

Synthese und Pharmakologie von Proteasom-Inhibitoren

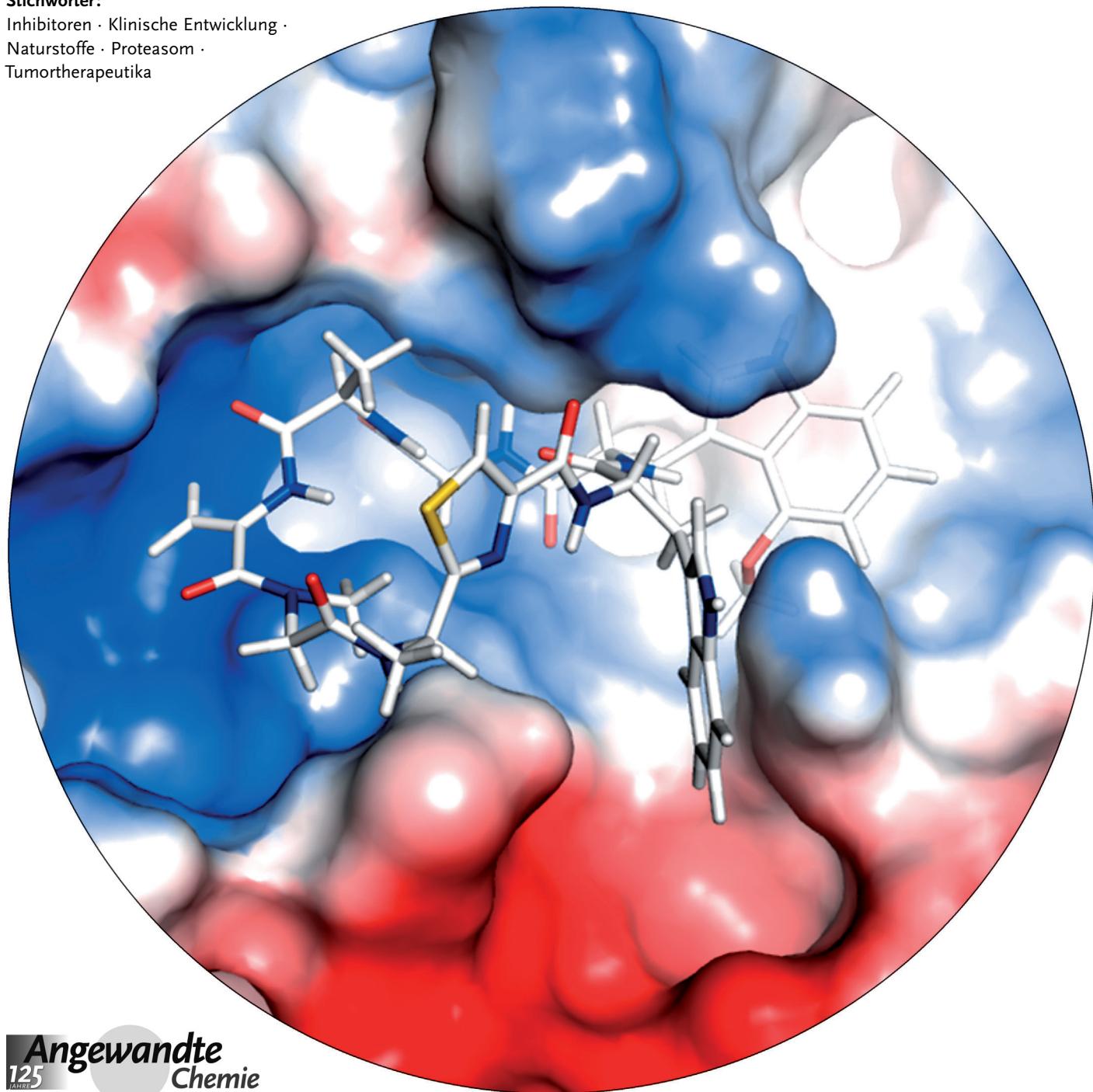
Andreas Rentsch, Dirk Landsberg, Tobias Brodmann, Leila Bülow,
Anna-Katharina Girbig und Markus Kalesse*

Stichwörter:

Inhibitoren · Klinische Entwicklung ·

Naturstoffe · Proteasom ·

Tumorthterapeutika



Schon kurz nach der Entdeckung des Proteasoms war klar, dass Proteasom-Inhibitoren in der Lage sein sollten, Proteine zu stabilisieren, die zur Apoptose von Tumorzellen führen sollten. Die entscheidenden Fragen dabei war, ob es prinzipiell überhaupt möglich ist, das Proteasom zu inhibieren, ohne untragbare Nebenwirkungen hervorzurufen, und wie man zu solchen Inhibitoren gelangen könnte. Glücklicherweise stellt „Mutter Natur“ eine ganze Bandbreite von verschiedenen Naturstoffen zur Verfügung, die selektiv und spezifisch das Proteasom inhibieren. Die chemische Synthese dieser Naturstoffe hat schließlich den Zugang zu deren Analoga und optimierten Wirkstoffen ermöglicht, von denen zwei bereits als Medikament zur Behandlung von Krebserkrankungen zugelassen sind. Trotz dieser Erfolge werden noch weitere Naturstoffe als Leitstrukturen bearbeitet, und wir werden deren biologisches Potenzial sowie die damit verbundenen Herausforderungen auf dem Gebiet der Synthese im Folgenden besprechen.

1. Einleitung

Durch die bahnbrechenden Arbeiten von Aaron Ciechanover,^[1] Avram Hershko und Irwin Rose zum Ubiquitin-Proteasom-System (UPS)^[2] wurde deutlich, dass der Abbau von Proteinen ein zentraler und hochspezifischer Prozess ist, mit dem fehlerhafte Proteine aus dem Cytosol und endoplasmatischen Retikulum entfernt werden können.^[3] Darüber hinaus spielt der zeitlich kontrollierte und hochregulierte Abbau von Schlüsselproteinen, wie etwa Zellzyklusregulatoren oder Transkriptionsfaktoren, eine entscheidende Rolle bei der Regulation zellulärer Funktionen. In der Folge wurden weitere fundamentale zelluläre Prozesse identifiziert, auf deren Steuerung das Ubiquitin-Proteasom-System Einfluss nimmt. Dazu gehören neben der Zellzyklusregulation^[4] die DNA-Reparatur,^[5] die Apoptose,^[6] Immunreaktionen und Entzündungsprozesse,^[7] sowie monogenetische Erkrankungen wie etwa die zystische Fibrose.^[8]

Neben diesen Anwendungsgebieten wurde das Ubiquitin-Proteasom-System als besonders vielversprechende Zielstruktur zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen angesehen.^[9]

Das Ubiquitin-Proteasom-System bewirkt einen nichtlysosomalen Prozess, der für den kontrollierten Proteinabbau im Cytosol und Zellkern eukaryotischer Zellen verantwortlich ist. Dieser Abbauprozess kann in zwei fundamentale Schritte unterteilt werden: Die Markierung der abzubauenden Proteine durch eine Polyubiquitin-Kette und den Abbau des polyubiquitiinierten Substrates im 26S-Proteasom.

2. Das Proteasom-Ubiquitin-System

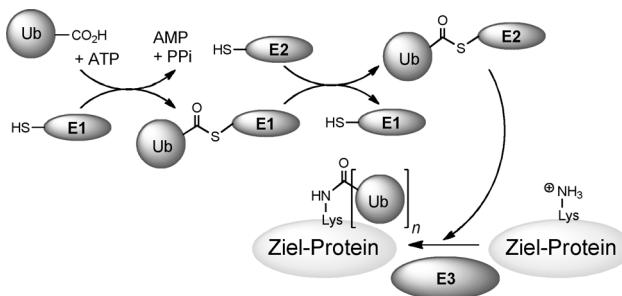
Das für den Proteinabbau notwendige Signal wird durch Polyubiquitinierung erzeugt, an welcher eine Reihe von Ligasen beteiligt ist. Diese verknüpfen Ubiquitin, ein relativ kleines, aus 76 Aminosäuren bestehendes, Protein über die ϵ -NH₂-Gruppe einer Lysin-Seitenkette an das Zielprotein. Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass mindestens vier Ubi-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	5561
2. Das Proteasom-Ubiquitin-System	5561
3. Naturstoffe als Proteasom-Inhibitoren	5563
4. Proteasom-Inhibitoren im klinischen Einsatz	5565
5. Peptid-Aldehyde	5566
6. Boronsäuren	5568
7. Epoxyketone	5569
8. Cyclische Peptide	5572
9. Beta-Lactone	5576
10. Vinylsulfone	5583
11. Makrolactone und cyclische Amide	5584
12. TMC-95 A/B	5587
13. Zusammenfassung	5593

quitin-Moleküle notwendig sind, um das Abbausignal zu erzeugen.^[10] Während der allgemein akzeptierte Mechanismus die repetitive Anknüpfung von individuellen Ubiquitininen vorschlägt, gibt es in letzter Zeit vermehrt Hinweise darauf, dass auch die Übertragung von ganzen Polyubiquitinketten an das Zielprotein möglich ist.^[11] Im Zuge der Polyubiquitierung aktiviert die Ligase E1 eine C-terminale Glycineinheit durch Adenylierung, die wiederum in einen Thioester überführt wird (Schema 1). Die darauf folgende Umesterung erzeugt das entsprechende E2-Ubiquitin-Konjugat. Schließlich steuert die Ligase E3 das Zielprotein an und überträgt das aktivierte Ubiquitin der Ligase E2 bevorzugt auf die ϵ -NH₂-Gruppe in der Seitenkette von Lysin durch eine Isopeptidbindung. Diese Sequenz wird wiederholt, bis ein ausreichender Grad an Ubiquitinierung erreicht wurde, und nutzt dabei jeweils ein Lysin des vorhergehenden Ubiquitins

[*] Dr. A. Rentsch, Dr. D. Landsberg, Dr. T. Brodmann, Dr. L. Bülow, Dr. A.-K. Girbig, Prof. Dr. M. Kalesse
Institut für Organische Chemie und Biomolekulare Wirkstoffzentrum (BMWZ), Leibniz Universität Hannover
Schneiderberg 1B, 30167 Hannover (Deutschland)
und
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI)
Inhoffenstraße 7, Braunschweig (Deutschland)
E-Mail: Markus.Kalesse@oci.uni-hannover.de



Schema 1. Mechanismus der Ubiquitinierung.

(in aller Regel Lys48) zur Erzeugung der oben erwähnten Isopeptidbindung.

2.1. Struktur und biologische Funktion

Das 26S-Proteasom ist der für den Ubiquitin-abhängigen Abbau von Proteinen verantwortliche Komplex.^[12] Die

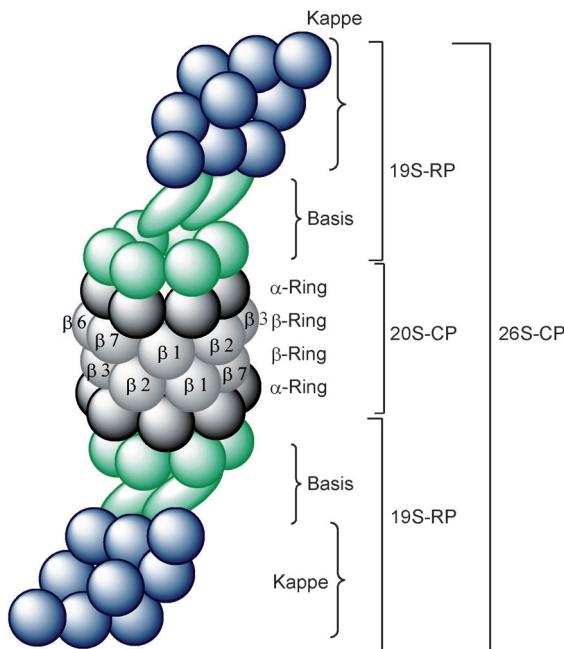


Abbildung 1. Aufbau des 26S-Proteasoms.



Markus Kalesse promovierte 1991 an der Leibniz Universität Hannover bei Prof. D. Schinzer. Nach zwei Postdoktoraten bei Prof. S. D. Burke und Prof. L. L. Kiessling an der Universität Wisconsin/Madison habilitierte er sich an der Universität Hannover (1997) im Umfeld von Prof. E. Winterfeldt. Er wurde C3-Professor an der Freien Universität Berlin und folgte 2003 einem Ruf auf eine C4-Professur an die Universität Hannover. Im Jahr 2005 wurde er außerdem zum Direktor am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig berufen. Prof. Kalesse war Novartis-Lecturer 2004/2005; seine Forschungsinteressen umfassen Naturstoffsynthese, asymmetrische Katalyse und medizinische Chemie.

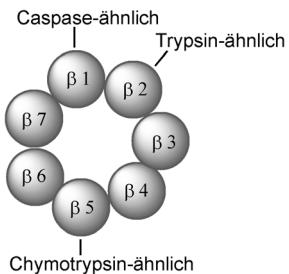


Abbildung 2. Anordnung der katalytisch aktiven Untereinheiten innerhalb des β-Rings.

Kernstruktur ist ein zylinderförmiger Körper, die 20S-Einheit (Abbildung 1), die aus vier übereinander gestapelten Ringen besteht (α- und β-Ringe). Jedes dieser Ringsysteme besteht wiederum aus sieben unterschiedlichen Untereinheiten, unter denen sich die katalytisch aktiven Zentren befinden (Abbildung 2). Beide Enden der 20S-Einheit sind mit Kappen (19S-Einheiten) versehen. Diese 19S-Einheiten enthalten regulatorische Funktionen und verfügen über sowohl Polyubiquitin-Bindestellen zur Erkennung der Substrate als auch Isopeptidase-Aktivitäten. Sechs unterschiedliche ATPasen sind für die Entfaltung der Proteine verantwortlich und öffnen einen Kanal innerhalb der α-Ringe der 20S-Untereinheit. Somit können denaturierte und polyubiquitiinierte Proteine an die katalytischen Untereinheiten gelangen. Diese Untereinheiten weisen Chymotrypsin-ähnliche, Trypsin-ähnliche und Caspase-ähnliche proteolytische Aktivitäten auf.^[13] Im Vorfeld des Abbaus muss die Polyubiquitinkette an der 19S-Einheit entfernt werden. Bei der proteolytischen Spaltung wirkt in allen drei katalytischen Untereinheiten die Hydroxygruppe eines N-terminalen Threonins als Nukleophil (Abbildung 3). An dieser Stelle möchten wir für eine detailliertere Beschreibung der Funktion des Proteasoms sowie der Wirkweise von Inhibitoren auf die exzellenten Übersichtsartikel von Groll,^[14] Kloetzel,^[15] Crews,^[16] Kisseelev,^[17] Moroder^[18] und Tsukamoto verweisen.^[19]

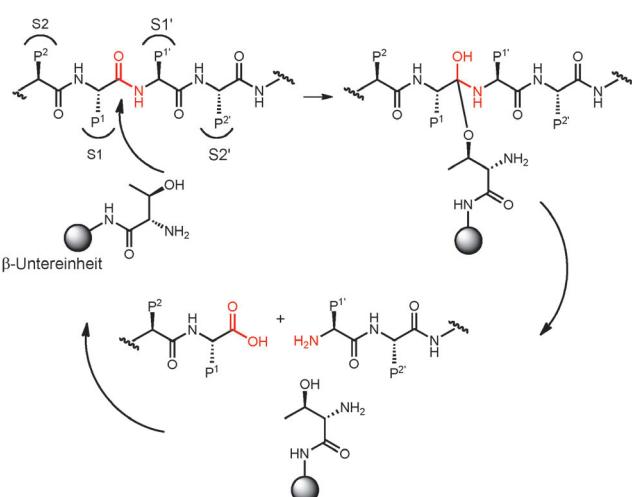


Abbildung 3. Mechanismus der katalytischen Spaltung durch die β-Untereinheiten des Proteasoms.

2.2. Das Proteasom als Zielstruktur für Antitumorsubstanzen

Da das Proteasom eine ausschlaggebende Rolle für nahezu alle zellulären Prozesse spielt, wurde lange Zeit angezweifelt, dass ein solch zentrales Protein sich überhaupt für einen Therapieansatz eignet. Die meisten zellulären Prozesse sind wiederum stark reguliert, und bereits kleinere Änderungen in der Protein-Homöostase führen oft zu signifikanten biochemischen Änderungen. Für den hier vorliegenden Fall würde es bedeuten, dass eine Proteasom-Inhibition, die zu einer Restaktivität zwischen 40 und 60 % führt, sehr wohl die gewünschten Effekte hervorrufen kann, ohne gleichzeitig unspezifische cytotoxische Nebenwirkungen zu verursachen. Dieser Zusammenhang wurde bei der Untersuchung des Proteasom-Inhibitors Argyrin offensichtlich. Argyrin reduziert die proteasomale Aktivität, ohne signifikante cytotoxische Nebenwirkungen zu verursachen. Gleichzeitig führt Argyrin zur Stabilisierung der Konzentrationen des Cyclin-kinase-Inhibitors p27^{kip1} und induziert damit selektiv die Apoptose in Tumorzellen.^[20] Weiterhin zeigen Tumorzellen eine höhere proteasomale Aktivität als nichttransformierte Zellen und reagieren damit empfindlicher auf Proteasom-Inhibitoren.^[21] Diese Tatsache wird mit dem aktiveren Metabolismus, dem höheren oxidativen Stress und dem Wirken von Cytokinen und Wachstumsfaktoren in Zusammenhang gebracht.

3. Naturstoffe als Proteasom-Inhibitoren

In diesem Aufsatz wollen wir die Synthesen der wichtigsten Proteasom-Inhibitoren beschreiben. Aufgrund der stetig zunehmenden Zahl neuartiger Inhibitoren ist es unmöglich, tatsächlich alle Synthesen im Detail zu behandeln. Da wir aber ein möglichst umfassendes Bild der unterschiedlichen Substanzklassen wiedergeben möchten, werden die Verbindungsklassen, deren Synthesen nicht explizit beschrieben werden, in einer Übersicht zusammengefasst.^[22]

Oxygenierte Steroide (Abbildung 4) stellen eine Klasse von Proteasom-Inhibitoren dar, von der die Withaferine (**1**, **2**)^[23] die bekanntesten Vertreter sind. Sie wurden aus dem „indischen Ginseng“, auch „Winterkirsche“ (*Withania somnifera*) genannt, isoliert. Diese Heilpflanze wird in der traditionellen indischen Heilkunst Ayurveda verwendet und die Antitumoraktivität wird zum Teil der Inhibition der Chymotrypsin-ähnlichen Aktivität (CT-L) zugeschrieben. Dazu kann die Threonin-Hydroxygruppe beide Michael-Akzeptoren angreifen.^[24] Als potente Verbindungen werden auch oft die Physaline (**3**)^[25] genannt, obwohl sie keine inhibitorische Aktivität gegenüber dem gereinigten Proteasom aufweisen. Celastrol (**4**)^[26] wurde als aktive Komponente aus der Wurzel eines in der traditionellen Chinesischen Medizin (TCM) verwendeten Strauchs, der Wilfordschen Dreiflügelfrucht (*Tripterygium wilfordii*), isoliert. Es inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche Aktivität des 20S-Proteasoms in mikromolaren Konzentrationen ($IC_{50}=2.5 \mu\text{mol L}^{-1}$) und führt zur Akkumulation der natürlichen Substrate wie etwa IκB-A, Bax und p27.

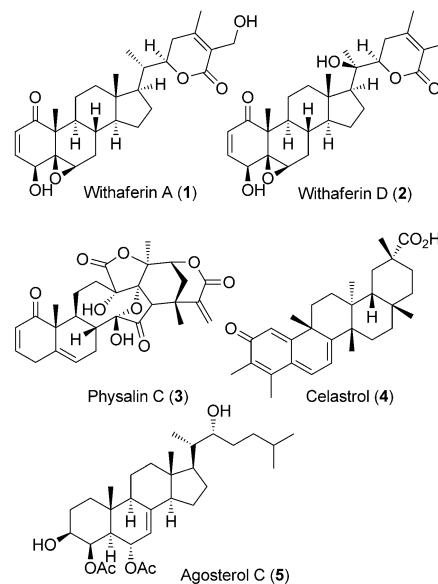


Abbildung 4. Oxygenierte Steroide als Proteasom-Inhibitoren.

Die Agosteroide^[27] sind eine Gruppe von sieben polyhydroxierten Steroiden, die aus dem marinen Schwamm *Actanthodendrilla* sp. isoliert wurden. Von ihnen wurde berichtet, dass sie der Resistenzentwicklung in Tumoren entgegenwirken. Die aktivste Verbindung, das Agosterol C (**5**) inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche Untereinheit mit einem IC_{50} -Wert von $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Epigallocatechingallat (EGCG, **6**) ist ein aktiver Inhaltsstoff des grünen Tees und einer der prominentesten phenolischen Proteasom-Inhibitoren.^[28] Broussonin B (**7**), 7-Hydroxy-3-(4-hydroxybenzyl)chroman (**8**) und *cis*-Hinokiresinol (**9**) wurden aus Extrakten von *Anemarrhena rhizoma* isoliert und weisen eine moderate Inhibition der Chymotrypsin-ähnlichen Untereinheit auf (Abbildung 5).^[29]

Chen et al. untersuchten die planzlichen Flavonoide Apigenin (**10**), Chrysin und Luteolin auf ihre Fähigkeit, das Proteasom zu inhibieren. Dabei wurde gefunden, dass alle drei Verbindungen spezifisch die Chymotrypsin-ähnliche und Trypsin-ähnliche Untereinheiten inhibieren.^[30] Das aus Soja isolierte Isoflavon Genistein (**11**) inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche (CT-L) Aktivität bei gleichzeitiger Apoptose solider Tumore.^[31,32] Dreiseitl et al. untersuchten die Anthocyanine und Anthocyanidine und fanden, dass speziell Pelargonidin (**12**) ein spezifischer Inhibitor der CT-L-Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von $7.8 \mu\text{m}$ ist (Abbildung 5).^[33]

Der Pilzmetabolit Gliotoxin (**13**) entfaltet seine antiproteasomale Aktivität mithilfe einer Disulfidbrücke.^[34] Dieser Befund wurde durch die Tatsache evident, dass die nicht-kompetitive Inhibition durch die Gabe von Dithiothreitol rückgängig gemacht werden kann. Das Aclacinomycin (**14**) (Aclarubicin)^[35] war der erste nichtpeptidische Proteasom-Inhibitor, der spezifisch die Chymotrypsin-ähnliche Aktivität adressierte.^[36] Weiterhin wurde gefunden, dass beide, sowohl das Aglycon als auch das Kohlenhydrat, essenziell für die biologische Aktivität sind. Der marine Naturstoff Petrosa-spongolid M (**15**) inhibiert die Caspase- und Chymotrypsin-

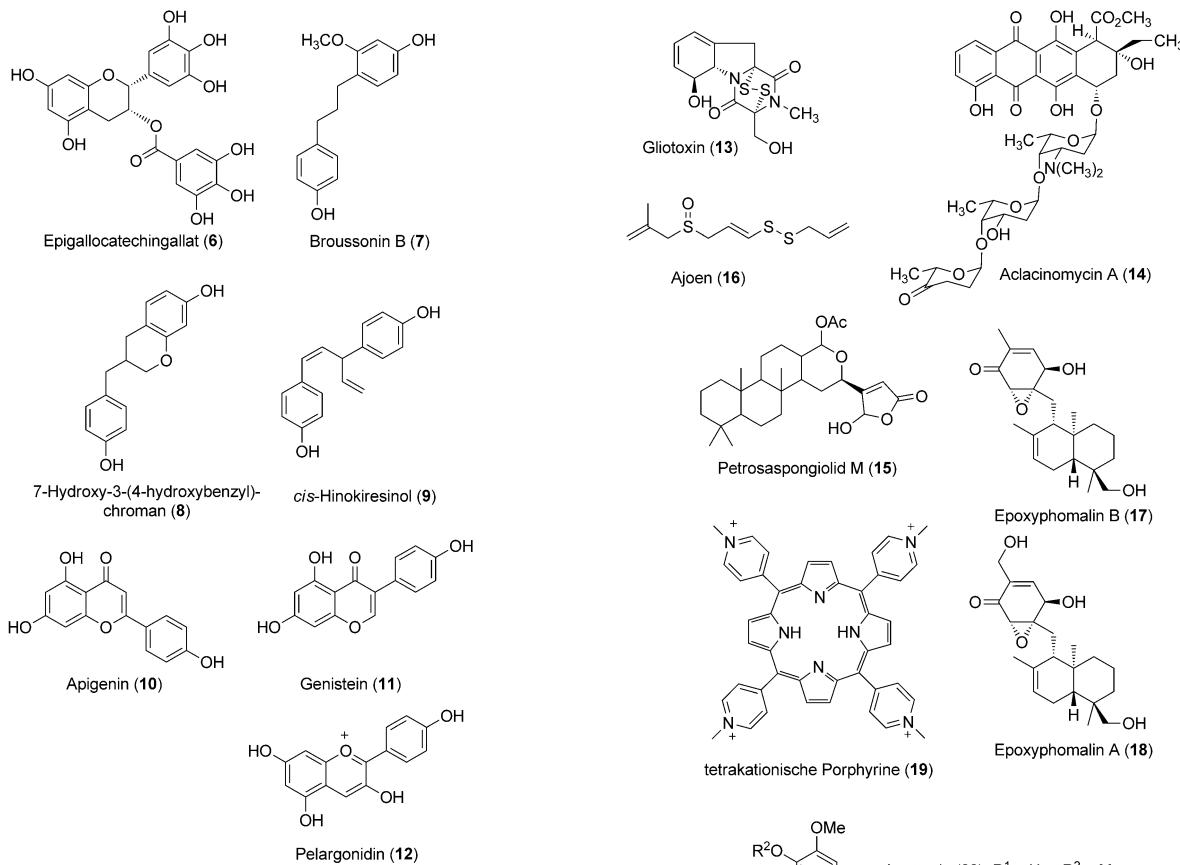


Abbildung 5. Proteasom-Inhibitoren vom Flavonoid- und Chroman-Typ.

ähnliche Aktivität mit IC_{50} -Werten von $0.85 \mu\text{M}$ und $0.64 \mu\text{M}$.^[37] Auf der anderen Seite wird die Trypsin-ähnliche Aktivität induziert, ein Phänomen, das bereits früher für andere Inhibitoren der Caspase-ähnlichen Einheit beobachtet wurde.^[38] Ajoen (16), der Hauptbestandteil schwefelhaltiger Verbindungen im Knoblauch, inhibiert die Trypsin-ähnliche Einheit des Proteasoms.^[39] Die Epoxyphomalone A (18) und B (17) wurden aus dem marinen Pilz *Phoma* sp. isoliert und entfalten cytotoxische Aktivität in nanomolaren Konzentrationen. Beide Verbindungen zeigen aber unterschiedliche Selektivitäten in Bezug auf die katalytischen Untereinheiten des Proteasoms. Epoxyphomalin A (18) führt zu etwa gleichmäßiger Reduktion der Aktivitäten, wohingegen Epoxyphomalin B (17) bevorzugt die Chymotrypsin-ähnliche Untereinheit inhibiert.^[40] Purrello und Milardi verwendeten tetrakationische Porphyrine (19) und deren Metallkomplexe zur Inhibierung des Proteasoms. Die aktivste Verbindung (19, Abbildung 6) zeigt die Inhibition aller drei Untereinheiten, vergleichbar mit der Aktivität von Lactacystin (160).^[41] Die Aaptamine (20–22) (Abbildung 6) wurden aus dem marinen Schwamm *Aaptos suberitoides* isoliert und inhibieren die Chymotrypsin-ähnliche Untereinheit mit IC_{50} -Werten von $1.6\text{--}4.6 \mu\text{g mL}^{-1}$.^[42] Die Cerpepine (23, 24) wurden aus der Pflanze *Ceropagia juncea* isoliert und als potenzielle Struktur zur Behandlung von Entzündungsprozessen, Tumorerkrankungen, als Analgetikum und zur Behandlung von Geschwüren untersucht. Die Gruppe um

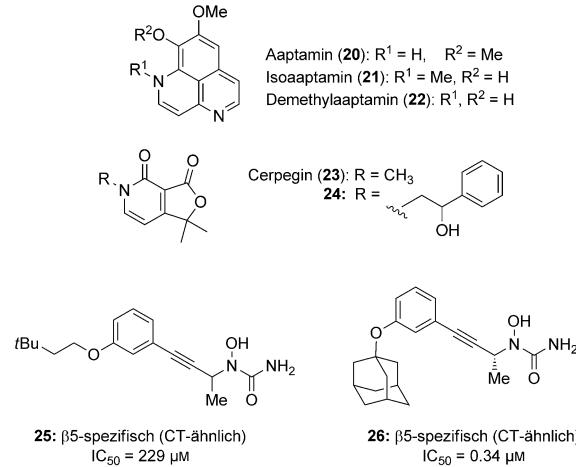


Abbildung 6. Verschiedene Proteasom-Inhibitoren.

Bouvier-Durand et al. studierte die Proteasom-inhibitorische Aktivität dieser Pyridin-Alkaloide und identifizierte daraufhin ein Derivat, das eine selektive Inhibition der Caspase-ähnlichen Untereinheit erzielte ($5.2 \mu\text{M}$).^[43] Erst kürzlich berichteten Groll und Mitarbeiter über Hydroxyharnstoffe als potente Inhibitoren des Proteasoms.^[44] Im Zuge eines Screeningprogramms, das mit Bayer CropScience zur Identifizierung von $\beta 5$ -spezifischen Inhibitoren durchgeführt wurde, zeigte Harnstoffderivat 25 die gewünschte spezifische Aktivität mit einem IC_{50} -Wert im oberen μM -Bereich (keine Inhibition der C- und T-ähnlichen Aktivität). Die anschließend durchgeführte Röntgenstrukturanalyse deckte dabei das spezifische nichtkovalente Bindungsmotiv auf. Anschließend durchgeführte Strukturoptimierungen lieferten dann 26, das ein starker

und selektiver Inhibitor der β 5-Untereinheit ist und zudem ein neuartiges Bindungsmotiv darstellt.

4. Proteasom-Inhibitoren im klinischen Einsatz

Bortezomib (**27**) ist aktuell eines der wichtigsten Medikamente zur Behandlung des multiplen Myeloms (MM). Konsequenterweise hat das zur Weiterentwicklung dieser Therapiemöglichkeit geführt, und vier weitere Verbindungen aus drei Substanzklassen werden gegenwärtig in klinischen Untersuchungen evaluiert. Eine kurze Diskussion soll deren gegenwärtigen Entwicklungsstand sowie mögliche Vorteile gegenüber existierenden Therapien widerspiegeln.^[45, 46]

Bortezomib (**27**), wurde ursprünglich als PS-341 bezeichnet und wird als erster Vertreter der Proteasom-Inhibitoren unter dem Namen Velcade von Millennium Pharmaceuticals vermarktet.^[47] Die Erstzulassung für den amerikanischen Markt erfolgte 2003, und ein Jahr später wurde die Zulassung für den europäischen Markt erhalten.^[48] Die Verbindung wird zur Behandlung des multiplen Myeloms und des Mantelzellymphoms eingesetzt. Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass in Kombinationen mit etablierten Antitumorverbindungen, wie etwa Lenalidomid-Dexamethason (**34**, **35**) eine substanzielle Verbesserung bei der Behandlung von Patienten erzielt wird.^[49] Überraschend ist die Tatsache, dass Epigallocatechingallat (EGCG, **6**), der bereits erwähnte Proteasom-Inhibitor aus dem grünen Tee, keine synergistischen Effekte mit Bortezomib aufweist, sondern vielmehr zu einer reduzierten Wirkung von Bortezomib führt.^[50] Ein oral verfügbarer Inhibitor der zweiten Generation wurde ebenfalls von Millennium entwickelt. MLN-9708 (**28**) ist ein Inhibitor der Chymotrypsin-ähnlichen Untereinheit mit IC_{50} - und K_i -Werten von 3.4 nm bzw. 0.93 nm.^[51] Im Unterschied zu Bortezomib (**27**), das subkutan angewendet wird, ist MLN-9708 (**28**) ein Prodrug: Die verabreichte Form (**28**) ist ein Citrat-ester, aus dem durch Hydrolyse die zugrundeliegende Verbindung MLN-2238 (**30**) freigesetzt wird. Gegenwärtig werden neue Verbindungen oder Präparatekombinationen in elf klinischen Phasen untersucht. Erst im Juni 2012, hat Takeda Pharmaceutical Company eine klinische Phase III initiiert, in der der Vorteil von MLN-9708 (**28**) für Patienten mit Rezidiv und/oder refraktärem multiplen Myelom untersucht werden soll. Weitere klinische Untersuchungen haben die Aufgabe, die Kombination mit etablierten Medikamenten wie Dexamethason (**35**), Lenalidomid (**34**), Melphalan oder Prednison zu bewerten (Abbildung 7).

Eine weiteres Boronat ist Delanzomib (CEP-18770, **29**), das als spezifischer Inhibitor der Chymotrypsin-ähnlichen Untereinheit mit einem IC_{50} -Wert von 3.8 nm wirkt.^[52] CEP-18770 (**29**) wurde von Ethical Oncology Science in eine klinischen Phase I eingebbracht. Cephalon untersucht in zwei aktiven Phase-I/II-Studien das Gesamtansprechen auf CEP-18770-Behandlungen dessen maximal tolerierte Dosis sowie Sicherheit und Wirksamkeit in Kombinationen mit Lenalidomid und Dexamethason bei Patienten mit Rezidiv und/oder refraktärem multiplen Myelom.

