

Diss. ETH No. 18921

Total Synthesis of Hypermodified Epothilone Analogs

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology Zürich

For the degree of
Doctor of Sciences ETH Zürich

Presented by

Christian Nicolas Kuzniewski

Dipl. Chem. Universität zu Köln, Köln
Born November 27, 1978
Citizen of the Federal Republic of Germany

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Karl-Heinz Altmann, examiner
Prof. Dr. Jonathan Hall, co-examiner

Zürich, 2010

1. ABSTRACT

Cancer represents one of the most severe health problems worldwide, and the search for improved cytotoxic agents constitutes an important part of modern anticancer drug discovery.

One promising class of anticancer agents are the epothilones (Fig. 1) which can be classified as tubulin inhibitors. They exert their activity by stabilization of microtubules, which eventually leads to programmed cell death in cancer cells. Since their discovery in 1987 and the elucidation of their mechanism of action in 1995, the epothilones have served as the lead structures for a vast number of SAR studies. The introduction of an epothilone analog (Ixempra[®]) into clinical cancer treatment (2008) has been the most tangible result of these extensive investigations to date.

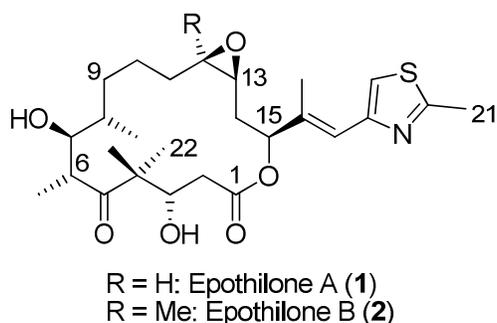


Figure 1: Naturally occurring epothilones, Epo A (**1**) and Epo B (**2**).

While most of the SAR-studies were focused on the modification of single structural properties of the epothilone scaffold, *it was the aim of this thesis* to develop efficient synthetic access to epothilone analogs whose structure deviates strongly from the original natural product leads (structures of type **T** and **Z**, Fig. 2).

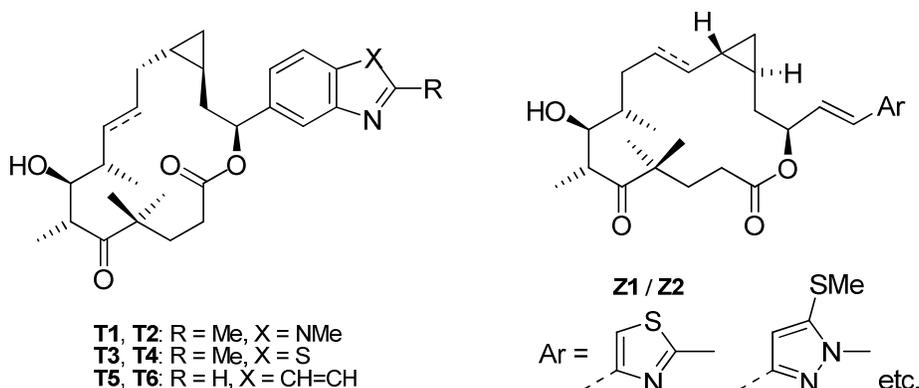


Figure 2: Hypermodified epothilone target structures of this thesis.

This new class of epothilones, which will be referred to as hypermodified epothilones throughout this thesis, differs from the natural epothilones in the nature and geometry of the three-membered ring fused to the C12-C13 bond (*trans*-cyclopropane *vs.* *cis*-epoxide), the structure of the C15 side chain, and by the lack of a hydroxyl group at C3. Compounds with even numbers bear an additional double bond. The synthesis of structures **T1-T6** was based on a convergent concept with separate elaboration of an Eastern and a Western fragment (Fig. 3). Western fragment **A3** could be accessed via an aldol reaction between γ -keto ester **A2** and Roche ester-derived aldehyde **A1**.

