

# **Design und Synthese von Oligopyrrolcarboxamiden als neue DNA-Liganden mit potentieller Antitumoraktivität.**

Dissertation zur Erlangung des Grades

"Doktor der Naturwissenschaften"

am Fachbereich Chemie und Pharmazie  
der Johannes Gutenberg-Universität  
in Mainz

vorgelegt von  
Hans-Christian Hotzel  
Geboren in Marburg (Lahn)

Tag der mündlichen Prüfung: 20.03.2003

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Pharmazie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz auf Anregung und unter Anleitung von

Herrn Prof. Dr. U. Pindur

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

C. Hotzel, A. Marotto, U. Pindur; Design, synthesis, DNA-binding and cytotoxicity evaluation of new potential combilexines; *Eur. J. Med. Chem.*, **37**, (2002), 367-378.

C. Hotzel, A. Marotto, U. Pindur; New propylamine oligopyrrole carboxamides linked to a heterocyclic or anthrachinone system: synthesis, DNA binding, topoisomerase I inhibition and cytotoxicity; *Eur. J. Med. Chem.*(2003) (im Druck).

## Abkürzungen

Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
AM1	Austin Model 1 (quantenchem. Parametersatz)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DistA	Distamycin A
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Ethylacetat
EI-MS	Electron impact mass spectrometry
eV	Elektronenvolt
FD-MS	Field desorption mass spectrometry
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
HOMO	Highest occupied molecular orbital
Hünigs Base	Diisopropyl-ethylamin
LUMO	Lowest unoccupied molecular orbital
MEP	Molekulares elektrostatisches Potential
MGBL	Minor Groove Binding Ligand
MS	Massenspektrometrie
NCI	National <i>Cancer Institute</i> (Bethesda, MD, USA)
Net	Netropsin
NMA	Nitromalonaldehyd
NMR	Nuclear magnetic resonance (spectroscopy)
NOE	Nuclear <i>overhauser</i> enhancement, Nuklear <i>Overhauser</i> Effekt
PDB	Protein Datenbank
PE	Petrolether (Siedebereich 40-60 °C)
PKC- $\alpha$	Proteinkinase C- $\alpha$
PNA	Pseudo-Nucleinsäure (pseudo nucleic acid)
Py	Pyrrol-Baustein
RT	Raumtemperatur
SDS	Sodium Dodecylsulfat

THF	Tetrahydrofuran
$T_m$	Schmelztemperatur der DNA
UV/VIS	Ultraviolet/visible (spectroscopy)

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	S. 1
1.1 DNA-Ligand Bindungstypen	S. 2
1.1.1. Alkylierende Substanzen und Platinkomplexe	S. 3
1.1.2. Interkalatoren	S. 4
1.1.3. Rinnenbinder	S. 7
1.2 Hybridmoleküle als DNA-Liganden	S. 16
1.2.1 Alkylierende Lexitropsin-Konjugate	S. 16
1.2.2 Combilexine	S. 16
1.3. Zielsetzung	S. 20
<b>2. Auswahlkriterien für Substituenten bei der Syntheseplanung</b>	S. 23
2.1 C-terminale Seitenfunktion	S. 23
2.2 Linker	S. 25
2.3 $\pi$ -elektronenreiche Hetrocyclen und ausgewählte Nukleotidbasen als N-terminale Funktionen	S. 27
2.3 Oligopyrrolcarboxamide	S. 31
<b>3. Synthese der Pyrrolcarboxamide mit verschiedenen C-terminalen Funktionen</b>	S. 32
3.1. Darstellung von 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester	S. 32

3.2.	Darstellung der 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamide	S. 35
3.3.	Strukturaufklärung der 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamide	S. 35
3.4.	Synthese der Oligopyrrolcarboxamide ( <b>39</b> , <b>40</b> )	S. 37
3.5.	Darstellung von 1-Methyl-4-[[1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrol)carbonyl]amino}-1- <i>H</i> -2-pyrrolcarbonsäure	S. 39
3.6.	Strukturaufklärung des Bis-pyrrols ( <b>42</b> )	S. 39
<b>4.</b>	<b>Darstellung der heterocyclischen Carbonsäuren (N-terminale Gruppierungen)</b>	S. 50
4.1.	Darstellung von 2-(1 <i>H</i> -1-indolyl)essigsäure und 2-(9 <i>H</i> -9-carbazolyl)essigsäure	S. 50
4.2.	Darstellung von 4-(9 <i>H</i> -9-carbazolyl)buttersäure	S. 51
<b>5.</b>	<b>Darstellung der Combilexine mit verschiedenen N-terminalen und C-terminalen funktionellen Gruppen</b>	S. 53
5.1.	Synthese der Combilexine	S. 53
5.2.	Strukturaufklärung der Combilexine	S. 56
<b>6.</b>	<b>Zellbiologische Studien, biophysikalische und biochemische Untersuchungen an der DNA</b>	S. 58
6.1.	Zellbiologische NCI-Testungen und Ergebnisse	S. 58
6.2.	Kurze Beschreibung der verwendeten biophysikalischen und DNA-biochemischen Verfahren	S. 63

6.2.1.	Thermische Denaturierung/ Bestimmung der Schmelztemperatur der DNA ( $\Delta T_m$ -Wert)	S. 63
6.2.2.	Ethidiumbromid-Verdrängungsassay	S. 63
6.2.3.	Topoisomerase I-Hemmung	S. 64
6.2.4.	Topoisomerase II-Hemmung	S. 65
6.2.5.	Bestimmung des Bindungsmodus	S. 65
6.3.	Ergebnisse der biophysikalischen und DNA-biochemischen Verfahren	S. 66
6.4.	Bilanz der Ergebnisse	S. 67
<b>7.</b>	<b>Darstellung der Oligopyrrolcarboxamide mit C-terminaler <i>N,N</i>-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion</b>	<b>S. 69</b>
7.1.	Synthese der Oligopyrrolcarboxamide	S. 69
7.2.	Strukturaufklärung der Oligopyrrolcarboxamide	S. 72
<b>8.</b>	<b>Darstellung der Oligopyrrolcarboxamide mit Mono-, Bis-, Trispyrrol-Einheiten, C-terminaler <i>N,N</i>-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion und mit verschiedenen N-terminalen Funktionen</b>	<b>S. 74</b>
8.1.	Darstellung neuer Combilexine mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion durch die DCC-Methode	S. 76
8.2.	Darstellung der Combilexine mit N-terminaler Acetyl-Funktion	S. 79
8.2.1.	Strukturaufklärung der Oligopyrrolcarboxamide mit N-terminaler Acetyl-Funktion	S. 80



8.3.	Darstellung der Combilexine mit N-terminaler Anthrachinon-2-sulfonyl-Funktion	S. 81
8.3.1.	Strukturaufklärung der Oligopyrrolcarboxamide mit N-terminaler Anthrachinon-2-sulfonyl-Funktion	S. 83
8.4.	Versuch zur Darstellung eines Combilexins mit N-terminalem 4-{{9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl}amino}-butanoyl-Substituent	S. 84
8.5.	MO-Berechnungen zur Betrachtung der Reaktivität von 4-{{9,10-Dioxo-(9,10-dihydro-(2-anthracenyl)sulfonyl}amino)}buttersäure	S. 86
8.6.	Darstellung von [N2-[5-({3-(dimethylamino)propyl}amino)carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrol]-4-[(2-{6-[(4-methoxybenzoyl)amino]-9 <i>H</i> -9-puriny]acetyl)amino]-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid	S. 89
8.6.1	Strukturaufklärung von [N2-[5-({3-(dimethylamino)propyl}amino)carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrol]-4-[(2-{6-[(4-methoxybenzoyl)amino]-9 <i>H</i> -9-puriny]acetyl)amino]-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid	S. 91
<b>9.</b>	<b>Zellbiologische Studien, biophysikalische und biochemische Untersuchungen an der DNA</b>	S. 92
9.1.	<i>Natinal-Cancer-Institute</i> -Antitumor-Screening	S. 93
9.2.	Denaturierungsexperimente, $T_m$ -Wert-Bestimmung	S. 96
9.3.	Ethidiumbromid-Verdrängungsassay	S. 98
9.4.	Topoisomerase I-Hemmung	S100
9.5.	Bilanz der Ergebnisse	S101

<b>10.</b>	<b>Theoretische strukturelle Betrachtungen auf der Basis von Berechnungen (MOPAC-Tool in SPARTAN); Liganden Vergleich mit experimentellen Datensätzen ausgewählter Substanzen</b>	S104
10.1.	Validierung des Berechnungsverfahrens	S104
10.2.	Berechnen der Konformation der eigenen Moleküle	S107
10.3.	Vergleich des Molekularen elektrostatischen Potentials (MEP) und der LUMOs mit biologischen/ biophysikalischen Daten	S112
10.3.1.	Bewertung der SPARTAN-AM1-Rechnungen	S119
<b>11.</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	S120
<b>12.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	S125
12. 1.	Allgemeine Angaben	S125
12.2.	Synthesevorschriften	S127
12.2.1.	1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure ( <b>31</b> )	S127
12.2.2.	1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester ( <b>32</b> )	S128
12.2.3.	2-Nitromalonaldehyd ( <b>34</b> )	S128
12.2.4.	4-Nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester ( <b>36</b> )	S129
12.2.5.	1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester ( <b>32</b> )	S130
12.2.6.	1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamid-propionitril ( <b>39</b> )	S131
12.2.7.	N2-[3-(dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrole-carboxamid ( <b>40</b> )	S132
12.2.8.	1-Methyl-4-[[[(1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)carbonyl]amino]-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>42</b> )	S133