Carfilzomib (PR-171, **32**)^[53] ist eine Variante von Epoxomicin (**47**) und wurde zunächst von Proteolix Inc. und später

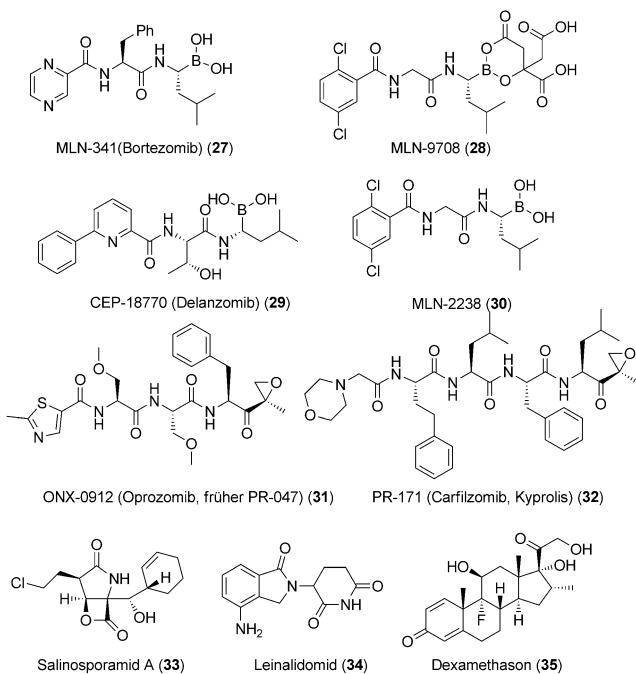


Abbildung 7. Proteasom-Inhibitoren in klinischer Anwendung und Verbindungen, die in Kombinationstherapien eingesetzt werden (**34**, **35**).

von Onyx Pharmaceuticals entwickelt. Insgesamt laufen 15 klinische Studien oder sie rekrutieren Patienten. Eine Studie wurde bereits abgeschlossen und von einer weiteren ist der aktuelle Status nicht bekannt. Carfilzomib (**32**) entfaltet seine biologische Aktivität als irreversibler spezifischer Inhibitor der Chymotrypsin-ähnlichen Untereinheit. Weiterhin zeigt die Verbindung eine im Vergleich zu Bortezomib höhere Toxizität gegen RPMI-8226-Zellen (multiples Myelom: PR-171 71 nmol L⁻¹ vgl. Bortezomib 303 nmol L⁻¹). Im Januar 2011 erteilte die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) Carfilzomib (**32**) den „Fast-track“-Status, der im Dezember 2011 in einen „Standard-review“-Prozess abgeändert wurde. Am 20. Juni 2012 teilte Onyx Pharmaceuticals mit, dass das Oncologic Drugs Advisory Committee (ODAC) der FDA Kyprolis (vorgeschlagener Handelsname für Carfilzomib) eine positive Bewertung der Risiko-Nutzen-Beurteilung für Patienten mit Rezidiv oder refraktärem multiplen Myelom abgegeben hat. Die Patienten sollten bereits zuvor mit zwei Therapiearten (Proteasom-Inhibitor und immunmodulatorische Substanz) behandelt worden sein. Nur kurze Zeit später, am 20. Juli 2012, erteilte die FDA dann Kyprolis die Zulassung zur Behandlung von Patienten, die vorher mit Bortezomib (**27**) und einer immunmodulatorischen Substanz wie Thalidomid behandelt wurden (Abbildung 7).

Im Zuge der Weiterentwicklung von Proteasom-Inhibitoren startete Onyx bereits klinische Studien mit einem oral verfügbaren Epoxyketon der zweiten Generation (ONX-0912, Oprozomib, früher PR-047 genannt; **31**). Diese Verbindung soll die bisherigen Einschränkungen von Carfilzomib (**32**) und Bortezomib (**27**), die als intravenöse Formulierungen verabreicht werden, aufheben. Das Ziel ist es dabei, to-

xische Effekte zu vermeiden und Resistenzentwicklungen entgegenzuwirken.^[54]

Der marine Naturstoff Salinosporamid A (33) inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche Untereinheit mit einem IC_{50} -Wert von 1.3 nm. Diese von Nereus entwickelte Verbindung die unter dem Namen Marizomib (NPI-0052, Salinosporamid; 33) geführt wird, befindet sich gegenwärtig in klinischen Studien der Phase I für Patienten mit fortgeschrittenen Tumoren (Abbildung 7).

5. Peptid-Aldehyde

Bereits vor der Entdeckung des Proteasom-Ubiquitin-Systems waren Peptid-Aldehyde als Inhibitoren von Serin- und Cystein-Proteasen bekannt. Daher ist es rückblickend nicht überraschend, dass Peptid-Aldehyde auch zu den ersten Proteasom-Inhibitoren gehörten.^[55] Die heutzutage am meisten genutzten Peptid-Aldehyde sind MG-132 (36; Cbz-Leu-Leu-CHO), MG-115 (37; Cbz-Leu-Leu-Nva-CHO), ALLN (38; N-Acetyl-Leu-Leu-Nle-CHO) und PSI (39; Abbildung 8). Kürzlich berichteten Kloetzel und Schmidt über BSc-2118 (40),^[56] einen Peptid-Aldehyd-Inhibitor, der seine tumorspezifische Toxizität mit einer mittleren therapeutischen Breite von 26.5 (MTT-Toxizitätsassay) entfaltet (Abbildung 8).

Eine weitere Gruppe von Peptid-Aldehyden sind die Fellutamide A und B (42, 43),^[57] die aus dem Fisch-assoziierten Pilz *Penicillium fellutanum* isoliert wurden. Fellutamid B (43) inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche Untereinheit mit einem IC_{50} -Wert von 9.4 nm deutlich stärker als MG-132 (36; 40 nm) und ist vergleichbar wirksam wie Epoxomicin (47; 5.7 nm). Die strukturbiologische Aufklärung der Bindungseigenschaften am 20S-Proteasom der Hefe zeigte, dass die Hydroxygruppe des Halbacetals eine Wasserstoffbrücke zum Thr1-N-Terminus bildet und damit von der oft beobachteten Stabilisierung durch die Oxyanionen-Tasche abweicht. Kürzlich konnte für Tyropeptin A (41) (*Kitasatospora* sp.) gezeigt werden, dass es die Chymotrypsin-ähnliche und Trypsin-ähnliche Untereinheit mit IC_{50} -Werten von 0.1 bzw. 1.5 μM^{-1} inhibiert.^[58] Im Zuge der Synthese von größeren Mengen optimierter Verbindungen erhielten Momose et al. die Tyropeptin-A-Analoga^[59] TP-104 (44) und TP-110 (45)^[60] (Abbildung 8). TP-104 (44) inhibiert das Proteasom 20-fach stärker als die Ausgangsverbindung, während TP-110 (45) spezifisch die Chymotrypsin-ähnliche Aktivität inhibiert. Das Peptid-Semicarbazone S-2209 (46) stellt eine weitere Variation der Peptid-Aldehyd-Klasse dar. Die Verbindung induziert einen Zellzyklusarrest im multiplen Myelom und inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche Aktivität des Proteasoms mit IC_{50} -Werten von ungefähr 220 nm.^[61]

Alle Peptid-Aldehyde tragen sterisch anspruchsvolle Seitenketten an der P1-Position und inhibieren daher vornehmlich die Chymotrypsin-ähnliche Aktivität. Ihre inhibitorischen Effekte werden durch die reversible Bildung eines Halbacetals erzielt (Schema 2).

Dieser Mechanismus wurde durch eine Röntgenstrukturanalyse von ALLN (38) bestätigt, welches an das entsprechende Threonin gebunden ist.^[62] Weiterhin stellen die Ke-

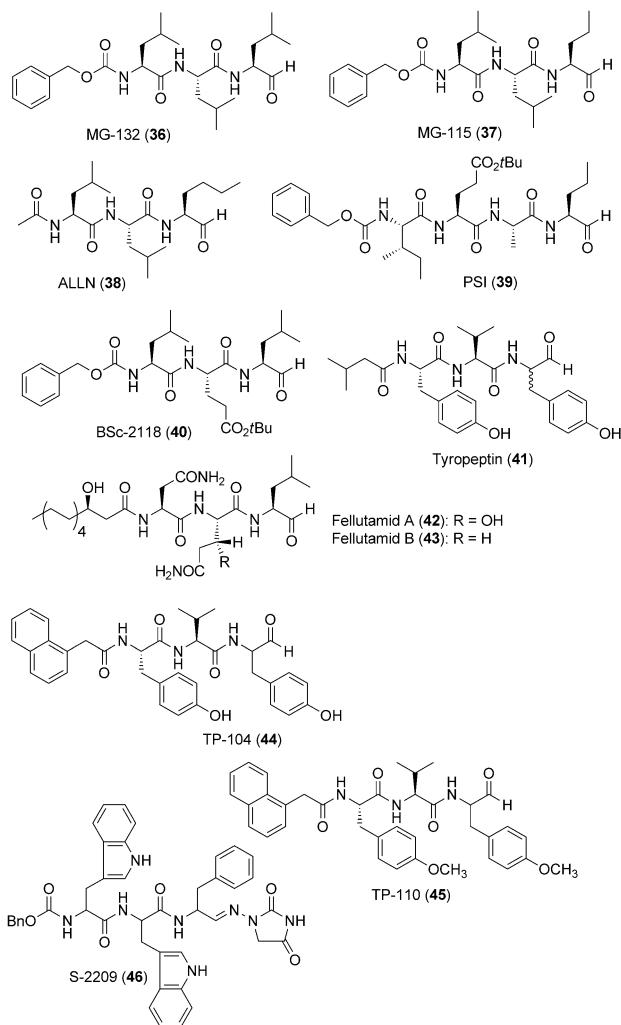
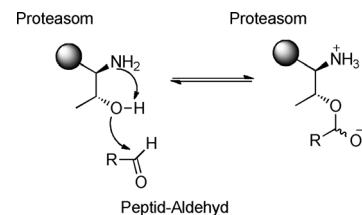


Abbildung 8. Peptid-Aldehyde als Proteasom-Inhibitoren.



Schema 2. Vorgeschlagener Mechanismus der Proteasom-Inhibition durch Peptid-Aldehyde.

toaldehyde eine strukturelle Verbindung zwischen den Peptid-Aldehyden und Epoxyketonen dar (z. B. Epoxomicin, 47; Abbildung 9).^[63]

5.1. Synthese von Peptid-Aldehyden

Proteasom-Inhibitoren aus der Klasse der Peptid-Aldehyde bestehen in der Regel aus drei Aminosäuren. Daher werden auch häufig Konzepte und Reagenzien der klassischen

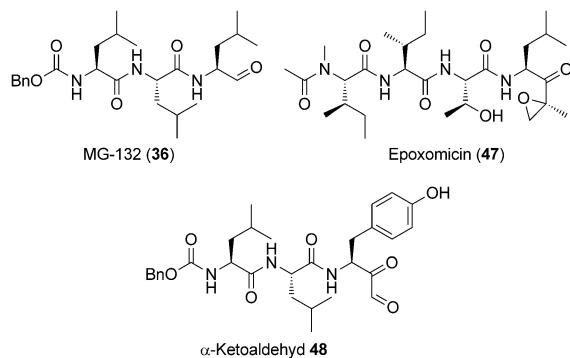
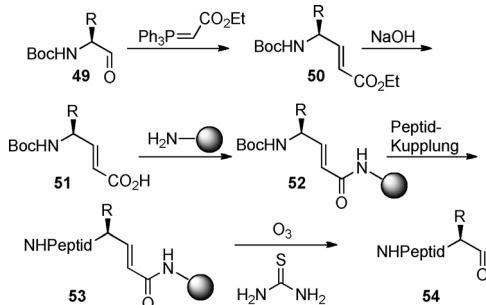


Abbildung 9. α -Ketoaldehyde als verbindendes Strukturelement zwischen Peptid-Aldehyden und Epoxyketonen.

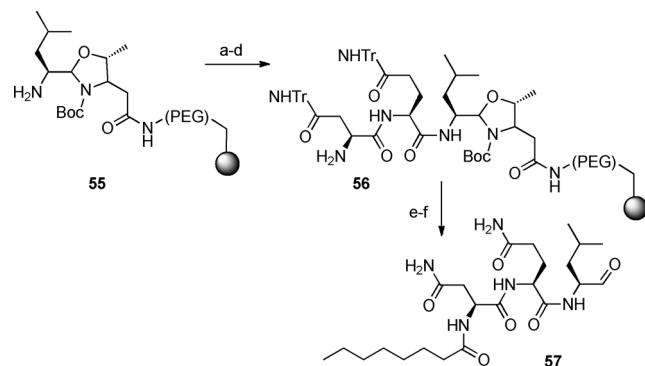
Peptidsynthese wie BOP, PyBrop, DCC und EDC eingesetzt.^[64] Eine größere Herausforderung stellt die Erzeugung enantiomerenreiner Aldehyde dar. Da α -chirale Aldehyde prinzipiell leicht epimerisieren, stehen hier besonders milde Reaktionsführungen und Aufarbeitungsbedingungen im Vordergrund. Dazu wurden zwei generelle Strategien entwickelt.^[65] Die erste Strategie nutzt die Festphasensynthese und ersetzt die C-terminale Carbonsäure- oder Aldehydfunktion durch ein Olefin. Nach der ersten Anknüpfung an das Polymer folgt eine eher klassische Festphasensynthese, an deren Ende der Aldehyd durch eine Oxidation freigesetzt wird. In Schema 3 wird diese Strategie durch eine Wittig-Reaktion ermöglicht.^[66] Durch eine Ozonolyse gefolgt von Aufarbeitung mit Thioharnstoff wird das fertige Peptid als Aldehyd von der festen Phase abgelöst.



Schema 3. Festphasen-Peptidsynthese zum Aufbau von Peptid-Aldehyden.

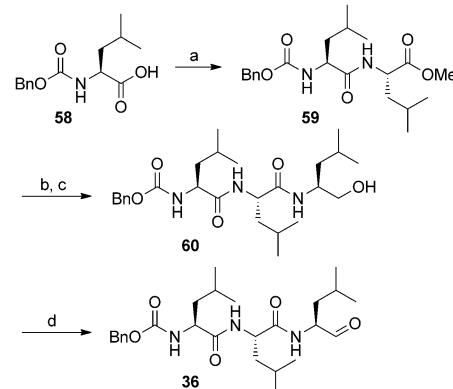
Ein alternativer Zugang wurde von Crews et al. entwickelt. Die Gruppe nutzte für die Synthese von Fellutamid und dessen Analoga eine mit Leucinal beladene feste Phase. Die milden Bedingungen der Abspaltung ermöglichen die Synthese des Peptid-Aldehyds ohne Racemisierung (Schema 4).^[67]

Die zweite Strategie folgte einer Peptidkupplungsstrategie, die vom N-Terminus her beginnt. Damit kann der Aldehyd am Ende der Synthese eingeführt werden, und Peptid-Amide wie das Weinreb-Amid, Ester oder Alkohole werden als Vorstufen des Aldehyds eingesetzt. Basierend auf dieser Vorgehensweise konnte MG-132 ausgehend von Cbz-geschütztem Leucin (58), Leucinmethylester und Leucinol



Schema 4. Aminal-Schutzgruppenstrategie. Reagentien und Bedingungen: a) Fmoc-Gln(Trt)-OH, HBTU, HOBT; b) Piperidin, DMF; c) Fmoc-Asn(Trt)-OH, HBTU, HOBT; d) Piperidin, DMF; e) Octansäure, HBTU, HOBT; f) TFA/MeCN/H₂O 0.1:40:60.

hergestellt werden (Schema 5).^[58,59] IBX-Oxidation gefolgt von wässriger Aufarbeitung unter neutralen Bedingungen lieferte schließlich den Aldehyd 36 ohne Anzeichen von Epimerisierung.



Schema 5. Synthese von MG-132 (36). a) HCl-Leu-OMe, PyBOP, iPr₂NEt, CH₂Cl₂, RT, 68%; b) NaOH, H₂O/MeOH/Dioxan, RT, 92%; c) Leucinol, EDAC, HOBT, Et₃N, RT, 90%; d) IBX, DMSO, RT, quant.

Die Vorteile von Peptid-Aldehyden sind sicherlich der etablierte Zugang zu dieser Verbindungsklasse und die Möglichkeit, über automatisierte Synthesen einen schnellen Zugang zu optimierten Verbindungen zu erhalten. Ein didaktisches Beispiel ist in diesem Zusammenhang der Umbau des Calpain-Inhibitors ALLN (38) zu einem selektiven Proteasom-Inhibitor (MG-132, 36). ALLN ist einer der ersten Proteasom-Inhibitoren mit einer Präferenz für Calpain. Die Bindungseigenschaften sind durch eine eher mäßige Dissoziationskonstante gekennzeichnet ($K_i = 140$ nm).^[70] Dagegen inhibiert MG-132 das Proteasom mit einem K_i -Wert von 4 nm^[71] und benötigt eine mehr als 10-fach höhere Konzentration für die Inhibition von Calpain.^[72] Aufgrund ihrer geringen Herstellungskosten, kommerziellen Zugänglichkeit und des reversiblen Bindungscharakters sind die Peptid-Aldehyde auch wichtige Werkzeuge für die Zellbiologie. Ihre Nachteile sind die relativ hohe Dissoziationskonstante, die

geringe metabolische Stabilität und geringe Bioverfügbarkeit. Weiterhin sind Nebenreaktionen mit anderen Proteasen ein grundsätzliches Problem. Aus diesem Grund wurden die Peptid-Aldehyde weiterentwickelt, indem als neue pharmakophore Gruppe anstelle der Aldehyd- eine Boronsäurefunktion eingeführt wurde.

6. Boronsäuren

Der Austausch der Aldehyd- gegen eine Boronsäurefunktion verbessert die Eigenschaften eines Proteasom-Inhibitors, was durch den Vergleich der beiden Verbindungen MG-132 (36) und MG-262 (Z-Leu-Leu-Leu-B(OH)₂, **61**) eindrucksvoll gezeigt werden konnte (Abbildung 10). MG-

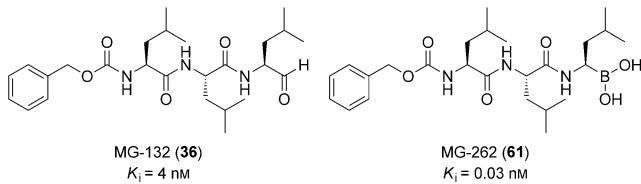


Abbildung 10. Vergleich von MG-132 (36) mit MG-262 (61).

262 (**61**) ist ein 100-fach stärkerer Proteasom-Inhibitor. Generell kann man feststellen, dass Boronsäuren das 20S-Proteasom durch Bildung eines nichtkovalenten tetraedrischen Intermediates inhibieren. Diese Wechselwirkung wird durch die Wechselwirkung der p-Orbitale am Lewis-aciden Boratom mit den Elektronenpaaren am N-terminalen Threonin-OH gekennzeichnet (Abbildung 11). Eine zusätzliche Stabilisierung wird durch die Bildung einer Salzbrücke zwischen der Boronsäure und der Aminogruppe erzielt.^[73]

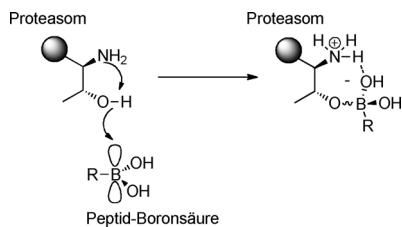
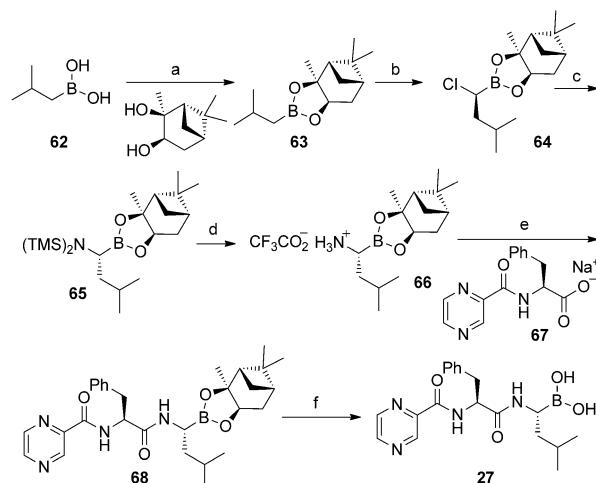


Abbildung 11. Mechanismus der Inhibition durch Boronsäuren.

Boronsäuren werden als reversible Inhibitoren beschrieben, deren Peptidkomplexe im Unterschied zu den Peptid-Aldehyden über Stunden existieren können. Ein weiterer Vorteil dieser Inhibitoren ist die Tatsache, dass Cystein-Proteasen aufgrund der schwachen Schwefel-Bor-Wechselwirkungen nicht inhibiert werden. Weiterhin konnte für Bortezomib (**27**) gezeigt werden, dass die Affinität zum 20S-Proteasom die zu anderen Proteasen übersteigt. Diese Unterschiede begründen letztlich den Erfolg von Bortezomib (**27**) als Antitumorverbindung.

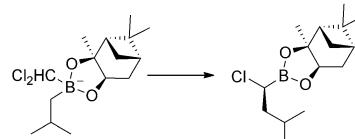
6.1. Synthese von Bortezomib

Im Zuge der Entwicklung von MG-262 (**61**) erkannten Adams et al., dass man ausgezeichnete Aktivitäten erzielen kann, wenn Dipeptid-Boronsäuren verwendet werden. Diese Arbeiten führten schließlich zur Synthese der gegenwärtig am besten charakterisierten Dipeptid-Boronsäure Bortezomib (**27**; Velcade). Die Synthese nutzt eine Umlagerungsstrategie, die von Matteson^[74,75] und Shenvi^[76] entwickelt und in Millenniums Produktion dieser Verbindung eingesetzt wurde.^[77] Kürzlich berichteten Janca und Dobrovolsky^[78] über eine leicht veränderte Route, mit der höhere Ausbeuten und verbesserte Reinheiten erzielt werden konnten (Schema 6).



Schema 6. Synthese von Bortezomib. a) Et_2O , RT, 97%; b) 1. CH_2Cl_2 , THF, LDA, -65°C ; 2. ZnCl_2 , THF, $-65^\circ\text{C} \rightarrow 10^\circ\text{C}$, 97%; c) LiHMDS, Methylcyclohexan, THF, $-20^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 92%; d) TFA, $i\text{Pr}_2\text{O}$, Methylcyclohexan, -10°C , 68%; e) TBTU, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 87%; f) $i\text{BuB(OH)}_2$, HCl (wässr.), MeOH/Hexan, RT, 80%.

Ausgehend von kommerziell erhältlicher Isobutylboronsäure (**62**) wurde die Chiralität durch Veresterung mit (+)-Pinandiol eingeführt. Eine anschließende C1-Homologisierung über die erwähnte Matteson-Umlagerung (Schema 7) liefert den Boronsäureester **64** in guten Ausbeuten und Selektivitäten.

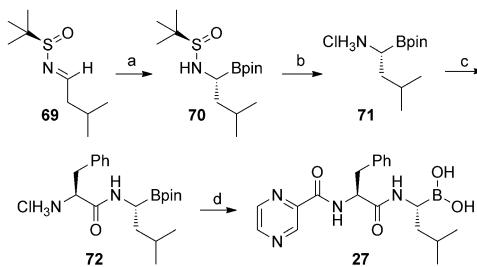


Schema 7. Matteson-Umlagerung.

Eine $\text{S}_{\text{N}}2$ -artige Substitution des Chlorids mit LiHMDS ergibt **65**. Diese wurde anschließend hydrolysiert und in das entsprechende Ammoniumsalz überführt. Das so erhaltene **66** ist durch die Möglichkeit zur Peptidsynthese und Freisetzung der Boronsäurefunktion ein häufig genutztes Intermediat in der Synthese verschiedener Peptid-Boronsäuren.^[79] Im

Fall von Bortezomib wurde die Peptidkupplung von **67** mit Hilfe von TBTU durchgeführt. Das Carboxylat **67** hingegen wurde durch Kupplung von Boc-L-Phenylalaninmethylester mit Pyrazinsäure unter Verwendung von TBTU und *iPr*₂NEt hergestellt. Die Reaktion von **68** mit Isobutylborsäure führte schließlich zur Freisetzung von **27**.

Ein alternativer Zugang zu Bortezomib (**27**) wurde von Ellman et al. berichtet (Schema 8).^[80] Dabei wurde eine asymmetrische Kupfer-katalysierte Diborylierung von Sulfinimin **69** als Schlüsselschritt eingesetzt.



Schema 8. Ellman-Synthese von Bortezomib. a) B_2pin_2 , (*Icy*) $\text{CuO}t\text{Bu}$ (kat.), Benzol, RT, 74%; b) HCl/Dioxan , MeOH , Dioxan, RT, 93%; c) 1. L-Boc-Phenylalaninmethylester, TBTU, *iPr*₂NEt, CH_2Cl_2 , 0°C; 2. HCl/Dioxan , CH_2Cl_2 , 0°C→RT; d) 1. Pyrazincarbonat, TBTU, *iPr*₂NEt, 0°C→RT; 2. *iBuB(OH)*₂, HCl (wässr.), $\text{MeOH}/\text{Pentan}$, RT; 41% (4 Stufen).

Das dabei verwendete Sulfinyl-Auxiliar ist für seine Fähigkeit bekannt, C-N-Doppelbindungen zu aktivieren und, sofern enantiomerenrein eingesetzt, die Konfiguration zu kontrollieren.^[81] Nach der Zugabe von B_2pin_2 in Gegenwart von (*Icy*) $\text{CuO}t\text{Bu}$ wird die in Schema 8 wiedergegebene Synthese durchlaufen, die **71** liefert. Hier schließen sich die für Bortezomib (**27**) etablierten Stufen an.

7. Epoxyketone

Die Epoxyketone sind eine wichtige Gruppe von Proteasom-Inhibitoren. Alle Vertreter dieser Substanzklasse verfügen über ein Peptidrückgrat aus 2 bis 4 Aminosäuren, von denen meistens eine entweder Threonin oder Serin ist, und zusätzlich über eine Epoxyketon-Einheit. Wie wir in Abschnitt 7.1 noch einmal erwähnen werden, ist die Konfiguration des Epoxids von entscheidender Bedeutung für die biologische Aktivität und damit auch hochkonserviert bei allen Vertretern dieser Substanzklasse.^[82] Der Sekundärmetabolit Epoxomicin (**47**) wurde aus einem Actinomyceten isoliert (Stamm Q996-17). Die Verbindung zeichnet sich durch eine hohe In-vivo-Antitumoraktivität gegenüber soliden B16-Melanom-Tumoren aus. Weitere Vertreter wie etwa die Antitumorverbindungen Eponemycin (**73**) und Epopromycin A (**74**) und B (**76**) wurden ursprünglich aufgrund ihrer Fähigkeit, die Zellwandsynthese von Pflanzen zu inhibieren, isoliert.^[83] Erst kürzlich berichteten Gerwick und Mitarbeiter über die Carmamycine (**77**, **78**).^[84] Dabei handelt es sich um zwei Epoxyketon-Proteasom-Inhibitoren, die aus einem marinischen Cyanobakterium isoliert wurden, und die in ihrer Sei-

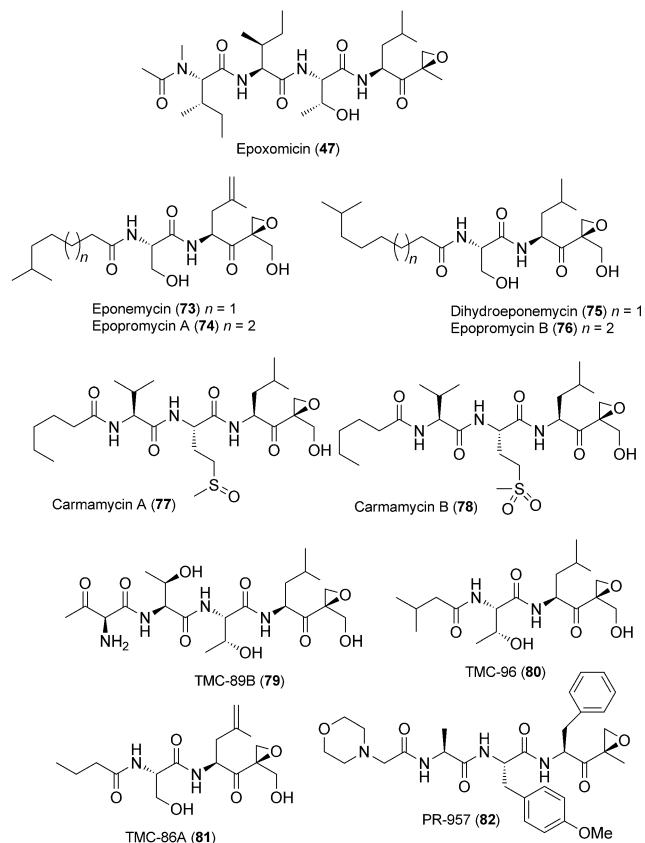


Abbildung 12. Die Familie der Epoxyketone.

tenkette entweder ein Methionin-Sulfoxid oder Methionin-Sulfon enthalten (Abbildung 12).

Die Epoxyketone TMC-96 (**80**) und TMC-86A (**81**) wurden aus *Streptomyces* TC 1084 und *Saccharothrix* sp. TC 1094 isoliert. Sie inhibieren die Chymotrypsin-ähnliche und Caspase-ähnliche Aktivität mit IC_{50} -Werten im unteren μM -Bereich (1.1–31 μM). Kürzlich nutzten Groll und Groettrup das Epoxyketon PR-957 (**82**; ONX 0914), um Unterschiede in der Spezifität zwischen dem konstitutiven Proteasom und dem Immunproteasom aufzuklären. Kristallstrukturen beider Proteasome wurden in An- und Abwesenheit von PR-957 (**82**) erhalten. Die anschließende Analyse der Strukturen zeigte, dass die S1-Tasche der βc -Untereinheit eine konformativ Änderung einging, die S1-Tasche der βi -Untereinheit hingegen nicht. Dieses Ergebnis lieferte schließlich eine Erklärung für die beobachtete Selektivität.^[85,86] Eine exzellente Analyse der Spezifität der unterschiedlichen Proteasome kann bei Groll und Huber gefunden werden.^[15a]

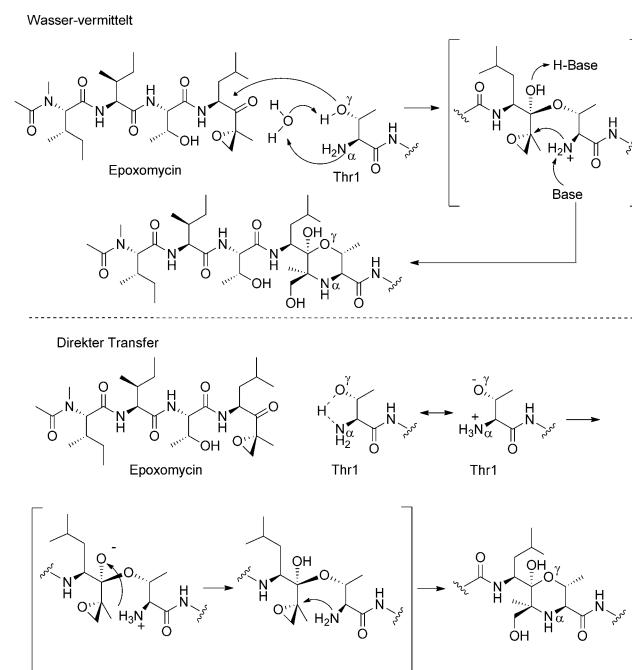
7.1. Epoxomicin 7.1.1. Wirkweise von Epoxomicin – Bildung des Morpholinadduktos

Das α,β -Epoxyketon Epoxomicin (**47**) inhibiert irreversibel die katalytische Aktivität des 20S-Proteasoms. Besonders herauszustellen ist die Tatsache, dass es keine nichtproteasomalen Proteasen hemmt, im Gegensatz zu einigen anderen Proteasom-Inhibitoren. Epoxomicin (**47**) reagiert be-

vorzugt mit der Chymotrypsin-ähnlichen Untereinheit, während das weniger aktive Eponemycin (73) und seine synthetische Variante Dihydroeponemycin (75) auch mit der Caspase-ähnlichen Untereinheit in Wechselwirkung treten.^[87]

Eine Kristallstruktur des 20S-Proteasoms aus Hefe (*S. cerevisiae*) mit Epoxomicin (47) zeigt, dass die Selektivität über die Bildung eines Morphinadduktes zwischen dem terminalen Threonin und dem Epoxyketon erklärt werden kann.^[88]

Zwei unterschiedliche Reaktionswege wurden für diese Anlagerung diskutiert. Ein hypothetischer Reaktionsweg bezieht Wasser als allgemeinen Säure-Base-Katalysator ein, der die beiden Heteroatome, Thr1-O^{γ} und Thr1-N^{γ} , in der Threonin-Seitenkette verbrückt. Dieser Weg würde zu einer Aktivierung der Thr1-O^{γ} -Gruppe und zum Angriff auf die Carbonylgruppe am Epoxomicin (47) führen.^[89] Zhan et al.^[90] führten quantenmechanische Rechnungen durch und schlugen vor, dass der wahrscheinlichste Reaktionsweg über fünf Stufen verläuft und Wasser als Reaktionspartner nicht involviert ist. Danach ist der erste Schritt ein Protontransfer von Thr1-O^{γ} direkt zu Thr1-N^{γ} , der die Nukleophilie der Threonin-Hydroxygruppe erhöht. Das dabei entstehende Zwitterion greift die Carbonylgruppe des Epoxomicins an, gefolgt von der Neutralisation der resultierenden Ladung durch Protonierung von Thr1-N^{γ} . Der Unterschied beider Wege liegt in der direkten Aktivierung der Thr1-O^{γ} -Gruppe durch Thr1-N^{γ} ohne Einbindung von Wasser (Schema 9). Als nächstes öffnet Thr1-N^{γ} das Epoxid durch eine intramolekulare Cyclisierung unter Inversion der Konfiguration an C2. Eine Wasserstoffbrücke zwischen Thr1-N^{γ} und dem Epoxid-Sauerstoffatom führt zur Epoxidaktivierung. Zusätzlich ist Ser129 der katalytischen Untereinheit in der Nähe von Thr1-N^{γ} positioniert und kann zur nukleophilen Aktivierung von Thr1-N^{γ} beitragen. Das Morphinaddukt resultiert aus einer



Schema 9. Bildung des Morphinaddukts.