An efficient synthesis of Eastern building blocks **A6a,b,c** was devised, which relied on enantioselective allylation and highly diastereoselective Charette cyclopropanation in the stereogenic steps. New methods were found that allowed the selective elaboration of the required cyclopropanated alkyl chain and provided alcohols **A6a,b,c** for coupling with acid **A3**. Subsequent to fragment coupling a highly *E*-selective RCM protocol was established to close the macrocycle leading to the protected precursor for the target structures of type **T**. Due to the fact that the syntheses of **A6a,b,c** were all equally efficient, independent of the nature of the bicyclic heteroaromatic moiety (benzimidazole, benzothiazole, quinoline) it is very likely that the methodology developed here will allow access to a range of other analogs of type **T** containing related benzo-fused heterocycles.

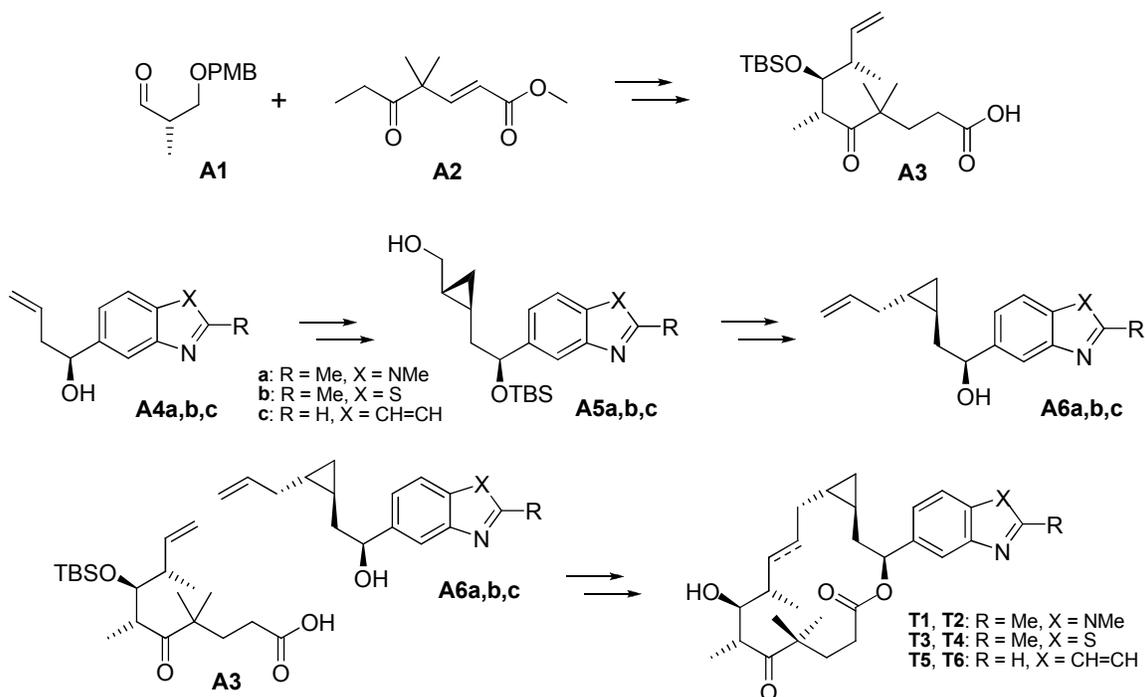


Figure 3: Summary of the total synthesis of hypermodified epothilone analogs of type **T**.

All analogs of this type (**T1-T6**) investigated were found to be highly potent antiproliferative agents with IC_{50} values for *in vitro* cancer cell growth inhibition in the

low nM range, even against multidrug-resistant cell lines. As such, analogs **T1-T6** may be considered as examples of a new structural class of microtubule-stabilizing agents, with the potential for an altered overall pharmacological profile relative to the original natural product leads. *In vivo* experiments are currently in progress with analog **T1** to test this hypothesis.

