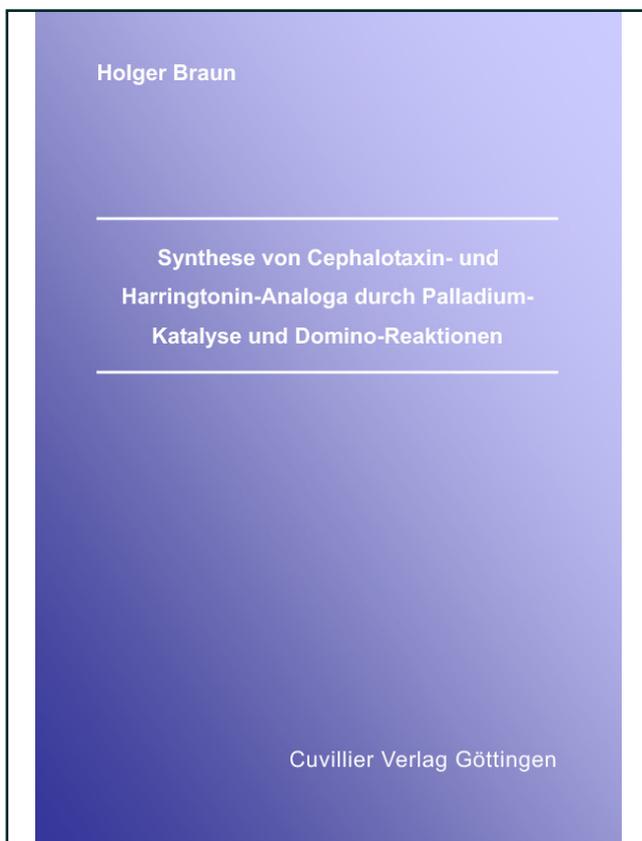




Holger Braun (Autor)

Synthese von Cephalotaxin- und Harringtonin-Analoga durch Palladium-Katalyse und Domino-Reaktionen



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2203>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

I. Allgemeiner Teil

1 Einleitung

Die Chemie nimmt in der heutigen Gesellschaft wie kaum eine andere Naturwissenschaft eine zentrale Rolle ein. So spielen chemische Produkte in praktisch jedem Bereich des täglichen Lebens eine große, allerdings auch meist unbemerkte Rolle. Der hohe Lebensstandard in den westlichen Ländern wäre ohne den Einsatz von Chemie in der Landwirtschaft, der Lebensmittelindustrie oder der Elektroindustrie nicht erreichbar gewesen.

Oftmals liefert die Natur den Anreiz zu neuen chemischen Entdeckungen. Insbesondere bei der Entwicklung neuer Arzneimittel sind Vorbilder in der Natur zu finden. So leiten sich 70% der derzeit eingesetzten Krebstherapeutika von natürlichen Leitstrukturen ab und werden direkt oder in Form von Derivaten eingesetzt. Auch die Transplantationsmedizin wäre ohne den Einsatz von Immunsuppressiva, welche fast alle ein natürliches Vorbild haben, undenkbar. Die Entwicklung von effizienten Synthesen spielt hinsichtlich eines möglichen Einsatzes, sowie der Schonung der natürlichen Ressourcen eine wichtige Rolle. Dies zeigte sich bei dem als Krebstherapeutikum eingesetzten Taxol. Das Fehlen einer industriell realisierbaren Synthese führte fast zur Ausrottung der Eibenart *Taxus brevifolia* Nutt. aus deren Rinde Taxol isoliert wurde. Das Problem konnte durch eine Partialsynthese unter Verwendung einer Vorstufe gelöst werden, die aus den Nadeln einer europäischen Taxusart erhalten werden kann. Auf synthetischem Wege kann auch durch Derivatisierung oder dem Verändern der gefundenen Leitstrukturen oftmals eine entscheidende Verbesserung der Wirkstoffeigenschaften erreicht werden. Ein klassisches Beispiel hierfür ist die Entwicklung von Aspirin[®],¹ dem heutzutage erfolgreichsten Medikament. Während die Schmerz stillende und Fieber senkende Wirkung der aus Weidenrinde gewonnenen Salicylsäure bereits in der traditionellen Medizin der Maya bekannt war, war die orale Verträglichkeit doch sehr schlecht. Durch eine einfache Acetylierung der Hydroxygruppe konnten die pharmakologischen Eigenschaften erheblich verbessert werden. Die orale Verträglichkeit sowie die Bioverfügbarkeit konnten zudem deutlich gesteigert werden.