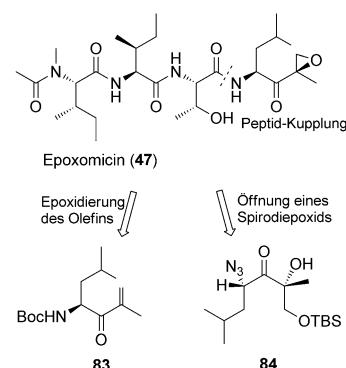
exo-tet-Cyclisierung zum Sechsring, die nach den Baldwin-Regeln ein begünstigter Prozess ist, im Gegensatz zur alternativen *endo*-tet-Cyclisierung zum Siebenring, die über die weniger gehinderte Stelle erfolgen könnte (Schema 9).

Die Bildung des Morphinaddukts ist bedeutsam, weil es die Grundlage für die beobachtete Spezifität des Epoxomicins darstellt. Andere Proteasen, wie etwa Cystein- oder Serin-Proteasen, die auch von anderen Proteasom-Inhibitoren (z.B. Peptid-Aldehyde, -Vinylsulfone und -Boronsäuren) adressiert werden können, enthalten keine N-terminale Aminosäure, die ein solches Morphinaddukt bilden könnte. Weiterhin sei an dieser Stelle festgehalten, dass eine Konformationsänderung am Epoxid die Aktivität von Epoxomicin deutlich verringert.

7.2. Die Totalsynthese von Epoxomicin

Bis zum heutigen Zeitpunkt sind zwei Totalsynthesen von Epoxomicin (47) publiziert worden. Die erste Synthese von racemischem Produkt wurde 1999 von Crews^[87b] beschrieben, gefolgt von einer enantioselektiven Synthese der Williams-Gruppe im Jahr 2004.^[91]

Beide Totalsynthesen nutzen einen retrosynthetischen Schnitt zwischen dem Epoxid-tragenden Segment und der peptidischen Struktur. Crews' Synthese nutzt etablierte Peptidchemie und die Oxidation eines Olefins zum Aufbau des Epoxids, während der Schlüsselschritt der enantioselektiven Synthese die Öffnung eines Spirodiepoxids ist (Schema 10).

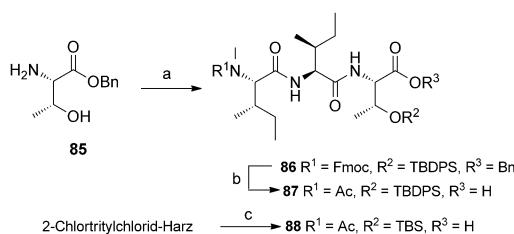


Schema 10. Retrosynthese von Epoxomicin (47).

7.2.1. Die erste Totalsynthese von Epoxomicin

Die erste Totalsynthese von Epoxomicin (47) basiert auf den Arbeiten zum verwandten Naturstoff Eponemycin (73) und seines Derivates Dihydroeponemycin (75). Die Synthese nutzt die Herstellung des stereochemisch definierten α,β -Epoxyleucins, das zusammen mit geschütztem *N*-Isooctanoylserin das Rückgrat des linearen Peptids liefert. Ein vergleichbarer Ansatz wurde schließlich in der Synthese von Epoxomicin (47) eingesetzt (Schema 11).

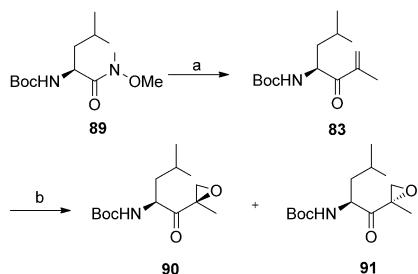
Die Synthese des linken Segmentes beginnt mit der Kupplung von Fmoc-Isoleucin und Threoninbenzylester (85) mit HBTU und HOEt. Die Hydroxygruppe des Threonins



Schema 11. Synthese der „westlichen“ Hälfte von Epoxomicin.
a) 1. Fmoc-Ile-OH, HBTU, HOEt, *iPr*₂EtN, CH₂Cl₂, RT, 23 h, 79%;
2. TBDPSCl, Imidazol, THF, RT, 48 h, 64%; 3. Piperidin, DMF, RT, 20 min; 4. Fmoc-Melle-OH, HBTU, HOEt, *iPr*₂EtN, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 99%; b) 1. Piperidin, DMF, RT, 20 min; 2. Ac₂O, *iPr*₂EtN, CH₂Cl₂, RT, 3.5 h, 99%; 3. 10% Pd/C, H₂, MeOH, RT, 1.5 h, 88%; c) 1. Fmoc-Festphasensynthese; 2. Essigsäure/Trifluorethanol/CH₂Cl₂ 1:1:3, RT, 2 h, 55%, basierend auf der anfänglichen Kapazität.

wird mit TBDPSCl geschützt. Nach Entfernen der Fmoc-Gruppe und Peptidkupplung mit Fmoc-*N*-Methylisoleucin (HBTU/HOBt) wird das geschützte Fragment **86** erhalten. Eine Fmoc-Entschützung mit nachfolgender Acetylierung sowie Hydrogenolyse etabliert das Fragment **87**. Alternativ kann das TBS-geschützte Fragment **88** auch über eine Festphasensynthese ausgehend von kommerziell erhältlichem 2-Chlortriptyl-Harz und unter Verwendung von Fmoc-Thr(*O*-TBS)-OH hergestellt werden (Schema 11).

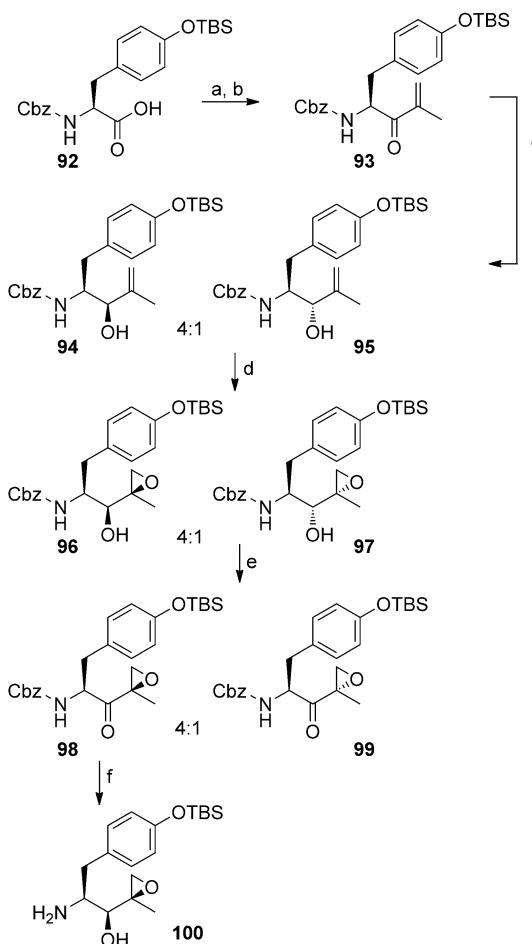
Die Synthese des rechten Fragmentes beginnt mit der Addition von Propen-2-yllithium an das Weinreb-Amid **89**. Das resultierende ungesättigte Keton **83** wird mit H₂O₂ in alkalischerem Medium oxidiert. Dies liefert schließlich eine 1:7:1-Mischung der beiden Epoxide **90** und **91**, die über Säulenchromatographie getrennt und separat zu Epoxomicin (**47**) und seinem Diastereomer umgesetzt werden können (Schema 12).



Schema 12. Synthese der Epoxyketon-Einheit. a) 2-Brompropen, *t*BuLi, Et₂O, -78 °C, 2.5 h, 92%; b) H₂O₂, Benzonitril, *iPr*₂EtN, MeOH, 0-4 °C, 43 h, 76%, **90/91** = 1.7:1.

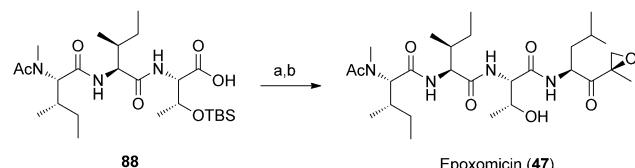
Im Jahr 2007 patentierte die Firma Proteolix Inc. eine vergleichbare Route zum Aufbau von Epoxyketonen. Ihre Strategie nutzte die Luche-Reduktion und eine nachfolgende Vanadium-vermittelte Epoxidierung zum stereoselektiven Aufbau. Eine Reoxidation und die Entfernung der Cbz-Gruppe etablieren den gewünschten Baustein, der für die Festphasensynthese von Proteasom-Inhibitoren genutzt werden kann (Schema 13).

Die abschließenden Transformationen in der Synthese von Crews sind die Entfernung der Boc-Gruppe mit TFA und



Schema 13. Die Proteolix-Route zur Epoxyketon-Einheit. a) Chlorameisensäureisobutylester, *iPr*₂NEt, NMM, Me(MeO)NH₂Cl, 0 °C; b) Isopropenylmagnesiumbromid, THF, -5 °C, 3 h; c) CeCl₃·H₂O, NaBH₄, MeOH/THF, 0 °C, 1 h; d) [VO(acac)₂], *t*BuOOH, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h, e) Dess-Martin-Periodinan, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, über Nacht; f) Pd/C, H₂ (1 atm), 2 h, CH₂Cl₂, TFA.

die Peptidkupplung beider Fragmente mit HATU und HOAt. Das erhaltene TBDPS-geschützte Epoxomicin wird zum Schluss mit TBAF entschützt (Schema 14).



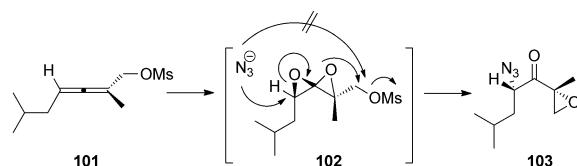
Schema 14. Synthese von Epoxomicin. a) TFA, **90**, HATU, HOAt, *iPr*₂EtN, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 48%; b) TBAF, THF, RT, 1 h, 96%.

7.2.2. Spirodiepoxide als Bausteine in der Totalsynthese von Epoxomicin

Die substratgesteuerte und die reagenskontrollierte asymmetrische Alken-Epoxidierung sind etablierte Techni-

ken in der Synthesechemie. Dagegen ist die Oxidation gefolgt von einer nukleophilen Öffnung ein bislang wenig verfolgtes Synthesekonzept.

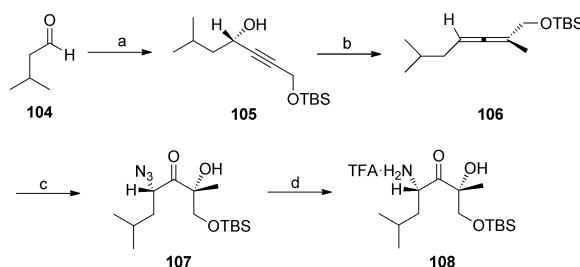
Spirodiepoxide öffnen einen direkten Zugang zu hochfunktionalisierten und enantiomerenreinen Ketonen und deren Derivaten. In der Totalsynthese von Epoxomicin (**47**) nutzten Williams et al.^[91] Spirodiepoxide, die durch die Oxidation eines enantiomerenreinen Allens erhalten wurden. Diese Allene sind wiederum aus Aldehyden, Alkinen und Organometallreagentien zugänglich. Die Oxidation des Allens findet zunächst im weniger gehinderten Halbraum der höhersubstituierten Doppelbindung statt und lieferte das Spirodiepoxid **102** als Hauptisomer (Schema 15).



Schema 15. Mechanismus der Öffnung des Spirodiepoxids.

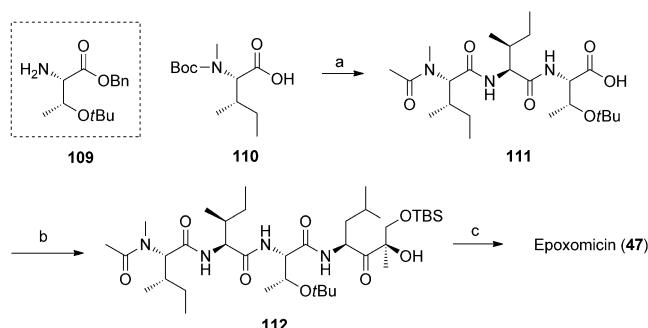
Anschließend greift das Azid das Spirodiepoxid bevorzugt an der besser zugänglichen Stelle des Epoxids an. Eine direkte Substitution am Mesylat wird hingegen nicht beobachtet. Das resultierende Halbacetal ergibt das Keton und führt so zugleich zur Epoxidbildung durch Substitution des Mesylats. Da sowohl das so erzeugte Epoxyketon (**103**) als auch sein Aminderivat unter den Reaktionsbedingungen instabil waren, entschlossen sich Williams et al., die Synthese mit dem stabilen Intermediat **108** fortzuführen, um am Ende der Synthese das Epoxid zu etablieren.

In synthetischer Richtung wird die Hydroxygruppe von Alkin **105** in das entsprechende Mesylat und dieses dann anschließend in das Allen **106** überführt. Nach Behandlung mit DMDO und Reaktion mit Azid wird über das beschriebene Diepoxid die Verbindung **107** erhalten (>95% ee, d.r. = 3:1). Die Freisetzung des Amins liefert **108**, die in die folgenden Transformationen eingesetzt wird (Schema 16).



Schema 16. Die Spirodiepoxid-Route. a) $(-)$ -*N*-Methylephedrin, $Zn(Otf)_2$, Et_3N , Toluol, RT, 2 h, $TBSOCH_2CCH$; dann **104**, 14 h, 93%, >95% ee; b) 1. $MsCl$, Et_3N , CH_2Cl_2 , $-65 \rightarrow 23^\circ C$, 2 h; 2. $MeMgBr$, $CuBr$, $LiBr$, $THF/MTBE$, $-65 \rightarrow 23^\circ C$, 2 h, 91%; c) 1. $DMDO$, $-40 \rightarrow 23^\circ C$, 1.5 h; 2. Bu_4NN_3 , $CHCl_3$, $-20 \rightarrow 23^\circ C$, 1 h, 73% (d.r. 3:1); d) 1. Pd/C , H_2 , $(Boc)_2O$, K_2CO_3 , $EtOAc$, RT, 12 h, 91%; 2. TFA , $0^\circ C$, 13 min.

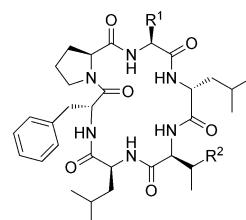
Die Synthese wurde mit der Kupplung von Verbindung **110** und Methylisoleucinat fortgesetzt, gefolgt von Boc-Entschützung und anschließender Acetylierung, Verseifung, Kupplung mit Threonin (**109**) und Hydrogenolyse ergaben **111**. Diese Verbindung wurde wiederum mit **97** zur Reaktion gebracht, was **112** in 86% Ausbeute lieferte. Zum Ende der Synthese wurde nun die Epoxidfunktion eingeführt. Dazu wurde **112** mit TBAF behandelt und der resultierende primäre Alkohol über sein Mesylat in das gewünschte Epoxid transformiert. Schließlich wurde noch der *tert*-Butyl-Ether entfernt, um die Synthese von Epoxomicin (**47**) abzuschließen (Schema 17).



Schema 17. Die Williams-Synthese von Epoxomicin. a) 1. HCl -Ile-OMe, DCC , HOt , Et_3N , DMF , $0 \rightarrow 23^\circ C$, 12 h, 93%; 2. 25% TFA - CH_2Cl_2 , $10 \rightarrow 23^\circ C$, 40 min; 3. Et_3N , Ac_2O , $DMAP$, CH_2Cl_2 , $0 \rightarrow 23^\circ C$, 3 h, 95%; 4. 5% $NaOH$, $MeOH$ - H_2O , RT, 2 h, 99%; 5. **109**, DCC , HOt , CH_2Cl_2 - DMF , RT, 3 h, 92%; 6. 10% Pd/C , H_2 , $MeOH$, RT, 2 h, 100%; b) **108**, iPr_2EtN , DCC , HOt , CH_2Cl_2 - DMF , RT, 4 h, 86%; c) 1. $TBAF$, THF , $0 \rightarrow 23^\circ C$, 1 h, 89%; 2. $MsCl$, iPr_2NEt , CH_2Cl_2 , $-40 \rightarrow 23^\circ C$, 1 h; 3. K_2CO_3 , THF - H_2O , RT, 3 h, 93%; 4. TFA , $0 \rightarrow 23^\circ C$, 20 min, 88%.

8. Cyclische Peptide

Verschiedene cyclische Peptide wurden als Proteasom-Inhibitoren identifiziert. Die vier verwandten Phepropeptine (**113**–**116**)^[92] wurden aus *Streptomyces* sp. isoliert und zeigten IC_{50} -Werte zwischen 7.8–21.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Abbildung 13). Sie bestehen aus sechs hydrophoben Aminosäuren, die sowohl *S*-als auch *R*-Konfiguration aufweisen können. Im Unterschied zu den Aminosäuren des Argyrins sind die dabei eingebauten Aminosäuren nicht zusätzlich funktionaliert und daher leichter zugänglich.



Phepropeptin A (113): $R^1 = iPr$, $R^2 = CH_3$
Phepropeptin B (114): $R^1 = Ph$, $R^2 = CH_3$
Phepropeptin C (115): $R^1 = iPr$, $R^2 = C_2H_5$
Phepropeptin D (116): $R^1 = Ph$, $R^2 = C_2H_5$

Abbildung 13. Die Phepropeptine.

Thiostrepton (**117**) gehört zur großen Familie der Thiopeptid-Antibiotika und wird im Zuge der ribosomalen Peptidbiosynthese erzeugt.^[93] Neben ihrer Aktivität als Translationsinhibitor, die im Zusammenhang mit der Antimalaria-Aktivität von großer Bedeutung ist,^[94] hat diese Verbindung auch die Eigenschaft, das Proteasom zu inhibieren (Abbildung 14). Thiostrepton inhibiert nur die Caspase- und Chymotrypsin-ähnliche Aktivität mit IC_{50} -Werten im unteren μ m-bis nm-Bereich. Bemerkenswert ist, dass einige Derivate eine höhere Aktivität zeigen als der Naturstoff selbst.^[95]

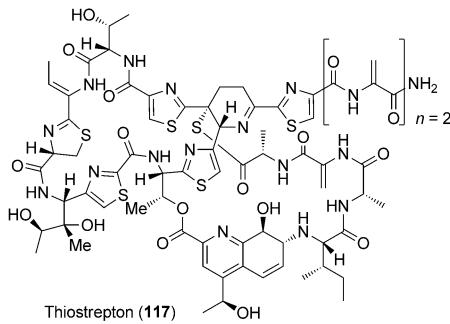
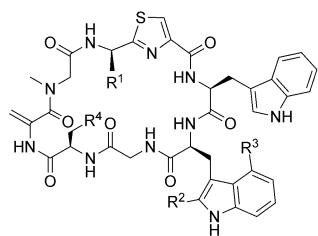


Abbildung 14. Thiostrepton (**117**).

8.1. Die Argyrine – eine neue Klasse von Proteasom-Inhibitoren

Höfle et al. isolierten 2002 eine Gruppe von cyclischen Peptiden (Argyrin A–H) aus der Kulturbrühe des Myxobakteriums *Archangium gephyra* (Abbildung 15). Die Argyrine bestehen aus acht Aminosäuren; sie zeigen biologische Aktivität gegen Pseudomonaden und inhibieren das Wachstum von Sägerzellkulturen.



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
Argyrin A (118)	CH ₃	H	OCH ₃	H
Argyrin B (119)	CH ₃	H	OCH ₃	CH ₃
Argyrin C (120)	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	H
Argyrin D (121)	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	CH ₃
Argyrin E (122)	CH ₃	H	H	H
Argyrin F (123)	CH ₂ OH	H	OCH ₃	H
Argyrin G (124)	CH ₂ OH	H	OCH ₃	CH ₃
Argyrin H (125)	H	H	OCH ₃	H

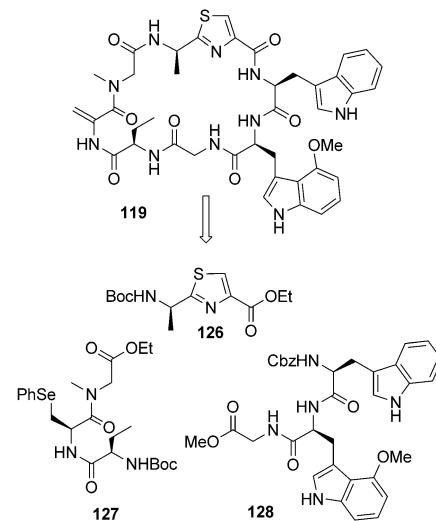
Abbildung 15. Natürliche Argyrine.

8.2. Die Synthese von Argyrin B nach Ley

Aufgrund der Berichte über eine immunsuppressive Wirkung von Argyrin B, die sich später als Inhibition der T-Zell-unabhängigen Antikörperbildung manifestierte, initiierte Ley ein Forschungsprogramm, das sich mit der Synthese

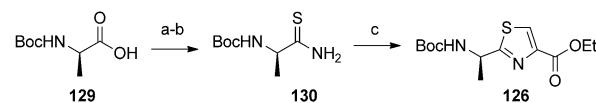
von Argyrin B beschäftigte. Bereits 2002 berichtete seine Arbeitsgruppe über die erste Totalsynthese von Argyrin B.^[96] In anschließenden biologischen Evaluierungen, die bei Novartis durchgeführt wurden, konnte das Potenzial von Argyrin B als immunsuppressive Substanz für den Einsatz bei Transplantationen dokumentiert werden. Weiterhin wurde festgestellt, dass Argyrin seine biologische Aktivität bei gleichzeitig bemerkenswert geringer Toxizität entfaltet.

Die retrosynthetische Analyse trennt Argyrin B (**119**) in das Thiazol **126** und die zwei Tripeptide **127** und **128** (Schema 18). Die Aminosäure mit der größten synthetischen



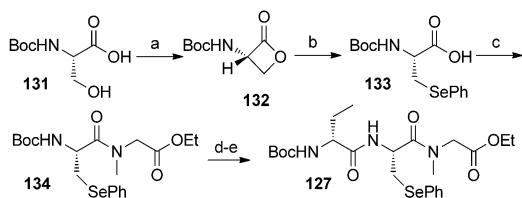
Schema 18. Leys retrosynthetische Analyse von Argyrin B (**119**).

Herausforderung war das 4-Methoxytryptophan. Ley und Mitarbeiter nutzten eine enzymatische kinetische Racemat-trennung für den Aufbau dieser ungewöhnlichen Aminosäure. Zur Herstellung des Thiazols **126** wurde *N*-Boc-D-Alanin (**129**) zu Thioamid **130** umgesetzt. Die Reaktion mit Ethylbromopyruvat und Behandlung mit Trifluoressigsäureanhydrid/2,6-Lutidin lieferte schließlich das Thiazol-Fragment **126** (Schema 19).



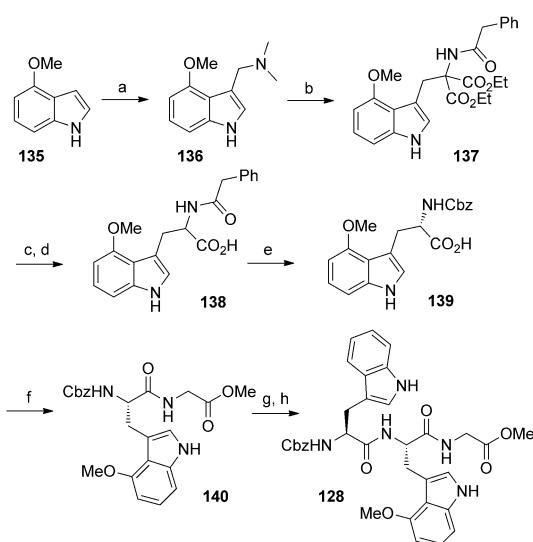
Schema 19. Synthese von **126**. a) EDC, HOBr, NH₃, CH₂Cl₂, 0°C; b) Belleau's Reagens, THF, 0°C, quantitativ (2 Stufen); c) 1. BrCH₂COCO₂Et, KHCO₃, DME; 2. TFAA, 2,6-Lutidin, DME, –15°C.

In Leys Synthese wurde die *exo*-Methylengruppe durch eine Selenoxid-Eliminierung am Ende der Synthese eingeführt. Der dazu benötigte Baustein wurde durch eine S_N2-Reaktion am β -Lacton **132** mit der Phenylselenyl-Gruppe als Nukleophil aufgebaut. Das Lacton wiederum wurde durch eine Mitsunobu-Reaktion ausgehend von **131** erhalten (Schema 20).



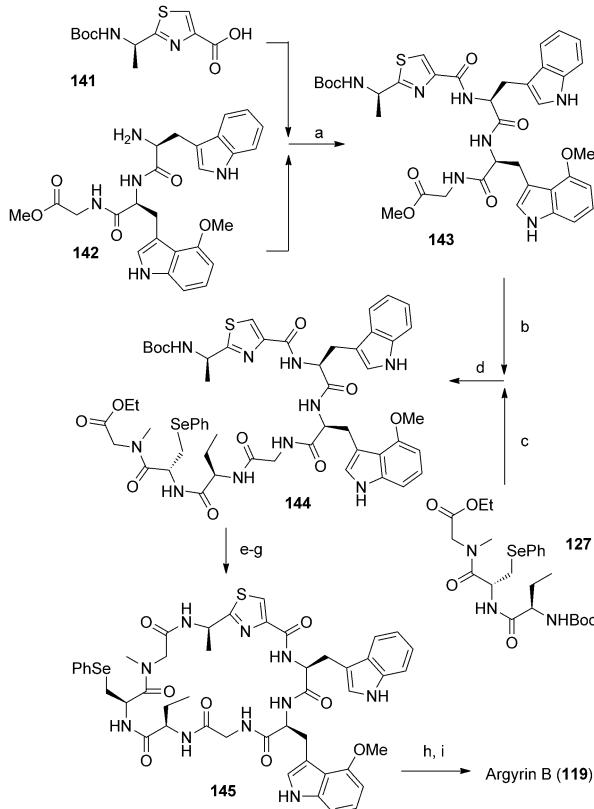
Schema 20. Synthese von Fragment 127. a) DEAD, PPh_3 , THF, $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$; b) PhSe-SePh , $\text{NaBH}(\text{OMe})_3$, EtOH; dann 132, RT, 41% (2 Stufen); c) HCl-Sar-OEt , PyBOP, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , RT, 80%; d) TFA/ CH_2Cl_2 , RT, e) Boc-d-Abu, EDC, HOEt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , RT, 71% (2 Stufen).

Für die kinetische Racemattrennung zum Aufbau der ungewöhnlichen Aminosäure 4-Methoxy-L-tryptophan (139) nutzten Ley et al. eine immobilisierte Penicillin-G-Acylase (138) nach 139; Schema 21).



Schema 21. Synthese von 128: a) $\text{CH}_2\text{NMe}_2^+ \text{I}^-$, CH_3CN , RT, 99%; b) $(\text{EtO}_2\text{C})_2\text{CHNHCO}_2\text{Ph}$, NaOEt ; dann 136 und MeSO_4Me ; EtOH , RT, 82%; c) NaOH , $\text{MeOH}/\text{Dioxan}$, 50°C ; d) 1. Dioxan, 100°C ; 2. NaOH , $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, RT; e) 1. immobilisierte Penicillin-G-Acylase, $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ RT; 2. CbzCl , NaHCO_3 , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, RT, 44% (2 Stufen); f) Gly-OMe, EDC, HOEt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , RT, 94%; g) H_2 , Pd/C , MeOH/HCl (wässr.), RT; h) Cbz-L-Trp, EDC, HOEt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , RT, 81% (2 Stufen).

Das Zusammenfügen der drei Bausteine begann mit der Kondensation von 141 mit 142. Die Verseifung von 143 setzt die benötigte Säure frei, die in die Verknüpfung mit dem Fragment 127 eingesetzt wurde. Nach dem Entschützen der beiden Enden konnte mit TBTU und HOEt das cyclische Peptid 145 erhalten werden. Dieses wurde anschließend oxidiert, und eine Selenoxid-Eliminierung vervollständigte die erste Totalsynthese von Argyrin B (119, Schema 22).

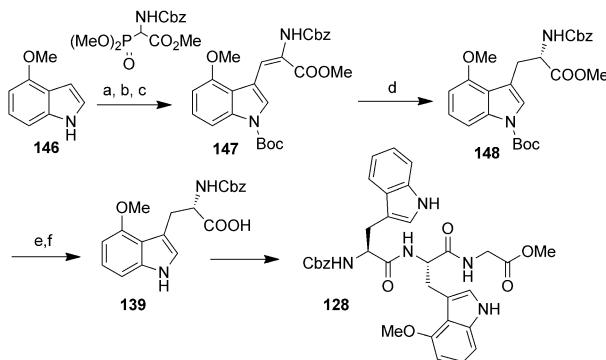


Schema 22. Synthese von Argyrin B: a) HOEt ; b) LiOH , $\text{THF}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, RT; c) $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, RT; d) EDC , HOEt , $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 80% (2 Stufen); e) LiOH , $\text{THF}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, RT; f) Anisole/TFA, RT; g) TBTU , HOEt , $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , RT, 50–60% (3 Stufen); h) NaIO_4 , $\text{Dioxane}/\text{H}_2\text{O}$, RT; i) NaHCO_3 , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, RT, 66% (2 Stufen).

8.3. Die Synthese von Argyrin F nach Kalesse

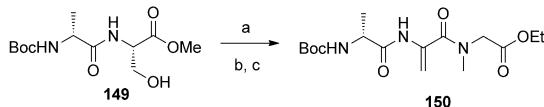
Malek und Mitarbeiter identifizierten im Jahr 2008 Argyrin A (118) als potenter Proteasom-Inhibitor mit hoher Antitumoraktivität.^[20] Sie beobachteten, dass Argyrin A (118) den Cyclin-Kinase-Inhibitor $\text{p}27^{\text{kip}1}$ stabilisiert. Aufgrund der Tatsache, dass Argyrin A ein vielversprechender Wirkstoffkandidat ist, waren Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und Strukturmodifikationen für die weitere Entwicklung notwendig. Kalesse et al. berichteten 2009 über eine optimierte Route und über erste Struktur-Aktivitäts-Studien zu dieser Verbindungsklasse.^[97] Die Synthese lehnte sich an die Synthese von Ley an und nutzte deren retrosynthetische Analyse (siehe Abschnitt 8.2). Da für mögliche präklinische Studien ausreichend Material bereitgestellt und der Einsatz von Selen-Reagentien in einer späten Phase der Synthese vermieden werden sollte, wurden sowohl das Verfahren zur Einführung der *exo*-Methylengruppe als auch die Synthese der Methoxytryptophan-Einheit neu entwickelt. Die Synthese von Argyrin F (123) sei hier repräsentativ für alle Argyrin-Derivate wiedergegeben. Die 4-Methoxy-L-tryptophan-Einheit wurde durch eine asymmetrische Hydrierung mit $(1S,1'S,2R,2'R)$ -DuanPhos in Gegenwart von $[\text{Rh}(\text{cod})_2]\text{BF}_4$ durchgeführt. Das Substrat für die geplante Hy-

dierung wurde über eine Vilsmeier-Reaktion mit anschließender Wittig-Olefinition erzeugt. Standard-Peptidkupplungsreaktionen und Entfernen der Cbz-Gruppe gefolgt von einer Kupplung mit N^a-Cbz-L-Tryptophan ergaben schließlich den benötigten Baustein **128** (Schema 23).



Schema 23. Synthese von Fragment **128**: a) POCl₃, DMF, 75%; b) (Boc)₂O/DMAP, CH₂Cl₂, 89%; c) Phosphonat, DBU, CH₂Cl₂, 73%; d) Rh(cod)₂BF₄/(1S,1'S,2R,2'R)-DuanPhos, H₂ (6 bar), MeOH, RT, 96 h, 99%, 90% ee; e) TFA, CH₂Cl₂; f) LiOH, THF/MeOH/H₂O, 70% (2 Stufen).

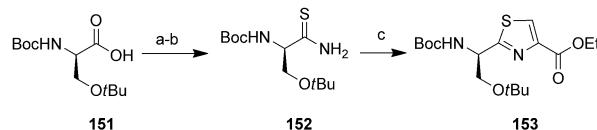
Die Synthese des Tripeptids **150** begann mit dem Diptiptid **149**. Eine Kupfer-katalysierte Eliminierung der Serin-Hydroxygruppe lieferte die *exo*-Methylengruppe. Die Hydrolyse des Esters, gefolgt von einer Peptidkupplung mit Sarkosin, ergab das Fragment **150** einschließlich der Dehydroalanin-Einheit. Dieses Fragment war erstaunlich stabil, solange das α -Amin mit einer elektronenziehenden Gruppe substituiert war. Es überstand ohne Zersetzung alle folgenden Reaktionsschritte (Schema 24).^[98]



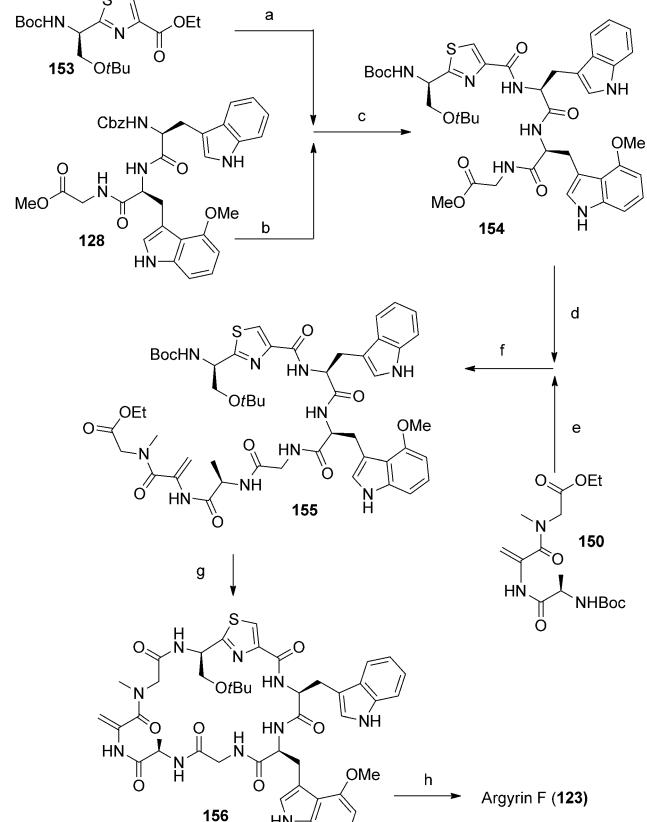
Schema 24. Synthese von Fragment **150**: a) CuCl, EDC, CH₂Cl₂, 96%; b) LiOH, THF/MeOH/H₂O; c) HCl-Sar-OEt, PyBrop, iPr₂NEt, CH₂Cl₂, 0°C → RT, 74%.