The design of target structures **Z** was driven by the desire for a flexible synthetic route to hypermodified epothilone analogs that would enable the introduction of modified side chains at a late stage of the synthesis. This can be accomplished through the use of intermediate **A13** (Fig. 4), for which an efficient route was developed. Key steps in the synthesis of **A13** are the diastereoselective cyclopropanation in the synthesis of its Eastern building block **A9** as well as diastereoselective aldol reaction between **A10** and **A11** which establishes the stereotriad C6, C7, C8 in the Western building block **A12**. As the first examples of analogs of type **Z** compounds **Z1/Z2** were prepared through Wittig chemistry-based side chain attachment. Analog **Z1** was found to be a potent antiproliferative agent with IC_{50} values for *in vitro* cancer cell growth inhibition of 50-100 nM. In contrast, the corresponding 10,11-dehydro analog **Z2** was virtually inactive. Based on existing SAR-data the activity of **Z1** may be significantly improved by the replacement of the thiazole moiety by other heterocycles. Such analogs will be readily accessible by the chemistry developed in this thesis.

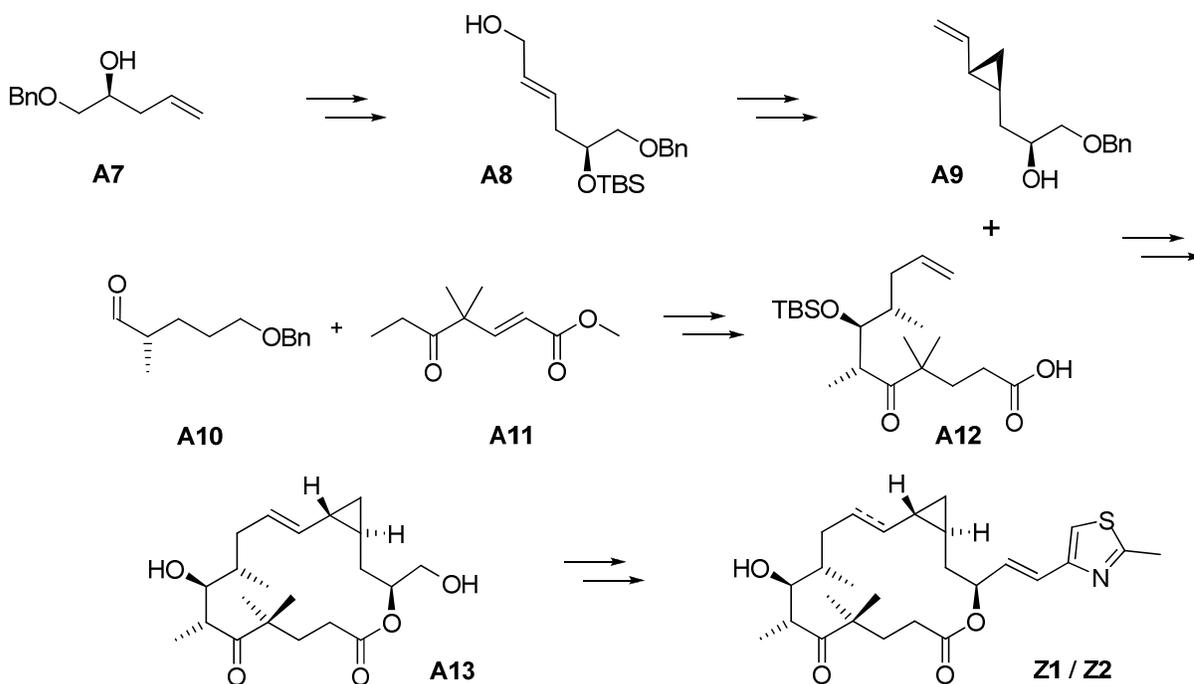
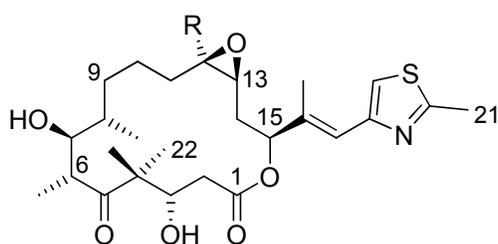


Figure 4: Summary of the total synthesis of hypermodified epothilone analogs of type **Z**.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Krebs stellt eines der schwerwiegendsten Gesundheitsprobleme weltweit dar, und die Suche nach verbesserten zytotoxischen Substanzen ist ein wichtiger Teil moderner Wirkstoffforschung gegen Krebs. Eine vielversprechende Substanzklasse auf diesem Gebiet sind die Epothilone (Abbildung 1), die der Gruppe der Tubulininhibitoren angehören. Ihre Aktivität gegen Krebszellen beruht darauf, dass sie Mikrotubuli stabilisieren, was schliesslich zum programmierten Zelltod führt. Seit ihrer Entdeckung 1987 und der anschliessenden Aufklärung ihres Wirkungsmechanismus 1995 sind zahlreiche SAR-Studien an Epothilonen durchgeführt worden, wobei die Einführung des Epothilonabkömmlings Ixempra® in die klinische Krebstherapie das bisher greifbarste Ergebnis der jahrelangen Forschung im Bereich der Epothilone darstellt.