Die heutigen Syntheseverfahren zeigen eine beeindruckende Leistungsfähigkeit und legen die Vermutung nahe, dass jedes noch so komplizierte Molekül synthetisch zugänglich sein sollte. Jedoch sind viele der veröffentlichten Synthesen industriell nicht interessant, sondern demonstrieren das technisch Machbare. Eine Synthese, welche neben akademischem auch wirtschaftliches Interesse hervorrufen soll, muss sich auch im Hinblick auf ihre Effizienz, Ökobilanz, Ökonomie und Atomökonomie² messen lassen. So fallen bei einer Jahresproduktion von 1.5 – 3 Millionen Tonnen Feinchemikalien 10 – 50 Millionen Tonnen Abfall an, was einen großen wirtschaftlichen Faktor darstellt.³ Das Interesse an Syntheseverfahren, die zur Verringerung der Abfallmenge sowie zur Schonung von Ressourcen beitragen, ist somit sehr groß.

Innovative moderne Verfahren, die diesem Anspruch gerecht werden sind katalytische Prozesse sowie Domino-Reaktionen. Durch Katalyse werden in zunehmendem Masse klassische Verfahren verdrängt, da sie diesen hinsichtlich Atomökonomie, Toleranz funktioneller Gruppen sowie der Ökobilanz in vielen Fällen überlegen ist. Ein Paradebeispiel hierfür ist die mit dem Green Chemistry Award des amerikanischen Präsidenten ausgezeichnete Synthese des wichtigsten nichtsteroidalen Entzündungshemmers Ibuprofen. So führte eine Umstellung der ursprünglichen Synthese auf katalytische Schritte zur Verringerung der Abfallmenge von 35 kg/kg Produkt auf deutlich unter 5 kg/kg Produkt.

Bei Domino-Prozessen werden mehrere Reaktionsschritte sequenziell unter gleichen Reaktionsbedingungen durchgeführt, wobei die nachfolgenden Reaktionen stets an den im vorherigen Reaktionsschritt gebildeten Funktionalitäten erfolgen (siehe Kapitel 2.2). In bezug auf Ressourcenschonung, Lösungsmittelbedarf, Abfallvermeidung und Energieverbrauch stellen solche Umsetzungen einen großen Vorteil dar.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag auf diesem Gebiet leisten und beschäftigt sich mit der Synthese von Analoga der in der Krebstherapie eingesetzten Harringtonine. Im Mittelpunkt stehen dabei eine Trimethylaluminium-vermittelte Domino-Reaktion, sowie eine Palladium-katalysierte Reaktion, die einen effizienten und schnellen Zugang zu diversen Grundgerüsten ermöglicht.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Die *Cephalotaxus*-Alkaloide

2.1.1 Vorkommen und medizinische Bedeutung der *Cephalotaxus*-Alkaloide

Cephalotaxin, die Stammverbindung der *Cephalotaxus*-Alkaloide, findet sich in den immergrünen Eiben der Gattung *Cephalotaxus*, welche vorwiegend in Südostasien beheimatet sind. Die Gattung *Cephalotaxus* unterteilt sich in acht Spezies, namentlich *C. harringtonia* (Forbes) Koch, *C. fortunei* Hook f., *C. hainanensis* Li, *C. wilsoniana* Hay., *C. mannii*, Hook. F., *C. oliveri* Mast. *C. lanceolata* K. M. Feng, *C. sinensis* Li.⁴ Nachdem von *M. E. Wall* 1954 der erste Nachweis erbracht wurde, dass Alkaloide in diesen Pflanzen zu finden sind, publizierte *W. W. Paudler* 1963 die Isolierung sowie die ersten Analysen eines Naturstoffs, welcher in etwa 50% des basischen Rohextraktes von *C. drupacea* und *C. fortunei* (heute: *C. harringtonia* var. *drupacea*) ausmachte, und nannte ihn Cephalotaxin (**1**).⁵