Die Synthese des Thiazol-Fragments **153** folgte Leys Route, nutzte aber *tert*-Butyl-geschütztes *N*-Boc-L-Serin **151**. Die Transformation in das Thioamid **152** und die Reaktion mit Ethylbromopyruvat sowie die Behandlung mit Trifluoressigsäureanhydrid und 2,6-Lutidin ergaben Thiazol **153** (Schema 25).

Diese drei Segmente wurden mit etablierten Peptidkupplungsstrategien miteinander verknüpft. Hydrolyse der Estereinheit und Kupplung mit dem entschützten Dehydroalanin-Fragment **150** lieferten das lineare Peptid **155**. Die abschließende Cyclisierung wurde mit TBTU und HOBT durchgeführt. Die Freisetzung des *tert*-Butyl-geschützten Al-



Schema 25. Synthese von **153**: a) EDC, HOBr, NH₃, CH₂Cl₂, 0°C; b) Belleau Reagens, THF, 0°C, quantitativ (2 Stufen); c) 1. BrCH₂COCO₂Et, KHCO₃, DME; 2. TFAA, 2,6-Lutidin, DME, -15°C.



Schema 26. Synthese von Argyrin F (123): a) LiOH, THF/MeOH/H₂O; b) H₂, Pd/C; c) EDC, HOBr, iPr₂NEt, 82% (2 Stufen); d) LiOH, THF, MeOH/H₂O; e) TFA, CH₂Cl₂; f) EDC, HOBr, iPr₂NEt, 85% (2 Stufen); g) 1. LiOH, THF/MeOH/H₂O; 2. TFA, CH₂Cl₂; 3. TBTU, HOBr, iPr₂NEt, 88% (3 Stufen); h) TFA, CH₂Cl₂, 83%.

kohols gelang mit TFA ohne Reaktion der *exo*-Methylengruppe (Schema 26).

Basierend auf einer Bibliothek von Verbindungen, die nach dem hier gezeigten Schema angefertigt wurde, konnten Kalesse et al. die Methoxygruppe am Tryptophan Trp 1, die Methylgruppe an Position R⁴ sowie die *exo*-Methylengruppe als essenzielle Elemente für die biologische Aktivität von Argyrin F identifizieren. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass Argyrin F (123) im Vergleich zu Argyrin A (118) ein verbessertes pharmakokinetisches Profil aufweist. Es wirkt als reversibler kompetitiver Inhibitor des Proteasoms und schädigt spezifisch die Gefäße von Tumoren.

9. Beta-Lactone

β -Lactone gehören zu den ersten Proteasom-Inhibitoren. Sie entfalten ihre biologische Aktivität durch eine kovalente Verknüpfung des N-terminalen Threonins an das reaktive Lacton. Belactosin A (157)^[99] wurde aus *Streptomyces* sp. UCK14 isoliert und zeigt wie Belactosin C (158) eine Inhibition des Proteasoms (Abbildung 16).^[100]

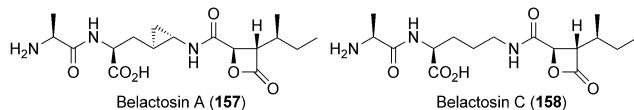


Abbildung 16. β -Lactone als Proteasom-Inhibitoren.

9.1. Salinosporamid A

Im Jahr 2003 isolierten Fenical und Mitarbeiter^[101] den Sekundärmetaboliten Salinosporamid A (33) aus dem marinen Actinomyceten *Salinispora tropica*. Der Naturstoff wurde vom Stamm CNB-392 produziert und inhibiert alle drei Untereinheiten des 20S-Proteasoms, ohne andere Proteasen zu adressieren. Weiterhin inhibiert Salinosporamid A (33) die Zellproliferation in Tumor-Zelllinien mit einem IC_{50} -Wert von 10 nm, einschließlich Velcade-resistenter Myelom-Zelllinien.^[102]

Die Struktur von Salinosporamid A (33) entspricht der von Omuralid (159),^[103] einem weiteren β -Lacton-Lactam-Naturstoff. Man geht davon aus, dass Omuralid durch eine β -Lactonisierung des Thioesters von Lactacystin entsteht (160, Abbildung 17).^[104] Beide Verbindungen sind Sekundärmeta-

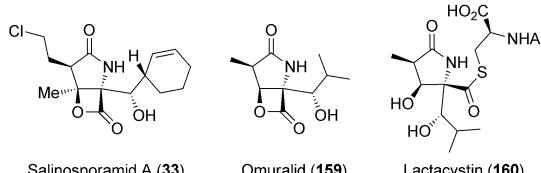
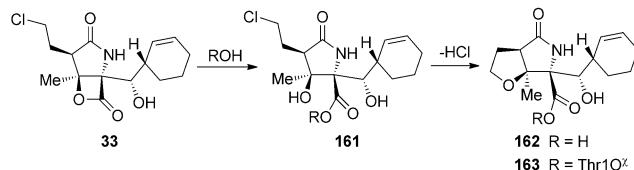


Abbildung 17. Strukturen von Lacton-Lactam-Proteasom-Inhibitoren.

bolite terrestrischer Mikroorganismen und ebenfalls Inhibitoren der proteasomalen Aktivität. Salinosporamid A (33) entfaltet eine deutlich höhere biologische Aktivität und ist ungefähr 35-mal aktiver als Omuralid (159). Detaillierte Einblicke in den Wirkmechanismus konnten durch eine Röntgenstrukturanalyse des 20S-Proteasoms von Hefe mit Salinosporamid A (33) erhalten werden. Basierend auf der Kristallstruktur, die von Groll und Mitarbeitern veröffentlicht wurde, wird eine irreversible Bindung von Salinosporamid A angenommen. Nach Acylierung der N-terminalen $Thr1O^Y$ -Gruppe im Zuge der Lactonöffnung wird die freigesetzte Hydroxygruppe an C6 unter Bildung eines Tetrahydofurans abgefangen und somit die Möglichkeit zur Rückreaktion und hydrolytischen Freisetzung des Proteasoms genommen (Schema 27).^[105] Dagegen ist die Acylierung von

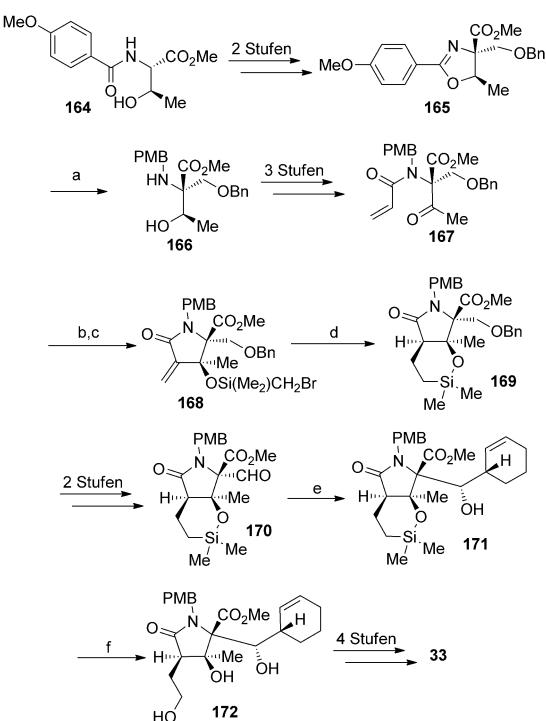


Schema 27. Mechanismus der irreversiblen Inhibition von Salinosporamid A.

Omuralid (159) reversibel und lässt eine komplekte Reaktivierung des Proteasoms innerhalb von 24 h zu. Als Konsequenz dieser Ergebnisse wurde die Bedeutung der Chloridsubstitution veröffentlicht^[106, 107] und lieferte ein vollständiges Bild dieses einzigartigen Mechanismus von Salinosporamid A (33).^[108] Neben der besonderen Wirkweise war es die komplexe Struktur, welche die Synthese von Salinosporamid A (33) zur Herausforderung machte.

9.2. Die Synthese von Corey

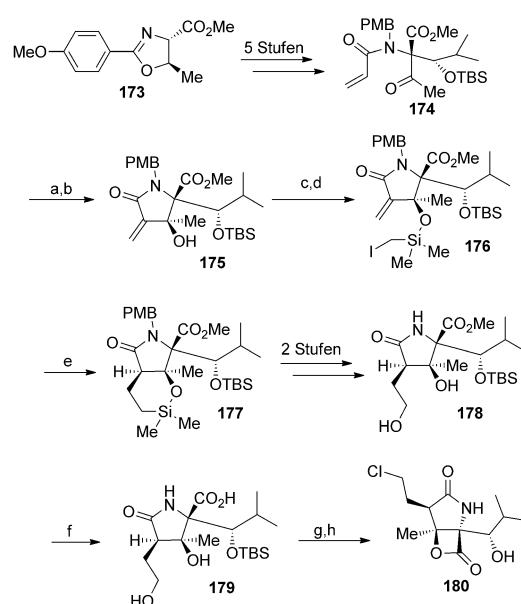
Im Jahr 2004 präsentierten Corey et al. die erste Totalsynthese von Salinosporamid A (Schema 28).^[109] Ihre Strategie war es, beim Aufbau des quartären Zentrums die starre Konformation des Oxazolidins 165 zu nutzen. Die nachfolgende Entfernung des Oxazolins mit Natriumcyanoborhydrid unter sauren Bedingungen lieferte das *N*-4-Methoxybenzylamin 166. Eine stereoselektive Baylis-Hillman-Reaktion^[110]



Schema 28. a) $NaCNBH_3$, $AcOH$, $40^\circ C$, 12 h, 90%; b) Chinuclidin, DME , $0^\circ C$, 7 d, 90%, d.r. = 9:1; c) $BrCH_2Si(CH_3)_2Cl$, NEt_3 , $DMAP$, CH_2Cl_2 , $0^\circ C$, 30 min, 95%; d) Bu_3SnH , $AIBN$, Benzol, Rückfluss, 8 h, 89%; e) 2-Cyclohexenylzinkchlorid, THF , $-78^\circ C$, 5 h, 88%; f) KF , $KHCO_3$, H_2O_2 ; THF - $MeOH$ (1:1), $23^\circ C$, 18 h, 92%.

wurde für die Umwandlung von **167** in **168** genutzt. Diese Cyclisierung lieferte ein Diastereomerenverhältnis von 9:1 und etablierte den tertiären Alkohol von Salinosporamid A (**33**). Eine Silylierung mit Brommethyldimethylsilylchlorid gefolgt von einer radikalischen Cyclisierung lieferte schließlich **169** mit 88 % Ausbeute. Nach hydrogenolytischer Entschützung mit Pd/C und Dess-Martin-Oxidation konnte der Aldehyd **170** mit 2-Cyclohexenylzinkchlorid umgesetzt werden. Speziell diese Reaktion wurde für weitere Synthesen von Salinosporamid A (**33**) eingesetzt und verläuft mit einer Stereoselektivität von 20:1 für das gewünschte Produkt **171**. Eine Fleming-Tamao-Oxidation^[111] ergibt das Triol **172**, bei dem die PMB-Gruppe entfernt wird. Schließlich liefern die Hydrolyse mit Lithiumhydroxid, die Lactonisierung mit BOP-Cl und die Chlorierung der Ethylhydroxygruppe Salinosporamid A (**33**) in 17 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 12.4 %.

Ein Jahr später ersetzen Corey et al. die Baylis-Hillman-Reaktion durch eine Kulinkovich-Reaktion^[112] (Schema 29) und verbesserten damit die Diastereoselektivität bei der



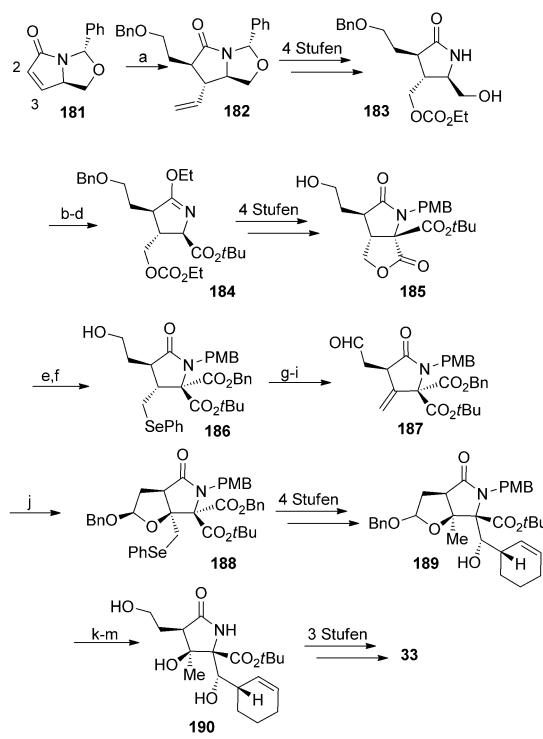
Schema 29. a) $Ti(OiPr)_4$, C_5H_9MgCl , $tBuOMe$, $-40^\circ C$, 30 min, I_2 , $-40^\circ C$, 2 h, dann $0^\circ C$, 2 h; b) NEt_3 , CH_2Cl_2 , $23^\circ C$, 30 min, 85% (2 Stufen); c) $BrCH_2Si(CH_3)_2Cl$, Imidazol, DMF , $0^\circ C$, 6 h; d) Nal , Aceton, $60^\circ C$, 86% (2 Stufen); e) Bu_3SnH , Et_2AlCl , Et_2B , Toluol, $-78^\circ C$, Luft, 3 h, 93%; f) $[\{MeTeAlMe_2\}_2]$, Toluol, $23^\circ C$, 12 h; g) Ph_3PCl_2 , CH_3CN , Pyridin, 12 h, 81% (2 Stufen); h) $HF(48\%)-CH_3CN$ (3:1), $23^\circ C$, 3 d, 82%.

Synthese des tertiären Alkohols von 9:1 auf 99:1.^[113] Ausgehend von Oxazolin **173** führten sie eine Isopropylgruppe anstelle des Cyclohexenylrestes ein. Eine Sequenz aus Oxazolidin-Spaltung, Swern-Oxidation und N-Acylierung lieferte das Acrylamid **174**. An diesem Punkt kam die oben erwähnte Kulinkovich-Reaktion zum Tragen. Das benötigte Reagens wurde dabei aus Titanatetrapropoxid und Cyclopentylmagnesiumchlorid hergestellt. Das resultierende α -Titanmethyl- γ -lactam-Intermediat wurde mit Iod abgefangen und das da-

durch erhaltene α -Iodomethyl- γ -lactam wurde einer Eliminierung unterzogen. Wie in der vorangegangenen Synthese wurde eine Radikalreaktion eingesetzt, um stereoselektiv die Chloridseitenkette aufzubauen. Die nachfolgende Entfernung der PMB-Gruppe und Spaltung der Silicium-Sauerstoff-Bindung lieferten das Lactam **178**. Im Kontext dieser Synthese führte Corey $[\{MeTeAlMe_2\}_2]$ als neues Reagens zur milden Spaltung sterisch gehinderter Ester ein (Toluol, $23^\circ C$).^[114] Die nachfolgende Chlorierung der Seitenkette und Lactonisierung konnte in einem Schritt mit Ph_3PCl_2 durchgeführt werden. Schließlich lieferte die Behandlung mit HF die Omuralid-Salinosporamid-Hybridverbindung **180** in 15 Stufen und einer Gesamtausbeute von 19.7 % ausgehend von **173** (Schema 29).

9.3. Die Synthese von Danishefsky

Etwa zur gleichen Zeit wie Coreys zweite Synthese veröffentlichten Danishefsky et al.^[115] ihre Arbeiten zur Synthese von Salinosporamid A (**33**). Das konformativ eingeschränkte, von Pyroglutamat abgeleitete Substrat **181** ermöglichte die selektive Addition an C3 von der α -Seite kommend (Schema 30).^[116] Die Ausnutzung der *anti*-Additio-

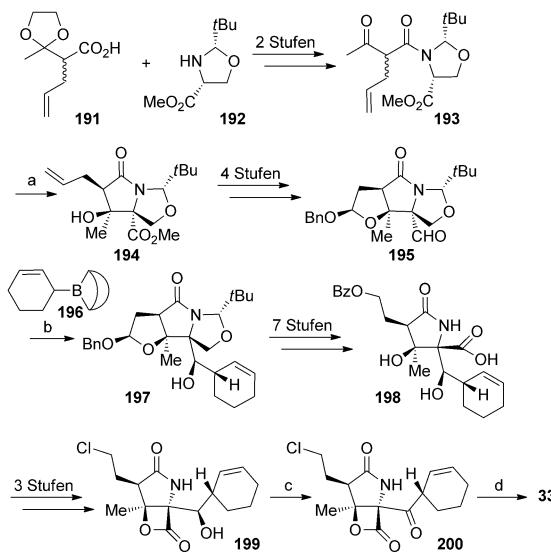


Schema 30. a) 1. Vinylmagnesiumbromid, $TMSCl$, CuI , THF , $-78^\circ C$, 75%; 2. LDA , 1-Iod-2-benzylxyethan, THF , RT , 77%, 14:1; b) Jones-Reagens, Aceton, RT ; c) $Me_2NCH(OtBu)_2$, Toluol, Rückfluss, 72% (2 Stufen); d) Et_3OBF_4 , K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , RT , 88%; e) $PhSeSePh$, $NaBH_4$, $EtOH$, $60^\circ C$; f) $BnBr$, K_2CO_3 , DMF , RT , 65% (2 Stufen); g) 30% H_2O_2 (wässr.), THF , RT ; h) Toluol, $100^\circ C$; i) Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 , RT , 89% (3 Stufen); j) $PhSeBr$, $AgBF_4$, $BnOH$, CH_2Cl_2 , $-20 \rightarrow 0^\circ C$, 74%, d.r. = 12:1; k) CAN , CH_3CN-H_2O , $0^\circ C$, 90%; l) Na , NH_3 (fl.), $-78^\circ C$; m) $NaBH_4$, $THF-H_2O$ (2:1), RT , 97% (2 Stufen).

on führte zur α -Alkylierung an C2 (182). Eine Sequenz aus Ozonolyse, Reduktion, Bildung des Carbonates und Spaltung des N,O-Acetals etablierte 183, das wiederum in den entsprechenden Imidester 184 überführt werden konnte. Die Deprotonierung des Imidates mit LiHMDS löste eine intramolekulare Acylierung aus. Nachfolgende Schutzgruppenmanipulationen bereiteten den Weg für die entscheidende Phenylselen-vermittelte Lactonöffnung bei gleichzeitiger Benzylierung zum Diester 186. Die Selenoxid-Eliminierung erzeugte sowohl das erwartete Eliminierungsprodukt als auch den gewünschten Aldehyd 187, der in Gegenwart von Phenylselenylbromid und Silbertetrafluorborat cyclisierte. Das in Abschnitt 9.2 schon erwähnte Cyclohexenylzinkchlorid wurde entsprechend den Bedingungen von Corey auch in dieser Synthese eingesetzt. Das resultierende Triol 190 wurde nach PMB-Entschützung und reduktiver Spaltung des Halbacetals erhalten. Hydrolyse des Esters, Lactonisierung mit BOP-Cl und Chlorierung (Ph_3PCl_2) lieferten das gewünschte Produkt 33 in 26 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 1.6%.

9.4. Die Synthese von Ling und Macherla

Macherla und Ling publizierten 2007 ihre Synthese von Salinosporamid A.^[116] Diese Route ist ein didaktisch wertvolles Beispiel des Konzeptes der „Selbstregeneration von Chiralität“ (Oxazolidin 192, Schema 31). Eine intramolekulare Aldolreaktion etablierte mit einem Diastereomerenüberschuss von 70% die Verbindung 194 einschließlich eines neuen quartären Zentrums, eines tertiären Alkohols und einer stereoselektiv verknüpften Allylseitenkette. Die Umwandlung zu 195 schuf die Basis für die stereoselektive Einführung der Cyclohexenyl-Einheit. Im Unterschied zu den vorhergehenden Synthesen wurde hier eine Cyclohexen-Bor-Verbindung (196) anstelle der entsprechenden Zinkchlorid-

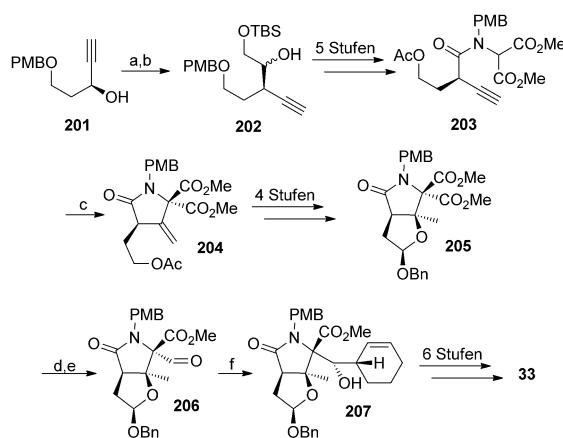


Schema 31. a) $t\text{BuOK}$, THF, RT, 15 min, 64%; b) Boran 196, THF, $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 11.5 h, 80%; c) Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 , 2 h, 60%; d) KRED-EXP-B1Y, NAD^+ , GDH-103, Glucose, pH 6.9, 37–39°C, 40 min, 56%.

Verbindung eingesetzt. Eine TMS-Schützung und Oxidation zu Säure 198 folgten der Spaltung des Tetrahydrofurans und des Oxazolidins. Die β -Lactonisierung gelang mit BOP-Cl und die Einführung der Chlorethylgruppe wurde durch Ph_3PCl_2 ermöglicht. Die Inversion des Seitenkettenalkohols über eine Oxidations-Reduktions-Sequenz unter Verwendung einer enzymatischen Ketoreduktase schloss die Synthese ab. Über diese Route konnte Salinosporamid A (33) in einer Gesamtausbeute von 0.23% in 20 Stufen hergestellt werden.

9.5. Die Synthese von Hatakeyama

Eine Indium-katalysierte Conia-En-Reaktion^[117] wurde von Hatakeyama und Mitarbeitern bei deren Synthese von Salinosporamid eingesetzt (Schema 32). Die Sequenz be-

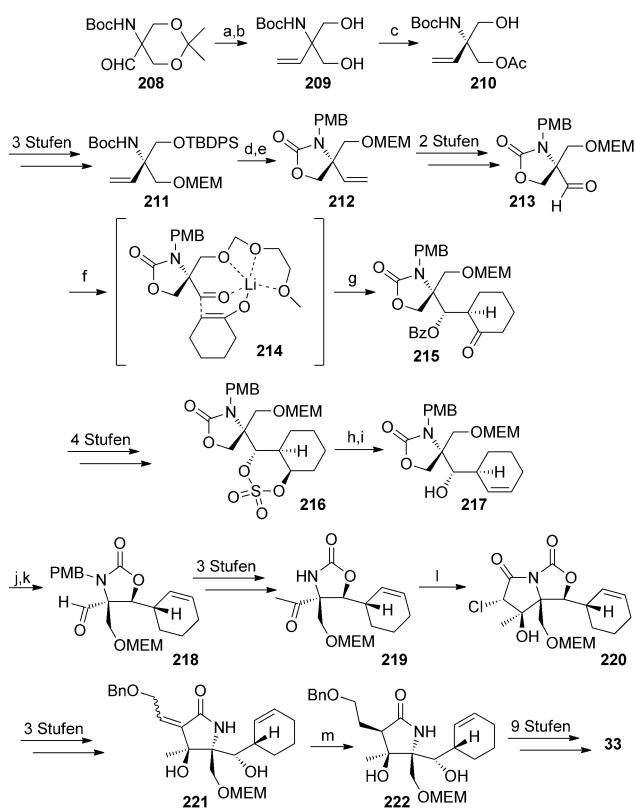


Schema 32. a) MsCl , NEt_3 , DMAP, CH_2Cl_2 , 0°C , 95%; b) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PPh_3 , Et_2Zn ; dann $\text{TBSOCH}_2\text{CHO}$, THF , $-78^\circ\text{C} \rightarrow -20^\circ\text{C}$, 63%; c) $\text{In}-(\text{OTf})_3$ (5 Mol-%), Toluol, 110°C , 96%; d) NaBH_4 , THF/EtOH , 88%; e) Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 , 94%; f) Cyclohex-2-enylzinkchlorid, THF , -78°C , 88%.

ginnt mit Alkohol 201, dessen Hydroxygruppe in das entsprechende Mesylat überführt wurde. Dieses wurde in einer Marshall-Reaktion mit (*tert*-Butyldimethylsilyloxy)acetaldehyd und Diethylzink eingesetzt und lieferte 202. Die nachfolgenden Transformationen etablieren das Intermediat 203. Die Conia-En-Reaktion wurde durch die Zugabe von $\text{In}-(\text{OTf})_3$ eingeleitet. Nach der Umwandlung in das Lactam 207 folgte die Route der von Danishefsky etablierten Synthese.

9.6. Die Synthese von Nagamitsu und Omura

Eine neue Strategie für die Einführung der Cyclohexen-Seitenkette wurde in der Totalsynthese von Nagamitsu und Omura beschrieben (Schema 33).^[119] Ausgehend von Aldehyd 208^[120] führte eine Wittig-Olefinition gefolgt von einer enzymatischen Desymmetrisierung zu 210. Eine Sequenz aus Schutzgruppenmanipulationen etablierte ein cyclisches Carbamat, das wiederum mit einer PMB-Gruppe geschützt



Schema 33. a) $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_3\text{Br}^-$, NaHMDS, THF, RT, 97%; b) $p\text{-TsOH}\text{-H}_2\text{O}$, MeOH, RT, 82%; c) Lipase, Vinylacetate, $i\text{Pr}_2\text{O}$, RT; d) TBAF, THF, RT; e) NaH , THF-DMF, dann PMBCl , RT, 97% (2 Stufen); f) LDA, Cyclohexanone, THF, -78°C ; g) BzCl , 79%; h) DBU, Toluol, 100°C ; i) $\text{TsOH}\text{-H}_2\text{O}$, Dioxane, RT, 97% (2 Stufen); j) NaH , THF-EtOH, RT; k) $(\text{COCl})_2$, DMSO, NEt_3 , CH_2Cl_2 , -78°C , 92% (2 Stufen); l) LiHMDS, THF, -78°C ; dann Chloroacetylchlorid, 63%; m) LiEt_3BH , THF, 0°C, 77%.

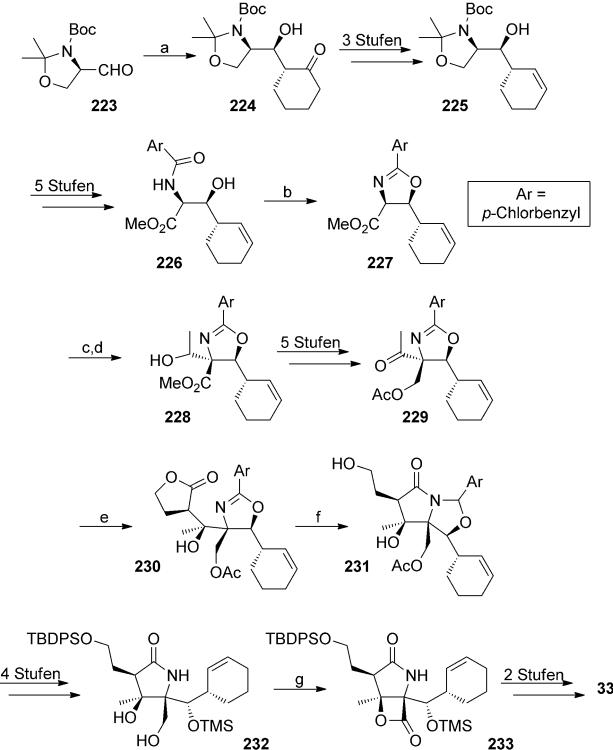
wurde. Ausgehend von **212** lieferte eine Osmium-katalysierte Dihydroxylierung gefolgt von einer Periodatsspaltung den Aldehyd **213**. Bei der nachfolgenden stereoselektiven Addition des Lithium-Enolates von Cyclohexanon wurden die koordinierenden Eigenschaften der MEM-Gruppe ausgenutzt. Durch eine anschließende Benzoatschützung konnte **215** erhalten werden. Zur Etablierung der Doppelbindung im Cyclohexen-Segment wurde die Keto-Carbonylgruppe unter Luche-Bedingungen reduziert und die Benzoatgruppe hydrolytisch gespalten. Das dadurch erhaltene *anti*-1,3-Diol wurde in das cyclische Sulfat **216** überführt, dessen anschließende Behandlung mit DBU und TsOH das Cyclohexen **217** lieferte. Eine intramolekulare Carbamatbildung gefolgt von Oxidations- und Reduktionsschritten sowie einer Schützung lieferte das Keton **219**. Das benötigte γ -Lactam **220** wurde durch N-Acylierung und intramolekulare Aldolreaktion etabliert, die Seitenkette hingegen durch eine SmI_2 -vermittelte Reformatsky-Reaktion, die nach Eliminierung das Lactam **221** ergab. **221** wurde einer Reihe von Schutzgruppen- und Funktionsgruppenmanipulationen unterzogen (Birch-Reduktion, β -Lactonisierung, Chlorierung und TES-Entschützung), um schließlich Salinosporamid A (**33**) in 2.1% Ausbeute und 38 Stufen zu erzeugen.

9.7. Die Synthese von Iwabuchi

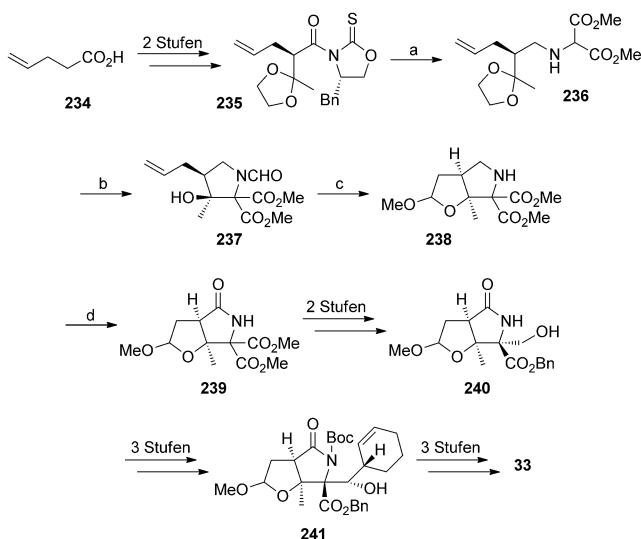
Ausgehend von Garners Aldehyd (**223**)^[121] nutzten Iwabuchi und Mitarbeiter eine bis dahin nicht eingesetzte Strategie, um die Cyclohexenyl-Einheit aufzubauen.^[122] Die organokatalytische Addition von Cyclohexanon an Garners Aldehyd ergab das β -Hydroxy-Keton **224**. Dieses wurde einer Reduktions-Eliminierungs-Sequenz unterzogen, um die gewünschte Doppelbindung aufzubauen. Schutzgruppenmanipulationen und eine Oxidation führten zum Methylester **226**, der durch Behandlung mit *p*-Toluolsulfinsäure das Oxazolin **227** ergab. Der tertiäre Alkohol wurde über eine Reformatsky-Reaktion von Keton **229** mit α -Brom- γ -butyrolacton hergestellt. Die Reduktion des Oxazolins erzeugte das benötigte γ -Lactam **231**, das wiederum in das Diol **232** konvertiert wurde. Eine AZADO-katalysierte oxidative Lactonisierung ergab schließlich die Lacton-Einheit in einem Ein-topfverfahren. Entschützung und Chlorierung komplettierten die Synthese in 26 Stufen und einer Gesamtausbeute von 2.0% (Schema 34).

9.8. Die Synthese von Fukuyama

Fukuyama et al. publizierten ihre Synthese von Salinosporamid im Jahr 2011 (**33**, Schema 35).^[123] Beginnend mit der Verbindung **235**, die wiederum aus 4-Pentensäure (**234**) her-



Schema 34. a) d-Prolin, Cyclohexanone, $\text{CHCl}_3\text{/DMSO}$, 5°C , 81%; b) $p\text{-TsOH}$, Toluol, Rückfluss, 47%; c) LDA, THF, -78°C ; dann AcCl , 76%; d) NaBH_4 , MeOH , -40°C ; e) 1. $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$, α -Brom- γ -butyrolacton, Et_2Zn , THF , -20°C ; 2. DBU, CH_2Cl_2 , 0°C , 57%; f) NaBH_3CN , AcOH/THF , 0°C ; g) AZADO, $\text{Phl}(\text{OAc})_2$, CH_2Cl_2 , RT, 78%.



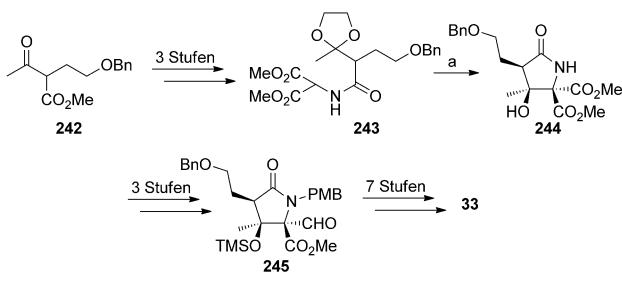
Schema 35. a) DIBAL-H, Toluol, -78°C , dann AcOH, MeOH, -78°C bis RT; dann Aminodimethylmalonathydrochlorid, NaOAc, 0°C ; dann NaBH₃CN, $-20^{\circ}\text{C} \rightarrow$ RT; b) HCO₂H, AcOH, THF, 0°C ; dann HCl (wässr.), Aceton, $0^{\circ}\text{C} \rightarrow$ RT, Kristallisation aus Et₂O, 71% (2 Stufen); c) O₃, MeOH/CH₂Cl₂, -78°C ; dann Me₂S, CSA, $-78^{\circ}\text{C} \rightarrow$ RT; dann AcCl, $0^{\circ}\text{C} \rightarrow$ RT, 99%, (d.r. = 2:1); d) RuO₂, NaIO₄, *n*-PrOAc-MeCN-Phosphatpuffer, 0°C , 85%.

gestellt werden kann, führte eine Acylierung zum Oxazolidinthon. Eine anschließende Alkylierung führte das Chiralitätszentrum ein, aus dem später die chlorierte Seitenkette aufgebaut wurde. Die Abspaltung vom chiralen Auxiliar und eine reduktive Aminierung ergaben das Amin **236**. Schützen des Amins und die nachfolgende Freisetzung des Ketons brachten nach Umkristallisation das enantiomerenreine Pyrrolidin **237** hervor. Eine Eintopfreaktion aus Ozonolyse, Methylierung, Entfernung der Formylgruppe und anschließender Oxidation erzeugte das Lactam **239**. Die zwischenzeitliche Umwandlung in den Dibenzylester und eine selektive Reduktion etablierten den Alkohol **240**, der nach bekannter Sequenz weiter zum Salinosporamid (**33**) umgesetzt wurde (14 Stufen, 19% Gesamtausbeute).

