup>
2	Grubbs-II	2a	CH <sub>2</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1	11 <sup>[c]</sup>
3	Hoveyda-Grubbs-II	2a	CH <sub>2</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1	44 <sup>[d]</sup>
4	15	2a	CH <sub>2</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1	13 <sup>[e]</sup>
5	16	2a	CH <sub>2</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1	75
6	Hoveyda-Grubbs-II	2b	(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> CH <sub>3</sub>	1b	73
7	16	2c	CH <sub>2</sub> Br	1c	92
8	16	2d	CH <sub>2</sub> OC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1d	37
9	16	2e	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1e	69
10	16	2f	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SC(O)(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	1f	58

[a] 4 Äquiv. Olefin **2**, 10% Katalysator (+ 5% nach 2 h), 0.1 M in 1,2-Dichlorethan, 90 °C, 3–12 h. Mes = 2,4,6-Trimethylphenyl. [b] Kombinierte Ausbeute an isoliertem Produkt (*cis* und *trans*). [c] 68% **13** wurden zurückgewonnen. [d] 44% **13** wurden zurückgewonnen. [e] 77% **13** wurden zurückgewonnen.

sator erzeugte deutlich weniger Zersetzungsprodukte als die Grubbs-I- und Grubbs-II-Katalysatoren und ergab eine Ausbeute von 44% (Nr. 1–3). Die sterisch weniger anspruchsvolle Variante **15**<sup>[13]</sup> (Nr. 4) lieferte eine wesentlich geringere Ausbeute als der Standard-Hoveyda-Grubbs-II-Katalysator. Der *p*-Nitro-substituierte Katalysator **16** von Grela<sup>[14]</sup> war deutlich aktiver und ergab Largazol<sup>[15]</sup> in 75% Ausbeute mit einem *trans/cis*-Verhältnis von 6:1 (Nr. 5). Unter den optimierten Bedingungen konnten anschließend

auch die Derivate **1b–f** in vergleichbaren Ausbeuten (37–92 %) und *trans/cis*-Selektivitäten (4:1–10:1) erhalten werden (Nr. 6–10).

Synthetisches Largazol (**1**) und die Derivate **1b–f** wurden in MTT-Testreihen auf ihre antiproliferative Wirkung gegen die humane Epithelkarzinom-Zelllinie A431 und die Präadipozyten-Zelllinie 3T3L1 untersucht (Tabelle 2). Synthetisches **1** wies nur eine relativ geringe Selektivität für die

**Tabelle 2:** Antiproliferative Aktivität von **1** und den Analoga **1b–g** im MTT-Assay.<sup>[a]</sup>

Zelllinie	<b>1</b>	<b>1b</b>	<b>1d</b>	<b>1e</b>	<b>1f</b>	<b>1g</b> <sup>[15]</sup>
A431	49	n.b. <sup>[b]</sup>	n.b. <sup>[b]</sup>	n.b. <sup>[b]</sup>	n.b. <sup>[b]</sup>	126
3T3L1	127	n.b. <sup>[b]</sup>	n.b. <sup>[b]</sup>	n.b. <sup>[b]</sup>	n.b. <sup>[b]</sup>	1200
SI	2.6	–	–	–	–	9.5

[a] GI<sub>50</sub> in nM. [b] n.b. = nicht bestimmt; bis zu einer Konzentration von 5 µM wurde keine Aktivität festgestellt.

Krebszelllinie (GI<sub>50</sub> = 49 nM) gegenüber den 3T3-Zellen (GI<sub>50</sub> = 127 nM) auf. Das Intermediat **13** mit einer endständigen Doppelbindung und das Derivat **1b**, bei dem die Seitenkette durch eine C<sub>13</sub>-Alkylkette ersetzt wurde, wirkten selbst bei einer Konzentration von 5 µM nicht wachstumshemmend. Eine allein auf dem cyclischen Grundgerüst beruhende Bioaktivität kann somit ausgeschlossen werden. Der Austausch der Thioestergruppe gegen einen Ester (in **1d**) führte ebenfalls zum vollständigen Verlust der Aktivität. Somit lag die Schlussfolgerung nahe, dass der Octansäure-Thioester in **1** eine Schutzgruppe für das freie Thiol darstellt, die unter physiologischen Bedingungen schnell hydrolysiert wird, und tatsächlich zeigte das freie Thiol **1g**<sup>[16]</sup> eine stark antiproliferative Wirkung. Bemerkenswerterweise ist das Aktivitätsprofil von **1g** nicht mit demjenigen von **1** identisch. Das freie Thiol **1g** zeigt eine etwas geringere Potenz (GI<sub>50</sub> = 126 nM; GI<sub>50</sub>(**1**) = 49 nM), aber eine deutlich stärkere Spezifität (SI = 9.5; SI(**1**) = 2.6) gegenüber den Wildtypzellen als der Thioester **1**. Dies lässt sich möglicherweise durch eine verminderte Aufnahme des freien Thiols durch die Wildtypzellen erklären. Die um ein bzw. zwei Kohlenstoffatome verlängerten Thioesterderivate **1e** und **1f** wirkten überraschenderweise nicht wachstumshemmend. Dieses Ergebnis unterstreicht, wie wichtig der richtige Abstand der Thiofunktion vom cyclischen Grundgerüst ist.