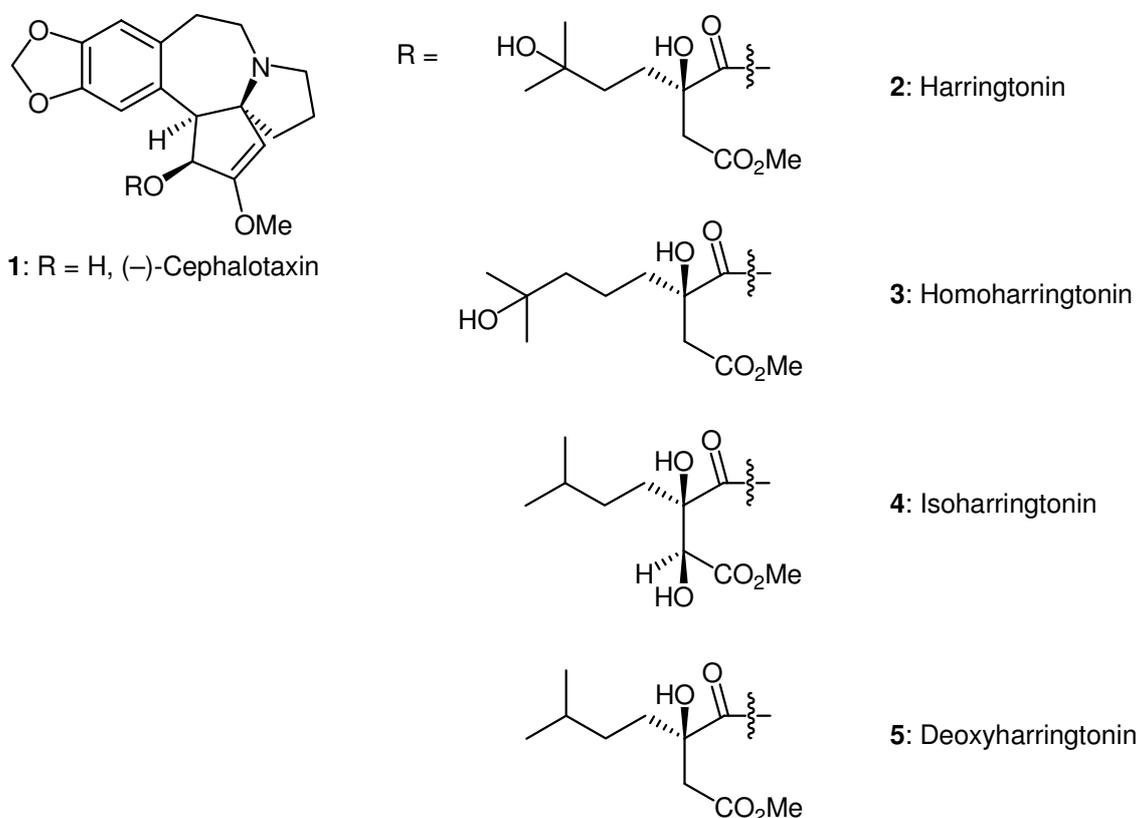


Abbildung 1: Cephalotaxin (**1**) und seine Ester.