12.2.9.	2-(1 <i>H</i> -1-Indolyl)essigsäure ( <b>46</b> )	S134
12.2.10.	2-(9 <i>H</i> -9-Carbazolyl)essigsäure ( <b>48</b> )	S135
12.2.11.	4-(9 <i>H</i> -9-Carbazolyl)buttersäure ( <b>49</b> )	S136
12.2.12.	1-Methyl-4-[(1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrol)carbonyl]-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäure ( <b>44</b> )	S137
12.2.13.	1-Methyl-4-[[[(1-methyl-4-[(1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrol)carbonyl]amino)-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)carbonyl]amino]-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl-carbonsäuremethylester( <b>43</b> )	S138
12.2.14.	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Oligopyrrolcarboxamide	S140
12.2.14.1.4-	{[2-(1 <i>H</i> -3-Indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>51</b> )	S141
12.2.14.2.4-	{[2-(1 <i>H</i> -1-Indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>52</b> )	S142
12.2.14.3.4-	{[2-(9 <i>H</i> -9-Carbazolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>53</b> )	S143
12.2.14.4.	N <sub>2</sub> -(2-cyanoethyl)-4-{[2-(1 <i>H</i> -3-indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>54</b> )	S144
12.2.14.5.	N <sub>2</sub> -(2-cyanoethyl)-4-{[2-(1 <i>H</i> -1-indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>55</b> )	S145
12.2.14.6.4-	{[4-{[2-(1 <i>H</i> -3-Indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>56</b> )	S146
12.2.14.7.4-	{[4-{[2-(1 <i>H</i> -1-Indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarbonsäuremethylester ( <b>57</b> )	S147
12.2.14.8.4-	{[3-(1 <i>H</i> -3-Indolyl)propanoyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbosäuremethylester ( <b>58</b> )	S148
12.2.14.9.4-	{[[4-{[3-(1 <i>H</i> -Indolyl)propynoyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)-carbonyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>59</b> )	S149
12.2.14.10.	4-{[4-(9 <i>H</i> -9-Carbazolyl)butanoly]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>60</b> )	S150
12.2.14.11.	4-{[-(9 <i>H</i> -Carbazolyl)butanoyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl-carbonyl]amino}-1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrol-carbonsäuremethylester ( <b>61</b> )	S151

- 12.2.14.12. N2-[3-(dimethylamino)propyl]-4-[[4-(9*H*-9-carbazolyl)butanoyl]-amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**62**) S152
- 12.2.14.13. 1-Methyl-4-[[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino]-1*H*-2-pyrrol-carbonsäuremethylester (**63**) S153
- 12.2.15 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon (**67**) S154
- 12.2.16 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon (**68**) S155
- 12.2.17 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**40**) S155
- 12.2.18 N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**70a**) S156
- 12.2.19 N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl--*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-[[1-methyl-4-nitro-1*H*-pyrrolyl]carbonyl]amino]-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**70b**) S158
- 12.2.20 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Oligocarboxamide S159
- 12.2.20.1. N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-[[2-(1*H*-3-indolyl)acetyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**74**) S160
- 12.2.20.2. N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-[[2-(1*H*-3-indolyl)propanoyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**75**) S161
- 12.2.20.3. N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-[[9*H*-9-carbazolyl]butanoyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**78**) S162
- 12.2.20.4. N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-[[2-(1*H*-1-indolyl)acetyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**77**) S163
- 12.2.20.5. N2-[5-([5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrol]amino)carbonyl]-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-[3-(1*H*-3-indolyl)propanoyl]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (**76**) S165
- 12.2.20.6 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-4-[[2-(1*H*-3-indolyl)acetyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**73**) S166

12.2.20.7.	N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1- <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-{{[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino}-1- <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>79</b> )	S167
12.2.20.8.	N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1- <i>H</i> -3-pyrrol]-4-[(2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl]-9- <i>H</i> -9-puriny]-1-methylethyl)amino]-1-methyl-1- <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>93</b> )	S168
12.2.21.	9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracensulfonsäurechlorid ( <b>84</b> )	S169
12.2.22.	4-{{[9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino}-butansäure ( <b>87</b> )	S170
12.2.23.	N2-[3-(dimethylamino)propyl]-4-{{(9,10-dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino}-1-methyl-1- <i>H</i> -2-pyrrol carboxamid ( <b>85</b> )	S171
12.2.24.	N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1- <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-{{89,10-dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino}-1-methyl-1- <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>86</b> )	S172
12.2.25.	N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1- <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-(acetyl-amino)-1-methyl-1- <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>81</b> )	S174
12.2.26.	N2-[5-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1- <i>H</i> -3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1- <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-acetyl-1-methyl-1- <i>H</i> -2-pyrrol-carboxamid ( <b>82</b> )	S175
12.2.27.	2-{{6-[(4-Methoxybenzoyl)amino]-9- <i>H</i> -puriny]essigsäure ethylester ( <b>91</b> )	S177
12.2.28.	2-{{6-[(4-Methoxybenzoyl)amino]-9- <i>H</i> -9-puriny]essigsäure ( <b>92</b> )	S178
	<b>Literaturverzeichnis</b>	S179
	<b>Lebenslauf</b>	S182
	<b>Formeltafel</b>	S184

## 1 Einleitung

Krebserkrankungen und deren Bekämpfung sind eine große Herausforderung für Mediziner, Pharmazeuten, Chemiker und Biochemiker [1].

Krebs entsteht aus normalen Zellen, die durch genetische Veränderungen, welche zur Inaktivierung von Tumor-Suppressor-Genen oder zur Aktivierung von Tumor-Promotor-Genen führen, in Tumorzellen umgewandelt werden.

Diese Gen-Expression wird durch die DNA in der menschlichen Zelle kontrolliert. Die native Form der DNA wurde zum ersten mal im Jahr 1953 von *J. Watson* und *F. Crick* aufgeklärt [2]. Sie besteht aus zwei antiparallel verlaufenden Polynukleotiden, die sich rechtsgängig um eine gemeinsame Achse winden und eine über Wasserstoffbrücken zusammengehaltene Doppelhelix bilden [2] (s. Abb.1.1).

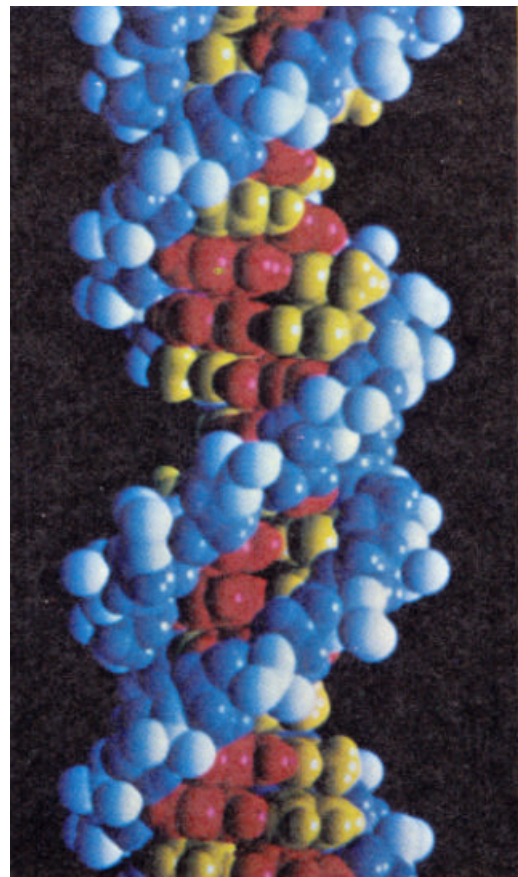
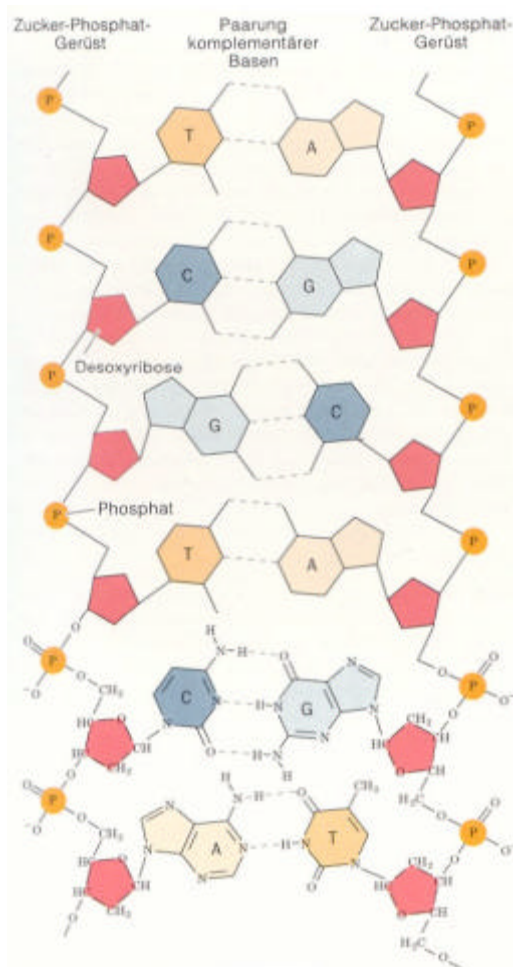


Abb. 1.1: Molekularer Aufbau der B-DNA (links) und Kalottenmodell der Doppelhelix (rechts).

Die DNA der Chromosomen ist ein gut charakterisiertes intrazelluläres Ziel von Zytostatika, aber ihre vielfältige Basensequenz macht sie zu einem schwer zugänglichen Target für selektive Wirkstoff-Interaktionen [3]. Die zentrale Rolle der DNA bei der Kontrolle von Zellfunktionen und Wachstum wird dadurch deutlich, daß bestimmte Antibiotika (z.B. Actinomycin, Daunomycin, Bleomycin) bestimmte Nukleotidsequenzen erkennen können, die die Antriebs-Aktivität einzelner Gene beeinflussen [4]. Während der letzten Jahre haben Studien gezeigt, daß die Antitumoraktivität von DNA-bindenden Wirkstoffen (z. B. Antibiotika) in den meisten Fällen von deren Fähigkeit abhängig ist, mit den katalytischen Aktivitäten von DNA-relevanten Enzymen, wie z.B. Topoisomerasen wechselzuwirken.