R = H: Epothilon A (1)
R = Me: Epothilon B (2)

Abbildung 1: Natürlich vorkommende Epothilone, Epo A (1) und Epo B (2).

Während die meisten bisher durchgeführten SAR-Studien mit Epothilonen sich auf die Modifikation von einzelnen strukturellen Merkmalen beschränkten, war es das Ziel dieser Doktorarbeit, einen effizienten synthetischen Zugang zu Epothilonanaloga, deren Struktur stark von den natürlich vorkommenden Leitstrukturen abweicht, zu entwickeln (Strukturen vom Typ **T** und **Z**, Abbildung 2).

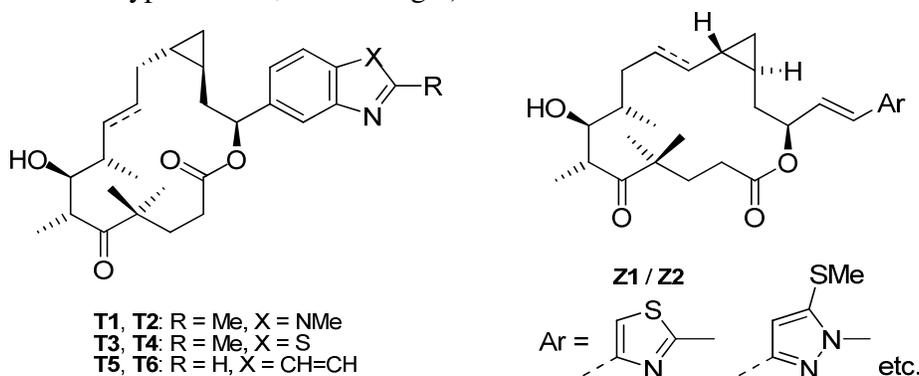


Abbildung 2: Hypermodifizierte Epothilon-Zielstrukturen dieser Doktorarbeit.

Diese neue Gruppe von Epothilonen, die in dieser Doktorarbeit als „hypermodifizierte“ Epothilone bezeichnet wird, unterscheidet sich von den natürlichen Epothilonen in der Art und Geometrie des dreigliedrigen Rings an C12 und C13 (*trans*-Cyclopropan vs. *cis*-Epoxid), der Struktur der Seitenkette an C15 und durch das Fehlen der Hydroxylgruppe an C3. Bei Substanzen mit gerader Nummerierung liegt zudem eine weitere Doppelbindung im Makrozyklus vor. Die Synthesestrategie für Strukturen **T1-T6** basierte auf einem konvergenten Ansatz, bei dem zunächst ein linker und ein rechter Baustein dargestellt wurden. Zugang zum linken Baustein wurde durch eine Aldolreaktion zwischen γ -Ketoester **A2** und dem vom Roche-Ester abgeleiteten Aldehyden **A1** erzielt. Weiterhin wurde eine effiziente Synthese zu den rechten Bausteinen **A6a,b,c** entwickelt, die in ihren stereogenen Schritten auf enantioselektiver Allylierung und hochdiastereoselektiver Charette-Cyclopropanierung beruhte. Es wurden neue Methoden gefunden, um die cyclopropanierte Alkylkette selektiv aufzubauen und so Alkohole **A6a,b,c** für die Kupplung mit Säure **A3** bereitzustellen. Im Anschluss an die Kopplung der Fragmente wurde eine hochgradig *E*-selektive RCM-Reaktion gefunden, um den Makrozyklus zu schliessen und so zu den geschützten Vorstufen der Zielstrukturen vom Typ **T** zu gelangen. Aufgrund der Tatsache, dass die Synthesen der Bausteine **A6a,b,c** unabhängig von der verwendeten bicyklischen aromatischen Seitenkette alle mit hoher Effizienz verlaufen sind, ist es sehr wahrscheinlich, dass die hier entwickelte Methodik auch bei der Synthese einer Reihe weiterer Analoga des Typs **T** zum Ziel führen wird.