Die Struktur des Cephalotaxins (**1**) konnte im Jahre 1969 durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt werden, wobei sich allerdings das analysierte Methylammoniumsalz als racemisch erwies.⁶ Die abschließende Klärung der absoluten Konfiguration gelang erst 1974 mit dem *para*-Bromobenzoat des Cephalotaxins.⁷ Später war es dann auch möglich, eine Röntgenstruktur der nicht derivatisierten Grundverbindung zu erhalten.⁸

1969 fand *R. G. Powell* im ethanolischen Extrakt der Samen von *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* neben Cephalotaxin (**1**) noch drei weitere Alkaloide (Abb. 1).⁹ Dabei fiel ein Ester des Cephalotaxins, welcher von *R. G. Powell* Harringtonin (**2**) genannt wurde, durch eine ausgesprochen hohe antileukämische Aktivität auf. Diese Entdeckung war der Ausgangspunkt umfangreicher Untersuchungen, in deren Verlauf weitere C-3 Ester, die 2-alkylierten Äpfel- bzw. Weinsäurederivate Homoharringtonin (**3**), Isoharringtonin (**4**) und Deoxyharringtonin (**5**) isoliert und identifiziert werden konnten, welche ebenfalls eine ausgeprägte Antitumoraktivität zeigen (Tab. 1).¹⁰

Verbindung	IC ₅₀ (µg/ml) P388
Harringtonin	0.032
Homoharringtonin	0.017
Isoharringtonin	0.018
Deoxyharringtonin	0.0075

Tabelle 1: Biologische Aktivität gegenüber P388 Leukämiezellen.

Die Cephalotaxinester werden zur Zeit umfangreich klinisch getestet, wobei die besten Ergebnisse mit Homoharringtonin (**3**) erzielt werden, welches sich in klinischen Studien der Phase II und Phase III befindet. Homoharringtonin (**3**) wird dabei zur Therapie von chronischer und akuter myeloischer Leukämie eingesetzt.¹¹ Als zugrunde liegender Wirkmechanismus wird dabei die Inhibierung der Kettenverlängerung bei der Proteinbiosynthese sowie die Blockade der Aminoacyl-tRNA-Bindung vermutet.¹²

Als unerwünschte und den Einsatz limitierende Wirkung stellte sich die blutdrucksenkende Eigenschaft heraus. Des Weiteren wurden Myelosuppression, Fieber, Mattigkeit sowie eine Beeinflussung des Gastrointestinaltraktes beobachtet.

Bis heute werden neue Strukturderivate entdeckt und publiziert, wobei die strukturelle Diversität allerdings gering ist.¹³ Eine Ausnahme stellt das Cephalotaxidin (**6**), das 1996 entdeckt wurde, dar. Dabei handelt es sich um ein dimeres *Cephalotaxus*-Alkaloid, welches sich aus einer Homoharringtonin- sowie einer Homoharringtoninamideinheit aufbaut, die über eine C–C-Bindung miteinander verknüpft sind.¹⁴

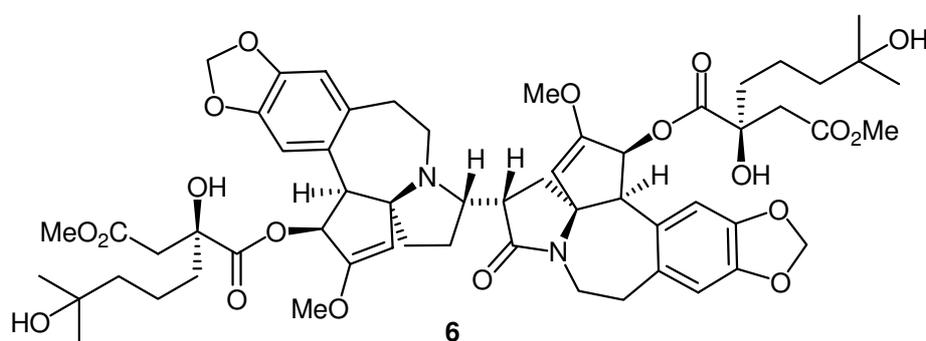
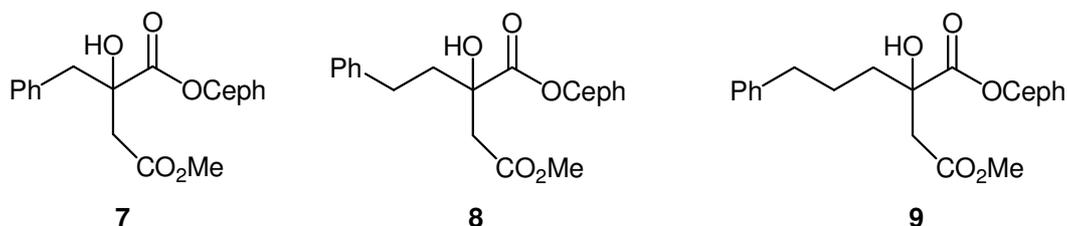