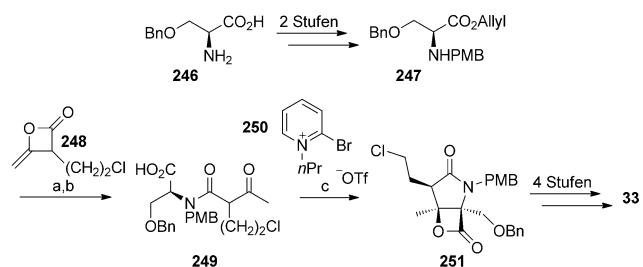
9.9. Synthesen von racemischem Salinosporamid

Eine Synthese von (\pm)-**33** wurde von Pattenden publiziert.^[124] Ausgehend von β -Ketoester **242** (Schema 36)^[125] führten nach Schützen des Ketons die Hydrolyse der Estergruppe und die Überführung in das Amid zu **243**. Der Schlüsselschritt in dieser Synthese ist die säurekatalysierte Bildung des racemischen Lactams **244**. Schützen beider Hydroxygruppen und des Amids, gefolgt von einer selektiven Reduktion etablierte den Aldehyd **245**. Die Cyclohexenyl-Seitenkette wurde mithilfe des Corey-Protokolls eingeführt. Schließlich wurde unter Anwendung der Corey-Route (\pm)-**33** in 14 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 12% erhalten.

Romo et al. berichteten 2007 über ihre zweite Synthese von Salinosporamid (Schema 37).^[126] Beginnend mit dem Serin-Derivat **246**, das verestert und geschützt wurde, ergab



Schema 36. a) AcOH-H₂O (4:1), 65°C , 4 d, 71%.



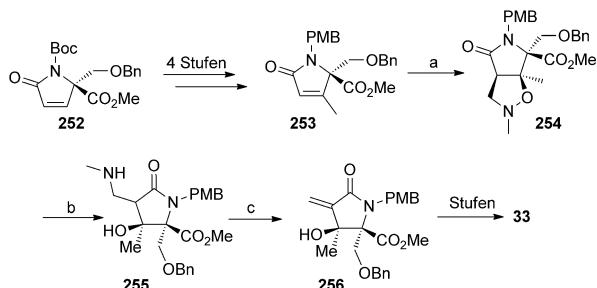
Schema 37. a) Diketen **248**, 1-Hydroxypyridin, THF, 60°C , 36 h, 80%; b) [Pd(PPh₃)₄], Morphinol, 75%; c) modifiziertes Mukaiyama-Reagens **250**, *i*Pr₂NEt, 4-PPY, CH₂Cl₂, -10°C , 6 h, 25–35%, d.r. = 2–3:1.

die Reaktion mit Keten-Dimer **248** nach zusätzlicher Verseifung der Estergruppe die Verbindung **249**. Eine doppelte Cyclisierung mit dem modifizierten Mukaiyama-Reagens (**250**), PPY und *i*Pr₂NET ergab das gewünschte Produkt **251** (d.r. 2:1–3:1). Diese Verbindung wurde nach Entfernen der Benzylschutzgruppe oxidiert. Die Reaktion mit Cyclohexenylzinkchlorid und PMB-Entschützung lieferte (\pm)-**33** in 9 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 2.5%.

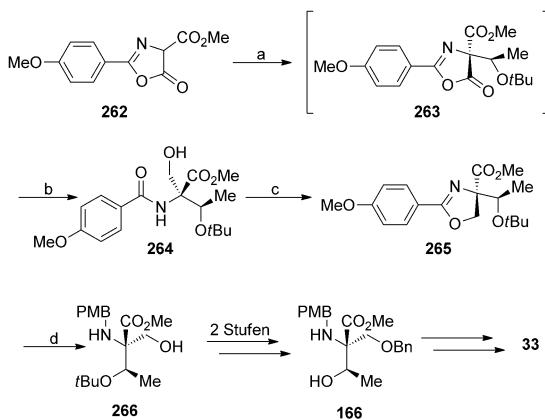
9.10. Formale Synthesen

Ein alternativer Zugang zu Coreys zentralem Intermediat **256** wurde 2006 von Langlois et al. präsentiert (Schema 38).^[127] Das Lactam **252** wurde dabei über eine Michael-Addition methyliert und anschließend über eine Selenoxid-Eliminierung in die entsprechende ungesättigte Verbindung überführt. Der Austausch von Schutzgruppen ergab **253**, die in einer Cycloaddition mit *N*-Methylnitron zu dem Pyrrolinon **254** als Hauptprodukt umgesetzt wurde. Spaltung des Isoxazolidinrings und Eliminierung der Aminogruppe erzeugten **256**. Die darauf folgenden Transformationen entsprechen Coreys Route.

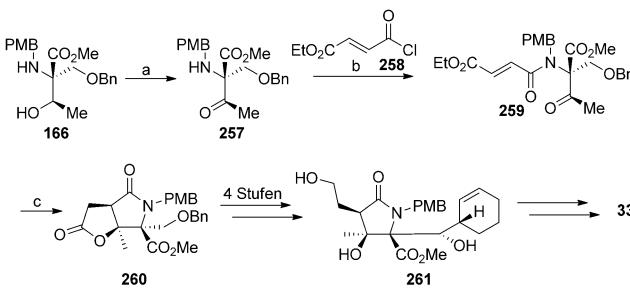
Lam et al.^[128] berichteten über die Synthese eines alternativen Intermediates, bei dem im Vergleich zu Coreys Intermediat **168** die Chlorethyl-Seitenkette über einen komfortableren Weg zugänglich ist (Schema 39). Coreys Aminoalkohol **166** wurde einer Swern-Oxidation unterzogen und anschließend mit **258** acyliert. Die nachfolgende Cyclisierung in Gegenwart eines Nickel-Phosphan-Komplexes ergab das γ -Lacton- γ -Lactam **260** als Hauptprodukt. Es folgten die Ent-



Schema 38. a) *N*-Methylnitron, Toluol, Δ , 68%; b) H_2 , $Pd(OH)_2$, EtOAc-MeOH, 64%; c) MeI , MeOH; dann Na_2CO_3 , CH_2Cl_2 , 90%.



Schema 40. a) Vinyl-*tert*-butylether, $(PhO)_2PO_2H$ (10%), Benzol, RT (d.r. = 3:1); b) $NaBH_4$, 88% (2 Stufen); c) $MsCl$, NEt_3 , $Cl(CH_2)_2Cl$, Rückfluss, 4 h, 92%; d) $NaCNBH_3$, $AcOH$, RT, 40 h, 73%.



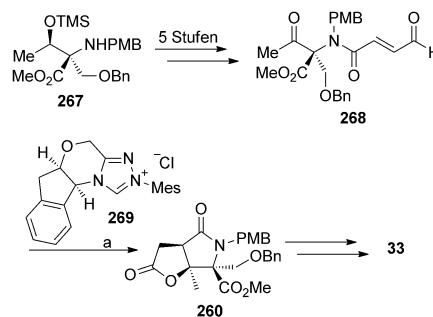
Schema 39. a) $(COCl)_2$, $DMSO$, NEt_3 , CH_2Cl_2 , $-78 \rightarrow -40^\circ C$, 72%; b) 258, iPr_2NEt , CH_2Cl_2 , $0^\circ C \rightarrow RT$, quant.; c) $[NiCl_2(PMe_3)_2]$, Et_2Zn , THF , $0^\circ C \rightarrow RT$, 42%.

schützung der Hydroxygruppe, eine Swern-Oxidation und die Einführung des Cyclohexenyl-Restes nach Coreys Protokoll. Schließlich ergab eine reduktive Öffnung des Lactons das Triol 261, das nach Coreys und Pattendens Syntheserouten zu Salinosporamid A (33) umgesetzt werden könnte.

Eine formale Synthese basierend auf Coreys Intermediat 166 wurde von Tepe et al. publiziert.^[129] Unter Verwendung einer Oxazolon-vermittelten En-artigen Reaktion wurde 262 zu Intermediat 263 umgesetzt, das sofort zum Ester 264 reduziert wurde. Eine dehydrierende Cyclisierung mit $MsCl$ und die anschließende Oxazolin-Reduktion erzeugten den chiralen Aminoalkohol 266. Die abschließende Benzylschützung und Spaltung des *tert*-Butylethers^[130] lieferten Coreys Intermediat 166 (Schema 40).

Bode et al. präsentierte einen NHC-katalysierten Zugang zu Lams Verbindung 260.^[131] Amin 267 wurde dabei in Aldehyd 268 überführt. Der NHC-katalysierte intramolekulare Cyclisierungs-Lactonisierungs-Prozess ergab 88% Ausbeute und ein Verhältnis von 1:1.1 zugunsten des gewünschten Diastereomers (260; Schema 41).

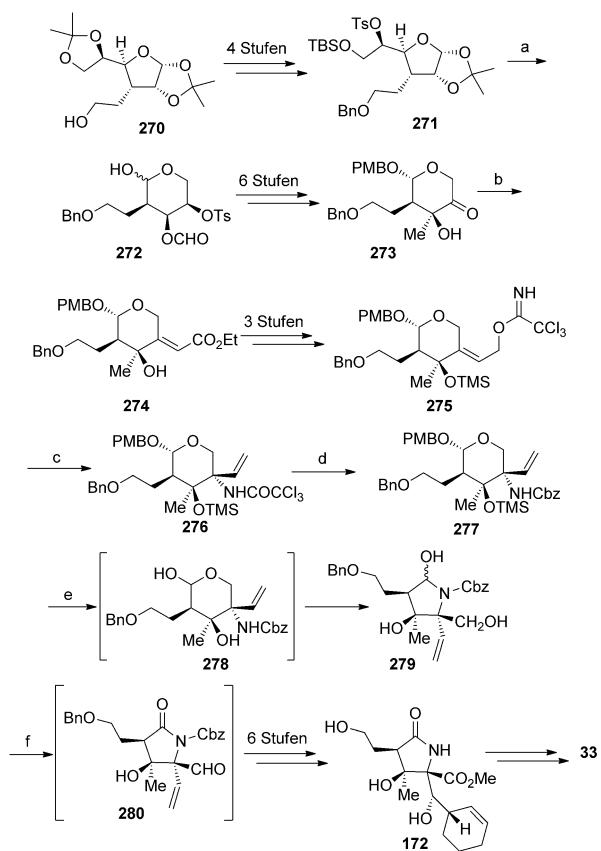
Eine formale Synthese, die auf Coreys Verbindung 172 beruhte, wurde von Sato und Chida publiziert (Schema 42).^[132] Ausgehend von Diaceton-D-Glucose konnte in vier Stufen die Verbindung 271 aufgebaut werden.^[133] Diese wurde als Benzylether geschützt, und nach Entfernung einer der beiden Acetonide konnte das resultierende Diol mit Schutzgruppen versehen werden. Hydrolyse des zweiten Acetonids und Glykolspaltung mit $NaIO_4$ ergaben Pyranose 272. Diese wurde wiederum als PMB-Ether geschützt, und die Formylgruppe wurde entfernt. Oxidation des freien Alkohols



Schema 41. a) 269, DBU, $THF-tBuOH$ (10:1), $40^\circ C$, 3 h, 88%, d.r. = 1:1.1.

und Alkylierung mit $AlMe_3$ lieferten 273. Nach Tosyl-Entschützung und weiterer Oxidation konnten eine HWE-Reaktion und TMS-Schützung erfolgreich durchgeführt werden. Die Reduktion des Esters, gefolgt von der Transformation in das entsprechende Trichloracetimidat 275, ebnete den Weg für die entscheidende Overman-Umlagerung unter Bildung von 276 (69%). Nach Entfernen der Trichloracetyl-Gruppe und anschließender Schützung wurde 277 erhalten. Diese wurde zur gleichzeitigen Abspaltung der PMB- und TMS-Gruppe anschließend mit TFA behandelt. Das resultierende Diol 278 bildete spontan das Halbaminal 279. Eine Jones-Oxidation, Veresterung, TMS-Schützung und oxidative Spaltung bereiteten das Molekül für die Einführung der Cyclohexenyl-Seitenkette nach Coreys Protokoll vor. Die abschließende Entschützung mit BCl_3 ergab dann 172.

Ling et al. präsentierte im Jahr 2012 zwei Synthesearbeiten.^[134] Im ersten wurde das Äquivalent von Coreys Schlüsselintermediat 170 aus L-Serin-Hydrochlorid hergestellt (281, Schema 43). N,O-Schützung und Umwandlung in das entsprechende β -Keto-Amid 282 ermöglichten eine Cyclisierung und Dehydrierung. Nachdem der Alkohol 284 erhalten wurde, konnte die Doppelbindung mit $tBuOOH$ und Triton B in das entsprechende Epoxid überführt werden. Die reduktive Spaltung des resultierenden Oxirans, eine oxidative



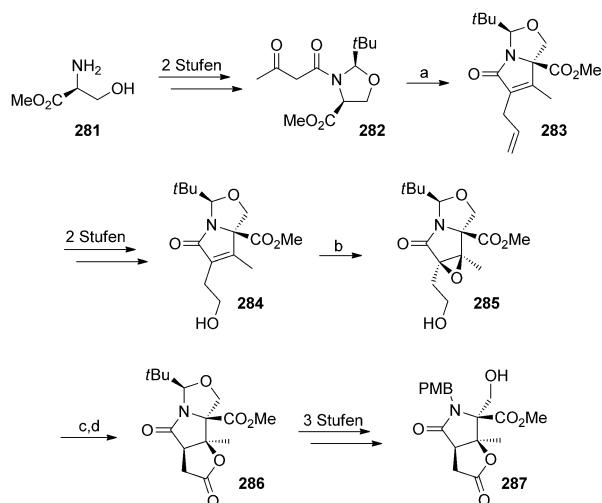
Schema 42. a) 6 M HCl, THF, dann NaIO₄, THF (wässr.); b) (EtO)₂P(O)CH₂CO₂Et, NaH, THF, 96%; c) Na₂CO₃, *tert*-Butylbenzol, 150°C, verschlossenes Reaktionsgefäß, 2 d, 85% (2 Stufen), d.r. = 4.3:1; d) DIBAL-H, Toluol, -78°C, dann CbzCl, EtOAc, 0.5 M NaOH (wässr.), quant.; e) TFA-H₂O (4:1), CH₂Cl₂, 0°C; f) Jones-Reagens, Aceton (wässr.), 0°C.

Lactonisierung und das Entfernen des chiralen Auxiliars vervollständigten die Synthese von **287**.

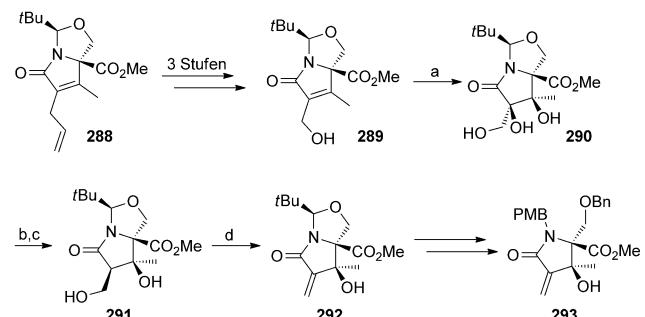
In ihrem zweiten Ansatz wurde **288** durch eine Seitenkettenmanipulation und Dihydroxylierung (konvexer Angriff) in das Triol **290** überführt. Nach Bildung des intermediären Epoxids und dessen Öffnung mit SmI₂ konnte das Diol **291** hergestellt werden, das nach Dehydratisierung als Vorstufe für Coreys Verbindung **168** dient (Schema 44).

Über eine formale Synthese zum Grundgerüst von Salinosporamid A (**33**) unter Anwendung einer intramolekularen Hydroamidierung wurde von Takemoto et al. berichtet (Schema 45).^[135] Dazu wurden L-Serin (**294**) als PMB-Ether geschützt und cyclisiert, das resultierende Oxazolin **295** alkyliert und das Imidat hydrolysiert. Die Umwandlung in das Alkinyl-Formamid **297** ermöglichte eine Hydroamidierung, und die folgenden Schutzgruppenmanipulationen etablierten die γ -Lactam-Einheit **298**.

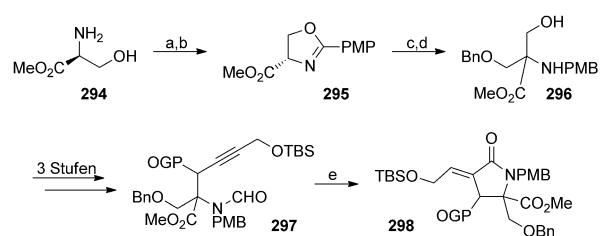
Kazmaier et al.^[136] präsentierten einen formalen biomimetischen Ansatz ausgehend von der Aminosäure **304**, die auch von Moore als Zwischenprodukt in der Biosynthese von Salinosporamid vorgeschlagen wurde^[137] (Schema 46). Der Propargylalkohol **299** wurde dazu deuteriert, um ein mechanistisches Bild des Biosyntheseweges zu bekommen. Die



Schema 43. a) Allylbromid, K₂CO₃, DMF, 25°C, dann DBU, Toluol, 110°C, 80%; b) Triton B (80 Gew.-% in MeOH), tBuOOH-Lösung (konz. in Decan), THF, 25°C, 10 min; dann **284**, THF, 25°C, 40 h, 71%; c) SmI₂, HF/MeOH, -80°C, 100%; d) PCC, 4 Å Molsieb, CH₂Cl₂, 25°C, 84%.

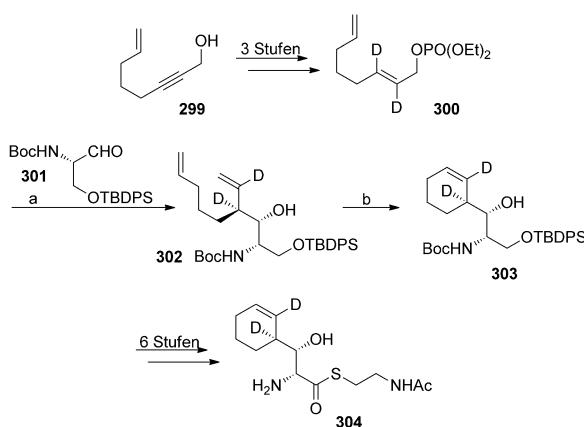


Schema 44. a) Citronensäure, NMO, K₂OsO₄·2H₂O, THF/H₂O, 25°C; b) Et₃N, TsCl, CH₂Cl₂, 25°C, 77% (2 Stufen); c) SmI₂, THF/MeOH, -80°C, 87%; d) PPh₃, Imidazol, I₂, Benzol, 80°C, 90%.



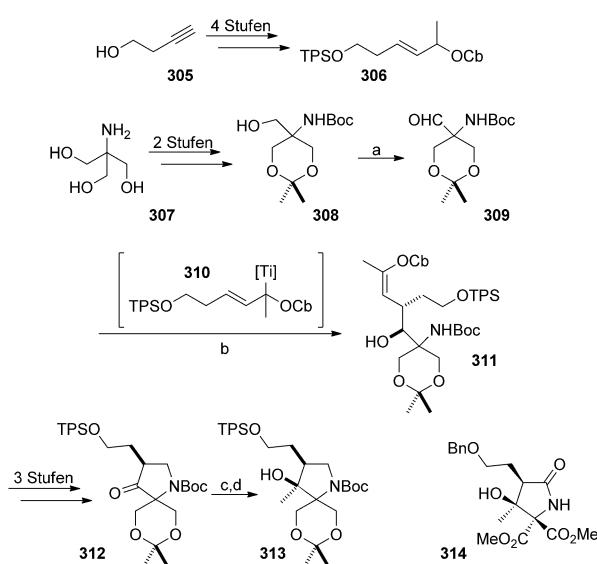
Schema 45. a) PMPCOCl, iPr₂NEt; b) SOCl₂, 70% (2 Stufen); c) LDA, BnOCH₂Cl, HMPA, THF; d) NaBH₄, AcOH, 43% (2 Stufen); e) [Rh₄(CO)₁₂], Xylool, 130°C.

Umwandlung in das Phosphat **300**, gefolgt von einer substratkontrollierten Nozaki-Hiyama-Kishi-Reaktion mit Aldehyd **301** ergab **302**. Eine Ringschlussmetathese erzeugte **303**, und ein Oxidationsstufenwechsel etablierte den Thioester **304**.



Schema 46. a) 300, CrCl_2 , NaI , THF , RT, 86%; b) Grubbs-II-Katalysator, CH_2Cl_2 , RT, 96%.

Lannou und Ardisson (Schema 47) publizierten die stereoselektive Funktionalisierung der Pyrrolidinon-Einheit.^[138] Dazu wurde das Triol 307 geschützt und zum Aldehyd 309

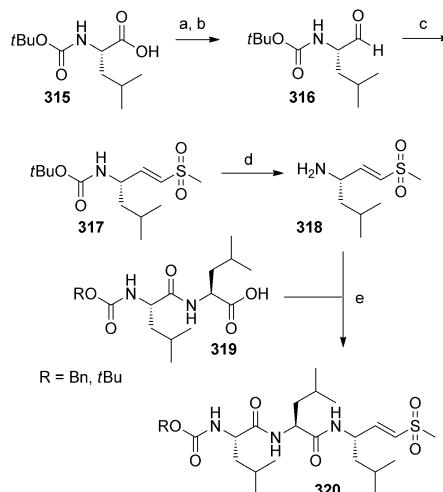


Schema 47. a) Oxalylchlorid, DMSO , CH_2Cl_2 , RT, dann 308, CH_2Cl_2 , RT, 97%; b) (\pm) -310, TMEDA , $n\text{BuLi}$ in Hexan, Et_2O , -78°C , $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$, dann 309, THF , -78°C , 76%; c) Me_3SOI , NaH , DMSO , RT, dann (\pm) -312, 60°C ; d) LiAlH_4 , Et_2O , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 52% (2 Stufen).

oxidiert. Eine Hoppe-Allylierung mit der Titanverbindung 310 erzeugte die Verbindung 311, die über Ozonolyse und reduktive Aminierung cyclisiert wurde. Die benötigte Konfiguration des tertiären Alkohols wurde durch eine Corey-Chaykovsky-Epoxidierung und reduktive Öffnung eingestellt. Der daraus resultierende Alkohol 313 entspricht Pattendens Intermediat 314.

10. Vinylsulfone

1997 berichteten Ploegh et al. über Vinylsulfone, die zu kovalenten Modifikationen des aktiven Threonins in den β -Untereinheiten des Proteasoms führten.^[139] Die Synthese der Vinylsulfone transformiert geschützte Aminosäuren in die entsprechenden Peptidaldehyde. Die nachfolgende Wittig-Olefinition erzeugte das Vinylsulfon 317, das entschützt wird, um den Baustein 318 zu liefern. Ausgehend von 318 als zentralem Fragment können verschiedene Peptid-Vinylsulfone für die Proteasomforschung zugänglich gemacht werden (Schema 48).



Schema 48. Synthese der Peptid-Vinylsulfone nach Ploegh. a) PyBOP, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, $\text{CH}_3\text{NHOCH}_3$, CH_2Cl_2 ; b) LiAlH_4 , Et_2O ; c) $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$, NaH ; TsOH , Et_2O ; d) Boc-Entschützung; e) PyBOP, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 .

Biologische Untersuchungen haben ergeben, dass Peptid-Vinylsulfone mit dem Proteasom durch eine Michael-Addition des N-terminalen Threonins an das ungesättigte Sulfon reagieren (Abbildung 18). Das inhibitorische Potenzial ist vergleichbar mit dem der Peptid-Aldehyde, aber es konnte gezeigt werden, dass sie weniger toxisch sind als Peptid-Aldehyde (z. B. Z-L3H).

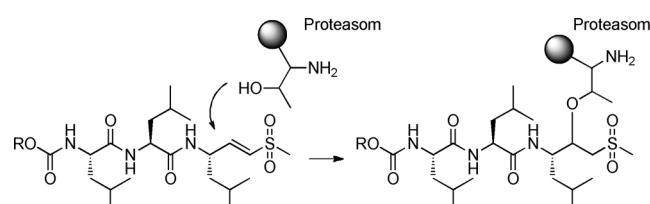
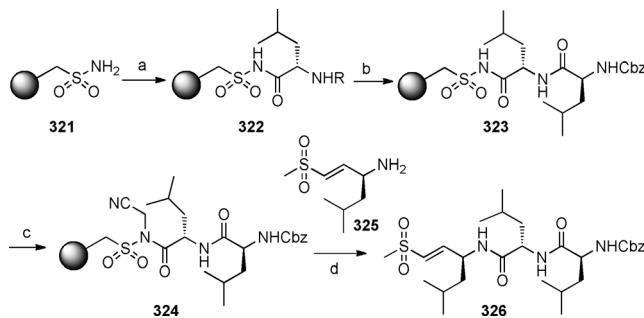


Abbildung 18. Inhibition des Proteasoms durch Peptid-Vinylsulfone.

Overkleft und Ploegh^[140] übertrugen ihre Lösungssynthese der Peptid-Vinylsulfone auf ein Festphasenprotokoll unter Ausnutzung von Kenners „Safety-catch“-Methode. Letztlich wurde dieser Ansatz auf die Synthese neuer Peptid-Vinylsulfone und Epoxyketone angewendet. In diesen Syn-

thesen wurde die erste Aminosäure auf ein 4-Sulfamylbutyrylaminomethyl-Polystyrolharz geladen. Anschließend wird das über etablierte Peptidkupplungsprotokolle hergestellte Dipeptid mit Iodacetonitril behandelt, um die aktivierte Verbindung **324** herzustellen. Die Umsetzung des aktivierten Harzes mit **325** setzt schließlich das Peptid-Vinylsulfon **326** frei (Schema 49).



Schema 49. Festphasensynthese von Peptid-Vinylsulfonen mit Kenners „Safety-catch“-Protokoll. a) Fmoc-LeuOH, PyBOP, *iPr*₂NEt, DMF; b) Cbz-LeuOH, PyBOP, *iPr*₂NEt, DMF; c) *ICH*₂CN, *iPr*₂NEt, NMP; d) *iPr*₂NEt, THF.

Overkleft nutzte das Vinylsulfon-Motiv in Kombination mit verschiedenen Peptidsegmenten als Testreagens für die Spezifität der Proteasom-Untereinheiten.^[68] Er nahm an, dass die N-terminale Verlängerung eines Proteasom-Inhibitors mit einer Adamantyl-Einheit wie in Struktur **327** gezeigt, zu potenteren Inhibitoren führt (Abbildung 19). Die Validität

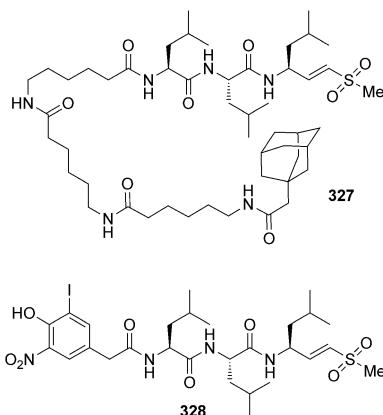


Abbildung 19. Variationen des Peptid-Vinylsulfon-Konzeptes.

dieses Konzeptes konnte schließlich auch für **327** bestätigt werden. Der Fokus in Overklefts Proteasom-Forschung war es, Inhibitoren zu entwickeln, die zwischen dem konstitutiven Proteasom und dem Immunproteasom unterscheiden können.^[141]

11. Makrolactone und cyclische Amide

Drei Oxazol-Makrolide wurden als potente Proteasom-Inhibitoren identifiziert. Sie wurden aus Schwämmen der Art *Mycale* isoliert und inhibieren die Chymotrypsin-ähnliche Aktivität (Abbildung 20). Der aktivste Metabolit ist Secomycalolid A (**331**) mit einem IC_{50} -Wert von 11 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

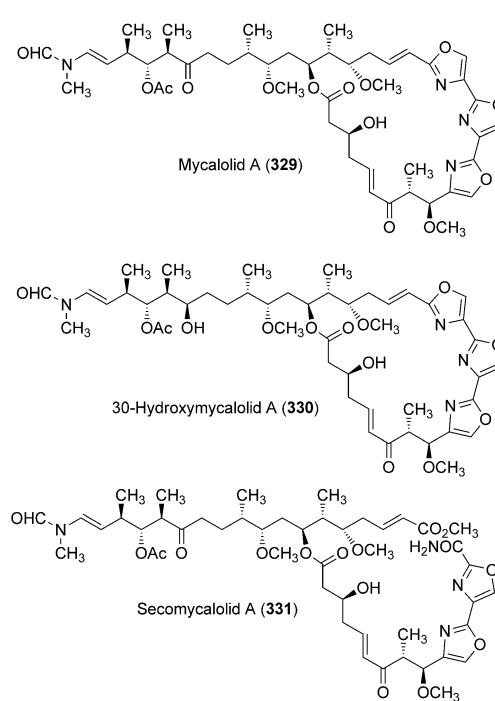
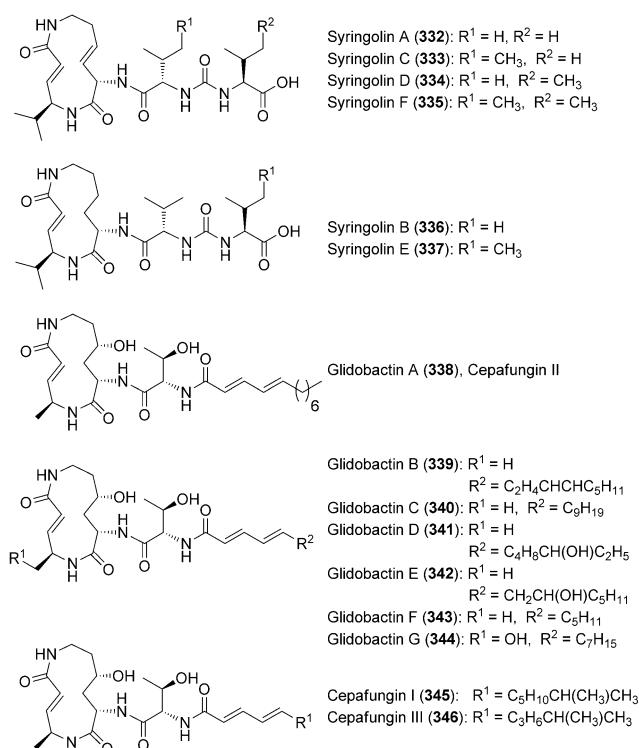
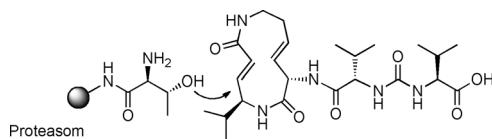


Abbildung 20. Makrolactone als Proteasom-Inhibitoren.

11.1. Syringolin A und Glidobactin A

Die Naturstoff-Familie der Syrbactine^[142] besteht aus den Verbindungen Syringolin, Glidobactin und Cepafungin (Abbildung 21). Sie sind seit 20 Jahren im Zentrum der biologischen Forschung, und dabei wurde festgestellt, dass sie ihre Wirkung durch die Inhibition des Proteasoms entfalten.^[143] Der Mechanismus beinhaltet einen Angriff der Hydroxygruppe des katalytischen Threonins an den Michael-Akzeptor in β -Position (Abbildung 22). Die Syringoline^[144] wurden ursprünglich als Virulenzfaktoren des Pflanzenpathogens *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) identifiziert und inhibieren das pflanzliche Proteasom. Die Glidobactine A, B und C wurden aus dem gleitenden Bakterium *Polyangium brachysporum* sp. nov. No. K481-B101 isoliert und wurden unmittelbar als neue Antitumorverbindungen identifiziert.^[145] Die Cepafungine wurden aus Pseudomonaden isoliert.^[146]

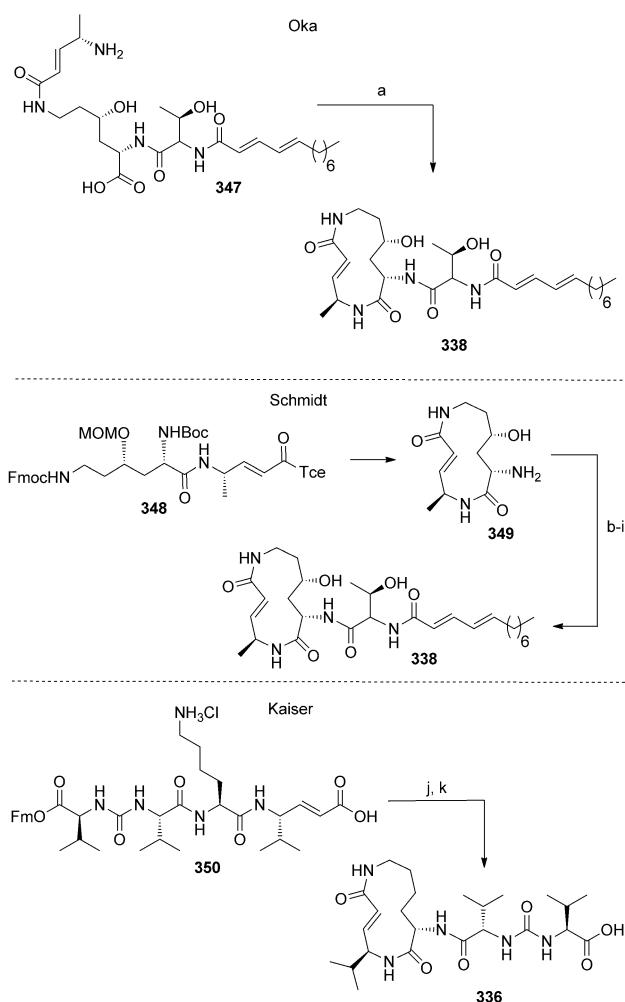
Im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsprojektes konnten Groll und Kaiser zeigen, dass Syringolin A (**332**) bevorzugt die Chymotrypsin-ähnliche Untereinheit inhibiert ($K_i = 843 \text{ nm}$). Syringolin B, das sich lediglich durch die Abwesenheit der zweiten Doppelbindung unterscheidet, ist als Inhibitor der $\beta 5$ -Untereinheit deutlich weniger aktiv ($K_i =$

**Abbildung 21.** Die Familie der Syrbactine.**Abbildung 22.** Die Syrbactine reagieren als Michael-Akzeptoren mit dem Proteasom.

