

Modulares PROTAC-Design zum Abbau von onkogenem BCR-ABL

Ashton C. Lai[†], Momar Toure[†], Doris Hellerschmied, Jemilat Salami, Saul Jaime-Figueroa, Eunhwa Ko, John Hines und Craig M. Crews*

Abstract: PROTAC („Proteolysis Targeting Chimera“) ist eine schnell wachsende alternative Therapiestrategie, die großes Potenzial hat, aktuelle Herausforderungen der Wirkstoffentwicklung zu bewältigen. Die neue Strategie nutzt niedermolekulare Verbindungen, um Zielproteine zur zellulären Ubiquitinierungsmaschinerie und dadurch an das Proteasom zu rekrutieren. Hier beschreiben wir die Synthese von PROTACs, die den Abbau von c-ABL und BCR-ABL durch die Rekrutierung der Cereblon- oder Von-Hippel-Lindau-E3-Ligasen auslösen. Die Fähigkeit eines PROTAC, Proteinabbau zu induzieren, beruht nicht allein auf der Wechselwirkung mit dem Zielprotein – die Identität des Liganden, der an das Zielprotein bindet, und der rekrutierten E3-Ligase beeinflusst weitgehend das Abbauprofil des PROTAC. Als Ausgangspunkt für weitere Entwicklungen sollten daher sowohl der Ligand, der an das Zielprotein bindet, als auch der E3-Ligase-Ligand variiert werden, um auf dem schnellsten Weg einen PROTAC mit gewünschtem Abbauprofil zu erstellen.

Chronische myeloische Leukämie (CML) wird oft durch ein Fusionsprotein, BCR-ABL, verursacht in dem die sonst autoinhibitorische Regulation der c-ABL-Kinase aufgehoben wird. Diese durchgehend aktive Tyrosin-Kinase treibt die unkontrollierte Zellvermehrung über STAT5, MAPK, PI3K/Akt und CrkL-basierte Signaltransduktionswege an.^[1-3] Mit der Entwicklung von Tyrosin-Kinase-Inhibitoren (TKI), die BCR-ABL inhibieren, wurde CML zu einer beherrschbaren Erkrankung. Imatinibmesylat, der erste TKI, der BCR-ABL als Zielprotein hatte, bindet kompetitiv an der ATP-Bindestelle von c-ABL und inhibiert dadurch c-ABL und BCR-ABL, was zur Hemmung der Zellvermehrung und zur Apoptose von Leukämiezellen, mit Ausnahme der Vorläuferzellen, führt.^[4,5] Die zweite Generation von TKIs (Dasatinib, Bosutinib usw.) wurde anschließend entwickelt, um Patienten zu behandeln, die Resistenzen gegenüber Imatinib entwickelt hatten.^[6] Trotz des Erfolgs von BCR-ABL-TKIs müssen alle CML-Patienten eine lebenslange Behandlung in Kauf nehmen, da Leukämiestammzellen trotz BCR-ABL-Hemmung bestehen bleiben. Eine Hypothese besagt, dass BCR-ABL auch als so genanntes Gerüstprotein für kompensatorische Signaltransduktionswege fungieren kann und dadurch

den Stammzellen ein Überleben trotz Kinaseinhibition ermöglicht.^[7-9] Daher wäre der „Knock-down“ von BCR-ABL eine effektive Möglichkeit, eine lebenslange Therapie durch die Heilung der Krankheit zu ersetzen.

Vor kurzem haben unsere und weitere Arbeitsgruppen eine Plattform entwickelt, die den Abbau von Proteinen induziert und daher das Potenzial hat, die Herausforderungen der derzeitigen Wirkstoffentwicklung zu bewältigen.^[10-13] Die PROTAC-Technik („Proteolysis Targeting Chimera“) nutzt heterodifunktionelle niedermolekulare Substanzen, um eine Ubiquitin-E3-Ligase und ein Zielprotein zu rekrutieren.^[14] Nach der Bildung eines trimeren Komplexes ubiquitiniert die E3-Ligase das Zielprotein und führt dadurch dessen proteasomalen Abbau herbei (Abbildung 1 A). Im Unterschied zu