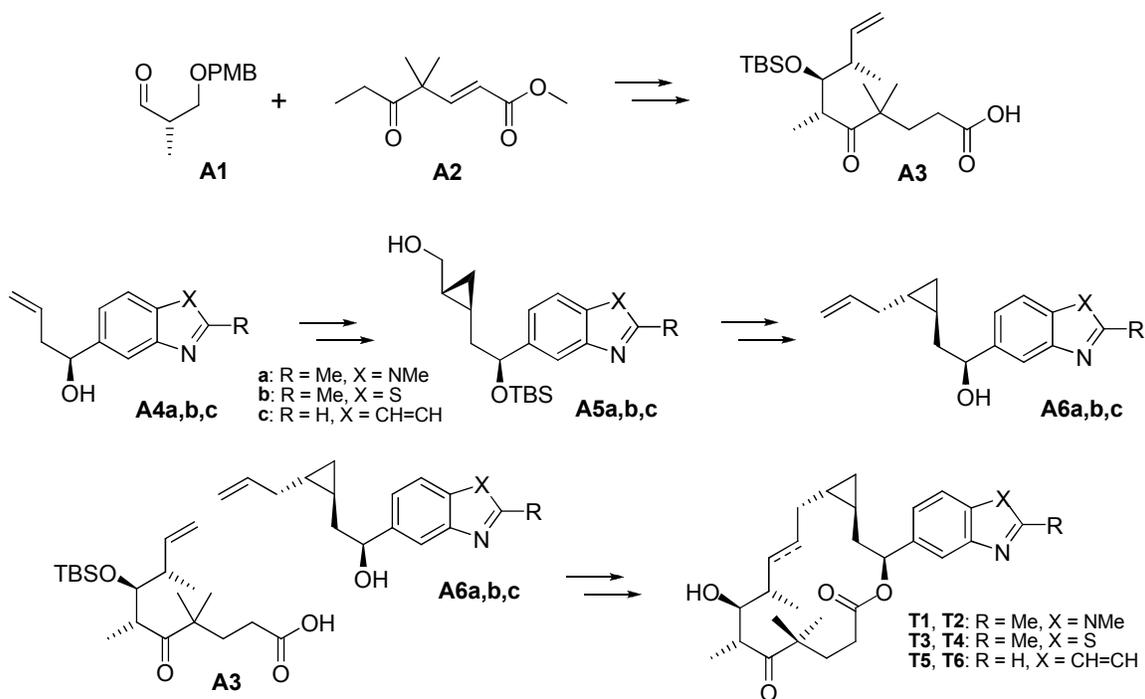


Abbildung 3: Zusammenfassung der Totalsynthese von hypermodifizierten Epothilonanaloga des Typs **T**.

Alle Analoga dieses Typs (**T1-T6**) waren hochpotente antiproliferative Substanzen mit IC_{50} -Werten für die *in vitro* Wachstumshemmung von Krebszellen im unteren nM Bereich und das auch gegen Zelllinien mit multipler Arzneimittelresistenz (MDR). Die Analoga **T1-T6** können daher als Vertreter einer neuen Substanzklasse auf dem Gebiet der mikrotubulistabilisierenden Verbindungen betrachtet werden. Gleichzeitig besitzen sie das Potential für ein deutlich abweichendes pharmakologisches Profil im Vergleich zu den natürlich Leitstrukturen. Zur Zeit wird diese Hypothese in *in vivo*-Experimenten mit **T1** geprüft.