Abbildung 2: Cephalotaxidin (**6**).

Seit der Entdeckung der biologischen Aktivität der *Cephalotaxus*-Alkaloide wurden viele Anstrengungen unternommen, durch Variation der Struktur die Wirksamkeit zu erhöhen. Diese Derivatisierungen beschränkten sich bisher jedoch ausschließlich auf die Äpfelsäure-Seitenkette und waren mäßig erfolgreich. Die von *D. Z. Wang* beschriebenen Äpfelsäureester zeigten mit dem Homoharringtonin vergleichbare Aktivitäten (Abb. 3, Tab 2).¹⁵



Ceph = Cephalotaxin

Abbildung 3: Aktive synthetische Äpfelsäureester.

Verbindung	Wachstumshemmung in %		
	100 µg/ml	10 µg/ml	1 µg/ml
7	98.6	100	100
8	99.3	100	95.1
9	98.7	99.7	90.5
Homoharringtonin (3)	100	99.3	99.3

Tabelle 2: Wachstumshemmung in % von P388 Leukämiezellen *in vitro*.

2.1.2 Die Biosynthese von Cephalotaxin (1)

Neben *Cephalotaxus*-Alkaloiden konnten aus den *Cephalotaxus*-Pflanzen auch Homoerythrina-Alkaloide isoliert werden, was die Vermutung nahe legte, dass diese sich strukturell ähnlichen Alkaloide auf einem gemeinsamen Biosyntheseweg bilden.

In Anlehnung an den von *J. S. Fitzgerald* formulierten Biosyntheseweg der Homoerythrina-Alkaloide,¹⁶ bei dem aus zwei Phenylalanin- oder Tyrosinmolekülen ein 1-Phenethyltetrahydroisochinolin als Vorläufer postuliert wird, entwickelte *R. J. Parry* einen Biosyntheseweg, der zu den Cephalotaxus-Alkaloiden führt (Abb. 4).¹⁷ Dieser unterscheidet sich von der Biosynthese der Homoerythrina-Alkaloide lediglich in der Art des Ringschlusses zum Pentacyclus.

Die aufgestellte Hypothese konnte durch Fütterungsexperimente mit radioaktiv markierten Vorläufern gestützt werden. Dabei fanden sich die ¹⁴C-markierten C-2 und C-3 Positionen des Tyrosins (**10**) an der Position C-10 bzw. C-11 im Cephalotaxin (**1**) wieder. Die ¹⁴C-Markierung von C-1 im Phenylalanin (**11**) konnte im Cephalotaxin (**1**) an der C-8 Position gefunden werden. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass der A-Ring aus Tyrosin (**10**) und der D-Ring aus Phenylalanin (**11**) gebildet wird.

Nach Verfütterung von [3-³H, *p*-¹⁴C]-Phenylalanin zeigte sich, dass das markierte Kohlenstoffatom vollständig in die Position C-3 eingebaut wird, während es zu einem 50%igem Verlust der Tritiummarkierung kommt. Mit [3-³H, *m*-¹⁴C]-Phenylalanin konnte ein Einbau in die C-2 Position nachgewiesen werden, wobei das ¹³C/¹H-Verhältnis konstant blieb. Damit war der Verlust eines Kohlenstoffes in der *meta*-Position

nachgewiesen, was durch eine Benzilsäureumlagerung mit anschließender Decarboxylierung erklärt wird.