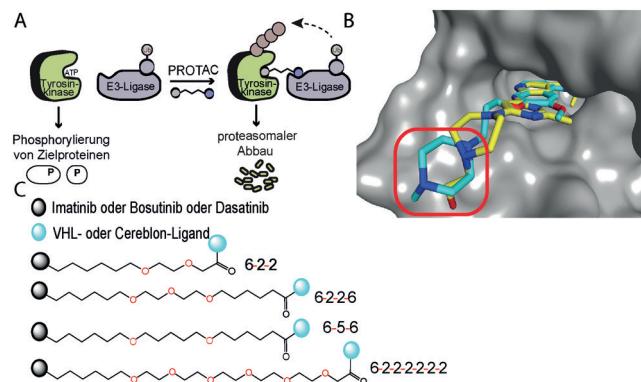


Abbildung 1. Strategie der PROTAC-Entwicklung. A) PROTACs wirken durch räumliche Nähe induzierte Ubiquitinierung, die zum proteasomalen Abbau führt. B) Überlagerung der Kristallstrukturen von Bosutinib (blau; PDB: 3UE4) und c-ABL-Dasatinib (gelb; PDB: 2GQG). Die Linker wurden an der rot umrandeten, zugänglichen Position angehängt. C) Linker, die verwendet wurden, um die TKIs und E3-Ligase-Liganden zu verbinden.

Pharmakologie, die auf Inhibitoren basiert, erfordert die PROTAC-Technik nur eine transiente Wechselwirkung mit einer beliebigen Oberfläche des Zielproteins, um katalytisch die Ubiquitinierung und den Abbau des Proteins auszulösen. PROTACs stellen daher eine vielversprechende Therapiestrategie dar, um das derzeit pharmazeutisch unzugängliche Proteom („undruggable“) zu erreichen, und sie wurden bereits erfolgreich eingesetzt, um verschiedene Proteine wie ER α ^[13] („estrogen-related receptor alpha“), CRABPs^[15] („cellular retinoic acid binding proteins“) und BRD4^[10-12] abzubauen. Bei all diesen Erfolgen wurden noch keine PROTACs beschrieben, die den Abbau von Tyrosin-Kinasen induzieren.^[13] Hier haben wir nun darauf abgezielt, den

[*] A. C. Lai,^[†] Dr. M. Toure,^[†] Dr. D. Hellerschmied, J. Salami, Dr. S. Jaime-Figueroa, Dr. E. Ko, Dr. J. Hines, Prof. C. M. Crews
Departments of Chemistry; Molecular, Cellular & Developmental Biology; Pharmacology, Yale University
New Haven, CT 06511 (USA)
E-Mail: craig.crews@yale.edu

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201507634> zu finden.

Abbau des Fusionsproteins BCR-ABL – einer klassischen onkogenen Tyrosin-Kinase – zu induzieren.

Nachfolgend beschreiben wir die Entwicklung der ersten PROTACs, die den Abbau des Onkoproteins BCR-ABL induzieren. Im Laufe der Entwicklung haben wir eine Synthesestrategie für PROTACs gefunden, die die Variation des Liganden, der an das Zielprotein bindet, und des E3-Ligase-Liganden beinhaltet und dadurch eine schnelle Erfassung der Abbauprofile von PROTAC-Gruppen ermöglicht.

Um BCR-ABL abbauende Verbindungen herzustellen, haben wir die BCR-ABL-TKIs (Imatinib, Bosutinib und Dasatinib), die an die c-ABL-Kinasedomäne binden, an einen bekannten Von-Hippel-Lindau(VHL)-E3-Ligase-Liganden und an ein Thalidomidderivat (Pomalidomid), um die E3-Ligase Cereblon (CRBN) zu rekrutieren, konjugiert.^[10,13,16,17] Die resultierenden difunktionellen Moleküle sollten BCR-ABL durch den TKI binden und die E3-Ligasen durch den entsprechenden rekrutierenden Liganden. Unter Verwendung der Kristallstrukturen der c-ABL-Kinasedomäne, gebunden an die TKIs (Imatinib, Dasatinib und Bosutinib), konnten wir den besten Anknüpfungspunkt für die Linker und den E3-Ligase-Liganden bestimmen, der wesentliche Wechselwirkungen intakt lässt (Abbildung 1B).^[18–20] Vier Linker mit unterschiedlicher Länge und chemischer Zusammensetzung wurden evaluiert, um einen Überblick über den potenziellen chemischen Raum zu erhalten (Abbildung 1C). Die Linker enthalten hydrophobe und hydrophile Anteile, um die Hydrophobie und die Hydrophilie der Hybridverbindungen im Gleichgewicht zu halten. Die Serie an Hybridverbindungen wurde dann durch KinomeScan auf ihre Wechselwirkung mit der c-ABL-Kinasedomäne getestet (Tabelle 1). Alle Verbindungen haben, verglichen mit dem Ausgangsinhibitor, eine niedrigere Affinität zu phosphorylierter und unphosphorylierter Form von ABL.