Die doppelsträngige DNA liegt entweder ringförmig oder verdrillt bzw. "superhelikal" vor. Topoisomerasen sind Enzyme, die die ringförmige Form in die verdrillte überführen bzw. die verdrillte Form in die ringförmige. Hierbei gibt es Topoisomerasen vom Typ I, welche nur einen Strang der Doppelhelix durchtrennen, während Topoisomerasen vom Typ II beide Stränge durchtrennen. Die topologische Form der DNA beeinflußt deren molekularbiologischen Eigenschaften, da Transkription, Replikation und Rekombination nur mit der entspiralisierten Form möglich sind. [5].

Die Entwicklung von niedermolekularen Stoffen mit sequenzselektiven Eigenschaften stellt in Hinsicht auf die Topoisomerasen ein wichtiges Ziel in der Zytostatika-Forschung dar [6].

### **1.1 DNA-Ligand-Bindungstypen**

Es gibt verschiedene DNA-Bindungstypen für Substanzen: Alkylierung (z. B. Cross-linking), Interkalation, Rinnenbindung (s. Abb.1.2) oder eine Kombination aus den aufgezählten Bindungstypen. Außerdem gibt es für Substanzen, die an der Oberfläche des Biopolymers angreifen, spezifische und unspezifische Bindungen [7].

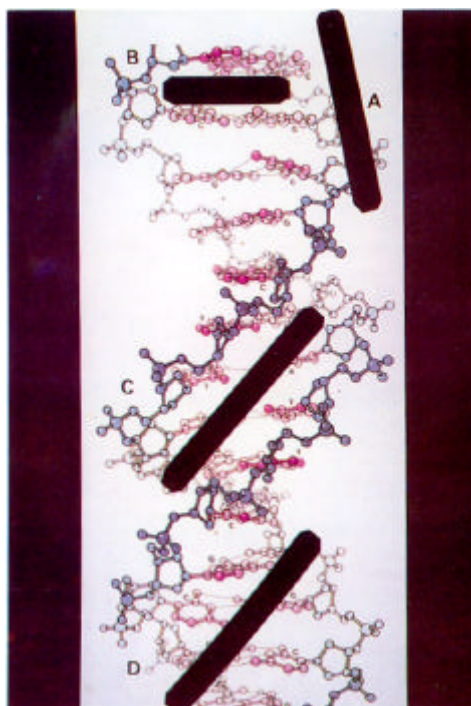
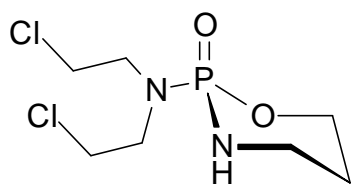


Abb.1.2: Die Abbildung zeigt die verschiedenen Bindungsarten von Wirkstoffen an die DNA:  
 A: unspezifische Bindung von außen; B: Interkalation; C: Kleine Rinnenbindung; D: Große Rinnenbindung.

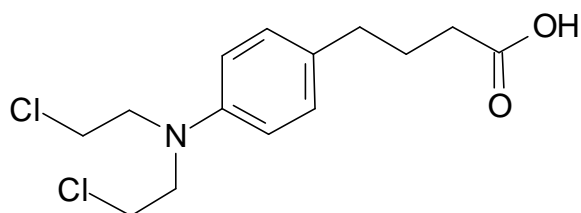
### 1.1.1 Alkylierende Substanzen und Platinkomplexe

Alkylierende Substanzen leiten sich ursprünglich vom Dichlordiethylsulfid (Senfgas oder Lost) ab, das im ersten Weltkrieg als Kampfstoff verwendet wurde. Das N-Methylderivat (Stickstofflost) ist ebenfalls sehr toxisch, obwohl es geringer aktiv ist, zeigt aber auch zytostatische Eigenschaften. Stickstofflost-Derivate mit aromatischen oder hetrocyclischen Substituenten sind dagegen weniger toxisch. Bekannte Vertreter sind das Cyclophosphamid (1) und das Chlorambucil (2).



Cyclophosphamid

1

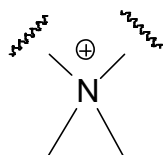


Chlorambucil

2



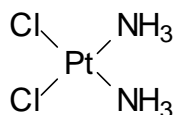
Die Wirkung dieser Substanzklasse beruht auf einer bifunktionalen Alkylierung, durch die die DNA-Stränge verknüpft werden (*Cross-link-Bildung*), welche zu einer Beeinträchtigung der Replikation sowie der Synthese von RNA und Proteinen führt. Wirksames Agens ist in den meisten Fällen ein Aziridinium-Ion (**3**), das mit nucleophilen Zentren reagiert. Alkylantien binden kovalent an die DNA.



Aziridinium-Ion

3

Beim Angriff an die DNA stehen insbesondere Reaktionen mit der 7-Position des Guanins und den 1-Positionen des Adenins und Cytosins im Vordergrund [8]. Weil er, wie die bifunktionalen Alkylantien, Vernetzungen zwischen DNA-Strängen bewirkt, wird auch der Cisplatin-Komplex (**4**) zu dieser Gruppe gezählt [8].



Cisplatin-Komplex

4

### 1.1.2 Interkalatoren

Interkalatoren sind Moleküle, die dazu fähig sind, sich zwischen die DNA-Basepaare zu schieben (intercalare = dazwischenschieben), ohne die DNA-Wasserstoffbrücken zu brechen (Lerman, 1961). Durch die Interkalation verändert sich die Konformation der DNA-Helix und es resultiert ein falsches Ablesen bei der Transkription und Replikation [9].

Die Interkalation erfolgt in mehreren Schritten (s. Abb.1.3, S. 5): zunächst wird der Abstand von zwei gestapelten DNA-Basenpaaren durch den Interkalator von 3,4 Å auf ca. 7-8 Å aufgeweitet, so daß ein Hohlraum für die Anlagerung des Liganden entsteht [10]. Diese Entwindung entfernt die Phosphatreste voneinander und durch

eine Reduktion der Ladungsdichte zwischen den Basen folgt eine Freisetzung von Gegenionen [11]. Durch einen hydrophoben Transfer erfolgt die Einlagerung des Liganden. Die Bindungskräfte bestehen aus *van der Waals*-Kräften, Wasserstoffbrücken-Bindungen, elektrostatischen Wechselwirkungen und dem sogenannten  $\pi$ - $\pi$ -Stacking zwischen den  $\pi$ -Elektronen der Basen und des Interkalators [12]. Durch die veränderte Topologie (s. Abb.1.4, S. 6) resultiert auf biochemischer Ebene eine Blockade der Matrizenfunktion. So tritt unter anderem eine Hemmung der RNA-Polymerase und/oder der Topoisomerasen ein.

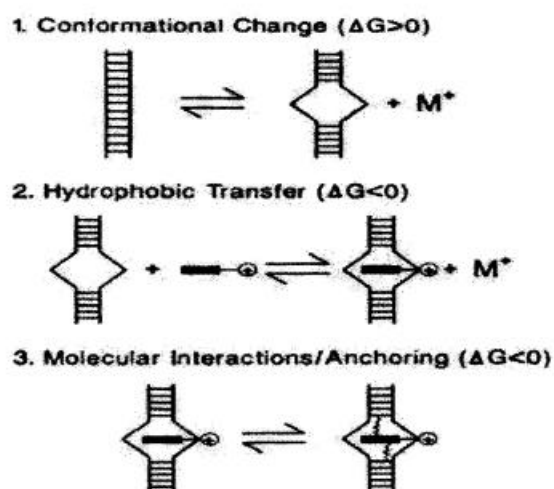


Abb.1.3: Bindungsmechanismus der Interkalation [11]

Interkalatoren binden i. d. Regel nicht kovalent an die DNA. Die strukturellen Voraussetzungen für Interkalatoren sind:

1. ein koplanares chromophores System, bei dem die  $\pi$ -konjugierte Fläche mindestens  $28 \text{ \AA}^2$  mißt.
2. Positiv polarisierte Reste oder Kationen-Basen (z.B. alkylierte oder protonierte N-Atome).
3. Funktionalitäten, die mit der DNA (den Basen oder dem Zuckerphosphat-Rest) auch in der kleinen Rinne Wasserstoffbrücken bilden.

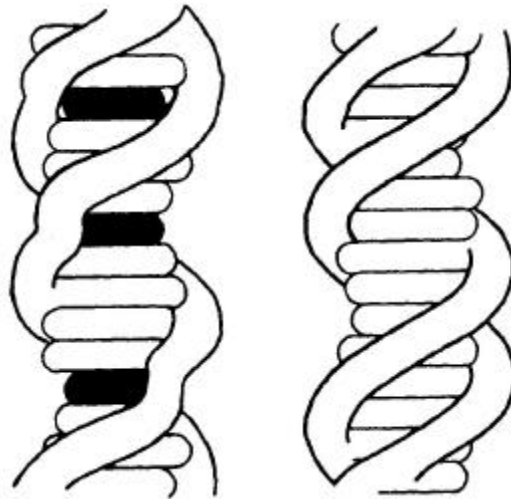
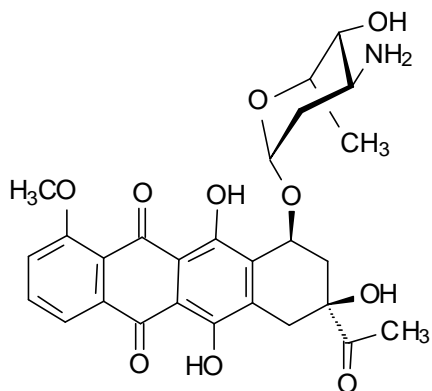


Abb.1.4: Veränderte Konformation der DNA mit Interkalator (links) gegenüber der Konformation ohne Interkalator (rechts) [13].