7.78 μM .^[147] Glidobactin A (338) ist hingegen ein noch stärkerer Inhibitor ($K_i = 49 \text{ nm}$).

Aufgrund ihrer bemerkenswerten inhibitorischen Fähigkeiten wurde den Syrbactinen die Aufmerksamkeit verschiedener Synthesegruppen zuteil. Die ersten Arbeiten stammten von Oka,^[148] der ein lineares Hydrolyseprodukt von Glidobactin A (338) als Startpunkt verwendete. Unter Verwendung von DCC und HOBr konnte der Ringschluss erfolgreich durchgeführt werden. Die Schmidt-Gruppe nutzte einen leicht unterschiedlichen Ansatz. Sie führten die Makrocyclisierung an einem Substrat durch, dem die Seitenkette fehlte, und führten diese später ein (Schema 50).^[149] Kaiser und Mitarbeiter nutzten eine Strategie die Okas Synthese für Syringolid B (336) entsprach. Dabei wurde eine Vorstufe mit der geeigneten Schutzgruppe versehen. Nach Freisetzung sowohl der Amino- als auch der Säuregruppe wurde mit PyBOP eine Makrolactamisierung zu Syringolin B (336, Schema 50) durchgeführt.^[148, 149]

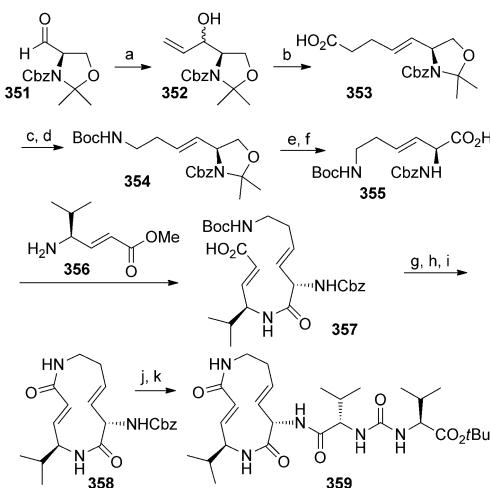
Die Stephenson-Gruppe etablierte ebenfalls einen Makrolactamisierungsansatz für Syringolin A (332).^[150] Ausgehend von Garners Aldehyd und unter Verwendung einer Johnson-Claisen-Umlagerung konnte die Säure 353 erhalten



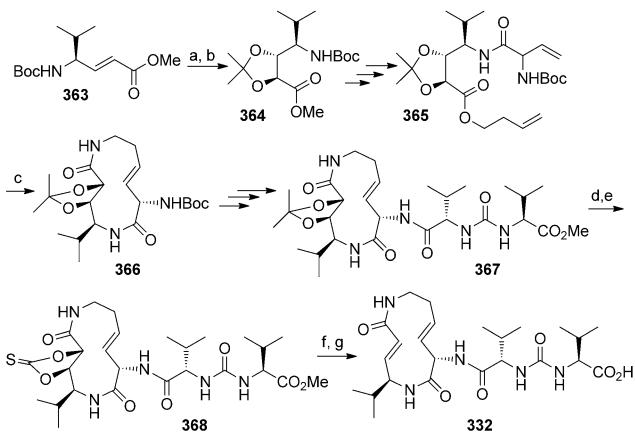
Schema 50. Makrolactamisierung zu den Syrbactinen. a) DCC, HOBr, DMF, 23%; b) AcOH, Zn, quant.; c) CF3CO2C6F5, pyr.; d) DBU, 4-Pyridinylpyridin, 20% (2 Stufen); e) TFA, THF; f) Boc-Thr-Suc, DMAP, DMF, 72% (2 Stufen); g) TFA, THF; h) 2(E),4(E)-Dodecadiensäure-Succinimidester, N-Methylmorpholin, DMF, 41+26% (2 Stufen); i) TFA, THF, quant. j) PyBOP, HOAt, iPr2NEt, DMF, 30%; k) Piperidin, DMF, 73%.

werden. Eine Curtius-Umlagerung etablierte das Amin 354, und die sich anschließende Kondensation mit 356 lieferte das lineare Intermediat 357. Freisetzung der terminalen Funktionen und Umsetzung mit BOP und HOAt beendeten die Synthese von Syringolin A (332, Schema 51).

Zwei Synthesen von Syringolin A (332), die eine Metathese beinhalteten, wurden von Kaiser et al. publiziert.^[149, 151] Dabei wurde die zweite Doppelbindung intermedial in ein Diol überführt und nach der Ringschlussmetathese wieder regeneriert. Nach Behandlung des Acetonids mit Säure und Bildung des Thiocarbonates mit Thiocarbonyliimidazol lieferte eine Corey-Winter-Eliminierung das gewünschte Olefin. In ihrer ersten Synthese (Schema 52) wurde die Corey-Winter-Eliminierung nach der Einführung der Peptidseitenkette durchgeführt. In der zweiten Synthese wurde dieser Schritt vor die Etablierung der Seitenkette verlagert (Schema 53), was einen konvergenteren Zugang zu synthetischen Variationen eröffnete.

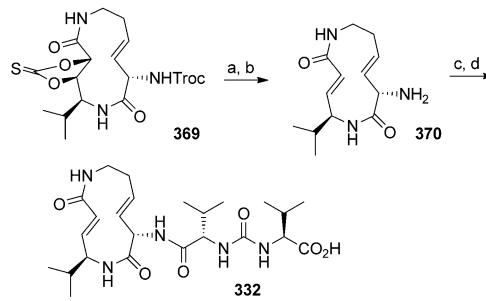


Schema 51. Die Stephenson-Synthese von Syringolin A: a) Vinylmagnesiumbromid, THF, 86%; b) $\text{CH}_3\text{C}(\text{OMe})_3$, Propionsäure, Xylool, 93%; c) LiOH, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 96%; d) DPPA, TEA, Toluol, $t\text{BuOH}$, 81%; e) *p*-TsOH, MeOH, 94%; f) Cr_3 , wässr. H_2SO_4 , Aceton, 78%; g) EDC, HOEt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 70%; h) LiOH, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 91%; i) TFA, CH_2Cl_2 ; j) BOP, HOAt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, DMF, 15%; k) $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 97%; Pd/C, H_2 , MeOH, 97%; l) HBr, Essigsäure, quant.; m) BOP, HOAt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, DMF, CH_2Cl_2 , 85%.



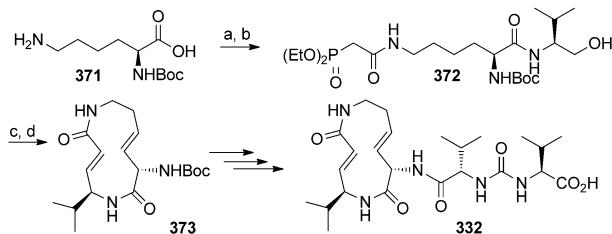
Schema 52. Kaisers erster Metathesezugang zu den Syringolinen. a) OsO_4 , NMO, Aceton/ H_2O , 85%; b) 2,2-Dimethoxypropan, PPTS, CH_2Cl_2 , 98%; c) H_2O_2 , $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 93%; d) Grubbs-II-Katalysator, Toluol, 49%; d) $\text{HCO}_2\text{H}/\text{MeOH}$, 98%; e) Thiocarbonyldiimidazol, DMAP, THF, 89%; f) $\text{P}(\text{OMe})_3$, 76%; AlCl_3 , Methylthiylsulfid, 92%.

Pirrung und Mitarbeiter berichteten über einen Wittig-Horner-Ansatz bei der Synthese von Syringolin A (332).^[152] Die Einführung von Valinol und des Phosphonates bereitete die Ausgangsverbindung für die Ringschluss-Olefinierung vor. Wie in der zweiten Synthese von Kaiser (Schema 53) ist



Schema 53. Kaisers zweiter Metathesezugang. a) $\text{P}(\text{OMe})_3$, 88%; b) Zn , AcOH , THF , 98%; c) Harnstoff, PyBOP, HOAt, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, DMF, 95%; d) AlBr_3 , Tetrahydrothiophen, 84%.

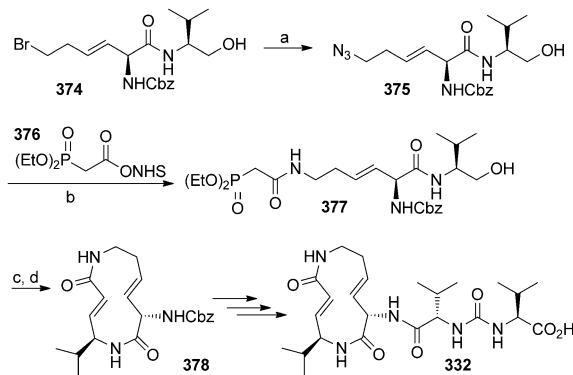
dies ein konvergenter Ansatz, der den Aufbau einer kleinen Bibliothek von Analoga ermöglichte (Schema 54).



Schema 54. Pirrungs erster Wittig-Horner-Ansatz. a) Na_2CO_3 , Dioxan/ H_2O ; b) Valinol, DCC, NHS, CH_2Cl_2 , 75%; c) Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 ; d) $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, TMEDA, THF, 65%.

Mit einer leicht veränderten Olefinierungsstrategie konnten sie ebenfalls die Synthese von Syringolin B (336) erfolgreich abschließen (Schema 55).

Diese Arbeiten schufen die Basis für detaillierte Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen, die sich speziell für Hybridstrukturen als nützlich erwiesen. In diesem Kontext synthetisierten Pirrung et al.^[153] die Oxa-Variante 379 (TIR-203), Sylb-LIP (380) und dGlbA-LIP (383). Diese Verbindungen



Schema 55. Pirrungs zweiter Olefinierungsansatz. a) NaN_3 , DMF, 100%; b) PPh_3 , MeOH , c) CH_2Cl_2 ; d) Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 , e) $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, TMEDA, THF, 81%.

wurden untereinander und mit Kaisers Syringolin-A-Variante SylA-Lip^[154] (**382**) verglichen. Biologische Untersuchungen der Zellproliferation von SK-N-As- und MYCN-2-Neuroblastom-Zelllinien ergaben, dass Oxa-SylA-Lip die aktivste Verbindung ist und die Verbindungen **380** und **383** eine mit SylA-Lip (**382**) vergleichbare Aktivität aufweisen. Das bedeutet, dass alle Verbindungen über eine im Vergleich zu Syringolin A (**332**) (20 μ M) verbesserte Aktivität verfügen. Kürzlich berichteten Ibarra-Rivera und Pirrung,^[155] dass die Oxa-Verbindung TIR-203 alle drei katalytischen Untereinheiten in Myelom-Zelllinien konzentrationsabhängig inhibiert (Abbildung 23).

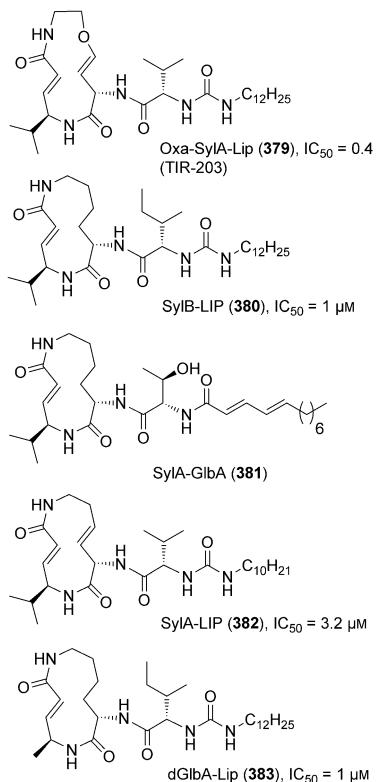


Abbildung 23. Syringolin-Analoga.

In einem Forschungsansatz, der sich zum Ziel gesetzt hatte, die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen dieser Verbindungsklasse grundlegender zu verstehen, kombinierten Kaiser und Overkleef die Strukturelemente der Syringoline, Epoxyketone und Vinylsulfone.^[156] In Abbildung 24 sind die fünf aktivsten Verbindungen gezeigt. Die Verbindungen tragen als pharmakophore Gruppen entweder Epoxyketone oder Vinylsulfone in Kombination mit den Seitenketten der Syringoline. Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass diese Epoxyketone zusätzliche Aktivitäten an den $\beta 1$ - und $\beta 2$ -Untereinheiten besitzen. Speziell **388** entfaltet jedoch eine bemerkenswert selektive Aktivität an der $\beta 1$ -Untereinheit.^[157]

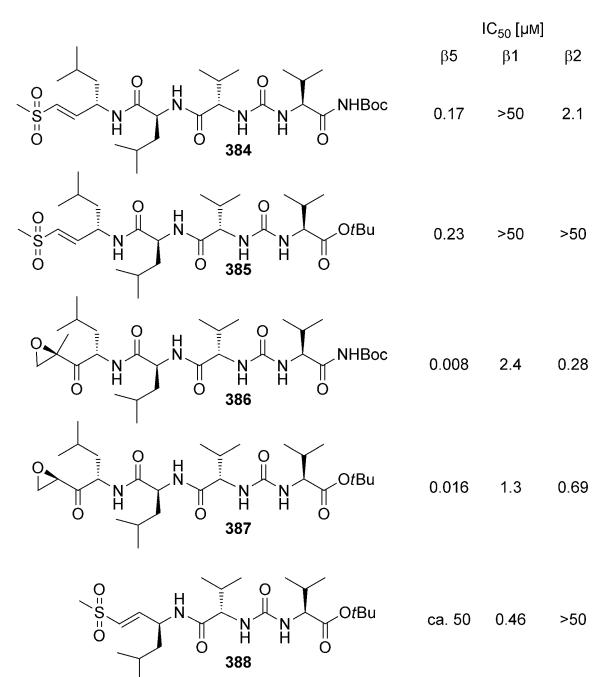
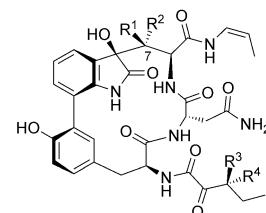


Abbildung 24. Hybridverbindungen aus Epoxyketonen, Vinylsulfonen und den Syringolinen.

12. TMC-95 A/B

12.1. Die biologische Aktivität von TMC-95 A/B

TMC-95 A–D (**389–392**; Abbildung 25) sind vier Diastereomere einer Familie von natürlichen cyclischen Peptiden. Sie wurden aus der Fermentationsbrühe des Pflanzenpathogens *Apiospora montagneyi* Sacc TC 1093 isoliert.^[157] TMC-



TMC-95 A (389): $R^1 = H$, $R^2 = OH$, $R^3 = CH_3$, $R^4 = H$
TMC-95 B (390): $R^1 = H$, $R^2 = OH$, $R^3 = CH_3$, $R^4 = CH_3$
TMC-95 C (391): $R^1 = OH$, $R^2 = H$, $R^3 = CH_3$, $R^4 = H$
TMC-95 D (392): $R^1 = OH$, $R^2 = H$, $R^3 = H$, $R^4 = CH_3$

Abbildung 25. Die Familie der TMC-95-Verbindungen.

95 A (**389**) ist die aktivste Verbindung dieser Naturstoffklasse. TMC-95 A inhibiert die Chymotrypsin-ähnliche (CT-L), Trypsin-ähnliche (T-L) und Peptidoglutamyl-hydrolysierende (Caspase-ähnlich, PGPH) Aktivität des 20S-Proteasoms mit IC_{50} -Werten von 5.4, 200 und 60 nmol. Eine Inversion des Chiralitätszentrums an C7 hat dramatische Effekte auf den IC_{50} -Wert dieser Verbindungsklasse. Während TMC-95 B (**390**) noch eine vergleichbare inhibitorische Aktivität im nanomolaren Bereich aufweist, ist die Aktivität bei den Diaste-

reomeren von TMC95 C und D (**391**, **392**) zwischen 20- bis 150-fach schwächer. Diese Werte belegen eindrucksvoll, dass die *S*-Konfiguration an dieser Stelle essenziell für die inhibitorische Aktivität ist.

Alle Proteasom-Inhibitoren wie etwa die synthetischen Peptid-Aldehyde, Boronate, Vinylsulfone oder Lactacystin und Epoxomicin führen zu kovalenten Bindungen am N-terminalen Threonin der β -Untereinheit.^[158] TMC-95 A ist das erste Beispiel eines nichtkovalenten reversiblen Proteasom-Inhibitors. Noch bedeutender ist, dass die TMC-95-Verbindungen spezifisch das 20S-Proteasom inhibieren, ohne dabei andere Proteasen, etwa *m*-Calpain, Cathepsin-L oder Trypsin, zu inhibieren, wie über NMR-Untersuchungen bestätigt wurde. Die Bindungsverhältnisse von TMC-95 A wurden durch eine Röntgen-Kristallstrukturanalyse des am Hefe-Proteasom gebundenen Inhibitors aufgeklärt. Groll et al. bestätigten dadurch, dass TMC-95 A an alle drei Untereinheiten über ein Netzwerk von Wasserstoffbrücken gebunden ist.^[159] Die Kristallstruktur bestätigte ebenfalls die Bedeutung der C7-Hydroxygruppe. Die *S*-Konfiguration ist für die Aktivität der Inhibitoren TMC-95 A und B verantwortlich, wohingegen die *R*-Konfiguration aufgrund einer ungünstigen Wechselwirkung des Carbonyl-Sauerstoffatoms mit der Aminosäure 21 in der β 2-Untereinheit eine schwächere inhibitorische Aktivität ergibt. Die Orientierung von TMC-95 A im Proteasom-Komplex entspricht der von Epoxomicin. Dabei bindet die *n*-Propylen-Seitenkette in der S1-Tasche, während die Asparagin-Seitenkette in die S3-Tasche hineinreicht. Die Ketoamid-Seitenkette ist nur über schwache Wechselwirkungen am Bindungsmotiv beteiligt. Daher hat die Chiralität an C36 auch nur einen geringen Einfluss auf die biologische Aktivität.

Die hohe biologische Aktivität und die Komplexität der Molekülstruktur haben in einer Reihe prominenter Arbeitsgruppen zu Syntheseprojekten geführt. Besonders herausfordernde Strukturelemente waren dabei das hochoxidierte L-Tryptophan und der Aryl-Oxindol-Ring in Kombination mit dem (*Z*)-1-Propenylamid und der 3-Methyl-2-oxo-pentanoat-Seitenkette.

12.2. Die erste Totalsynthese von TMC-95 A/B nach Danishefsky

Die erste Totalsynthese einer TMC-95-Verbindung wurde von Lin und Danishefsky im Jahr 2002 publiziert.^[160] In ihrer retrosynthetischen Analyse nutzen Danishefsky und Mitarbeiter eine Makrolactamisierung, um den 17-gliedrigen Makrozyclus von TMC-95 A/B zu bilden (Abbildung 26).^[161] Die Bisaryl-Domäne wurde über eine Suzuki-Kupplung etabliert. Die Synthese der *cis*-Propenylamid-Seitenkette war eine der Schlüsselherausforderungen in der Synthese von TMC-95 A/B. Die chemische Instabilität dieser Einheit unter sowohl sauren als auch basischen Bedingungen zwang Danishefsky und Mitarbeiter, eine neue Strategie zur Etablierung des *cis*-Propenylamids über die Umlagerungshydrolyse eines α -Silylallylamids auszuarbeiten (Schema 56).

Das Substrat **393** geht in dieser Sequenz bei 110°C eine nacheinander erfolgende En- und silatrophe Umlagerung ein, welche zu **395** führt. Wässrige Aufarbeitung dieser Verbin-

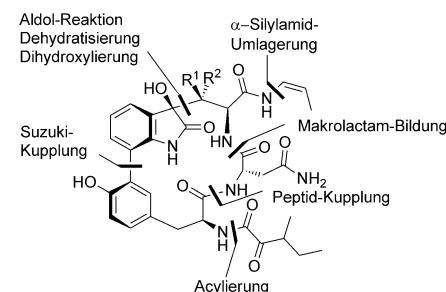
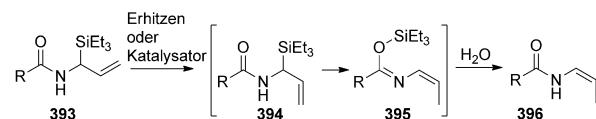


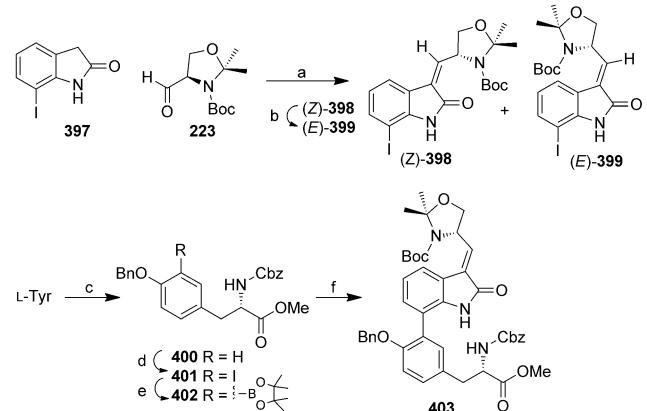
Abbildung 26. Retrosynthetische Analyse von Danishefskys Synthese.



Schema 56. Synthese des *cis*-Propenylamids.

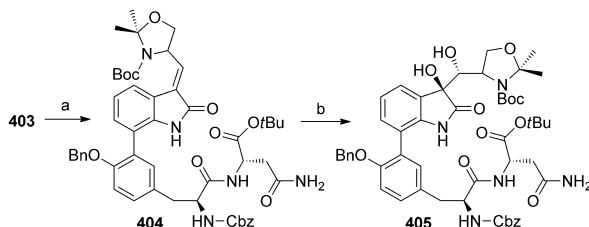
dung liefert das Enamid **396** in guten Ausbeuten und mit dem *cis*-Produkt als dem einzigen detektierbaren Isomer.

Die Synthese des Bisaryl-Fragmentes **403** von TMC-95 A und TMC-95 B begann mit dem Iodoxindol **397**. Eine gekreuzte Aldolreaktion mit Garners Aldehyd (**223**), gefolgt von β -Eliminierung des entsprechenden Mesylates, ergab ein 1:1:3-Gemisch der beiden α , β -ungesättigten Lactame (*Z*)-**398** und (*E*)-**399**. Eine Iod-vermittelte Isomerisierung überführte das *Z*-Alken in das benötigte *E*-Isomer. Die Boronsäure **402** wurde ausgehend von L-Tyrosin synthetisiert. Eine fünfstufige Sequenz ergab schließlich die gewünschte Boronsäure in guten Ausbeuten. Schließlich wurden die Fragmente **400** und **402** über eine Palladium-katalysierte Suzuki-Reaktion zusammengefügt (Schema 57).^[162]



Schema 57. Synthese der Bisaryl-Verbindung **403**. a) LDA, THF, -78°C , 1.5 h; NEt₃, MsCl, CH₂Cl₂, $-70^{\circ}\text{C} \rightarrow -50^{\circ}\text{C}$, 1.5 h; 81% (*E*/*Z* = 1.3:1); b) I₂ (kat.), Benzol, 80°C , 26 h; DMP/PPTS, Toluol, 65°C , 5 h; 85%; c) 1. MeOH/SOCl₂, 2. CbzCl/K₂CO₃; 3. BnBr, Cs₂CO₃, Aceton, Rückfluss; 88% (3 Stufen); d) Ag₂SO₄/I₂, MeOH, RT, 1 h; 99%; e) Pinacolatobor, [PdCl₂(dppf)]·CH₂Cl₂, KOAc, DMSO, 80°C , 10 h, 91%; f) (*E*)-399, [PdCl₂(dppf)]·CH₂Cl₂, K₂CO₃, DME, 80°C , 2 h; 75%.

Die weiteren Schritte der Synthese beinhalteten die Hydrolyse des Methylesters **403** und eine Peptidkupplung mit H-Asp-OrBu. Eine Sharpless-Dihydroxylierung führte schließlich die Hydroxygruppen an C6 und C7 in einem Diastereomerengleichverhältnis von 5:1 ein (relativ zum 6R,7S-Stereoisomer; Schema 58).



Schema 58. Synthese des Diols **405**. a) 1. LiOH, THF/H₂O, 0°C, 1.5 h; 2. H-Asn-OrBu, EDC/HOAT, THF, RT, 2 h; 85% (2 Stufen); b) OsO₄, NMO, (DHQD)₂-PHAL, tBuOH/H₂O, RT, 12 h; 88% (d.r. = 5:1).

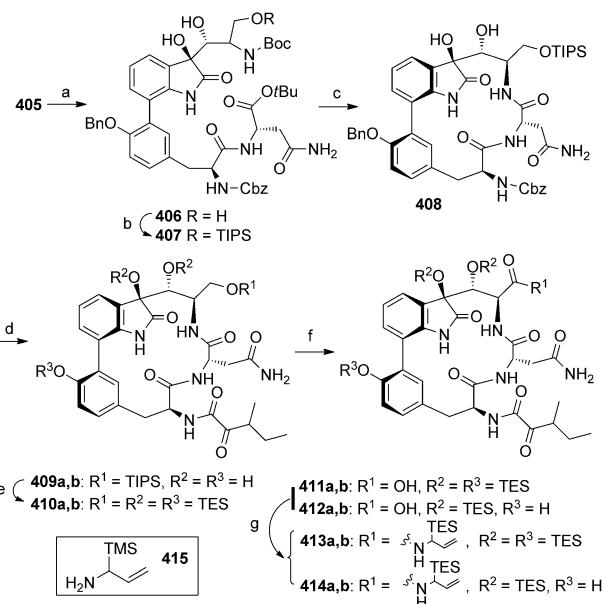
Ausgehend von **405** lieferten die Entschützung durch Spalten des N,O-Acetonids und Schützen der primären OH-Gruppe an C15 als TIPS-Ether, gefolgt von Hydrolyse des *tert*-Butylesters mit TFA, die Vorstufe für die entscheidende Makrocyclisierung. Unter Verwendung von Standard-Peptidkupplungsreagentien (EDC, HOAT) konnte das vollständig funktionalisierte Grundgerüst (**408**) von TMC-95 A/B erhalten werden. Schließlich wurde die 3-Methyl-2-oxopentansäure als Seitenkette eingeführt, was **409a** und **409b** als 1:1-Diastereomerengemisch lieferte (Schema 59).

Entschützung durch Spalten des TIPS-Ethers gefolgt von der Schützung aller vier Hydroxygruppen als TES-Ether führte zu **410**. Die primäre Hydroxygruppe wurde selektiv entshützt und mit dem Jones-Reagens oxidiert. Aufgrund einer partiellen Entschützung der phenolischen OH-Gruppe wurde an dieser Stelle ein Gemisch aus **411a,b** und **412a,b** beobachtet. Die nachfolgende Kondensation mit dem Amin **415** erzeugte die Vorstufe für die Einführung der (Z)-1-Propenylamid-Einheit.

Das α -Silylallylamid wurde nach dem skizzierten Umlagerungsprotokoll in das entsprechende (Z)-1-Propenylamid überführt (Schema 60). Das Rohprodukt dieser Verbindung wurde mit HF/Pyridin entshützt und lieferte ein 1:1-Gemisch von TMC-95 A und B, das mithilfe von HPLC getrennt werden konnte. Somit war die erste Totalsynthese von TMC-95 A (**389**) und TMC-95 B (**390**) in 25 Stufen abgeschlossen.

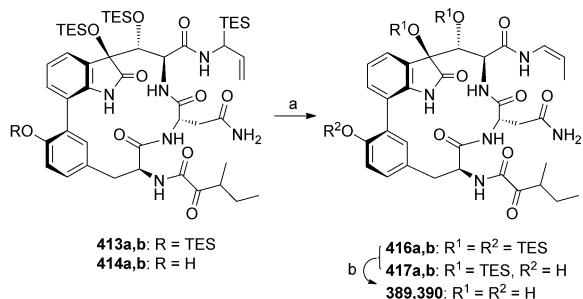
12.3. Die Totalsynthese von Inoue und Hirama

Im Jahr 2003 beschrieben Hirama und Inoue die erste stereoselektive Synthese von TMC-95 A (**389**).^[163] Ein erster Zugang zum oberen Segment schlug aufgrund der chemischen Labilität der Propenylamid-Einheit bei der Carbamat-Entschützung fehl.^[164] Die veränderte Route begann mit dem Indol **418**. Die wichtigen Schritte dieser zweiten Synthese sind eine stereoselektive Mizoroki-Heck-Reaktion und eine diastereoselektive Oxidations-Epoxidöffnungs-Sequenz (Abbildung 27).



Schema 59. Synthese des α -Silylallylamids **413a,b** und **414a,b**.

a) PPTS/MeOH, Rückfluss, 2 h; b) TIPSCl, Imidazol/DMAP, CH₂Cl₂, RT, 5 h; 88% (2 Stufen); c) 1. TFA/CH₂Cl₂ (4:1), RT, 2 h; 2. EDC/HOAT/iPr₂NEt, CH₂Cl₂/DMF (2 mm), RT, 24 h; 52% (2 Stufen); d) 1. Pd/C, H₂, EtOH, RT, 19 h; 2. (±)-3-Methyl-2-oxopentansäure, EDC/HOAT, CH₂Cl₂/DMF, 2 h; 85% (2 Stufen); e) 1. HF/Py; 2. TESOTf, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 0°C → RT, 15 h; 3. NaHCO₃; 4. Citronensäure, EtOAc/H₂O; 73%; f) Jones-Reagens, Aceton, 0°C, 2 h; g) **415**, EDC/HOAT, CH₂Cl₂/DMF, RT, 13 h; 45% (2 Stufen).



Schema 60. Synthese von TMC-95 A und TMC-95 B. a) 1. o-Xylo, 140°C, 3 d; 2. H₂O; b) HF/Py, THF/Py; dann Me₃SiOMe, 49% (2 Stufen).

dung 27). Über eine dreistufige Reaktionsabfolge konnte das fortgeschrittene Oxindol **418** in das Iodid **419** überführt werden (Schema 61).

Der Schlüsselschritt in der Synthese des oberen Fragments war die Entfernung der ungewöhnlich stabilen Carbamatgruppe. Nach umfangreicher Evaluierung verschiedener Bedingungen konnte die Vorschrift von Gassman et al.^[165] als optimales Protokoll ausfindig gemacht werden. Eine Kombination aus OH⁻ und KO/Bu hydrolysierte sowohl das Carbamat als auch das Acetonid bei gleichzeitiger Amidierung (**420**) in ausgezeichneter Ausbeute (74%).

Für den Aufbau der Bisaryl-Einheit wurde das Arylboronat **427** aus dem Iodotyrosin-Derivat **424** und der α -Hydroxycarbonsäure **425** aufgebaut. Zwei Schutzgruppen-

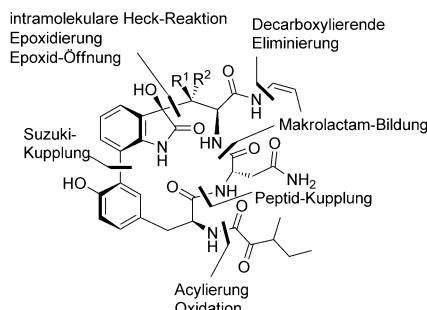
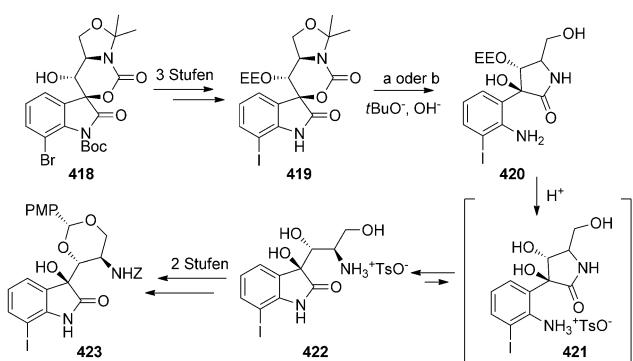


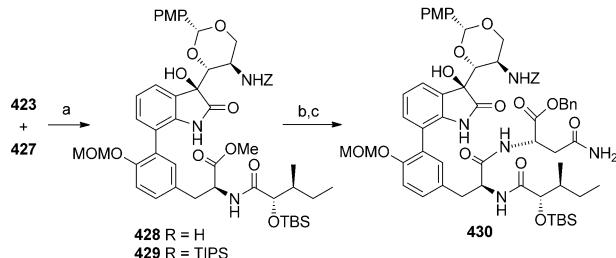
Abbildung 27. Retrosynthese nach Hirama.



Schema 61. Synthese des Iodids 423. a) KOtBu (15 Äquiv.), H_2O (10 Äquiv.), Et_2O , RT, 74 %; b) KOtBu (15 Äquiv.), H_2O (10 Äquiv.), Et_2O , RT; dann H_2O , TsOH , MeOH , RT.

manipulationen und die Überführung des Iodids in das Arylboronat etablierten 427 in drei Schritten mit 81 % Ausbeute (Schema 62).