Tabelle 1: Ausgewählte PROTAC-Affinitäten zur ABL-Kinasedomäne.

Verbindung	ABL (nicht phosphoryliert)	ABL (phosphoryliert)
Imatinib	0.86 nM	36 nM
IMA-6-2-2-6-VHL	4.3 nM	93 nM
IMA-6-2-2-6-CRBN	6.2 nM	110 nM
Bosutinib	0.063 nM	0.023 nM
BOS-6-2-2-6-VHL	1.4 nM	0.63 nM
BOS-6-2-2-6-CRBN	0.91 nM	0.55 nM
Dasatinib	0.03 nM	0.02 nM
DAS-6-2-2-6-VHL	0.92 nM	0.47 nM
DAS-6-2-2-6-CRBN	0.60 nM	0.32 nM

Interessanterweise zeigte in jeder TKI-Serie der 1,5-Bis-(hexyloxy)pentan-Linker (von hier an als „6-5-6“ bezeichnet) den maximalen Affinitätsverlust (bis 86-fach; Tabelle S1). Der hydrophobe Charakter von 6-5-6 könnte dazu führen, dass sich die Verbindung einfaltet. Dies würde einen höheren Entropieaufwand in der Wechselwirkung mit ABL zur Folge haben. Trotz des Affinitätsverlusts binden alle Hybridverbindungen noch mit geringer nanomolarer Affinität an unphosphoryliertes c-ABL (0.28 nM–24 nM), und die Bosutinib- und Dasatinib-basierten PROTACs binden im hohen pikomolaren Bereich an phosphoryliertes c-ABL (88 pM–1500 pM).

Alle PROTACs wurden in Zellkulturexperimenten darauf getestet, ob sie den Abbau von c-ABL und BCR-ABL aulösen. Überraschenderweise wurde kein Abbau von c-ABL oder BCR-ABL in K562-CML-Zellen beobachtet, wenn die Zellen mit Imatinib-VHL (IMA-VHL) oder Imatinib-CRBN (IMA-CRBN) PROTACs inkubiert wurden, obwohl die PROTACs noch an die Zielproteine binden konnten (Abbildung S1–4). Dies wurde durch die Abnahme an Phosphorylierung von CrkL und STAT5 bei höheren PROTAC-Konzentrationen gezeigt. Da der Imatinib-PROTAC c-ABL und BCR-ABL nicht im gleichen Ausmaß wie die Ausgangsverbindung inhibierte, nahmen wir an, dass ein potenterer Inhibitor (Bosutinib oder Dasatinib) eine bessere Wahl für die nächste PROTAC-Serie darstellt.

Auf einem ähnlichen Syntheseweg wurde Bosutinib an den VHL-Liganden konjugiert und dadurch Bosutinib-VHL-(BOS-VHL)-PROTACs hergestellt. Trotz der Wechselwirkung mit dem Zielprotein konnten die BOS-VHL-PROTACs den Abbau von BCR-ABL oder c-ABL nicht auslösen (Abbildung 2A). Dieses Ergebnis trifft auf alle verschiedenen