Interkalatoren lassen sich strukturell wie folgt einteilen:

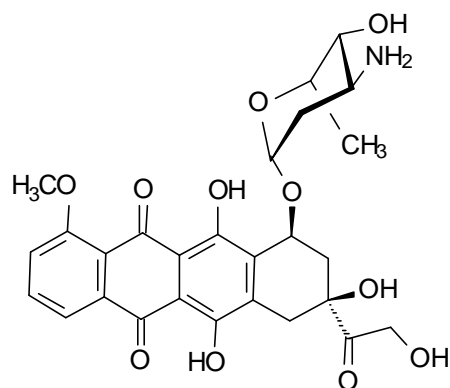
- 1) Anthrachinon-Derivate aus Streptomyces-Arten, z.B. Daunorubicin (5), Doxorubicin (6); sie sind sogenannte Anthracycline und haben mit dem synthetischen Mitoxantron (7) die Anthrachinonstruktur gemeinsam.
- 2) Acridin-Derivate, z. B. Amsacrin (8), 9-Aminoacridin (9)
- 3) Ellipticin (10), ein anneliertes Carbazol.
- 4) Bleomycin
- 5) Camptothecin.

Beispiele für Interkalatoren mit ausgeprägter Topoisomerase II-Wirkung sind 9-Aminoacridin, Amsacrin, Ellipticin, Mitoxantron; mit Topoisomerase I-Wirkung Camptothecin. [14]



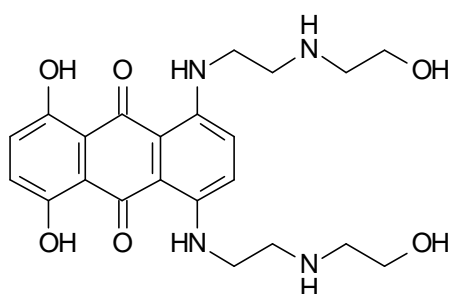
Daunorubicin

5



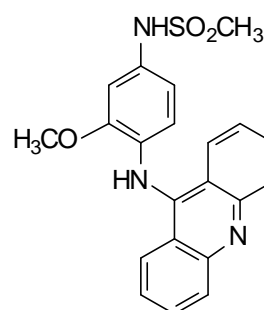
Doxorubicin

6



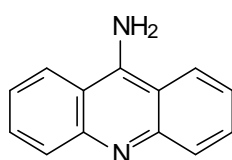
Mitoxantron

7



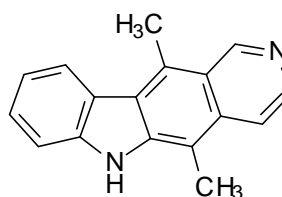
Amsacrin

8



9-Aminoacridin

9



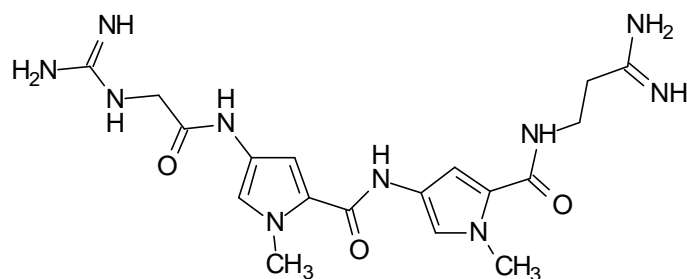
Ellipticin

10

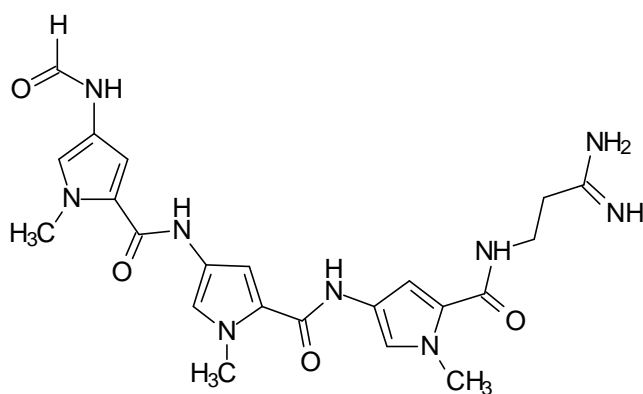
### 1.1.3 Rinnenbinder

Eine pharmakologisch klar definierte Klasse DNA-komplexierender Substanzen sind die sog. Rinnenbinder, welche DNA-Sequenzselektivität besitzen mit Antitumor-, antibakteriellen und antiprotozoischen Aktivitäten [7]. DNA-Rinnenbinder sind

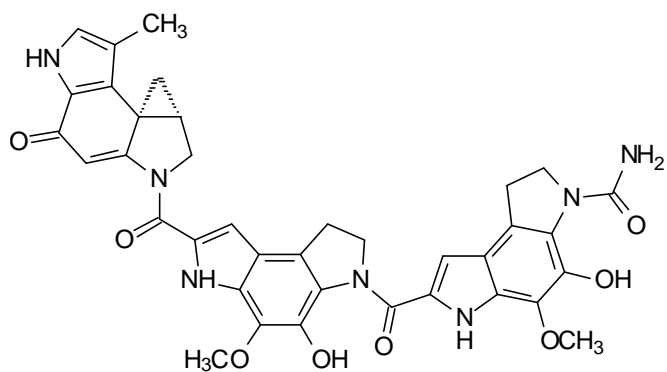
Substanzen, die nicht interkalieren und die z.B. wie Netropsin eine konformative "Sichelform" besitzen (s. Abb.1.5, S.9), (**11**) und die nicht-kovalent binden [15].



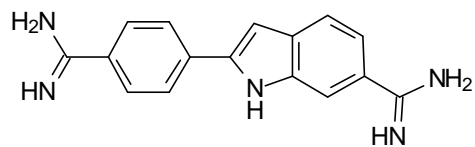
Netropsin

**11**

Distamycin A

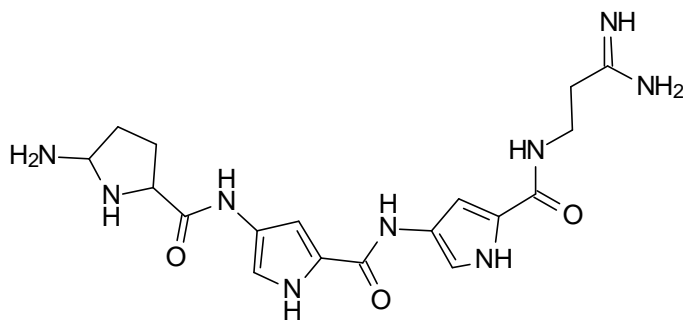
**12**

CC-1065

**13**

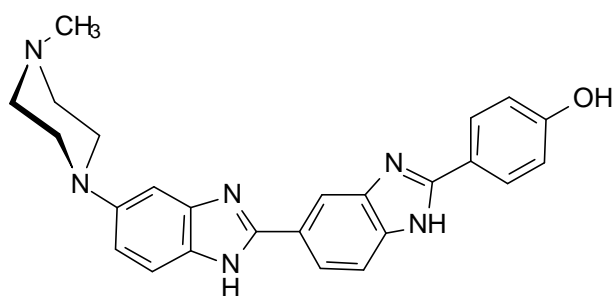
DAPI

**14**



Anthelvincin A

15



Hoechst 33258

16

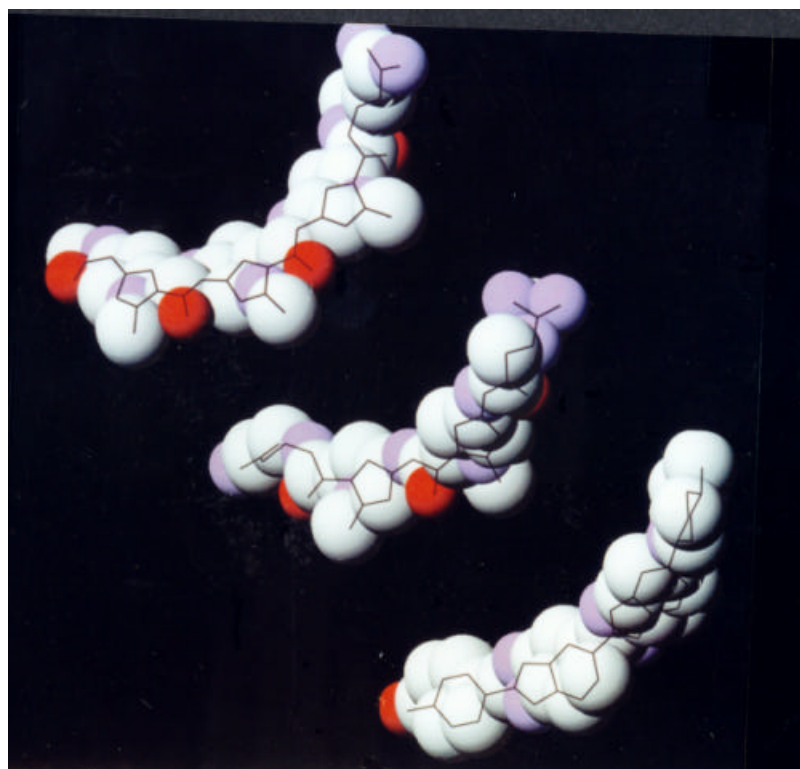


Abb.1.5: Rinnenbinder; an der Kalottenmodell-Graphik lässt sich gut die "Sichelform" (curvature) erkennen; oben: Distamycin A (12); mitte: Netropsin(11); unten: Hoechst 33258 (16).

Rinnenbindung kann entweder in der großen oder in der kleinen Rinne der DNA stattfinden. Die Rinnen der B-DNA sind zwei hohle, spiralförmige Furchen, die zwischen den zwei Zuckerphosphat-Ketten des DNA-Strangs in doppelhelikaler Linie geformt werden (s. Abb.1.6). Diese sind gut definierte Informationskanäle in der Doppelhelix und können von Substanzen oder Proteinen, die von außen angreifen, erkannt und damit "gelesen" werden [11].