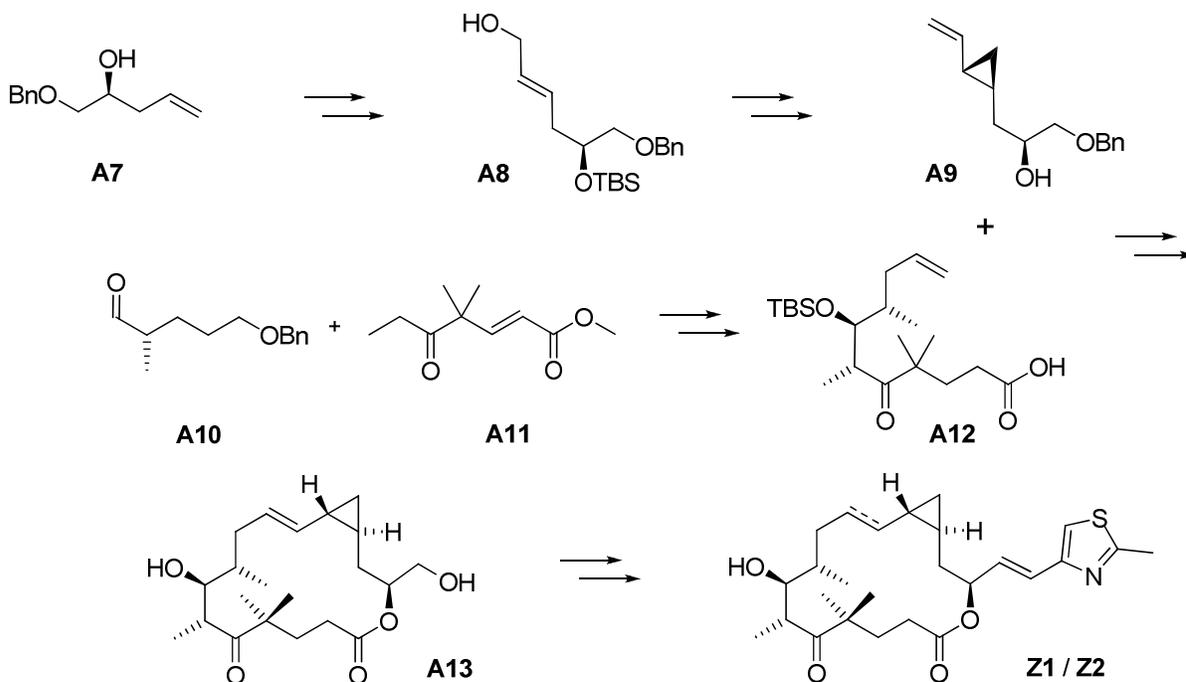


Abbildung 4: Zusammenfassung der Totalsynthese von hypermodifizierten Epothilonanaloga des Typs **Z**.

Die Syntheseplanung für die Zielstrukturen vom Typ **Z** wurde durch den Wunsch nach einer flexiblen Strategie zu hypermodifizierten Epothilonanaloga geleitet. Diese würde die Einführung einer Reihe modifizierter Seitenketten zu einem späten Zeitpunkt während der Synthese erlauben. Dieses Ziel kann durch die Verwendung von Zwischenstufe **A13** (Abbildung 4) erreicht werden, für die eine effiziente Synthese entwickelt wurde. Schlüsseltransformationen bei der Synthese von **A13** sind die diastereoselektive Cyclopropanierung bei der Darstellung des rechten Fragments **A9** sowie eine diastereoselektive Aldolreaktion zwischen **A10** und **A11**, die zur Stereotriade C6, C7, C8 im linken Baustein führt. Als erste exemplarische Vertreter der Klasse **Z** wurden Zielverbindungen **Z1/Z2** durch eine auf Wittig-Chemie basierender Seitenkettenkupplung hergestellt. Substanz **Z1** zeigte deutliche antiproliferative Wirkung mit IC_{50} -Werten für die *in vitro* Wachstumshemmung von Krebszellen im Bereich

zwischen 50 und 100 nM. Im Gegensatz dazu war die entsprechende 10,11-ungesättigte Verbindung **Z2** vollkommen inaktiv. Vor dem Hintergrund bereits vorhandener SAR-Daten für Epothilone, kann die Aktivität von **Z1** mit hoher Wahrscheinlichkeit durch das Ersetzen der Thiazolseitenkette mit anderen Heterozyklen deutlich erhöht werden. Derartige Analoga sind über die hier entwickelte Chemie zugänglich.