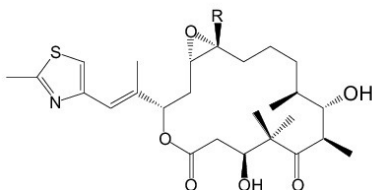




Pasma Muharram (Autor)
**Stereochemische Studien zur Aldolreaktion für
Epothilon-Synthesen**

Muharram

Stereochemische Studien zur Aldolreaktion
für Epothilon-Synthesen



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2838>

Copyright:
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Hintergrund

Tiere, Pflanzen und Mikroorganismen haben sich als besonders ergiebige Quelle für neue Wirkstoffe und Leitstrukturen gezeigt. Die stete Neuentdeckung von Naturstoffen mit nachfolgender Strukturaufklärung bringt eine große Vielfalt an Strukturen hervor und hat eine fundamentale Bedeutung aufgrund ihres pharmakologischen Potentials, das man für die Entwicklung neuer Medikamente zu nutzen versucht.^[1,2,3] Die fast unerschöpfliche strukturelle Vielfalt der Naturstoffe stellt dabei eine große Herausforderung für analytisch und synthetisch arbeitende Chemiker dar. Da Naturstoffe häufig nur in geringen Mengen zur Verfügung stehen oder derivatisiert werden sollen, werden parallel zu der Entdeckung die chemischen Synthesemethoden entwickelt. Die chemische Synthese hat den Vorteil, dass sie meistens kostengünstiger ist und gut reproduzierbare Ergebnisse liefert. Weiterhin zeichnet sich die chemische Synthese durch ihre gute Zugänglichkeit von Derivaten aus.^[4] Eine der wichtigsten Neuentwicklungen der Naturstoffsynthese in den letzten Jahren ist die Synthese der antitumorwirksamen Naturstoffe, wie z. B. das durch Semisynthese gewonnene Taxol[®], Tamoxifen und Carboplatin,^[5] sowie das erst kürzlich entdeckte Epothilon (siehe Abb. 1),^[5] die ein neues, aufregendes Kapitel in der Chemie, Biologie und Medizin versprechen.

Epothilone sind eine neue Gruppe makrocyclischer Naturstoffe, die schnellere und bessere Ergebnisse bei der Erforschung der Stabilisierung von Mikrotubuli versprechen. Dies könnte zu einem Krebstherapeutikum mit cytotoxischer Wirkung führen, das effektiver als Taxol[®] ist. Ihre interessantesten biologischen Eigenschaften und ihre neue Struktur haben die Chemiker und Biologen angezogen und dadurch ist die Synthese der Epothilone von größter Bedeutung. Nachdem die absolute Konfiguration und räumliche Struktur der Epothilone 1996 bekannt wurde, begann ein internationaler Synthesewettlauf.^[1] Das Grundgerüst der Epothilone ist