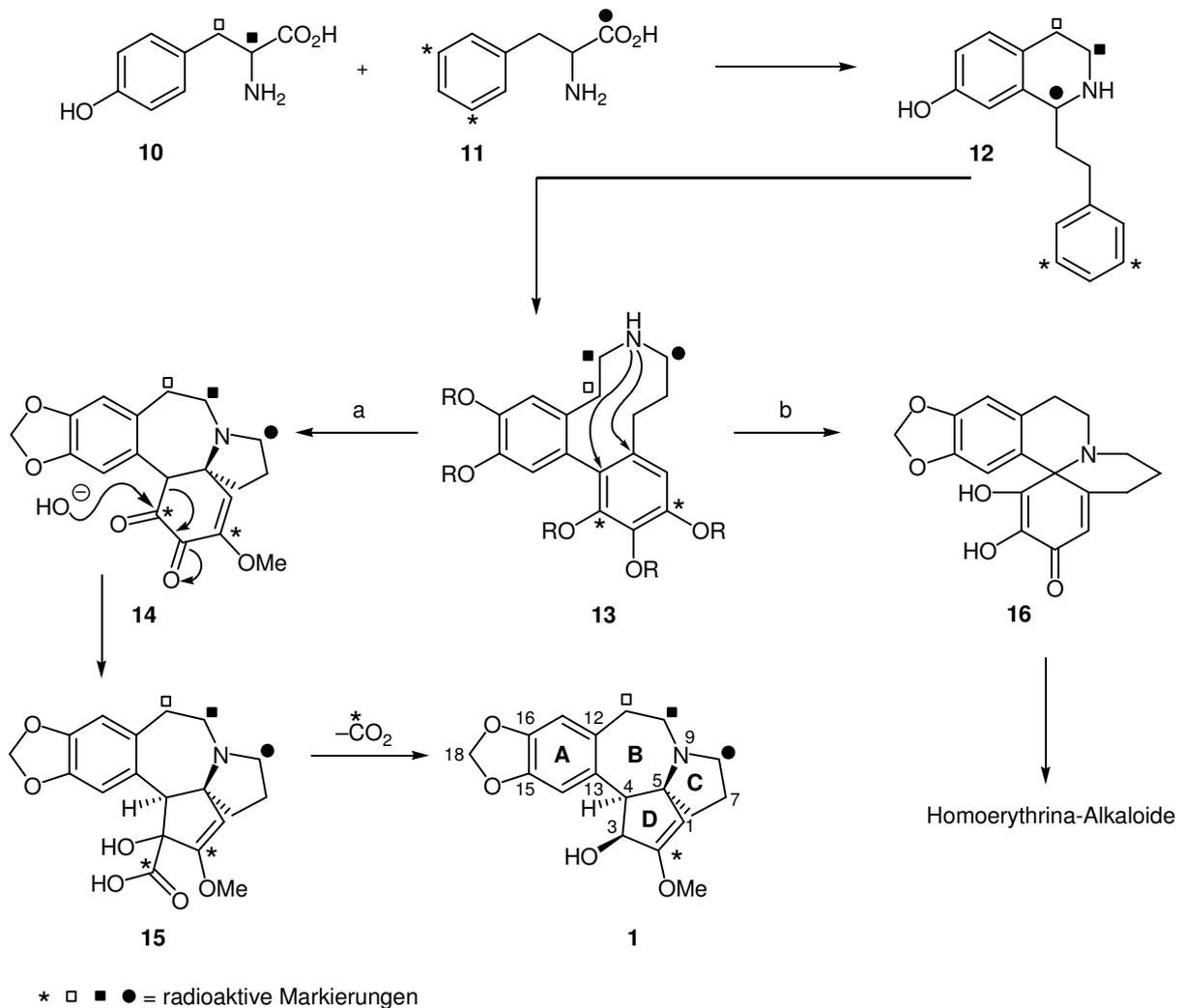


Abbildung 4: Biosynthese der Cephalotaxus- und Homoerythrina-Alkaloide.