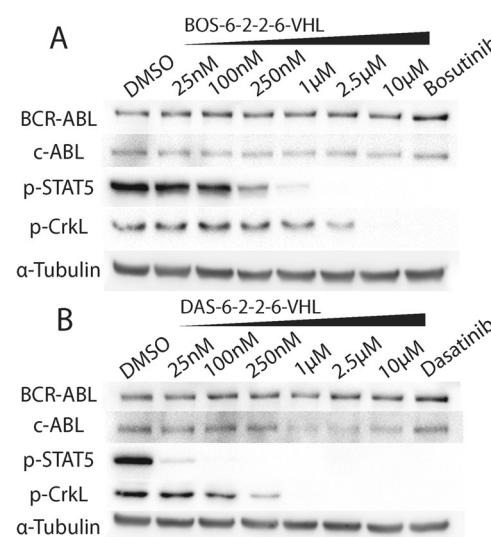


Abbildung 2. VHL-basierte PROTACs. A) BOS-6-2-2-6-VHL und B) DAS-6-2-2-6-VHL wurden für 24 h mit K562-Zellen inkubiert. Die Konzentrationen der Ausgangsinhibitoren sind 1 μM. Der Western-Blot zeigt den Abbau von c-ABL, beginnend bei einer Konzentration von 1 μM DAS-VHL. Allerdings wurde kein Abbau von BCR-ABL beobachtet.

Linker zu, die verwendet wurden, um Bosutinib und den VHL-Liganden zu verbinden (Abbildung S2–4). Der repräsentative Western-Blot in Abbildung 2A zeigt BOS-VHL mit dem Linker 1-[2-(Hexyloxy)ethoxy]ethoxy]hexan, der von hier an als „6-2-2-6“ bezeichnet wird. Die Nomenklatur bezieht sich auf die Alkyl/Ether-Zusammensetzung des Linkers.

Zusätzlich zur BOS-VHL-Serie haben wir auch Dasatinib zur Rekrutierung des Zielproteins verwendet. Anders als mit den IMA-VHL- und den BOS-VHL-PROTACs lösten Dasatinib-basierte PROTACs (DAS-VHL) in einer Konzentra-

tion von $1 \mu\text{M}$ einen klaren Abbau ($> 65\%$) von c-ABL aus (Abbildung 2B). Der offensichtliche Verlust an Proteinabbau bei höherer PROTAC-Konzentration ($10 \mu\text{M}$) wurde bereits für andere PROTACs beobachtet. Der Effekt ist der Bildung von separaten c-ABL-PROTAC- und VHL-PROTAC-Dimeren zuzuschreiben, die der Bildung eines trimeren c-ABL-PROTAC-VHL-Komplexes, der für Ubiquitinierung nötig ist, entgegenwirken. Der Abbau von c-ABL, der mit dem Prototyp DAS-VHL-PROTAC erzielt wurde, wurde auch für PROTACs mit anderer Linkerzusammensetzung beobachtet (Abbildung S2–4). Somit haben wir festgestellt, dass unabhängig von einer einfachen Bindung an das Zielprotein der rekrutierende Ligand (Imatinib, Bosutinib oder Dasatinib) weitgehend die Fähigkeit des PROTAC beim c-ABL-Abbau bestimmt.

Trotz des Erfolgs von DAS-VHL beim Abbau von c-ABL wurde kein Abbau von BCR-ABL durch die VHL-basierten PROTACs beobachtet. Dies kann nicht dem Verlust von Bindungssaffinität zuzuschreiben sein, da die VHL-basierten PROTACs in Zellkulturexperimenten noch immer an c-ABL und BCR-ABL binden und deren Kinaseaktivität inhibieren (Abbildung 2). Da die Ausrichtung des Zielproteins gegenüber der E3-Ligase und die Zugänglichkeit von Lysinresten essenziell für dessen Ubiquitinierung sind, vermuteten wir, dass eine anders positionierte E3-Ligase für die Ubiquitinierung und folglich den Abbau von BCR-ABL nötig ist. Angesichts der jüngsten Erfolge beim Proteinabbau, der durch die Rekrutierung der Cereblon(CRBN)-E3-Ligase induziert wurde, nahmen wir an, dass der Wechsel zu CRBN einen BCR-ABL-Abbau ermöglichen würde. Außerdem stellt diese Studie den ersten direkten Vergleich zwischen den beiden E3-Ligasen dar.^[10,11]