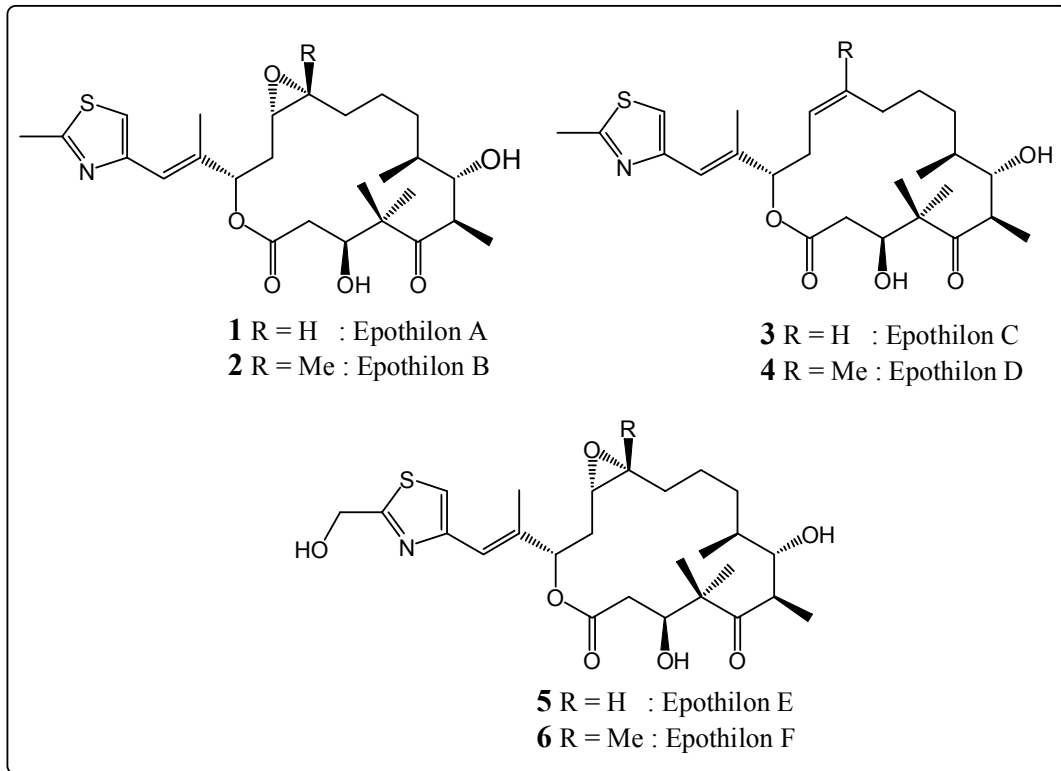


Abb. 1: Strukturen der natürlich vorkommenden Epothilone A-F

weniger komplex als das von Taxol[®]. Dennoch waren die Epothilone eine große Herausforderung für die organische Synthese, und vor allem boten sie reichlich Gelegenheit zur Entwicklung neuer Synthesemethoden und –strategien. Mehrere Arbeitskreise stürzten sich auf die Totalsynthese der Epothilone, und fast zeitgleich wurden drei Synthesewege der Arbeitskreise von Danishefsky, Nicolaou und dem Arbeitskreis Schinzer veröffentlicht. [6-15]

Ein verbesserter Zugang der Totalsynthese der Epothilone wird weiterhin von der Arbeitsgruppe Schinzer erforscht und weiter entwickelt. Die retrosynthetische Analyse hat gezeigt, dass Aldolreaktionen eine wichtige Rolle in der Synthese der Epothilone spielen. Diese Reaktion liefert zahlreiche stereoisomere Aldolprodukte. Aus diesem Grund sind für diese Arbeit die Aldolreaktionen mit einer Vielfalt an Aldehyden und zwei speziellen Ethylketonen durchgeführt worden, um eine höhere Selektivität für die Aldolreaktion zu finden.

1.2 Epothilone und ihre biologischen Eigenschaften

Der Name Epothilon setzt sich aus den verschiedenen im Molekül vorhandenen Strukturelementen zusammen: Epoxid, Thiazol und Keton. Die Epothilone wurden erstmals von Wissenschaftlern der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig unter der Leitung des Mikrobiologen Hans Reichenbach und des Chemikers Gerhard Höfle entdeckt.^[1, 2] Sie wurden aus Kulturextrakten des Stammes So ce 90 des Myxobakteriums *Sorangium cellulosum* isoliert, der zuerst 1985 im Uferboden des Sambesi Flusses in Südafrika gefunden wurde.^[16] Die Kulturbrühe dieses Myxobakteriums zeigte in entsprechenden Screening-Tests biologische Aktivität; durch Zugabe eines Adsorberharzes zur Kultur konnte der aktive Sekundärmetabolit gebunden und anschließend vom Harz isoliert werden. Die molekularen Strukturen der Epothilone wurden mit spektroskopischen Methoden und der Kristallstrukturanalyse aufgeklärt.^[1, 3]

Die Epothilone besitzen sowohl *in vitro* als auch im Gewächshaus, eine bemerkenswerte antifungische Wirkung gegen Oomyceten, z. B. gegen *Phytophthora infestans*, den Erregern der gefürchteten Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel. Aber die antifungische Aktivität ist mit einer erheblichen Pflanzentoxizität gekoppelt, so dass weitere Studien in dieser Richtung eingestellt wurden.

Ein interessantes Phänomen ist die Tatsache, dass Epothilon trotz der unterschiedlichen Struktur im Vergleich zu der des Taxols[®] an der gleichen Stelle an das Mikrotubulin bindet und sogar Taxol[®] an seinem Bindungsort ersetzen kann.^[17,18] Bei den Tubulin Assays zeigte sich, dass sowohl Epothilon A (**1**) als auch Epothilon B (**2**) deutlich wirksamer sind.^[16,17] Der Wirkmechanismus des Taxols[®] wurde 1979 von Horwitz *et al.* entdeckt und aufgeklärt.^[17] Die Entdeckung zeigte, dass die cytotoxische Wirkung von Taxol[®] auf einer Stabilisierung der Mikrotubuli beruht, während alle bis dahin gefundenen Mikrotubuli-aktiven Wirkstoffe wie Colchicin, Podophyllotoxin oder Vinblastin die Mikrotubuli destabilisierten und auf diese Weise den Zelltod verursachten. Seit der Entdeckung des Wirkungsmechanismus von Taxol[®] vor fast 20 Jahren war trotz intensiver Suche

Epothilon die erste Substanz, die den gleichen Mikrotubuli-stabilisierenden Effekt zeigte. Die Firma Merck hat die Wirkung von Epothilonen und Taxol auf Mikrotubuli untersucht und hat gezeigt, dass die Tubulin-Polymerisationsagentien in der Reihenfolge von Epothilon B (**2**) > Epothilon A (**1**) > Taxol[®] abnehmen.^[19]