Zusammenfassend haben wir eine kurze und modulare Synthese (19 % Gesamtausbeute, neun Stufen in der längsten linearen Sequenz) von Largazol beschrieben, die es uns auch ermöglichte, eine Reihe von Derivaten herzustellen.<sup>[17]</sup> Die Bioaktivitäten der synthetisierten Verbindungen wurde in MTT-Testreihen bestimmt, wobei sich die Thiobutenylgruppe als unabdingbar für eine antiproliferative Wirkung zeigte. Das entsprechende freie Thiol weist eine bessere Selektivität auf als **1**. Weiterführende Studien zur Modifizierung der Aktivität und zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus auf molekularer Ebene sind im Gange.

Eingegangen am 30. April 2008

Online veröffentlicht am 16. Juli 2008

**Stichwörter:** Biologische Aktivität · Metathesen · Naturstoffe · Struktur-Aktivitäts-Beziehungen · Totalsynthesen

- [1] a) I. Paterson, E. A. Anderson, *Science* **2005**, *310*, 451–453; b) F. E. Koehn, G. T. Carter, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 206–220.
- [2] a) J. W. Blunt, B. R. Copp, W.-P. Hu, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 35–94; b) J. W. Blunt, B. R. Copp, W.-P. Hu, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 31–86; c) D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 1–48.
- [3] K. Taori, V. J. Paul, H. Luesch, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806–1807.
- [4] a) S. Carmeli, R. E. Moore, G. M. L. Patterson, T. H. Corbett, F. A. Valeriote, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8195–8197; b) S. Carmeli, R. E. Moore, G. M. L. Patterson, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2593–2596.
- [5] Hergestellt durch Alkylierung von Octanthio-S-Säure (M. Toriyama, H. Kamijo, S. Motohashi, T. Takido, K. Itabashi, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2003**, *178*, 1661–1665) mit 1-Brom-3-buten (siehe die Hintergrundinformationen).
- [6] a) S. Vrielynck, M. Vandewalle, A. M. Garcia, J. L. Mascarenas, A. Mourino, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 9023–9026; b) C.-H. Tan, T. Stork, N. Feeder, A. B. Holmes, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1397–1400.
- [7] M. Knopp, S. Koser, B. Schäfer (BASF AG), DE-19934066A1, **2001**.
- [8] a) M. North, G. Pattenden, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 8267–8290; b) G. Pattenden, S. M. Thom, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 1629–1636.
- [9] R. J. Bergeron, J. Wiegand, J. S. McManis, B. H. McCosar, W. R. Weimar, G. M. Brittenham, R. E. Smith, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2432–2440.
- [10] G. Pattenden, S. M. Thorn, M. F. Jones, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2131–2138.
- [11] Kristallographische Daten für **13**: C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>, *M* = 436.55, orthorhombisch, Raumgruppe *P*2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>, *a* = 9.6075(2), *b* = 10.9467(2), *c* = 20.3175(3) Å, *V* = 2136.80(7) Å<sup>3</sup>, *Z* = 4, *ρ*<sub>ber.</sub> = 1.357 Mg m<sup>−3</sup>, *T* = 223 K, gesammelte Reflexe: 3647, unabhängige Reflexe: 3628 (*R*<sub>int</sub> = 0.023), *R*(alle) = 0.0394, *wR*(gt) = 0.0997, Flack-Parameter −0.06 (7). CCDC-686672 enthält die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos beim Cambridge Crystallographic Data Centre über [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif) erhältlich.
- [12] a) D. J. Freeman, G. Pattenden, A. F. Drake, G. Siligardi, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, 129–136; b) L. A. Morris, M. Jaspars, J. J. K. van den Bosch, K. Versluis, A. J. R. Heck, S. M. Kelly, N. C. Price, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3185–3197.
- [13] I. C. Stewart, C. J. Douglas, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 441–444.
- [14] A. Michrowska, R. Bujok, S. Harutyunyan, V. Sashuk, G. Dolgonos, K. Grela, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9318–9325.
- [15] Synthetisches Largazol (**1**) stimmt in allen spektroskopischen Daten mit natürlichem Largazol überein; siehe auch die Hintergrundinformationen.
- [16] **1g** wurde durch Monoalkylierung von Bis(trimethylsilyl)thiol mit dem Bromid **1c** synthetisiert.
- [17] Anmerkung bei der Korrektur (4. Juli 2008): Eine weitere Synthese von Largazol wurde kürzlich beschrieben: Y. Ying, K. Taori, H. Kim, J. Hong, H. Luesch, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8455–8459.