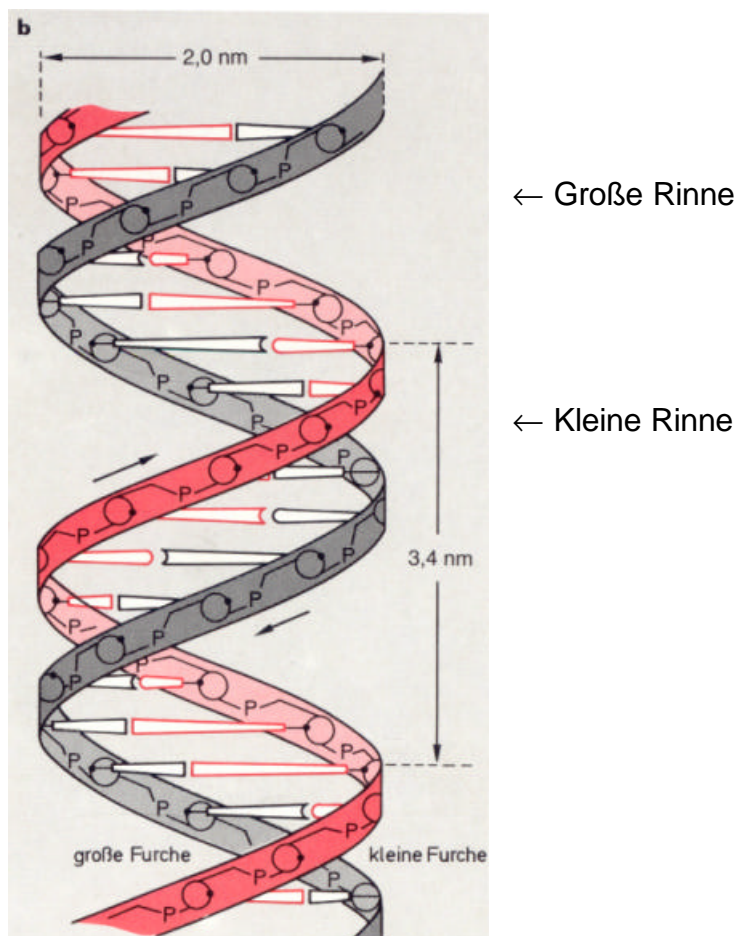


Abb.1.6: große und kleine Rinne der DNA-Doppelhelix

Die große Rinne hat eine Breite von  $24 \text{ \AA}$ . Daher können mehr Informationen abgelesen werden als in der kleinen Rinne. Weil die kleine Rinne jedoch nur  $10 \text{ \AA}$  in der Breite mißt, wird sie generell von kleinen Molekülen bevorzugt. Wichtige Angriffsziele in der kleinen Rinne sind beispielsweise DNA-Protein-Komplexe [16], die HIV-Integrase, ein Enzym, das für das Einfügen von viraler DNA in das

Chromosom der Wirtszelle zuständig ist, verschiedene TATA-Box-Regionen (TFIIA TATA-Box Bindungsproteine) und die DNA-Gyrase [17].

Netropsin (**11**) und Distamycin A (**12**) waren die ersten entdeckten Substanzen, die selektiv an AT-reiche Sequenzen der kleinen Rinne der B-DNA binden [18].

Netropsin wurde 1959 aus *Streptomyces netropsis* und Distamycin A 1964 aus *Streptomyces distallicus* isoliert. Streptomyceten-Arten sind mycelartig wachsende, grampositive Bakterien. Beide Substanzen haben antitumorale und antivirale Eigenschaften (vaccinia, herpes simplex Virus, herpes zoster und Hühnerpocken) [19, 20, 21] da sie in die Replikation und Transkription eingreifen. Sie sind aber nur schwach zytotoxisch wirksam. Distamycin A ist ein Oligopyrrol-Peptid-Antibiotikum, das das Wachstum gram-positiver und gram-negativer Bakterien hemmt.

Sie sind die am besten untersuchten "kleine" Rinnenbinder. Am Beispiel dieser Substanzen soll das Prinzip der Rinnenbindung kurz erklärt werden.

Die Substanzen binden entweder als Einzelmolekül in der kleinen Rinne oder zwei Moleküle binden Seite an Seite, antiparallel zueinander an der Oberfläche der DNA. Die AT-Basen-Sequenzspezifität entsteht durch *van-der-Waals*-Kräfte, wobei H-Brücken hinsichtlich der Positionierung der Substanz unterstützend wirken [22]. Die Bindungsspezifität von Netropsin und Distamycin A kann durch den positiv geladenen konkaven Teil der "Sichel" und das hohe negative elektrische Potential der B-DNA in der kleinen Rinne erklärt werden kann. Die Substanzen passen konformativ exakt in die kleine Rinne der DNA, weil zum einen die AT-reichen Regionen der engeren kleinen Rinne einen größeren "propeller twist" mit einem besseren *van-der-Waals*-Kontakt als die große Rinne aufweisen. Andererseits besitzen die Liganden eine konkave Sichelform (oder curvature) (s. Abb.1.7, S.12). Nur durch das exocyclische Amin N2 vom Guanin wird die Bindung in der kleinen Rinne gestört. Die Substanzen können H-Brücken zum O2 des Thymins und zum N3 des Adenins ausbilden. Rinnenbinder binden reversibel an die DNA.



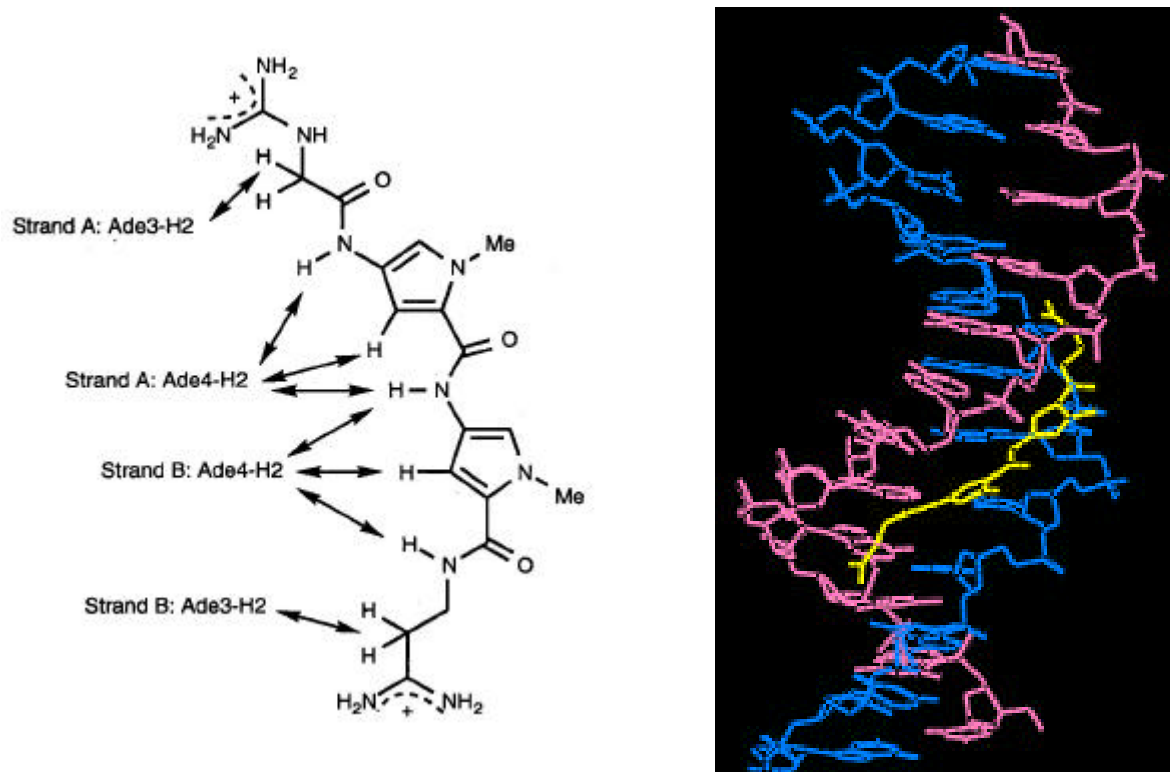


Abb.1.7: Bindung in der kleinen Rinne der DNA von Netropsin (11); links: schematische Darstellung der Wechselwirkungen; rechts: Röntgenkristallstruktur aus der Protein-Datenbank (PDB) von Netropsin an einen B-DNA-Abschnitt (5'-C,G,C,G,A,T,A,T,C,G,C,G-3').

Der Bindungsmechanismus erfolgt in zwei Schritten (s. Abb.1.8) [3]: zunächst findet ein hydrophober Transfer aus der Lösung in die kleine Rinne statt. Wenn der Rinnenbinder positiv geladen ist, findet ein Ladungsaustausch statt. Im zweiten Schritt erfolgt eine molekülspezifische Interaktion durch *van-der-Waals*-Kräfte und die Ausbildung von H-Brücken.

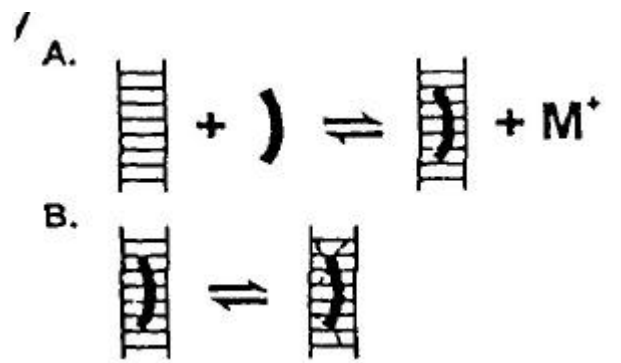


Abb.1.8: Bindungsmechanismus eines Rinnenbinders.

Strukturuntersuchungen durch Röntgenkristallographie [23, 24] und NMR-Spektroskopie [25, 26] der Arbeitskreise von *Dickerson* und *Lown* zeigten, daß eine sequenzspezifische Bindung in der kleinen Rinne an AT-reichen Sequenzen vorliegt. Damit stellen Netropsin und Distamycin A interessante Leitsubstanzen zur Entwicklung DNA-rinnenbindender Wirkstoffe mit Antitumoraktivität und AT-Sequenz-Selektivität dar.