In weiteren Experimenten mit markierten Cephalotaxin und der 3-Ketoverbindung Cephalotaxinon zeigte sich, dass beide Verbindungen in der Pflanze ineinander überführt werden. Wird dabei Demethylcephalotaxin eingesetzt, zeigt sich keine Bildung von Cephalotaxin (1), so dass die Demethylierung folglich ein irreversibler kataboler Prozess ist. Diese Ergebnisse lassen auf die Anwesenheit der Methoxygruppe an der C-2 Position des Cephalotaxins während der Umlagerung schließen.

2.1.3 Biosynthese der Harringtonin-Seitenkette

Durch Fütterungsexperimente mit $[1-^{14}\text{C}]$ Leucin (**16**) und $[1-^{14}\text{C}]$ -**21** konnte die Biosynthese der α -Isopentyl-äpfelsäure durch *R. J. Parry* nachgewiesen werden (Abb. 5).¹⁸

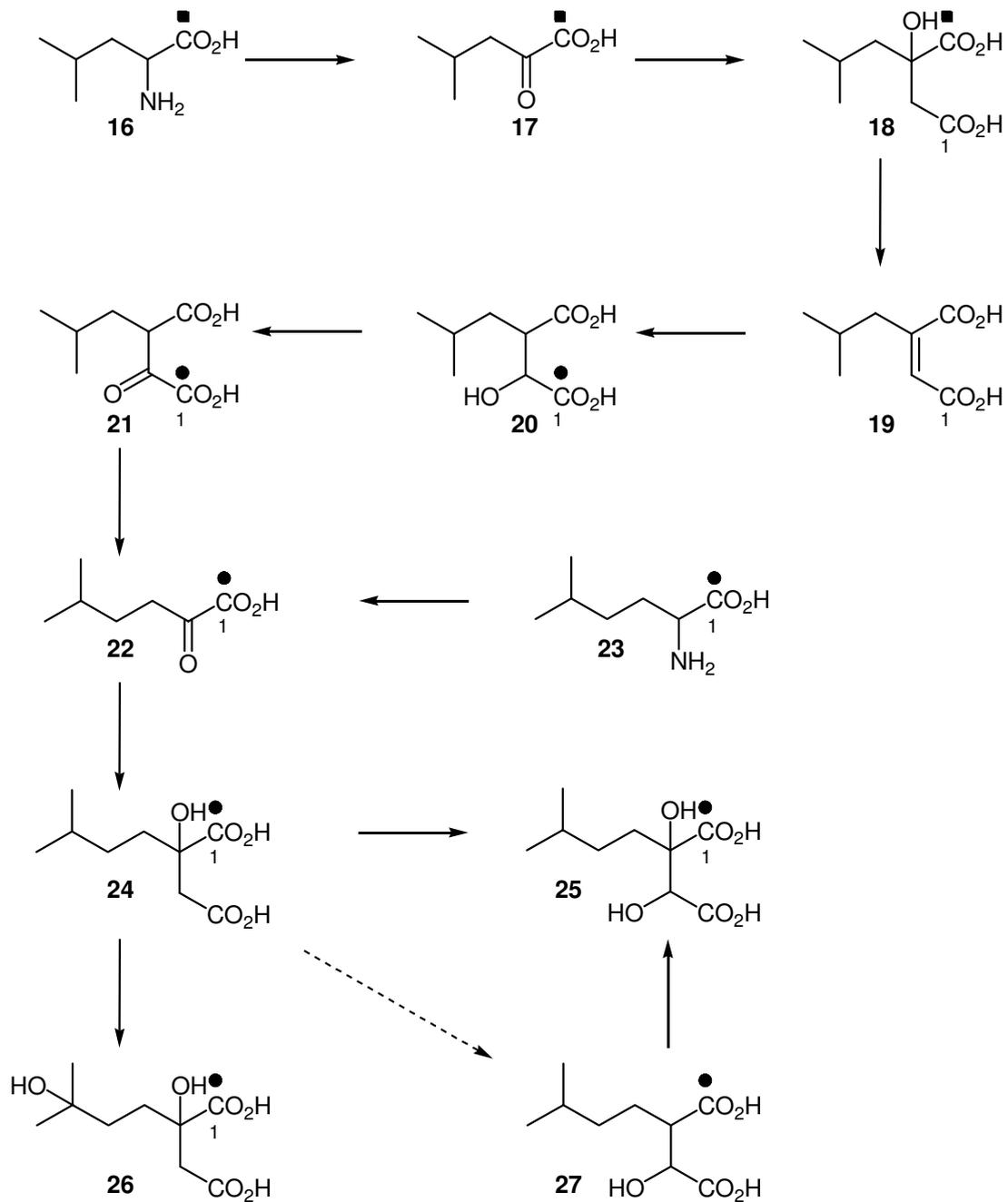


Abbildung 5: Biosynthese der Harringtonin-Seitenkette.

Ausgehend von radioaktiv markierten Substraten konnten die Verbindungen **18** und **24** isoliert werden, in welche die Markierung eingebaut war. Es zeigte sich des Weiteren, dass nach Verfütterung von ^{14}C -markiertem Homoleucin ebenfalls das Äpfelsäure-Derivat **24** gefunden wurde. Die markierten Seitenketten von Harringtonin und Isoharringtonin **26** und **25** fand man, nachdem man der Pflanze $[1-^{14}\text{C}]\text{-24}$ verabreichte. Es wird davon ausgegangen, dass die Hydroxylierung von C-3 auf dem Weg von **24** zu **25** direkt geschieht, da $[1-^{14}\text{C}]\text{-27}$ nach Verfütterung nicht eingebaut wurde. Als Syntheseweg für die Homoharringtonin-Seitenkette wird eine CH_2 -Kettenverlängerung mit anschließender Hydroxylierung ausgehend von **24** postuliert.