Die Bisaryl-Domäne wurde über eine Suzuki-Reaktion zwischen dem Arylboronat 427 und dem Aryliodid 423 in sehr guter Ausbeute aufgebaut (84 %; Schema 63). Hydrolyse des Methylesters 428 und Kupplung mit L-Asparagin-Benzylester



Schema 63. Synthese von Verbindung 430. a) 427 (1.5 Äquiv.), $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$, Na_2CO_3 , $\text{DME}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1), 95 °C, 84 %; b) LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), 0 °C; c) H-Asn-OBn TFA, EDC HCl, HOBt, DMF, 0 °C, 75 %.

ergaben das vollständig funktionalisierte acyclische Rückgrat von TMC-95 (430).

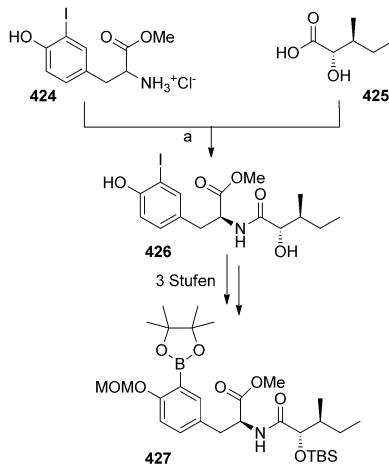
Die gleichzeitige Spaltung der Benzyloxycarbonyl- und Benzylester ergab die entsprechende Secosäure, die anschließend zum Makrolactam (431) cyclisierte werden konnte. Die Einführung der (Z)-Propenylamid-Seitenkette verlangte zunächst den Austausch der TBS-Schutzgruppe gegen die labilere TES-Gruppe und die Entfernung des PMP-Acetals mit gepuffertem Zinktriflat und Ethanithiol. Die primäre Hydroxygruppe des resultierenden Triols wurde selektiv mit dem Parikh-Doering- und anschließend dem Pinnick-Protokoll oxidiert. Die finale Kupplung mit L-Allothreonin-Benzylester gefolgt von einer Hydrierung etablierte die β -Hydroxycarbonsäure 436. Behandlung mit DEAD und Triphenylphosphoran löste eine dehydrierende Decarboxylierung und Grob-Fragmentierung aus, die das (Z)-Propenylamid 437 als einziges Diastereomer lieferte (Schema 64).

Die Entschützung durch Spaltung des TES-Ethers an C35 gefolgt von einer Dess-Martin-Oxidation lieferte MOM-ge schütztes TMC-95 A in ausgezeichneten Ausbeuten. Die finale MOM-Entschützung erwies sich als Herausforderung, da sich die Propenylamid-Einheit unter sauren Bedingungen als instabil herausstellte. Aus diesem Grund war ein zwischenzeitliches Schützen der OH-Gruppe an C7 als Chloracetylester unumgänglich. Ein Eintopfverfahren unter Verwendung von basischen und sauren Bedingungen etablierte schließlich TMC-95 A (389).

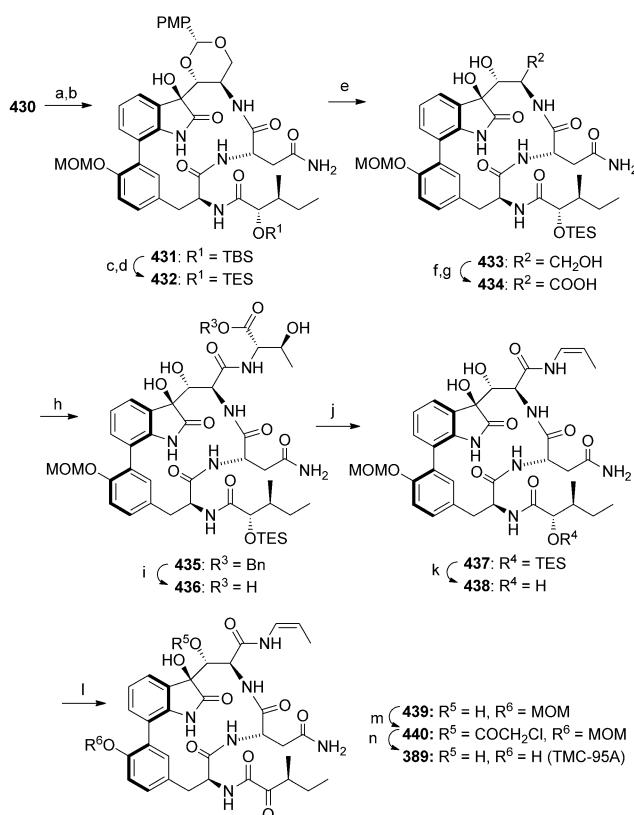
12.4. Die Totalsynthese von Williams

In 2003 berichteten Albrecht und Williams über eine Formalsynthese von TMC-95 A (389) und B (390), die ein spätes Intermediat aus Danisheskys Protokoll nutzt.^[166] Ein Jahr später berichteten sie über ihre Totalsynthese, bei der sie gegenüber der vergleichbaren Hirama-Synthese die Schutzgruppenstrategie optimierten.^[167] In Analogie zu den oben beschriebenen Synthesen nutzten Williams et al. ebenfalls eine Suzuki-Kupplung für den Aufbau der Bisaryl-Einheit (Abbildung 28). Eine Decarboxylierungs-Eliminierungs-Strategie installierte das *cis*-Propenylamid.

Eine bemerkenswerte Transformation dieser Synthese ist die Bildung des hochoxidierten Tryptophans über eine modifizierte Julia-Kupplung, gefolgt von der Dihydroxylierung der Doppelbindung. Das heteroaromatische Sulfon wurde



Schema 62. Synthese des Arylboronates 427. a) 425 (2 Äquiv.), EDC HCl , HOBt , 4-Methylmorpholin, DMF, 0 °C, 56 %.



Schema 64. Synthese nach Hirama. a) H_2 , $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1); b) EDC-HCl, HOAt, DMF, 0°C , 78%; c) TBAF, 4 Å MS, THF, 86%; d) TESCl, Imidazol, DMF, 85%; e) $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, EtSH, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , 100%; f) $\text{SO}_3\text{-Pyr.}$, Et_3N , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO}$ (3:1), RT; g) NaClO_2 , NaH_2PO_4 , 2-Methyl-2-buten, $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (5:1), RT; h) L-Allo-Thr-OBn-TFA, EDC-HCl, HOEt, DMF, 0°C , 67%; i) H_2 , $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:2); j) DEAD, PP_3 , 4 Å-MS, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 59%; k) HF-Pyridin, THF, 79%; l) Dess-Martin-Periodinan, CH_2Cl_2 , 80%; m) $(\text{ClCH}_2\text{CO})\text{O}$, Pyridin, CH_2Cl_2 , 0°C ; n) wässrige HCl (1 n) / THF (3:1), RT; dann ges. wässrige NaHCO_3 , 64%.

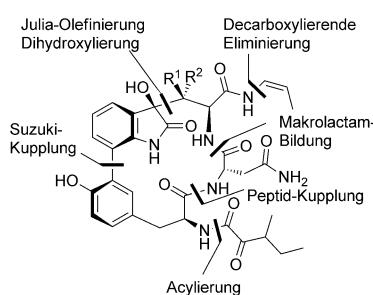
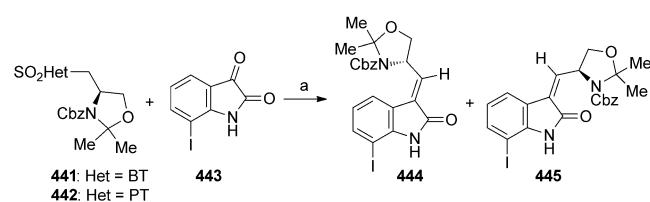


Abbildung 28. Retrosynthese nach Williams.

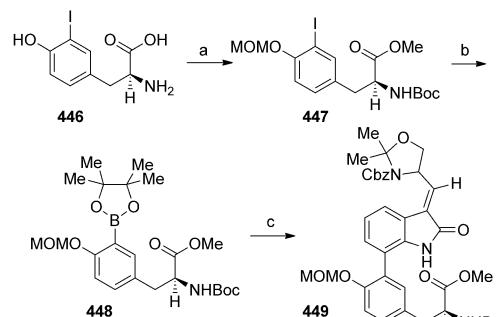
mithilfe etablierter Transformationen in vier Schritten aus *N*-Cbz-L-Serinmethylester aufgebaut. Die Julia-Olefinierung von **441** mit 7-Iodisatin (**443**) ergab die besten Ergebnisse unter den von Jacobsen et al. etablierten Bedingungen^[168] und lieferte das gewünschte Oxindol in einem *E/Z*-Verhältnis von 5:1 (**444/445**) und mit 79% Ausbeute (Schema 65).

Die Synthese des Boronsäureesters **448** begann mit kommerziell erhältlichem 3-Iod-L-tyrosin (**446**), das in drei



Schema 65. Modifizierte Julia-Olefinierung. a) DMF, DMPU, LiHMDS, 0°C , 79% (*E/Z* = 5:1). Het = Benzothiazolyl (BT) oder 1-Phenyl-1*H*-triazol-5-yl (PT).

Stufen in das vollständig geschützte Tyrosin-Derivat **447** überführt wurde.^[169] Die Suzuki-Kupplung der Fragmente **444** und **445** mit K_2CO_3 in siedendem wässrigen Dimethoxyethan mit Dichloro[1,1'-bis(diphenylphosphanyl)ferrocen]palladium als Katalysator lieferte die Bisaryl-Einheit **449** in 90% Ausbeute (Schema 66).

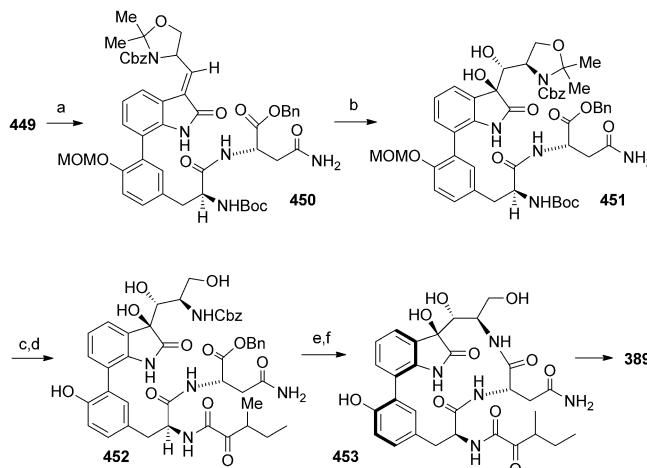


Schema 66. Synthese nach Williams. a) 1. SOCl_2 , MeOH , RT, 18 h; 2. Di-*tert*-butyldicarbonat, ges. NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 12 h; 3. Chlormethylmethylether, $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, CH_2Cl_2 , 0°C , 3 h, 95%, 3 Sufen; b) Bis(pinacolato)diboran, KOAc , Dichlor[1,1'-bis(diphenylphosphanyl)ferrocen]palladium, wässr. Dimethoxyethan, Rückfluss, 90%.

Die Verseifung des Methylesters **449**, gefolgt von der Einführung des Asparaginrests über eine Peptidkupplung von $\text{NH}_2\text{-Asn-OBn}$, lieferte **450**. Die entscheidende Dihydroxylierung durch Reaktion mit OsO_4 in wässrigem Pyridin ergab das Diol **451** als einziges Isomer in 87% Ausbeute.

Um mögliche Probleme mit der Entfernung der MOM-Gruppe zu vermeiden, entschieden sich Williams et al. dazu, alle labilen Schutzgruppen mit Trifluoressigsäure zu entfernen. Die finalen Stufen der Synthese von TMC-95 A/B entsprechen der von Danishefsky, einschließlich der Einführung der D,L-3-Methyl-2-oxopentansäure, der Makrolactambildung und des Aufbaus der Enamid-Einheit (Schema 67).

Diese Totalsynthese kommt mit einem Minimum an Schutzgruppenmanipulationen aus und liefert TMC-95 A (**389**) und B (**390**) nach 18 Stufen im 1:1-Verhältnis und mit 4% Gesamtausbeute.



Schema 67. Abschließende Transformationen in der Synthese nach Williams. a) 1. LiOH, THF, H₂O, 0°C; 2. H₂N-Asn-OBn, HOAt, EDC, iPr₂NEt, CH₂Cl₂, 0 °C, 4 h, 98% (2 Stufen); b) OsO₄, Pyridin, 0°C, 1 h, dann NaHSO₃, 87%; c) TFA/H₂O (1:1), RT, 4 h; d) Natriumsalz der 3-Methyl-2-oxopentansäure, HOAt, EDC, THF, 0°C, 98% (2 Stufen); e) Pd, H₂, MeOH, RT, 6 h; f) EDC, HOAt, CH₂Cl₂, DMF (1:1), RT, 1 mM, 49% (2 Stufen).

12.5. Derivate von TMC-95 A

Aufgrund des exzellenten biologischen Profils von TMC-95 ist diese Verbindungsklasse eine vielversprechende Leitstruktur für die Synthese von Derivaten. Während die von Danishefsky et al. synthetisierten Derivate von TMC-95 A die hochoxidierte Indol-Einheit beibehielten, haben Moroder et al. Analoga mit einem vereinfachten Rückgrat synthetisiert. Vidal et al. entwickelten lineare Varianten des TMC-95-Motivs, die allerdings substanzell von der ursprünglichen Struktur abweichen.

12.5.1. Moroder's Derivate von TMC-95 A

Inspiriert von der Röntgenkristallstruktur von TMC-95 A (389) im Komplex mit dem 20S-Proteasom und in Kombination mit computergestützten Rechnungen identifizierten Moroder et al. ein minimales Bindemotiv von TMC-95 A (389). Entsprechend wurde auch 454 als erstes Syntheseziel identifiziert (Abbildung 29).^[170]

Die für die Synthese von 454 notwendigen Schlüsseltransformationen sind in Schema 68 wiedergegeben. Arylboronat 456 und *N*^α-Boc-Propylamid 455 wurden dabei mit einer Suzuki-Kreuzkupplung verknüpft. Die Peptidkette

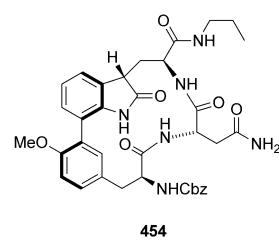
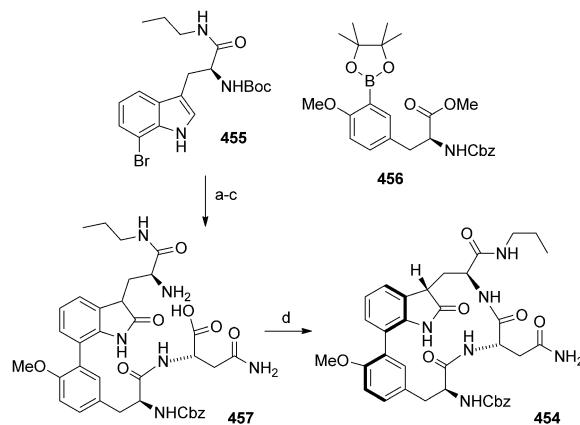


Abbildung 29. Minimales Bindemotiv von TMC-95 A.



Schema 68. Moroder's Synthese. a) [Pd(dppf)Cl₂]-CH₂Cl₂ (5 Mol-%), K₂CO₃ (3 Äquiv.), DME/H₂O (7:1), 70°C; b) H-Asn-OtBu, EDC, HOEt; c) DMSO (20 Äquiv.), AcOH/HCl (4:1); d) PyBOP (4 Äquiv.), HOBt (4 Äquiv.), iPr₂NEt (6 Äquiv.).

wurde mit Asparagin-*tert*-butylester verlängert. Anschließend erfolgte eine DMSO/HCl-vermittelte Oxidation der Indol-Einheit zur linearen Vorstufe 457. Die erfolgreiche Cyclisierung zum gespannten Ringsystem mit PyBOP/HOBt/iPr₂NEt lieferte dann das gewünschte Makrolactam 454 als einziges Diastereomer.

Erfreulicherweise konnte nur das Isomer mit der gewünschten Konfiguration an C3 cyclisiert werden. Der Vergleich der IC₅₀-Werte mit denen von TMC-95 A (389) ergab ähnliche Aktivitäten gegenüber den TL- und PGPH-Untereinheiten. Allerdings war die Aktivität gegenüber der Chymotrypsin-ähnlichen Untereinheit ca. 100-fach geringer. Diese substanzell verminderte Aktivität wurde der größeren Flexibilität der Propylamid-Seitenkette gegenüber der (Z)-1-Propenylamid-Seitenkette zugeschrieben.

Das Derivat 458 wurde für die Untersuchung der Substrat-Bindegenschaften des Proteasoms synthetisiert. Die flexibleren Bisaryl-Ether 459 und 460 wurden über eine intramolekulare aromatische Substitution zugänglich gemacht (Abbildung 30).^[171] 459 war ein besonders wertvolles Substrat, da es mit dieser Verbindung gelang, eine Kristallstrukturanalyse im Komplex mit dem 20S-Proteasom anzufertigen.

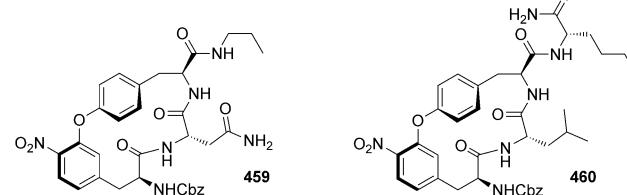
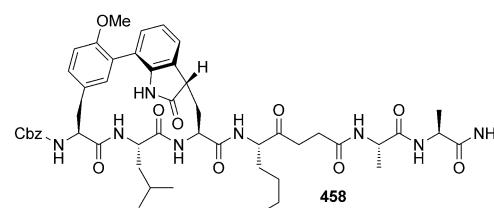


Abbildung 30. Vereinfachte Analoga von TMC-95.

12.5.2. Danishefskys Derivate von TMC-95 A

Aufgrund der Synthese von TMC-95 A/B konnten Danishefsky et al. die Synthese von Varianten dieser Naturstoffklasse auf einer späten Stufe realisieren. Zur Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und zur Optimierung der Syntheseroute wurden von Danishefsky und Mitarbeitern die TMC-95-Varianten **461–470** synthetisiert.^[172] Der Ersatz der Enamid-Einheit durch eine weniger labile Allylamid-Einheit und die Entfernung des Chiralitätszentrums an C36 führten zum Erhalt der biologischen Aktivität. Auf der anderen Seite war das *n*-Propylamid-Derivat **467** ca. 10-fach weniger aktiv als TMC-95 A und B sowie **465**.^[173] Die Verbindungen **469** und **470** zeigten ebenfalls verringerte Aktivitäten im Vergleich zu den Substanzen mit Enamid oder Allylamid-Seitenkette (Abbildung 31).

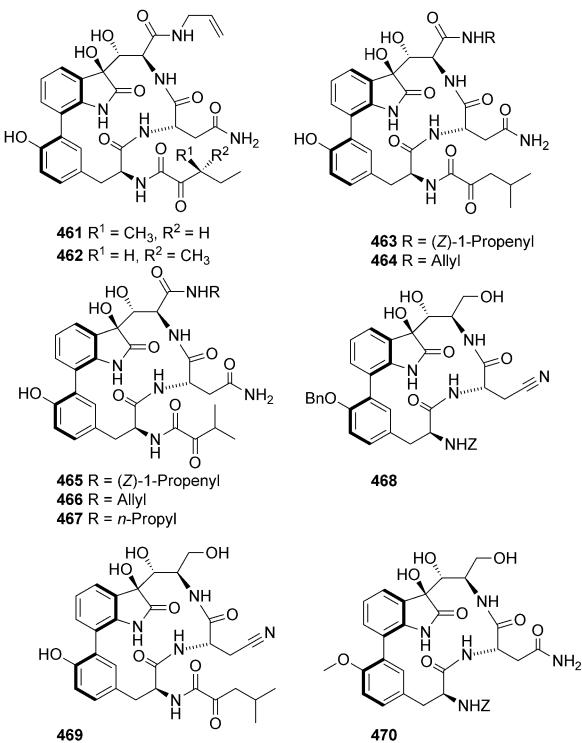


Abbildung 31. Danishefskys Analoga von TMC-95 A.

12.5.3. Vidals Derivate von TMC-95 A

Im Jahr 2003 berichteten Vidal und Mitarbeiter über die Synthese von drei cyclischen TMC-95-A-Derivaten (**471**; Abbildung 32).^[174] Der Schlüsselschritt war dabei eine intramolekulare Ullmann-Reaktion zur Bildung der makrocyclischen Struktur. Diese weniger komplexen Analoga trugen vereinfachte Peptidseitenketten, und das hochoxidierte Oxindol wurde durch eine gewöhnliche Indol-Einheit ersetzt. Kürzlich wurden in einer anderen Publikation 45 lineare TMC-95-basierte Proteasom-Inhibitoren beschrieben.^[175]

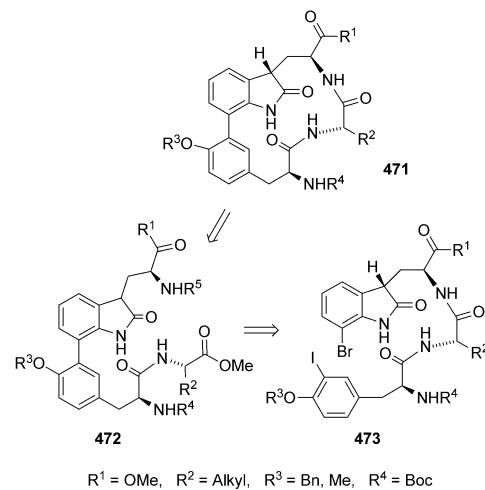


Abbildung 32. Vidals Derivate von TMC-95 A.

13. Zusammenfassung

Proteasom-Inhibitoren gelten derzeit als vielversprechende Verbindungen für die Behandlung von bösartigen Tumoren. Obwohl ursprünglich angenommen wurde, dass eine so zentrale zelluläre Struktur wie das Proteasom niemals durch selektive Inhibitoren in Angriff genommen werden könnte, konnten Proteasom-Inhibitoren identifiziert werden, die spezifisch die zelluläre Konzentration von Zellzyklusregulatoren wie p27 stabilisieren. Ausgehend von Peptid-Aldehyden und -Boronaten konnten in den letzten Jahren weitere Naturstoffe als Startpunkt für die Wirkstoffentwicklung gefunden werden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind sowohl eine Reihe verschiedener reaktiver Gruppen dieser Naturstoffe sowie ihre Bindemotive bekannt. Diese Grundvoraussetzungen bieten den idealen Startpunkt für eine gezielte Medikamentenentwicklung. Jedoch ist die intensive Zusammenarbeit von Synthetikern und Medizinern in Hochschule und Industrie auf diesem Gebiet zwingend erforderlich. Es gilt, das Potenzial dieser Verbindungen zu heben und die Erwartungen der Gesellschaft an eine praktisch ausgerichtete Grundlagenforschung zu erfüllen.

Abkürzungen

(1S,1'S,2R,2'R)-DuanPhos	(1S,1'S,2R,2'R)-2,2'-Di- <i>tert</i> -butyl-2,3,2',3'-tetrahydro-1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> (1,1')biisophosphindolyl
(Boc) ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
(DHQD) ₂ -PHAL	1,4-Bis(9- <i>O</i> -dihydrochinimidin)phthalazin
(Icy)CuOtBu	(1,3-Dicyclohexylimidazol-2-yliden)-kupfer(I)- <i>tert</i> -butoxid
4-PPY	4-Pyrrolidinopyridin
Abu	Aminobutansäure
AIBN	Azobisisobutyronitril
Asn	Asparagin
AZADO	2-Azaadamantan- <i>N</i> -oxyl
B ₂ pin ₂	Bis(pinacolato)diboran

Belleaus	2,4-Bis(4-phenoxyphenyl)-1,3-dithia-2,4-diphosphetan-2,4-disulfid
Reagens	Benzyl
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
BOP	Benzotriazol-1-yl-oxytris(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat
CAN	Cerammoniumnitrat
Cbz	Benzoyloxycarbonyl
CbzCl	Chlorameisensäurebenzylester
CSA	Camphersulfonsäure
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMDO	Dimethyldioxiran
DME	1,2-Dimethoxyethan
DME	Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMP	2,2-Dimethoxypropan
DMPU	<i>N,N</i> -Dimethylpropylenharnstoff
DPPA	Diphenylphosphorylazid
dppf	Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen.
EDC	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid-Hydrochlorid
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
GDH	Glucose-Dehydrogenase
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxy-1 <i>H</i> -benzotriazol
IBX	2-Iodoxybenzoësäure
KRED-EXP-	Ketoreduktase
B1Y	
LDA	Lithiumdiisopropylamid
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
MOM	Methoxymethyl
MS	Molekularsieb
MsCl	Methansulfonylchlorid
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinucleotid
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMO	4-Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
NMP	1-Methyl-2-pyrrolidinon
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PMBCl	4-Methoxybenzylchlorid
PMP	4-Methoxyphenyl
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytris(pyrrolidino)-phosphonium-hexafluorophosphat
PyBroP	Bromtris(pyrrolidino)phosphonium-hexafluorophosphat
pyr	Pyridin
Suc	Succinimido

TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDPSCI	<i>tert</i> -Butylchlordiphenylsilan
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-tetrafluoroborat
Tce	2,2,2-Trichlorethyl
TEA	Triethylamin
TES	Triethylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin
TsCl	<i>p</i> -Toluolsulfonylchlorid
TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure

Wir danken Prof. Dr. M. Kaiser und Prof. Dr. H. Overkleef für wertvolle Hinweise bei der Erstellung dieses Aufsatzes.

Eingegangen am 30. September 2012
Online veröffentlicht am 25. März 2013

- [1] a) A. Ciechanover, H. Heller, S. Elias, A. L. Haas, A. Hershko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 1365–1368; b) A. Ciechanover, *Angew. Chem. 2005*, *117*, 6095–6119; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5944–5967.
- [2] P. M. Kloetzel, E. Krüger, U. Seifert, F. Ebstein, *FEBS J.* **2011**, *278*, 12–13.
- [3] a) A. Ciechanover, A. L. Schwartz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 2727–2730; b) A. Ciechanover, *Biochem. Soc. Trans.* **2003**, *31*, 474–481; c) A. L. Goldberg, K. Rock, *Nat. Med.* **2002**, *8*, 338–340; d) C. M. Pickart, *Cell* **2004**, *116*, 181–190; e) A. Navon, A. Ciechanover, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 33713–33718.
- [4] a) K. Nasmyth, *Annu. Rev. Genet.* **2001**, *35*, 673–745; b) M. G. Goebl, J. Yochem, S. Jentsch, J. P. McGrath, A. Varshavsky, B. Byers, *Science* **1988**, *241*, 1331–1335; c) M. Glotzer, A. W. Murray, M. W. Kirschner, *Nature* **1991**, *349*, 132–138.
- [5] M. Scheffner, J. M. Huibregtse, R. D. Vierstra, P. M. Howley, *Cell* **1993**, *75*, 495–505.
- [6] R. Honda, H. Tanaka, H. Yasuda, *FEBS Lett.* **1997**, *420*, 25–27.
- [7] a) E. Krüger, P. M. Kloetzel, *Curr. Opin. Immunol.* **2012**, *24*, 77–83; b) U. Seifert, L. P. Bialy, F. Ebstein, D. Bech-Otschir, A. Voigt, F. Schroter, T. Prozorovski, N. Lange, J. Steffen, M. Rieger, U. Kuckelkorn, O. Aktas, P. M. Kloetzel, E. Krüger, *Cell* **2010**, *142*, 613–624; c) E. Sijts, P. M. Kloetzel, *Cell. Mol. Life Sci.* **2011**, *68*, 1491–1502; d) Z. J. Chen, J. Hagler, V. J. Palombella, F. Melandri, D. Scherer, D. Ballard, T. Maniatis, *Genes Dev.* **1995**, *9*, 1586–1597.
- [8] C. L. Ward, S. Omura, R. R. Kopito, *Cell* **1995**, *83*, 121–127.
- [9] a) P. M. Voorhees, R. Z. Orlowski, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2006**, *46*, 189–213; b) U. Testa, *Curr. Drug Targets* **2009**, *10*, 968–981; c) J. Sterz, I. von Metzler, J. C. Hahne, B. Lamottke, J. Rademacher, U. Heider, E. Terpos, O. Sezer, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2008**, *17*, 879–895; d) P. M. Kloetzel, *Gene Ther.* **1998**, *5*, 1297–1298.
- [10] a) J. Piotrowski, R. Beal, L. Hoffman, K. D. Wilkinson, R. E. Cohen, C. M. Pickart, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 23712–23721; b) C. M. Pickart, D. Fushman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 610–616.
- [11] a) M. Hochstrasser, *Cell* **2006**, *124*, 27–34; b) T. Ravid, M. Hochstrasser, *Nat. Cell Biol.* **2007**, *9*, U109; c) W. Li, D. Q. Tu, A. T. Brunger, Y. H. Ye, *Nature* **2007**, *446*, 333–337.
- [12] a) D. Finley, *Annu. Rev. Biochem.* **2009**, *78*, 477–513; b) E. Genin, M. Reboud-Ravaux, J. Vidal, *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10*, 232–256.
- [13] a) L. Huang, D. Yu, K. Ho, K. Qian, K.-H. Lee, C.-H. Chen, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6696–6701; b) M. Rechsteiner,