Es wurde durch den Austausch der Pyrrole im Distamycin A durch Furan oder Imidazol eine potentielle GC-Bindung nachgewiesen. Durch die Bindung in der kleinen Rinne ergeben sich spezifische Wechselwirkungen zwischen Wasserstoffdonor- und -akzeptorgruppen der DNA und der Liganden, so daß Strukturvarianten rinnenbindender Liganden (minor groove binding ligands, MGBLs) in der Lage sind, die vier Basenpaare der DNA, AT, TA, GC, CG zu unterscheiden (s. Abb.1.9, S.14) [27]. Diese Eigenschaft, daß Substanzen bestimmte Abschnitte der kleinen Rinne sequenzspezifisch "lesen" können, führte zur Einführung des Begriffs "Lexitropsin" durch *Dickerson* und *Lown* [28, 29] (legere = lesen).

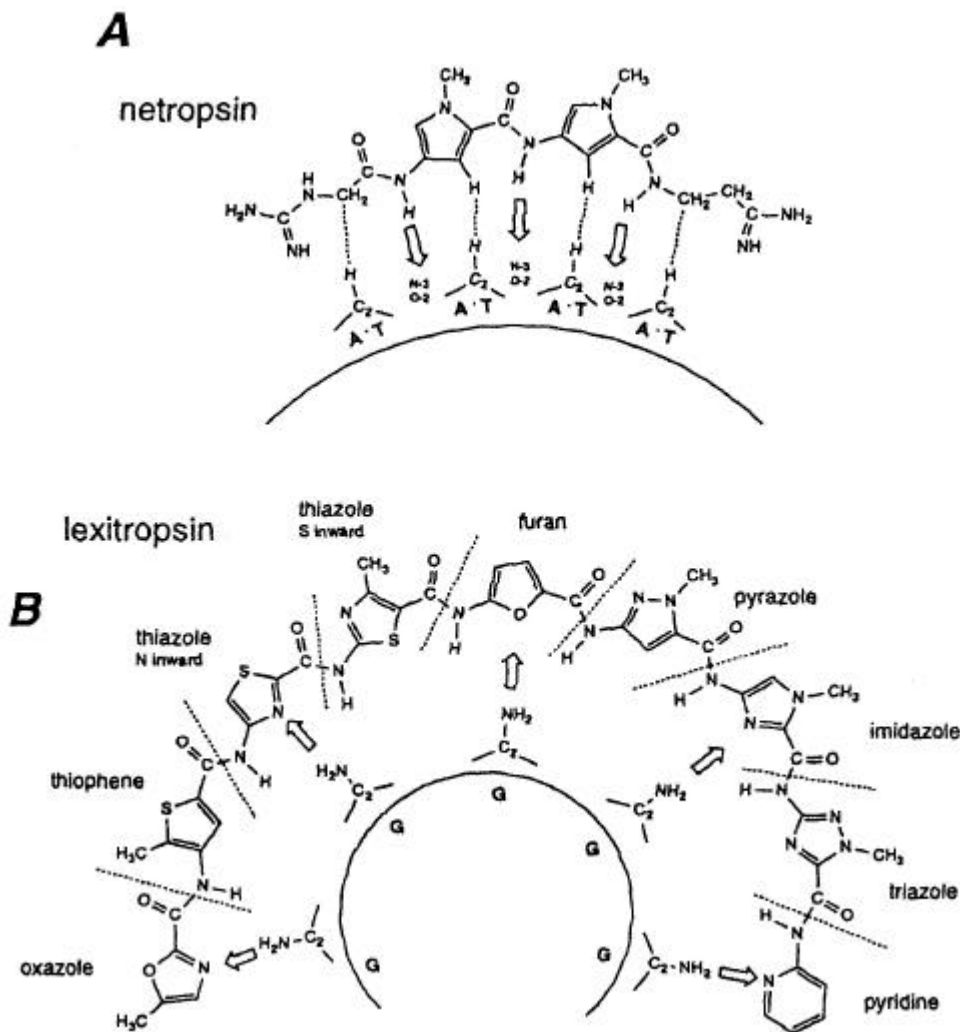


Abb.1.9: Netropsin-Bindung an AT/TA-reiche Sequenzen (oben) im Vergleich zu einem hetrocyclisch gemischten "Lexitropsin" (unten), das durch Austausch der Pyrrolringe durch Oxazole, Thiophene, Thiazole, Furane, Pyrazole oder Imidazole auch an GC-reiche Regionen binden kann [3].

*Dervan* und Mitarbeiter entwickelten die sogenannten "hairpin" (Haarnadel) Moleküle, bei denen Pyrrole, Imidazole, Hydroxypyrrole oder Furane zu Oligopeptidketten verknüpft sind [30]. Zwei solcher Einheiten werden über eine flexible  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) miteinander verbunden [31]. Durch gezielte Variationen der 5-Ring-Hetarene, die alle bioisoster sind, lässt sich praktisch jede gewünschte DNA-Sequenzselektivität erreichen [32]. Die DNA wird zusätzlich durch den zweiten Strang des Oligopeptids stabilisiert, weil dieser durch die rotatorische Freiheit der GABA die Doppelhelix "von hinten" angreifen kann (s. Abb.1.10, S. 15) [33, 34]. Bei anderen Polyamid-Dimeren sind zwei Polyamidketten über einen Linker gebunden, der am Ende oder im Zentrum des Moleküls lokalisiert ist [35, 36].

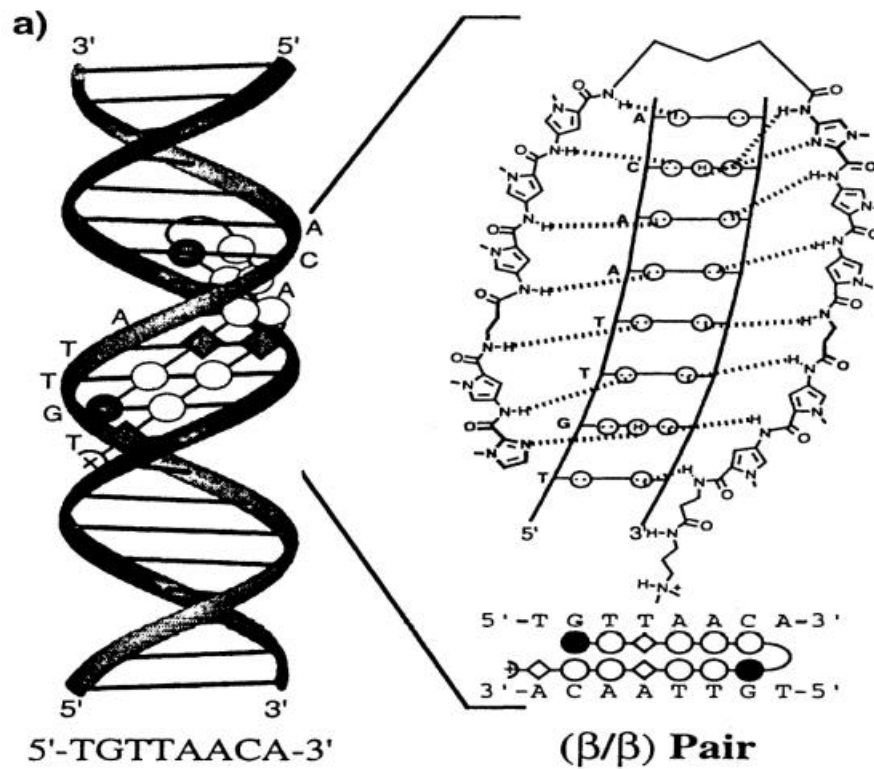


Abb.1.10: Beispiel eines "hairpin"-Moleküls: zwei Oligopyrrol-/Imidazolcarboxamid-Ketten sind über GABA verknüpft und binden so beiderseits der Doppelhelix selektiv nach AT/GC [30].

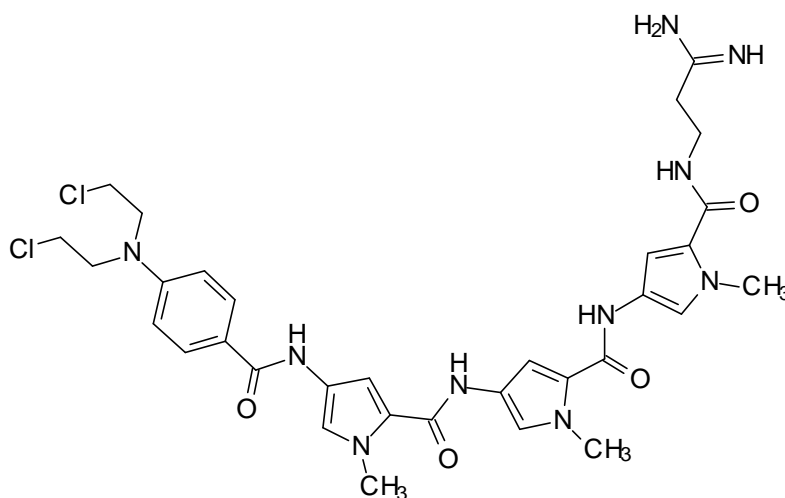
Da Lexitropsine nicht nur wegen ihrer pharmakologischen Wirkung selbst interessant sind, sondern weil man sie auch als Transport-Vehikel für andere, antitumoraktive Stoffe benutzen kann, ist eine Kombination von medizinisch-chemischem Interesse in Hinblick auf ein rationales Wirkstoff-Design.

## 1.2 Hybridmoleküle als DNA-Liganden

Hybridmoleküle sind Stoffe, bei denen ein Teil aus einem sequenzselektiven kleinen Rinnenbinder besteht und aus einem alkylierenden (z. B. N-Lost-Derivat) oder interkalierenden Strukturelement [37].

### 1.2.1 Alkylierende Lexitropsin-Konjugate

Das bekannteste Derivat dieser Stoffklasse ist das Tallimustin (**17**) [38, 39]. Alkylantien sind alleine nicht DNA-sequenzselektiv und noch zu zytotoxisch; Tallimustin führt jedoch zur Monoalkylierung am N3 des 3' Adenins der Sequenz -TTTTGA-3' [40].