Über die Art der Verknüpfung der Seitenketten mit dem Cephalotaxingerüst sind bislang keine Aussagen möglich, da die experimentellen Bedingungen, unter welchen die Pflanzenextrakte aufgearbeitet wurden, eine Esterhydrolyse bewirken.

2.1.4 Ausgewählte Synthesen des Cephalotaxins

Die vielversprechende biologische Aktivität sowie die interessante pentacyclische Struktur des Cephalotaxins (**1**) wie auch seiner Ester haben seit ihrer Entdeckung das Interesse synthetisch arbeitender Chemiker auf sich gezogen.

Die erste und nach einigen Modifikationen immer noch sehr effiziente Totalsynthese von racemischem Cephalotaxin (**1**) wurde 1972 von *S. M. Weinreb* publiziert (Abb. 6).¹⁹ In seiner Synthese stammte der C-Ring aus Prolinol (**29**), das nach Acylierung mit dem Säurechlorid **28** in einer *Moffat*-Oxidation mit DCC zum Aldehyd **30** umgesetzt wurde. Unter Lewissäurekatalyse mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ gelang der Aufbau des siebengliedrigen B-Rings in hervorragenden Ausbeuten. Das erhaltene Enlactam **31** wurde mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert und anschließend mit 2-Acetoxypropionylchlorid und Bleioxid zum Dion **33** oxidiert. Da dieser Schritt nur in mäßigen Ausbeuten verlief, suchte man nach Alternativen und fand schließlich, dass die Darstellung von **33** auch direkt durch Umsetzung mit dem gemischten Anhydrid aus Brenztraubensäure und Essigsäure **32** in sehr guten Ausbeuten möglich war.²⁰ Der Ringschluss des D-Rings gelang in einer intramolekularen *Michael*-Addition mit den von *H. Muxfeld* gefundenen Bedingungen. Die sich anschließende Umsetzung des Cephalotaxinons **34** mit 2,2-Dimethoxypropan erfolgte mit einer Regioselektivität von 3:1 zugunsten des gewünschten Regioisomers **36**. Die abschließende Reduktion mit