Wenn Dasatinib an Pomalidomid konjugiert wurde, um CRBN zu rekrutieren, behielt der entstandene Dasatinib-CRBN(DAS-CRBN)-PROTAC nicht nur seine Fähigkeit, den Abbau von c-ABL ($> 85\%$ bei $1 \mu\text{M}$) auszulösen, sondern induzierte zusätzlich den Abbau von BCR-ABL ($> 60\%$ bei $1 \mu\text{M}$) und führte damit den ersten PROTAC-basierten Abbau einer onkogenen Tyrosin-Kinase herbei (Abbildung 3). Dieses Ergebnis trifft auf alle verschiedenen Linker zu, die bereits in der VHL-basierten PROTAC-Serie verwendet wurden (Abbildung S1–4). Noch bemerkenswerter ist die Tatsache, dass wir den Abbau von c-ABL ($> 90\%$) und BCR-ABL ($> 80\%$) bei einer Konzentration von $2.5 \mu\text{M}$ beobachten konnten, wenn der VHL-Ligand in der Bosutinib-PROTAC-Serie gegen den CRBN-Liganden ausgetauscht wurde (Abbildung 3A).

Der Abbau von BCR-ABL und c-ABL, der durch die BOS-CRBN-PROTAC-Serie ausgelöst wurde, bildet einen Gegensatz zur BOS-VHL-Serie, in der trotz Wechselwirkung mit dem Zielprotein kein Abbau von c-ABL oder BCR-ABL beobachtet wurde. Somit wurden inaktive BOS-VHL-Verbindungen durch den Wechsel zum CRBN rekrutierenden Ligand in aktive, BCR-ABL und c-ABL abbauende Verbindungen umgewandelt. Die beiden PROTAC-Serien mit verschiedenen Liganden, die das Zielprotein rekrutieren, zeigen, dass das Ansprechen des Onkoproteins BCR-ABL auf PROTAC-induzierten Abbau abhängig von der E3-Ligase (VHL oder CRBN), die rekrutiert wird, variiert.

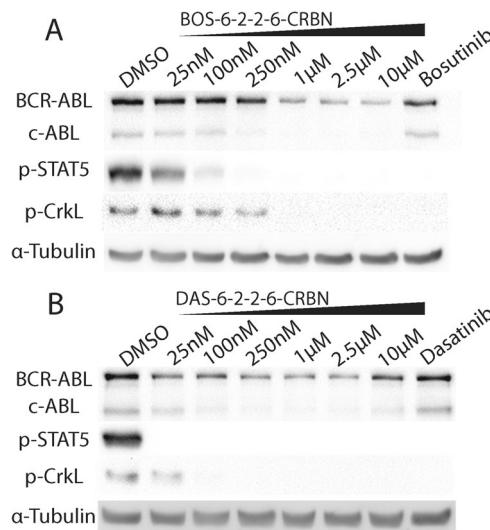


Abbildung 3. CRBN-basierte PROTACs. A) BOS-6-2-2-6-CRBN und B) DAS-6-2-2-6-CRBN wurden für 24 h mit K562-Zellen inkubiert. Die Konzentrationen der Ausgangsinhibitoren sind $1 \mu\text{M}$. Wie dieser Western-Blot zeigt, können die DAS-CRBN- und BOS-CRBN-PROTACs den Abbau von c-ABL und BCR-ABL induzieren.

Da der Abbau von BCR-ABL schon bei einer Konzentration von 25 nM des DAS-6-2-2-6-CRBN-PROTAC beobachtet werden konnte, haben wir in einem Folgeexperiment zelluläre Effekte des PROTAC bestimmt (Abbildung 3B). In einem Assay, der die Zellebensfähigkeit misst, stellten wir fest, dass DAS-6-2-2-6-CRBN gegen die BCR-ABL-abhängige K562-Zelllinie mit $\text{EC}_{50} = 4.4 \pm 2.1 \text{ nM}$ aktiv ist (Abbildung 4). Außerdem ist der PROTAC gegen die BCR-ABL-