- C. P. Hill, *Trends Cell Biol.* **2005**, *15*, 27–33; c) W. Baumeister, J. Walz, F. Zühl, E. Seemüller, *Cell* **1998**, *92*, 367–380; d) M. Groll, W. Heinemeyer, S. Jager, T. Ullrich, M. Bochtler, D. H. Wolf, R. Huber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 10976–10983.
- [14] a) E. M. Huber, M. Groll, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 8838–8850; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 8708–8720; b) L. Borissenko, M. Groll, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 687–717; c) M. A. Gräwert, M. Groll, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1364–1378.
- [15] M. A. Gräwert, N. Gallastegui, M. Stein, B. Schmidt, P. M. Kloetzel, R. Huber, M. Groll, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 563–566; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 542–544.
- [16] a) J. S. Schneekloth, C. M. Crews, *Curr. Drug Targets* **2011**, *12*, 1581–1594; b) K. B. Kim, C. M. Crews, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2600–2605.
- [17] A. F. Kisselev, W. A. van der Linden, H. S. Overkleft, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 99–15.
- [18] M. Groll, R. Huber, L. Moroder, *J. Pept. Sci.* **2009**, *15*, 58–66.
- [19] S. Tsukamoto, H. Yokosawa, *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 745–754.
- [20] I. Nickeleit, S. Zender, F. Sasse, R. Geffers, G. Brandes, I. Sorensen, H. Steinmetz, S. Kubicka, T. Carlomagno, D. Menche, I. Gutgemann, J. Buer, A. Gossler, M. P. Manns, M. Kalesse, R. Frank, N. P. Malek, *Cancer Cell* **2008**, *14*, 23–35.
- [21] A. Arlt, I. Bauer, C. Schafmayer, J. Tepel, S. S. Muerkoster, M. Brosch, C. Roder, H. Kalthoff, J. Hampe, M. P. Moyer, U. R. Folsch, H. Schafer, *Oncogene* **2009**, *28*, 3983–3996, zit. Lit.
- [22] S. Tsukamoto, H. Yokosawa, *Expert Opin. Ther. Targets* **2009**, *13*, 605–621.
- [23] H. J. Yang, G. Q. Shi, Q. P. Dou, *Mol. Pharmacol.* **2007**, *71*, 426–437.
- [24] P. Bargagna-Mohan, P. P. Ravindranath, R. Mohan, *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* **2006**, *47*, 4138–4145.
- [25] a) I. Vandenberghe, L. Creancier, S. Vispe, J. P. Annereau, J. M. Barret, I. Pouny, A. Samson, Y. Aussagues, G. Massiot, F. Aussel, C. Bailly, A. Kruczynski, *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 453–462; b) M. Kawai, T. Matsuura, *Tetrahedron* **1970**, *26*, 1743–1745.
- [26] a) Y. Dai, J. DeSano, W. H. Tang, X. J. Meng, Y. Meng, E. Burstein, T. S. Lawrence, L. A. Xu, *Plos One* **2010**, *5*, e14153; b) T. Lenda, J. Konieczny, D. Jantas, M. Zapala, E. Lorenc-Koci, *Pharmacol. Rep.* **2009**, *61*, 359–360; c) S. Walcott, J. J. Heikkila, *Biochem. Cell Biol.* **2010**, *88*, 417–417; d) S. E. Walcott, J. J. Heikkila, *Comp. Biochem. Physiol. Part A* **2010**, *156*, 285–293; e) W. B. Wang, L. X. Feng, Q. X. Yue, W. Y. Wu, S. H. Guan, B. H. Jiang, M. Yang, X. Liu, D. A. Guo, *J. Cell. Physiol.* **2012**, *227*, 2196–2206; f) H. J. Yang, D. Chen, Q. Z. C. Cui, X. Yuan, Q. P. Dou, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 4758–4765.
- [27] S. Tsukamoto, M. Tatsuno, R. W. M. van Soest, H. Yokosawa, T. Ohta, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1181–1185.
- [28] a) K. Osanai, V. Milacic, Q. P. Dou, T. H. Chan, *Heterocycles* **2008**, *76*, 485–505; b) S. R. Choudhury, S. Balasubramanian, Y. C. Chew, B. S. Han, V. E. Marquez, R. L. Eckert, *Carcinogenesis* **2011**, *32*, 1525–1532; c) B. Bannerman, L. Xu, M. Jones, C. Tsu, J. Yu, P. Hales, J. Monbaliu, P. Fleming, L. Dick, M. Manfredi, C. Claiborne, J. Bolen, E. Kupperman, A. Berger, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2011**, *68*, 1145–1154.
- [29] S. Tsukamoto, T. Wakana, K. Koimaru, T. Yoshida, M. Sato, T. Ohta, *Biol. Pharm. Bull.* **2005**, *28*, 1798–1800.
- [30] a) D. Chen, K. R. Landis-Piwowar, M. S. Chen, Q. P. Dou, *Breast Cancer Res.* **2007**, *9*, R80; b) Y. X. Wu, X. Fang, *Planta Med.* **2010**, *76*, 128–132.
- [31] a) D. Chen, K. G. Daniel, M. S. Chen, D. J. Kuhn, K. R. Landis-Piwowar, Q. P. Dou, *Biochem. Pharmacol.* **2005**, *69*, 1421–1432; b) D. Chen, M. S. Chen, Q. C. Cui, H. J. Yang, Q. P. Dou, *Front. Biosci.* **2007**, *12*, 1935–1945; c) K. Plochmann, G. Korte, E. Koutsilieri, E. Richling, P. Riederer, A. Rethwilm, P. Schreier, C. Scheller, *Arch. Biochem. Biophys.* **2007**, *460*, 1–9.
- [32] A. Kazi, K. G. Daniel, D. M. Smith, N. B. Kumar, Q. P. Dou, *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *66*, 965–976.
- [33] A. Dreiseitel, P. Schreier, A. Oehme, S. Locher, G. Rogler, H. Piberger, G. Hajak, P. G. Sand, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *372*, 57–61.
- [34] a) M. Kroll, F. Arenzana-Seisdedos, F. Bachelerie, D. Thomas, B. Friguet, M. Conconi, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 689–698; b) A. Paugam, C. Creuzet, J. Dupouy-Camet, M. P. Roisin, *Parasitol. Res.* **2002**, *88*, 785–787; c) T. Hatabu, M. Hagiwara, N. Taguchi, M. Kiyozawa, M. Suzuki, S. Kano, K. Sato, *Exp. Parasitol.* **2006**, *112*, 179–183.
- [35] a) T. Isoe, M. Naito, A. Shirai, R. Hirai, T. Tsuruo, *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1117*, 131–135; b) T. Oki, Y. Matsuzawa, A. Yoshimoto, K. Numata, I. Kitamura, S. Hori, A. Takamatsu, H. Umezawa, M. Ishizuka, H. Naganawa, H. Suda, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1975**, *28*, 830–834; c) S. Hori, M. Shirai, S. Hirano, T. Oki, T. Inui, S. Tsukagoshi, M. Ishizuka, T. Takeuchi, H. Umezawa, *Gann* **1977**, *68*, 685–690.
- [36] a) M. E. Figueiredo-Pereira, W. E. Chen, J. R. Li, O. Johdo, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 23602; b) M. E. Figueiredo-Pereira, W. E. Chen, J. R. Li, O. Johdo, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 16455–16459.
- [37] L. Margarucci, M. C. Monti, A. Tosco, R. Riccio, A. Casapullo, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4052–4055; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3960–3963.
- [38] A. F. Kisselev, M. Garcia-Calvo, H. S. Overkleft, E. Peterson, M. W. Pennington, H. L. Ploegh, N. A. Thornberry, A. L. Goldberg, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 35869–35877.
- [39] a) B. Xu, B. Monserrat, J. E. Gairin, E. Girbal-Neuhauser, *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2004**, *18*, 171–180; b) J. Terrasson, B. Xu, M. Li, S. Allart, J. L. Davignon, L. H. Zhang, K. Wang, C. Davrinche, *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2007**, *21*, 281–289.
- [40] I. E. Mohamed, S. Kehraus, A. Krick, G. M. König, G. Kelter, A. Maier, H. H. Fiebig, M. Kalesse, N. P. Malek, H. Gross, *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 2053–2056.
- [41] A. M. Santoro, M. C. Lo Giudice, A. D'Urso, R. Lauceri, R. Purrello, D. Milardi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10451–10457.
- [42] a) S. Tsukamoto, R. Yamanokuchi, M. Yoshitomi, K. Sato, T. Ikeda, H. Rotinsulu, R. E. P. Mangindaan, N. J. de Voogd, R. W. M. van Soest, H. Yokosawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3341–3343; b) C. X. Liu, X. L. Tang, P. L. Li, G. Q. Li, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1994–1997; c) S. A. Dyshlovoy, I. Naeth, S. Venz, S. N. Fedorov, L. K. Shubina, V. A. Stonik, S. Balabanov, F. Honecker, *Ann. Oncol.* **2012**, *23*, 28; d) S. A. Dyshlovoy, I. Naeth, S. Venz, L. K. Shubina, S. N. Fedorov, V. A. Stonik, S. Balabanov, F. Honecker, *Ann. Oncol.* **2012**, *23*, 32; e) S. A. Dyshlovoy, I. Naeth, S. Venz, M. Preukschas, H. Sievert, C. Jacobsen, L. K. Shubina, M. G. Salazar, C. Scharf, R. Walther, M. Krepstakies, P. Priyadarshini, J. Hauber, S. N. Fedorov, C. Bokemeyer, V. A. Stonik, S. Balabanov, F. Honecker, *J. Proteome Res.* **2012**, *11*, 2316–2330.
- [43] T. H. Pham, A. Hovhannisan, D. Bouvier, L. Tian, M. Reboud-Ravaux, G. Melikyan, M. Bouvier-Durand, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3822–3827.
- [44] N. Gallastegui, P. Beck, M. Arciniega, R. Huber, S. Hillebrand, M. Groll, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 251–254; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 247–249.
- [45] D. Dunn, M. Iqbal, J. Husten, M. A. Ator, S. Chatterjee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3503–3505.
- [46] R. Z. Orlowski, D. J. Kuhn, *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 1649–1657.
- [47] a) Millennium gehört zu Takeda Oncology, dessen Mutterkonzern die Takeda Pharmaceutical Company ist; b) J. Adams, *Oncologist* **2002**, *7*, 9–16.

- [48] a) D. Chauhan, L. Catley, G. L. Li, K. Podar, T. Hideshima, M. Velankar, C. Mitsiades, N. Mitsiades, H. Yasui, A. Letai, H. Ovaa, C. Berkers, B. Nicholson, T. H. Chao, S. T. C. Neutelboom, P. Richardson, M. A. Palladino, K. C. Anderson, *Cancer Cell* **2005**, *8*, 407–419; b) M. Cavo, *Curr. Hematol. Malig Rep.* **2007**, *2*, 128–137.
- [49] P. G. Richardson, C. Mitsiades, R. Schlossman, I. Ghobrial, T. Hideshima, N. Munshi, K. C. Anderson, *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2008**, *8*, 1053–1072.
- [50] E. B. Golden, P. Y. Lam, A. Kardosh, K. J. Gaffney, E. Cadenas, S. G. Louie, N. A. Petasis, T. C. Chen, A. H. Schönthal, *Blood* **2009**, *113*, 5927–5937.
- [51] E. Kupperman, E. C. Lee, Y. Y. Cao, B. Bannerman, M. Fitzgerald, A. Berger, J. Yu, Y. Yang, P. Hales, F. Buzzese, J. Liu, J. Blank, K. Garcia, C. Tsu, L. Dick, P. Fleming, L. Yu, M. Manfredi, M. Rolfe, J. Bolen, *Cancer Res.* **2010**, *70*, 1970–1980.
- [52] a) M. M. Seavey, L. D. Lu, K. L. Stump, N. H. Wallace, B. A. Ruggeri, *Int. Immunopharmacol.* **2012**, *12*, 257–270; b) R. Piva, B. Ruggeri, M. Williams, G. Costa, I. Tamagno, D. Ferrero, V. Giai, M. Coscia, S. Peola, M. Massaia, G. Pezzoni, C. Allievi, N. Pescalli, M. Cassin, S. di Giovine, P. Nicoli, P. de Feudis, I. Strepponi, I. Roato, R. Ferracini, B. Bussolati, G. Camussi, S. Jones-Bolin, K. Hunter, H. Zhao, A. Neri, A. Palumbo, C. Berkers, H. Ovaa, A. Bernareggi, G. Inghirami, *Blood* **2008**, *111*, 2765–2775; c) E. Sanchez, M. J. Li, J. A. Steinberg, C. Wang, J. Shen, B. Bonavida, Z. W. Li, H. M. Chen, J. R. Berrenson, *Br. J. Haematol.* **2010**, *148*, 569–581; d) C. R. Berkers, M. Verdoes, E. Lichtman, E. Fiebiger, B. M. Kessler, K. C. Anderson, H. L. Ploegh, H. Ovaa, P. J. Galardy, *Nat. Methods* **2005**, *2*, 357–362.
- [53] S. D. Demo, C. J. Kirk, M. A. Aujay, T. J. Buchholz, M. Dajee, M. N. Ho, J. Jiang, G. J. Laidig, E. R. Lewis, F. Parlati, K. D. Shenk, M. S. Smyth, C. M. Sun, M. K. Vallone, T. M. Woo, C. J. Molineaux, M. K. Bennett, *Cancer Res.* **2007**, *67*, 6383–6391.
- [54] a) D. Chauhan, A. V. Singh, M. Aujay, C. J. Kirk, M. Bandi, B. Ciccarelli, N. Raje, P. Richardson, K. C. Anderson, *Blood* **2010**, *116*, 4906–4915; b) M. A. Hurchla, A. Garcia-Gomez, M. C. Hornick, E. M. Ocio, A. Li, J. F. Blanco, L. Collins, C. J. Kirk, D. Piwnica-Worms, R. Vij, M. H. Tomasson, A. Pandiella, J. F. San Miguel, M. Garayoa, K. N. Weilbaecher, *Leukemia* **2012**, *27*, 430–440.
- [55] Übersichten zu Proteasom-Inhibitoren: a) A. F. Kissilev, A. L. Goldberg, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 739–758; b) J. Myung, K. B. Kim, C. M. Crews, *Med. Res. Rev.* **2001**, *21*, 245–273; c) *Proteasome Inhibitors in Cancer Therapy* (Hrsg.: J. Adams), Humana Press, New York, **2004**.
- [56] H. A. Braun, S. Umbreen, M. Groll, U. Kuckelkorn, I. Mlynarczuk, M. E. Wigand, I. Drung, P. M. Kloetzel, B. Schmidt, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 28394–28401.
- [57] a) J. Hines, M. Groll, M. Fahnstock, C. M. Crews, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 501–512; b) G. Lin, D. Y. Li, T. Chidawanyika, C. Nathan, H. L. Li, *Arch. Biochem. Biophys.* **2010**, *501*, 214–220; c) H. Shigemori, S. Wakuri, K. Yazawa, T. Nakamura, T. Sasaki, J. Kobayashi, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 8529–8534.
- [58] a) S. Momose, R. Sekizawa, H. Hashizume, N. Kinoshita, Y. Homma, M. Hamada, H. Iinuma, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **2001**, *54*, 997–1003; b) I. Momose, R. Sekizawa, H. Iinuma, T. Takeuchi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 2256–2258.
- [59] a) I. Momose, Y. Umezawa, S. Hirosawa, H. Iinuma, D. Ikeda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1867–1871; b) I. Momose, Y. Umezawa, S. Hirosawa, M. Iijima, H. Iinuma, D. Ikeda, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 1733–1742.
- [60] a) I. Momose, M. Iijima, M. Kawada, D. Ikeda, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2007**, *71*, 1036–1043; b) M. Iijima, I. Momose, D. Ikeda, *Anticancer Res.* **2009**, *29*, 977–985.
- [61] a) P. Baumann, K. Muller, S. Mandl-Weber, J. Leban, R. Doblhofer, A. Ammendola, R. Baumgartner, F. Oduncu, R. Schmidmaier, *Br. J. Haematol.* **2009**, *144*, 875–886; b) P. Baumann, K. Mueller, S. Mandl-Weber, H. Ostermann, R. Schmidmaier, F. Oduncu, J. Leban, R. Doblhofer, A. Ammendola, R. Baumgartner, *Blood* **2007**, *110*, 453A.
- [62] M. Groll, L. Ditzel, J. Löwe, D. Stock, M. Bochtler, H. Bartunik, R. Huber, *Nature* **1997**, *386*, 463–471.
- [63] J. F. Lynas, P. Harriott, A. Healy, M. A. McKervey, B. Walker, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 373–378.
- [64] Übersichtsartikel zu Peptidkupplungen: C. A. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827–10852.
- [65] Übersichtsartikel zu Peptid-Aldehyden: a) A. Moulin, J. Martinez, J. Fehrentz, *J. Pept. Sci.* **2007**, *13*, 1–15; b) J. V. Potentova, E. I. Milgotina, V. A. Makarov, T. L. Voyushina, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2001**, *27*, 141–150.
- [66] C. Pothion, M. Paris, A. Heitz, L. Rocheblave, F. Rouch, J. A. Fehrentz, J. Martinez, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7749–7752.
- [67] J. S. Schneekloth, J. L. Sanders, J. Hines, C. M. Crews, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3855–3858.
- [68] M. Verdoes, B. Florea, W. A. van der Linden, D. Renou, A. M. C. van den Nieuwendijk, G. A. van der Marel, H. S. Overkleef, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1416–1426.
- [69] H. Braun, Dissertation, Universität Darmstadt, **2007**.
- [70] K. L. Rock, C. Gramm, L. Rothstein, K. Clark, R. Stein, L. Dick, D. Hwang, A. L. Goldberg, *Cell* **1994**, *78*, 761–771.
- [71] J. Adams, M. Behnke, S. Chen, A. Cruckshank, L. R. Dick, L. Grenier, J. M. Klunder, Y. Ma, L. Lamondon, R. L. Stei, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 333–338.
- [72] S. Tsubuki, Y. Saito, M. Tomioka, H. Ito, S. Kawashima, *J. Biochem.* **1996**, *119*, 572–576.
- [73] M. Groll, C. R. Berkers, H. L. Ploegh, H. Ovaa, *Structure* **2006**, *14*, 451–456.
- [74] D. S. Matteson, K. M. Sadhu, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5241–5241.
- [75] D. S. Matteson, D. Majumdar, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7590–7591.
- [76] a) A. B. Shenvi, C. A. Kettner, U.S. Patent No. 4499082, **1985**. *Chem. Abstr.* **1985**, *103*, 71709; b) A. B. Shenvi, U.S. Patent No. 4537773, **1985**. *Chem. Abstr.* **1986**, *104*, 19668.
- [77] I. F. Pickersgill, J. Bishop, C. Koellner, J. Gomez, A. Geiser, R. Hett, V. Ammoscato, S. Munk, Y. Lo, F. Chui, V. Kulkarni, PCT Int. Appl., 2005097809, **2005**.
- [78] M. Janca, P. Dobrovolny, PCT Int. Appl., 2009004350, **2009**.
- [79] B. D. Dorsey, M. Iqbal, S. Chatterjee, E. Menta, R. Bernadini, A. Bernareggi, P. G. Cassarà, G. D'Arasmo, E. Ferretti, S. De Munari, A. Oliva, G. Pezzoni, C. Allievi, I. Strepponi, B. Ruggeri, M. A. Ator, M. Williams, J. P. Mallamo, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1068–1072.
- [80] M. A. Beenen, C. An, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6910–6911.
- [81] F. A. Davis, P. Zhou, B. Chen, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 13–18.
- [82] K. B. Kim, J. Myung, N. Sin, C. M. Crews, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 3335–3340.
- [83] a) Y. Iwabuchi, T. Sugihara, T. Esumi, S. Hatakeyama, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7867–7871; b) M. R. Dobler, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 215–218.
- [84] A. R. Pereira, A. J. Kale, A. T. Fenley, T. Byrum, H. M. Debonsi, M. K. Gilson, F. A. Valeriote, B. S. Moore, W. H. Gerwick, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 810–817.
- [85] E. M. Huber, M. Basler, R. Schwab, W. Heinemeyer, C. J. Kirk, M. Groettrup, M. Groll, *Cell* **2012**, *148*, 727–738.
- [86] T. Muchamuel, M. Basler, M. A. Aujay, E. Suzuki, K. W. Kalim, C. Lauer, C. Sylvain, E. R. Ring, J. Shields, J. Jiang, P. Shwonek, F. Parlati, S. D. Demo, M. K. Bennett, C. J. Kirk, M. Groettrup, *Nat. Med.* **2009**, *15*, 781–U12.
- [87] L. H. Meng, R. Mohan, B. H. B. Kwok, M. Elofsson, N. Sin, C. M. Crews, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 10403–10408.

- [88] M. Groll, K. B. Kim, N. Kairies, R. Huber, C. M. Crews, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1237–1238.
- [89] N. Sin, K. B. Kim, M. Elofsson, L. H. Meng, H. Auth, B. H. B. Kwok, C. M. Crews, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2283–2288.
- [90] D. H. Wei, B. L. Lei, M. S. Tang, C. G. Zhan, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10436–10450.
- [91] a) S. Katukojvala, K. N. Barlett, S. D. Lotesta, L. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15348–15349; b) Z. Yue, J. R. Cusick, P. Ghosh, S. G. Ning, S. Katukojvala, J. Inghrim, T. J. Emge, L. J. Williams, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7707–7714.
- [92] R. Sekizawa, I. Momose, N. Kinoshita, H. Naganawa, M. Hamada, Y. Muraoka, H. Iinuma, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **2001**, *54*, 874–881.
- [93] H. D. Arndt, S. Schoof, J. Y. Lu, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6900–6904; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6770–6773.
- [94] M. N. Aminake, S. Schoof, L. Sologub, M. Leubner, M. Kirschner, H. D. Arndt, G. Pradel, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 1338–1348.
- [95] S. Schoof, G. Pradel, M. N. Aminake, B. Ellinger, S. Baumann, M. Potowski, Y. Najajreh, M. Kirschner, H. D. Arndt, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3389–3393; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3317–3321.
- [96] a) S. V. Ley, A. Priour, C. Heusser, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 711–714; b) S. V. Ley, A. Priour, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3995–4004.
- [97] a) L. Bülow, I. Nickeleit, A. K. Girbig, T. Brodmann, A. Rentsch, U. Eggert, F. Sasse, H. Steinmetz, R. Frank, T. Carloni, N. P. Malek, M. Kalesse, *ChemMedChem* **2010**, *5*, 832–836; b) B. Stauch, B. Simon, T. Basile, G. Schneider, N. P. Malek, M. Kalesse, T. Carloni, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4026–4030; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3934–3938.
- [98] V. R. Pattabiraman, J. L. Stymiest, D. J. Derksen, N. I. Martin, J. C. Vederas, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 699–702.
- [99] a) M. Hasegawa, K. Kinoshita, C. Nishimura, U. Matsumura, M. Shionyu, S. Ikeda, T. Mizukami, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5668–5671; b) K. Yoshida, K. Yamaguchi, A. Mizuno, Y. Unno, A. Asai, T. Sone, H. Yokosawa, A. Matsuda, M. Arisawa, S. Shuto, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1868–1877; c) S. F. Vanier, G. Larouche, R. P. Wurz, A. B. Charette, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 672–675.
- [100] a) V. S. Korotkov, A. Ludwig, O. V. Larionov, A. V. Lygin, M. Groll, A. de Meijere, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 7791–7798; b) A. de Meijere, V. S. Korotkov, A. V. Lygin, O. V. Larionov, V. V. Sokolov, T. Graef, M. Es-Sayed, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 6363–6374.
- [101] R. H. Feling, G. O. Buchanan, T. J. Mincer, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 369–371; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 355–357.
- [102] a) D. Chauhan, L. Catley, G. Li, K. Podar, T. Hideshima, C. Mitsiades, H. Ovaa, C. Berkers, N. Munshi, T. Chao, B. Nicolson, S. T. Neuteboom, P. Richardson, M. Palladino, K. C. Anderson, *Cancer Cell* **2005**, *8*, 407–419; b) V. R. Macherla, S. S. Mitchell, R. R. Manam, K. A. Reed, T.-H. Chao, B. Nicolson, G. Deyanat-Yazdi, B. Mai, P. R. Jensen, W. Fenical, S. T. C. Neuteboom, K. S. Lam, M. A. Palladino, B. C. M. Potts, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3684–3687; c) J. C. Cusack Jr., R. Liu, L. Xia, T.-H. Chao, C. Pien, W. Niu, V. J. Palombella, S. T. Neuteboom, M. A. Palladino, *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 6758–6764; d) S. Ruiz, Y. Krupnik, M. Keating, J. Chandra, M. Palladino, D. McConkey, *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 1836–1843; e) K. S. Ahn, G. Sethi, T.-H. Chao, S. T. C. Neuteboom, M. M. Chaturvedi, M. A. Palladino, A. Younes, B. B. Aggarwall, *Blood* **2007**, *110*, 2286–2295.
- [103] a) E. J. Corey, G. A. Reichard, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10677–10678; b) E. J. Corey, G. A. Reichard, R. Kania, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6977–6980; c) G. Fenteany, R. F. Standaert, G. A. Reichard, E. J. Corey, S. L. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 3358–3362; d) E. J. Corey, W.-D. Z. Li, *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1–10.
- [104] a) S. Omura, T. Fujimoto, K. Otogura, K. Matsuzaki, R. Moriguchi, H. Tanaka, Y. Sasaki, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 113–116; b) S. Omura, K. Matsuzaki, T. Fujimoto, K. Kosuge, T. Furuya, S. Fujita, A. Nakagawa, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 117–118.
- [105] M. Groll, R. Hubert, B. C. M. Potts, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5136–5141.
- [106] R. R. Manam, K. A. McArthur, T.-H. Chao, J. Weiss, J. A. Ali, V. J. Palombella, M. Groll, G. K. Lloyd, M. A. Palladino, S. T. C. Neuteboom, V. R. Macherla, B. C. M. Potts, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 6711–6724.
- [107] M. Groll, E. P. Balskus, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14981–14983.
- [108] a) P. G. Williams, G. O. Buchanan, R. H. Feling, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6196–6203; b) K. A. Reed, R. R. Manam, S. S. Mitchell, J. Xu, S. Teisan, T.-H. Chao, G. Deyanat-Yazdi, S. T. C. Neuteboom, K. S. Lam, B. C. M. Potts, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 269–276; c) A. S. Eustáquio, B. S. Moore, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 4000–4002; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3936–3938.
- [109] L. R. Reddy, P. Saravanan, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6230–6231.
- [110] a) S. A. Frank, D. J. Mergott, W. R. Roush, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2404–2405; b) D. J. Mergott, S. A. Frank, W. R. Roush, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3157–3160; c) V. K. Aggarwal, I. Emme, S. Y. Fulford, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 692–700; d) J. E. Yeo, X. Yang, H. J. Kim, S. Koo, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **2004**, 236–237.
- [111] a) I. Fleming, *Chemtracts: Org. Chem.* **1996**, *9*, 1–64; b) G. R. Jones, Y. Landais, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7599–7662.
- [112] Reviews: a) O. G. Kulinkovich, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2597–2632; b) F. Sato, S. Okamoto, *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 759–784.
- [113] a) L. R. Reddy, J.-F. Fournier, B. V. S. Reddy, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8974–8976; b) L. R. Reddy, J.-F. Fournier, B. V. S. Reddy, E. J. Corey, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2699–2701.
- [114] B. V. S. Reddy, L. R. Reddy, E. J. Corey, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4589.
- [115] A. Endo, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8298–8299.
- [116] T. Ling, V. R. Macherla, R. R. Manam, K. A. McArthur, B. C. M. Potts, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2289–2292.
- [117] a) E. C. Minnihan, S. L. Colletti, F. D. Toste, H. C. Shen, *J. Org. Chemistry* **2007**, *72*, 6287–6289; b) C.-Y. Zhou, C.-M. Che, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5828–5829.
- [118] K. Takahashi, M. Midori, K. Kawano, J. Ishihara, S. Hatakeyama, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6340–6342; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6244–6246.
- [119] T. Fukuda, K. Sugiyama, S. Arima, Y. Harigaya, T. Nagamitsu, S. Omura, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4239–4242.
- [120] H. Ooi, N. Ishibashi, Y. Iwabuchi, J. Ishihara, S. Hatakeyama, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7765–7768.
- [121] a) P. Garner, J. M. Park, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2361–2364; b) A. McKillop, R. J. K. Taylor, R. J. Watson, N. Lewis, *Synthesis* **1994**, 31–33.
- [122] Y. Sato, H. Fukuda, M. Tomizawa, T. Masaki, M. Shibuya, N. Kanoh, Y. Iwabuchi, *Heterocycles* **2010**, *81*, 2239–2246.
- [123] N. Satoh, S. Yokoshima, T. Fukuyama, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3028–3031.
- [124] N. P. Mulholland, G. Pattenden, I. A. S. Walters, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2845–2846.
- [125] M. Lee, D. H. Kim, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 913–922.
- [126] G. Ma, H. Nguyen, D. Romo, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2143–2146.
- [127] a) V. Caubert, N. Langlois, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4473–4475; b) V. Caubert, J. Massé, P. Retailleau, N. Langlois, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 381–384.

- [128] I. V. Margalef, L. Rupnicki, H. W. Lam, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7896–7901.
- [129] R. A. Mosey, J. J. Tepe, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 295–297.
- [130] B. Li, M. Berliner, R. Buzon, C. K.-F. Chiu, S. T. Colgan, T. Kaneko, N. Keene, W. Kissel, T. Le, K. R. Leeman, B. Marquez, R. Morris, L. Newell, S. Wunderwald, M. Witt, J. Weaver, Z. Zhang, Z. Zhang, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9045–9050.
- [131] J. R. Struble, J. W. Bode, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4957–4967.
- [132] Y. Kaiya, J. Hasegawa, T. Momose, T. Sato, N. Chida, *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 209–219.
- [133] a) A. Rosenthal, L. B. Nguyen, *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 1029–1034; b) G. W. J. Fleet, K. James, R. J. Lunn, C. J. Mathews, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3057–3058.
- [134] T. Ling, B. C. Potts, V. R. Macherla, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3882–3885.
- [135] H. Kamisaki, Y. Kobayashi, T. Kimachi, Y. Yasui, Y. Takemoto, *J. Organomet. Chem.* **2011**, *696*, 42–45.
- [136] a) J. Deska, S. Hähn, U. Kazmaier, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3210–3213; b) P. Barbie, L. Huo, R. Müller, U. Kazmaier, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 6064–6067.
- [137] L. L. Beer, B. S. Moore, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 845–848.
- [138] J. Barbion, G. Sorin, M. Selkti, E. Kellenberger, R. Baati, S. Santoro, F. Himo, A. Pancrazi, M.-I. Lannou, J. Ardisson, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 6504–6512.
- [139] a) M. Bogyo, J. S. McMaster, M. Gaczynska, D. Tortorella, A. L. Goldberg, H. Ploegh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 6629; b) T. Nazif, M. Bogyo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 2967–2972.
- [140] H. S. Overkleef, P. R. Bos, B. G. Hekking, E. J. Gordon, H. L. Ploegh, B. M. Kessler, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6005–6009.
- [141] a) B. I. Florea, M. Verdoes, N. Li, W. A. van der Linden, P. P. Geurink, H. van den Elst, T. Hofmann, A. de Ru, P. A. van Veelen, K. Tanaka, K. Sasaki, S. Murata, H. den Dulk, J. Brouwer, F. A. Ossendorp, A. F. Kissel, H. S. Overkleef, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 795–801; b) A. C. Mirabella, A. A. Pletnev, S. L. Downey, B. I. Florea, T. B. Shabaneh, M. Britton, M. Verdoes, D. V. Filippov, H. S. Overkleef, A. F. Kissel, *Chem. Biol.* **2011**, *18*, 608–618; c) M. Britton, M. M. Lucas, S. L. Downey, M. Screen, A. A. Pletnev, M. Verdoes, R. A. Tokhunts, O. Amir, A. L. Goddard, P. M. Pelpfrey, D. L. Wright, H. S. Overkleef, A. F. Kissel, *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 1278–1289; d) M. Verdoes, B. I. Florea, V. Menendez-Benito, C. J. Maynard, M. D. Witte, W. A. van der Linden, A. van den Nieuwendijk, T. Hofmann, C. R. Berkers, F. W. B. van Leeuwen, T. A. Grootenhuis, M. A. Leeuwenburgh, H. Ovaa, J. J. Neefjes, D. V. Filippov, G. A. van der Marel, N. P. Dantuma, H. S. Overkleef, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1217–1226; e) B. M. Kessler, D. Tortorella, M. Altun, A. F. Kissel, E. Fiebig, B. G. Hekking, H. L. Ploegh, H. S. Overkleef, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 913–929.
- [142] a) D. Krahn, C. Ottmann, M. Kaiser, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, *28*, 1854–1867; b) A. S. Bachmann, M. Pirrung, R. Dudler, C. Archer, J. Opoku-Ansah, *Pharm. Biol.* **2012**, *50*, 651–651.
- [143] M. Groll, B. Schellenberg, A. S. Bachmann, C. R. Archer, R. Huber, T. K. Powell, S. Lindow, M. Kaiser, R. Dudler, *Nature* **2008**, *452*, 755–757.
- [144] a) U. Wäspi, D. Blanc, T. Winkler, P. Rüedi, R. Dudler, *Mol. Plant-Microbe Interact.* **1998**, *11*, 727–733; b) U. Wäspi, P. Hassa, A. A. Staempfli, L. P. Molleyres, T. Winkler, R. Dudler, *Microbiol. Res.* **1999**, *154*, 89–93.
- [145] a) T. Ohnuma, R. Obata, T. Yamasaki, H. Kamei, T. Naito, *J. Pharm. Sci.* **1987**, *76*, S167; b) M. Oka, Y. Nishiyama, S. Ohta, H. Kamei, M. Konishi, T. Miyaki, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1331–1337; c) M. Oka, H. Ohkuma, H. Kamei, M. Konishi, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1906–1909; d) M. Oka, K. Yaginuma, K. Numata, M. Konishi, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1338–1350.
- [146] a) J. Shoji, H. Hinoo, T. Kato, T. Hattori, K. Hirooka, K. Tawara, O. Shiratori, Y. Terui, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 783–787; b) Y. Terui, J. Nishikawa, H. Hinoo, T. Kato, J. Shoji, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 788–795.
- [147] J. Clerc, M. Groll, D. J. Illich, A. S. Bachmann, R. Huber, B. Schellenberg, R. Dudler, M. Kaiser, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 6507–6512.
- [148] a) K. Numata, M. Oka, Y. Nakakita, T. Murakami, T. Miyaki, M. Konishi, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1351–1357; b) M. Oka, Y. Nishiyama, S. Ohta, H. Kamei, M. Konishi, T. Miyaki, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1331–1337; c) M. Oka, K. Numata, Y. Nishiyama, H. Kamei, M. Konishi, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1812–1822; d) M. Oka, H. Ohkuma, H. Kamei, M. Konishi, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1906–1909; e) M. Oka, K. Yaginuma, K. Numata, M. Konishi, T. Oki, H. Kawaguchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1338–1350.
- [149] U. Schmidt, A. Kleefeldt, R. Mangold, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1687–1689.
- [150] C. H. Dai, C. R. J. Stephenson, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3453–3455.
- [151] J. Clerc, B. Schellenberg, M. Groll, A. S. Bachmann, R. Huber, R. Dudler, M. Kaiser, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3991–4003.
- [152] M. C. Pirrung, G. Biswas, T. R. Ibarra-Rivera, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2402–2405.
- [153] T. R. Ibarra-Rivera, J. Opoku-Ansah, S. Ambadi, A. S. Bachmann, M. C. Pirrung, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9950–9956.
- [154] J. Clerc, N. Li, D. Krahn, M. Groll, A. S. Bachmann, B. I. Florea, H. S. Overkleef, M. Kaiser, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 385–387.
- [155] J. Opoku-Ansah, T. R. Ibarra-Rivera, M. C. Pirrung, A. S. Bachmann, *Pharm. Biol.* **2012**, *50*, 25–29.
- [156] W. A. van der Linden, L. I. Willems, T. B. Shabaneh, N. Li, M. Ruben, B. I. Florea, G. A. van der Marel, M. Kaiser, A. F. Kissel, H. S. Overkleef, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 181–194.
- [157] a) Y. Koguchi, J. Kohno, M. Nishio, K. Takahashi, T. Okuda, T. Ohnuki, S. Komatsubara, *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 105–109; b) J. Kohno, Y. Koguchi, M. Nishio, K. Nakao, M. Kuroda, R. Shimizu, T. Ohnuki, S. Komatsubara, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 990–995.
- [158] M. Kaiser, A. G. Milbradt, C. Siciliano, I. Assfalg-Machleidt, W. Machleidt, M. Groll, C. Renner, L. Moroder, *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 161–173.
- [159] M. Groll, Y. Koguchi, R. Huber, J. Kohno, *J. Mol. Biol.* **2001**, *311*, 543–548.
- [160] S. Lin, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 530–533; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 512–515.
- [161] S. Lin, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2021–2024; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1967–1970.
- [162] Übersichtsartikel zur Suzuki-Kupplung: N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457–2483.
- [163] M. Inoue, H. Sakazaki, H. Furuyama, M. Hirama, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2758–2761; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2654–2657.
- [164] M. Inoue, H. Furuyama, H. Sakazaki, M. Hirama, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2863–2865.
- [165] a) P. G. Gassman, W. N. Schenk, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 918–920; b) P. G. Gassman, P. K. G. Hodgson, R. J. Balchunis, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 1275–1276.
- [166] B. K. Albrecht, R. M. Williams, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 197–200.
- [167] B. K. Albrecht, R. M. Williams, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 11949–11954.
- [168] P. Liu, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10772–10773.
- [169] T. Ishiyama, M. Murata, N. Miyaura, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508–7510.

- [170] a) M. Kaiser, M. Groll, C. Renner, R. Huber, L. Moroder, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 817–820; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 780–783; M. Kaiser, M. Groll, C. Siciliano, I. Assfalg-Machleidt, E. Weyher, J. Kohno, A. G. Milbradt, C. Renner, R. Huber, L. Moroder, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 1256–1266.
- [171] M. Groll, M. Götz, M. Kaiser, E. Weyher, L. Moroder, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 607–614.
- [172] Z.-Q. Yang, B. H. B. Kwok, S. Lin, M. A. Koldobskiy, C. M. Crews, S. J. Danishefsky, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 508–513.
- [173] S. Lin, Z.-Q. Yang, B. H. B. Kwok, M. Koldobskiy, C. M. Crews, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6347–6355.
- [174] A. Berthelot, S. Piguel, G. Le Dour, J. Vidal, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9835–9838.
- [175] N. Basse, S. Piguel, D. Papapostolou, A. Ferrier-Berthelot, N. Richy, M. Pagano, P. Sarthou, J. Sobczak-Thépot, M. Reboud-Ravaux, J. Vidal, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2842–2850.