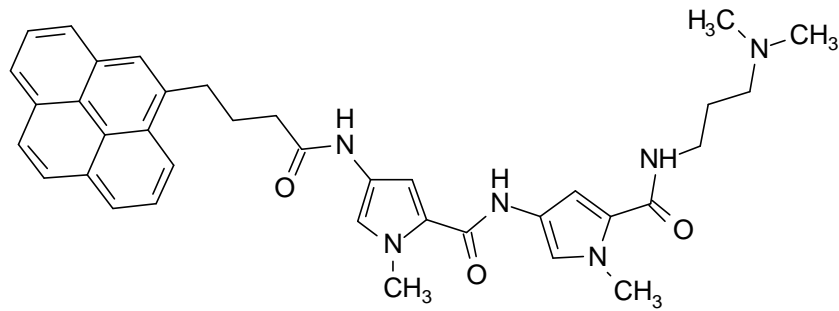
Tallimustin

17

### 1.2.2 Combilexine

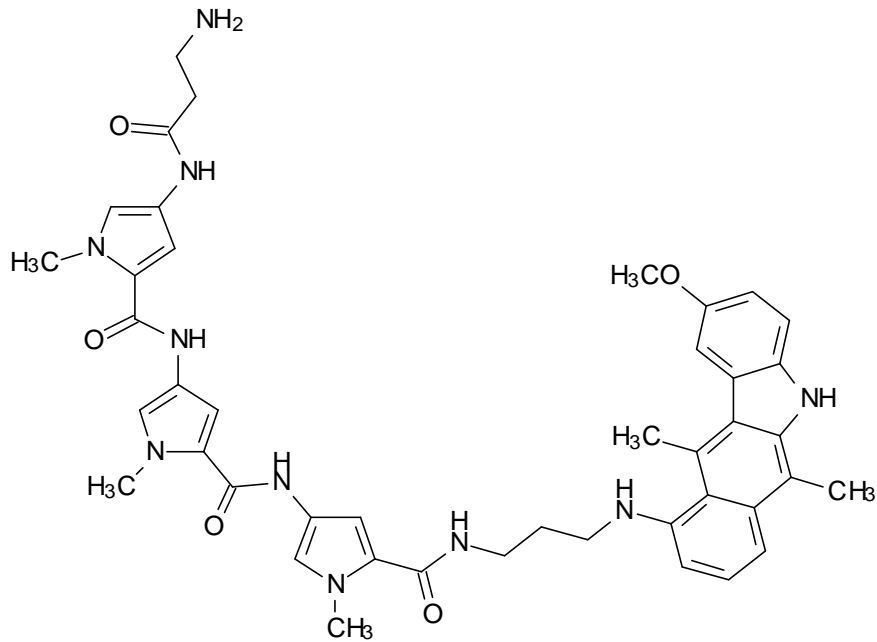
Es wurden in den letzten Jahren mehrere Stoffe synthetisiert, bei denen eine interkalierende Struktureinheit an einen sequenzerkennenden DNA-Rinnenbinder geknüpft wurde [6]. Diese sogenannten "Combilexine" sind eine interessante Gruppe von DNA-Liganden der Hybridmolekülreihe, bei welchen ein kleiner Rinnenbinder mit einem interkalierenden Chromophor, der den DNA-Komplex stabilisiert und der mit

der DNA wechselwirkt, kombiniert ist [50]. Als typische Beispiele seien die Verbindungen **18-22** aufgeführt.



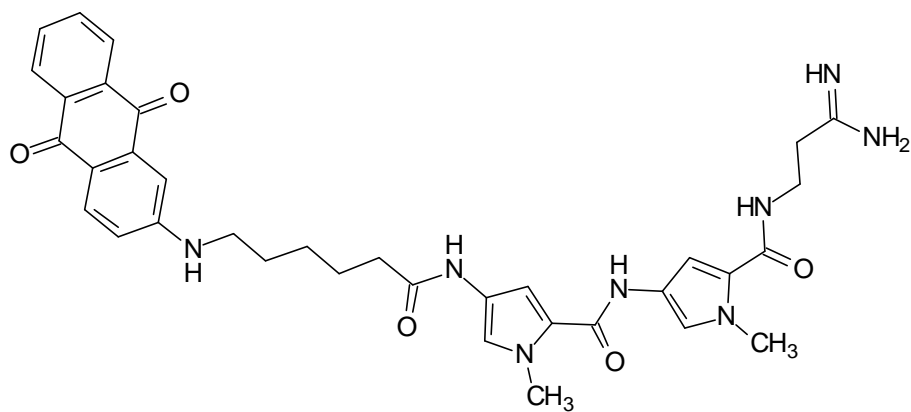
Lexitropsin-Pyren-Konjugat

**18**

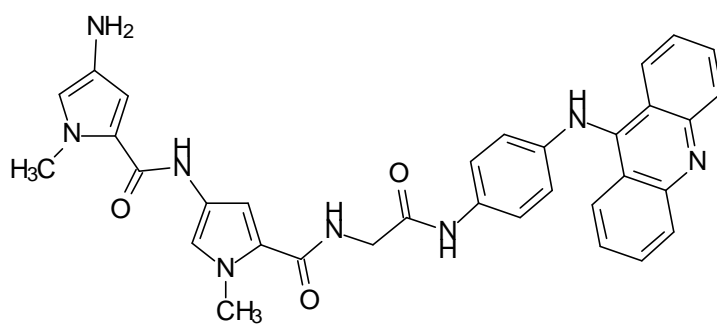


Distel + 2

**19**

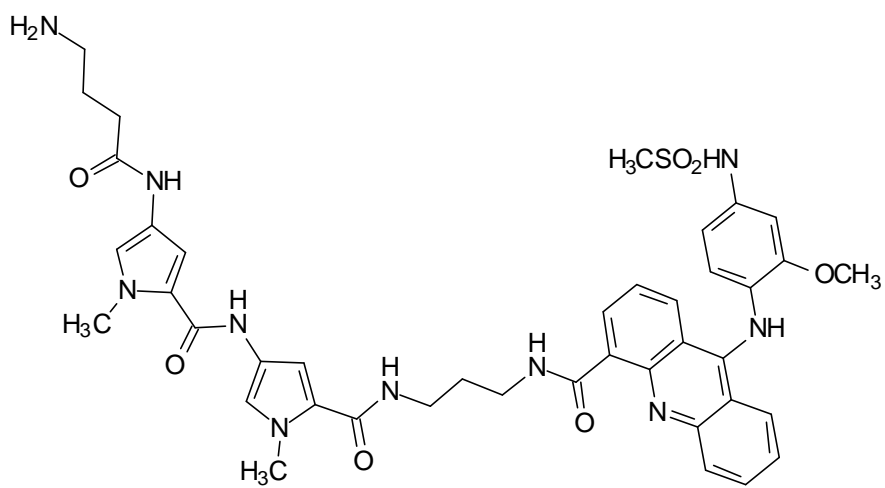
AQ<sub>NC</sub>-Net

20



NetGA

21



NetAmsa

22

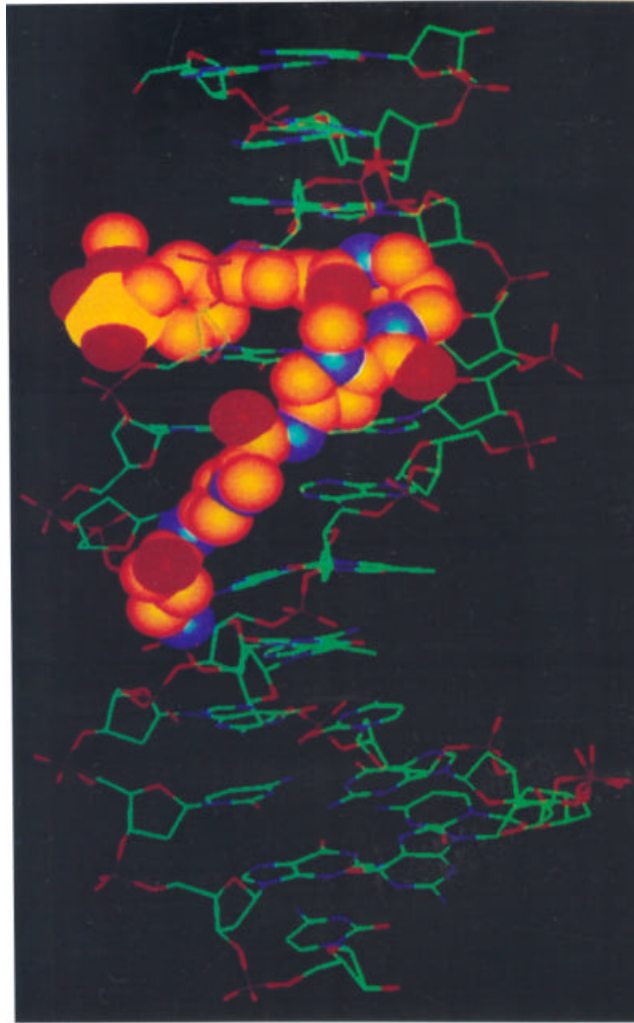


Abb.1.11: Combilexinbindung am Beispiel von NetAmsa (**22**) (Röntgenkristallographie).