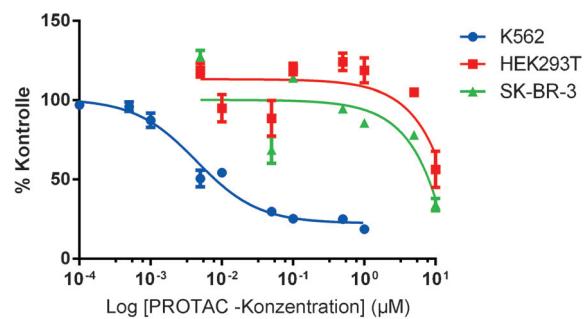


Abbildung 4. Zellebensfähigkeit mit DAS-6-2-2-6-CRBN. Verglichen mit BCR-ABL-unabhängigen Zelllinien ist dieser PROTAC $> 10^3$ -fach effektiver bezüglich der BCR-ABL-abhängigen K562-Zelllinie (bestimmt durch „CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay“ nach 48 h Inkubation). Die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler des Mittelwerts ($n=3$). Die Daten wurden auf die DMSO-Kontrolle normalisiert.

unabhängigen HEK293T-Zellen und die SK-BR-3-Brustkrebszelllinie 10^3 -fach weniger aktiv. Der PROTAC behält somit die Selektivität für die BCR-ABL-abhängige K562-Zelllinie und ist ein Hilfsmittel, um die Kinase-unabhängigen Funktionen von BCR-ABL in Leukämiestammzellen experimentell zu erforschen.

Zusammengefasst beschreiben wir hier das Design und die Synthese von difunktionellen niedermolekularen Verbindungen, die auf zwei potennten TKIs (Bosutinib und Dasatinib) basieren, die den Abbau von c-ABL und BCR-ABL auslösen, indem sie die E3-Ligasen CCRN oder VHL rekrutieren. Weiterhin sind die hier beschriebenen neuen PROTACs selektiv für die BCR-ABL-abhängige K562-Krebszelllinie. Im Zuge der Entwicklung dieser PROTACs haben wir festgestellt, dass die Abänderung von Liganden, die an das Zielprotein binden, und E3-Ligase rekrutierenden Liganden Einfluss darauf hat, welche Proteine auf den PROTAC-induzierten Abbau ansprechen (Abbildung 5).

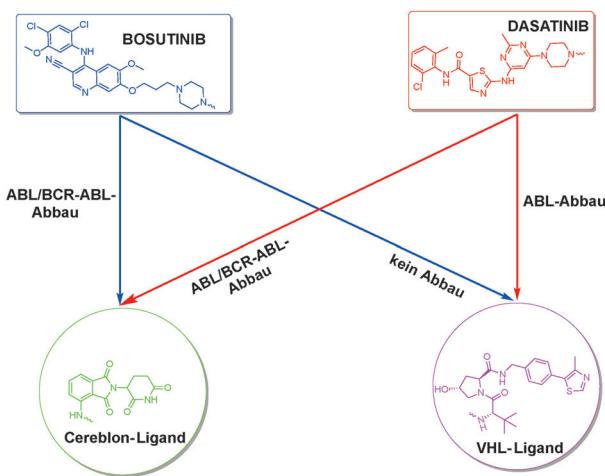


Abbildung 5. Zusammenfassung. Die Variation der Liganden, die das Zielprotein oder die E3-Ligase rekrutieren, ermöglicht den Abbau der Zielproteine. IMA-basierte PROTACs lösten trotz Wechselwirkung mit dem Zielprotein weder den Abbau von c-ABL noch BCR-ABL aus.

Wir haben auch beobachtet, dass durch die Variation der rekrutierten E3-Ligase das Substratspektrum des PROTAC erheblich verändert werden kann. Diese Beobachtung deutet auf die Möglichkeit hin, die Selektivität von Inhibitoren zu erhöhen, indem sie an verschiedene E3-Ligasen rekrutierende Liganden gekuppelt werden. Abschließend ist zu sagen, dass zukünftige Anwender als Ausgangspunkt für die PROTAC-Synthese die Liganden, die an das Zielprotein und die E3-Ligase binden, variieren sollten, um das Abbaupotenzial niedermolekularer PROTACs für den Proteinabbau schnell erfassen zu können.

Danksagung

Wir erhielten finanzielle Unterstützung von der Leukemia & Lymphoma Society und der NIH (T32GM067543, R35CA197589, R01AI084140, und MTSP TG-T32GM007205). D.H. hält ein EMBO Long-Term Fellowship

ALTF-1102-2014. Die deutsche Übersetzung des Manuskripts wurde von Doris Hellerschmied und Lukas Jelinek angefertigt.