Mikrotubuli sind feste Bestandteile des Cytoskelettes in eukaryotischen Zellen. Mikrotubuli bestehen aus zwei Proteinen, dem α - und β -Tubulin, aus denen sich ein Heterodimer bildet.^[21,22] Die Heterodimere bilden in einer Kopf-Schwanz-Anordnung gestreckte Reihen, die sogenannten Protofilamente. In paralleler Anordnung entsteht formal aus 13 Protofilamenten ein zylindrischer Mikrotubulus. Da alle Heterodimere in den Mikrotubuli parallel ausgerichtet sind, besitzt der Mikrotubulus als Ganzes eine polare Struktur, die ein schnell wachsendes plus-Ende und ein langsam wachsendes minus-Ende in den MTOCs (Mikrotubule Organization Centers, z. B. dem Centrosom) verankert und erstreckt sich mit den plus-Enden von den Ausgangspunkten weg. Das Wachstum der Mikrotubuli erfolgt normalerweise ausgehend von diesen Zentren, da es für die Neubildung von Mikrotubuli in Lösung eine kinetische Barriere gibt. Die Geschwindigkeit, mit der freies Tubulin zu Mikrotubuli polymerisiert, ist proportional zu seiner Konzentration. Wird eine bestimmte kritische Tubulin-Konzentration erreicht, die normalerweise bei einem Wert von 0.2 mg/ml liegt, stellt sich an den Enden der Mikrotubuli ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Assoziation und Dissoziation ein, und es findet kein spontaner Aufbau mehr statt.

Taxol[®] und Epothilon binden an die β -Untereinheit des Heterodimers und beeinflussen das Tubulin-Mikrotubuli-Gleichgewicht, indem sie die Dissoziationsgeschwindigkeit deutlich verringern. Die Gleichgewichtslage wird zugunsten der Mikrotubuli verschoben: Die beiden Naturstoffe machen Mikrotubuli resistent gegen Depolymerisation. Die für eine Polymerisation erforderliche kritische Tubulin-Konzentration wird durch Taxol[®] auf einen Wert unter 0.01 mg/ml gesenkt.^[17]

In Gegenwart von Taxol[®] oder Epothilon wird im Gegensatz dazu die Funktion der MTOCs außer Kraft gesetzt, und man beobachtet die Bildung einer Vielzahl kurzer Mikrotubuli, die nicht mit den Organisationszentren verknüpft sind. Die Barriere für die Neubildung von Mikrotubuli in Lösung wird gebrochen. In *in vitro*-Experimenten (Versuche, in denen man Aspekte der Mikrotubulibildung aus reinem Tubulin sozusagen im Reagenzglas untersucht hat) macht sich diese Barriere dadurch bemerkbar, dass es eine gewisse Verzögerungszeit für die Bildung der Mikrotubuli gibt, da keine Organisationzentren wie in der Zelle vorhanden sind. Bei Zugabe von Taxol[®] oder Epothilon startet die Tubulin-Polymerisation hingegen augenblicklich.

Die unter Einwirkung von Epothilon oder Taxol[®] gebildeten Mikrotubuli weisen morphologische Unterschiede zu normalen Mikrotubuli auf: sie sind kürzer, bestehen aus nur 8-9 Protofilamenten und haben einen entsprechend kleineren Durchmesser. Außerdem sind sie auch unter Bedingungen stabil, unter denen Mikrotubuli normalerweise depolymerisieren: sie sind resistent gegenüber Kälte (max. 4 °C) und Calciumionen (max. 4 bzw. 3 mM).^[17,19]

Unter dem Mikroskop kann man nach einer relativ hohen Taxol[®]- oder Epothilon-Exposition während der Interphase der Zelle das Verschwinden des Tubulinnetzwerkes beobachten. Irreversibel entstehen dabei kurze Mikrotubuli-Bündel, die unregelmäßig im Cytoplasma verteilt sind. Bei kleineren Wirkstoffkonzentrationen bleiben die Interphase-Mikrotubuli in der Regel unbeeinflusst, während selektiv die Bildung und Funktion der Mitosespindel, der in der Zellteilung befindlichen Zellen, in Mitleidenschaft gezogen werden.^[19,20]

Es ist möglich, dass Krebszellen eine Kontrollfunktion fehlt, die das Fehlen einer normalen mitotischen Spindel anzeigt, so dass sie versuchen, die Mitose fortzusetzen. Die Zellkerne lösen sich schließlich auf und die Zellen unterliegen der Apoptose, dem programmierten Zelltod. Erkennbar ist die Apoptose an charakteristischen Chromatin-Brüchen in Fragmente einer bestimmten Größenverteilung, so dass bei der Gelelektrophorese ein leiterähnliches Muster entsteht. Im Gegensatz dazu zerfällt das Chromatin nekrotischer Zellen unregelmäßig