Stichwörter:

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 807–810
Angew. Chem. **2016**, *128*, 818–821

- [1] O. Hantschel, G. Superti-Furga, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, *5*, 33–44.
- [2] O. Hantschel, W. Warsch, E. Eckelhart, I. Kaupe, F. Grebien, K.-U. Wagner, G. Superti-Furga, V. Sexl, *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 285–293.
- [3] A. Quintás-Cardama, J. Cortes, *Blood* **2008**, *113*, 1619–1630.
- [4] B. Druker, S. Tamura, E. Buchdunger, *Nat. Med.* **1996**, *2*, 561–566.
- [5] M. Okada, S. Adachi, T. Imai, K. Watanabe, S. Toyokuni, M. Ueno, A. S. Zervos, G. Kroemer, T. Nakahata, *Blood* **2003**, *103*, 2299–2307.
- [6] X. An, A. K. Tiwari, Y. Sun, P.-R. Ding, C. R. Ashby, Jr., Z.-S. Chen, *Leuk. Res.* **2010**, *34*, 1255–1268.
- [7] J. Wertheim, K. Forsythe, B. J. Druker, D. Hammer, D. Boettiger, W. Pearson, *Blood* **2002**, *99*, 4122–4130.
- [8] C. V. Ichim, *Stem Cells Transl. Med.* **2014**, *3*, 405–415.
- [9] A. Hamilton, G. V. Helgason, M. Schemionek, B. Zhang, S. Myssina, E. K. Allan, F. E. Nicolini, C. Müller-Tidow, R. Bhatia, V. G. Brunton et al., *Blood* **2011**, *119*, 1501–1510.
- [10] J. Lu, Y. Qian, M. Altieri, H. Dong, J. Wang, K. Raina, J. Hines, J. D. Winkler, A. P. Crew, K. Coleman et al., *Chem. Biol.* **2015**, *22*, 755–763.
- [11] G. E. Winter, D. L. Buckley, J. Paulk, J. M. Roberts, A. Souza, S. Dhe-Paganon, J. E. Bradner, *Science* **2015**, *348*, 1376–1381.
- [12] M. Zengerle, K.-H. Chan, A. Ciulli, *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10*, 1770–1777.
- [13] D. P. Bondeson, A. Mares, I. E. D. Smith, E. Ko, S. Campos, A. H. Miah, K. E. Mulholland, N. Routly, D. L. Buckley, J. L. Gustafson et al., *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11*, 611–617.
- [14] K. M. Sakamoto, K. B. Kim, A. Kumagai, F. Mercurio, C. M. Crews, R. J. Deshaies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 8554–8559.
- [15] Y. Itoh, M. Ishikawa, R. Kitaguchi, S. Sato, M. Naito, Y. Hashimoto, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 3229–3241.
- [16] D. L. Buckley, J. L. Gustafson, I. Van Molle, A. G. Roth, H. S. Tae, P. C. Gareiss, W. L. Jorgensen, A. Ciulli, C. M. Crews, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11463–11467; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 11630–11634.
- [17] D. L. Buckley, I. Van Molle, P. C. Gareiss, H. S. Tae, J. Michel, D. J. Noblin, W. L. Jorgensen, A. Ciulli, C. M. Crews, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4465–4468.
- [18] B. Nagar, W. Bornmann, P. Pellicena, *Cancer Res.* **2002**, *62*, 4236–4243.
- [19] J. S. Tokarski, J. Newitt, C. Y. J. Chang, J. D. Cheng, M. Wittekind, S. E. Kiefer, K. Kish, F. Y. F. Lee, R. Borzillerri, L. J. Lombardo et al., *Cancer Res.* **2006**, *66*, 5790–5797.
- [20] N. M. Levinson, S. G. Boxer, *PLoS One* **2012**, *7*, e29828.
- [21] E. F. Douglass, C. J. Miller, G. Sparer, H. Shapiro, D. A. Spiegel, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 6092–6099.

Eingegangen am 14. August 2015,
veränderte Fassung am 7. Oktober 2015
Online veröffentlicht am 23. November 2015