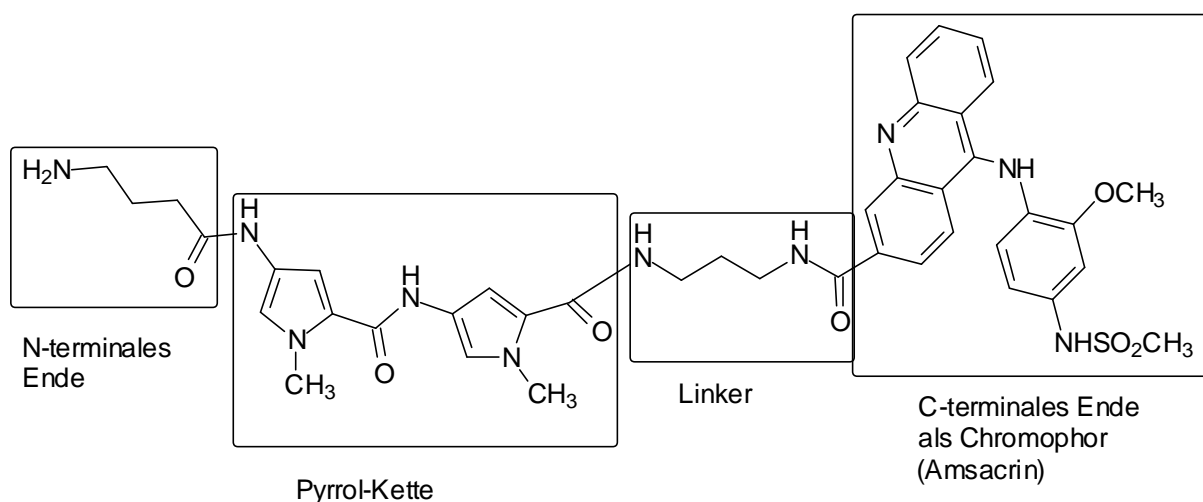
Viele dieser Combilexine zeigten starke zytotoxische Aktivitäten, wie z.B. NetGa (**21**) [4]. Diese Substanz penetriert schnell in die Zellkerne von Krebszellen unterdrückt die Topoisomerase II und zeigt Antitumoraktivität bei P388 Leukämiezellen in Mäusen [6]. Die strukturellen und kinetischen Daten von *Bailly* [3] stimmten mit der Annahme überein, daß sich das Konjugat NetAmsa (**22**) in die Doppelhelix "schraubt", so daß das Acridin Chromophor interkaliert, während die Netropsin-Einheit und die Methansulfoanilin-Gruppe in der kleinen und großen Rinne positioniert bleibt. Das Hybridmolekül bindet an AT-reiche Sequenzen der DNA selektiv durch Netropsin und stabilisiert dadurch den DNA-Komplex [50]. Bei den Combilexinen **18**, **19**, **20** und **21** zeigt sich, daß das über einen Linker gebundene Chromophor entweder am N-Terminus oder am C-Terminus der Pyrrolkette verknüpft ist.



### 1.3 Zielsetzung

Auf dem Gebiet der systematischen Strukturmodifikation von Oligopyrrolcarboxamiden mit potentiellen DNA-kleine-Rinne-bindenden Eigenschaften liegen - was insbesondere die Struktur-Wirkungsbeziehungen anbetrifft - praktisch noch keine überzeugenden Ergebnisse vor. Nach eigenen Vorarbeiten und den daran gemachten eigenen Erfahrungen muß im rein synthetischen Bereich noch viel Entwicklungsarbeit geleistet werden, um die nötigen Strukturvarianten in ausreichender Reinheitsqualität zu erhalten.

Es war daher das Ziel der vorliegenden Arbeit erste systematische Strukturwirkungsbeziehungen von Combilexinen der Pyrrolcarboxamid-Reihe auf Netropsin- bzw. Distamycin A-Basis aufzubauen. Es sollten de-novo- und Weiterentwicklungen bekannter, sehr schwer reproduzierbarer Synthesemethoden [66, 67] und Optimierung der einzelnen Kupplungsverfahren [41, 81], welche eine gewisse Strukturvielfalt ermöglichen sollte, aufgebaut werden. Als Leitsubstanz diente neben Netropsin (**11**) und Distamycin A (**12**) als Basismolekül das Combilexin NetAmsa (**22**), ein potentieller Topoisomerase II-Hemmer mit antileukämischen Eigenschaften. NetAmsa ist ein Hybridmolekül aus Netropsin und Amsacrin, bei dem die beiden Strukturelemente über einen Linker verknüpft sind [50].



Combilexinaufbau am Beispiel von NetAmsa

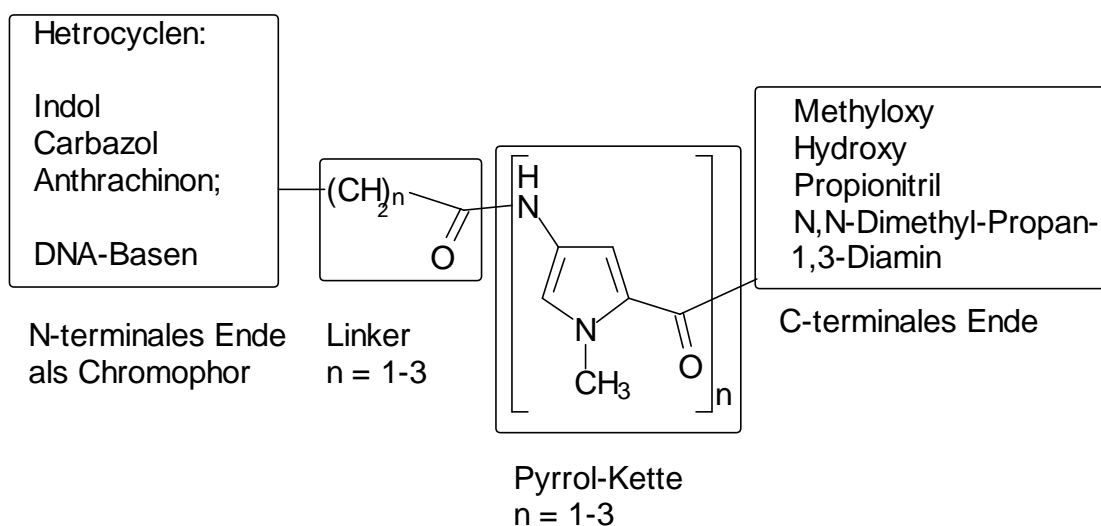
Die Combilexine bestehen aus vier Teilen: dem C-terminalen Ende, dem N-terminalen Ende, dem Linker und der zentralen Pyrroleinheit, die aus einem oder mehreren Pyrrolen bestehen kann.

In Anlehnung an das Combilexinmodell (**22**) sollten neue Oligopyrrolcarboxamide mit variablen Randfunktionen an den N- und C-terminalen Enden synthetisiert werden; auch die Gliederlänge der Pyrrolketten sollten eine ausreichende Flexibilität aufweisen (ein bis drei Pyrroleinheiten).

Dadurch sollte überprüft werden, welches die minimalen Voraussetzungen (Anzahl der Pyrrole, Art des Chromophors, Art und Länge der Linker, Einfluß des C-terminalen Substituenten) für eine Rinnenbindung, für DNA-Bindung und für zellbiologische Antitumor-Wirkung sind.

Als chromophore Bausteine am N-terminalen Ende sollten  $\pi$ -elektronenreiche Heterocyclen (Indole, Carbazole, Anthrachinone, DNA-Basen), aber auch ausgewählte DNA-interkalativ reagierende, annelierte Carbocyclen (z. B. Ellipticin (**10**)) eingesetzt werden. Am C-Terminus sollten aliphatische Funktionen mit verschiedener Polarität eingeführt werden (Methylester, Nitrile, Carbonsäuren und *N,N*-Dimethyl-Propylendiamin, letztere aufgrund der elektrostatischen Ähnlichkeit mit einer Amidgruppe des Netropsin).

Außerdem sollten die Funktionen an N- und C-Terminus gegenüber der Leitsubstanz NetAmsa vertauscht werden (s. Abb.1.13).



Einteilung der vier Combilexinbausteine zum Aufbau einer Systematik

Abb.1.13: Schema der Struktur-Variationen bei den geplanten Combilexinen.

Es sollte mit den synthetisierten Substanzen ein zellbiologisches Antitumorscreening beim *National-Cancer-Institute* (NCI) durchgeführt werden. Desweiteren sollten die Substanzen mit Hilfe von DNA-Bindestudien in Verbindung mit Topoisomerase I-Hemmungsstudien untersucht werden.

Zur abschließenden Betrachtung dieser Arbeit sollten die Ergebnisse der biophysikalischen und zellbiologischen Testsysteme mit quantenchemischen Daten der neuen Substanzen, die durch eine AM1 Rechnung berechnet werden sollten, verglichen werden. Die Datenauswertung sollte zum Aufbau der ersten vororientierenden Struktur-Wirkungsbeziehungen zur Antitumorwirkung herangezogen werden im Hinblick auf ein rationales Wirkstoff-Design.

Die Zielsetzung sei hier noch einmal zusammengefaßt:

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit sollte ein Aufbau von ersten systematischen Struktur-Wirkungsbeziehungen von Combilexinen der Pyrrolcarboxamid-Reihe auf Netropsin- bzw. Distamycin A-Basis durchgeführt werden.

Hierzu sollten Synthesen zur Variation am C-terminalen Ende (aliphatische Funktionsträger) und zur Variation am N-terminalen Ende (aromatische Heterocyclen, ausgewählte DNA-Basen mit aliphatischem Carbonsäure-Linker verbunden) entwickelt werden.

De-novo- und Weiter-Entwicklungen bekannter und sehr schwer reproduzierbarer Synthesemethoden und Optimierung der einzelnen Kupplungsverfahren, welche eine gewisse Strukturvielfalt ermöglichen sollen, waren daher unumgänglich.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit sollten die synthetisierten Substanzen einem zellbiologischen Antitumorscreening beim *National Cancer Institute* unterzogen werden. DNA-Bindestudien in Verbindung mit Topoisomerase I-Hemmungs-Studien sollten im Arbeitskreis *Pindur* stattfinden.

Abschließend sollten die vorliegenden Daten zum Aufbau der ersten orientierenden Struktur-Wirkungsbeziehung zur Antitumorwirkung ausgewertet werden.

## 2 Auswahlkriterien für Substituenten bei der Syntheseplanung

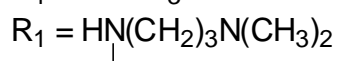
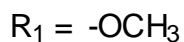
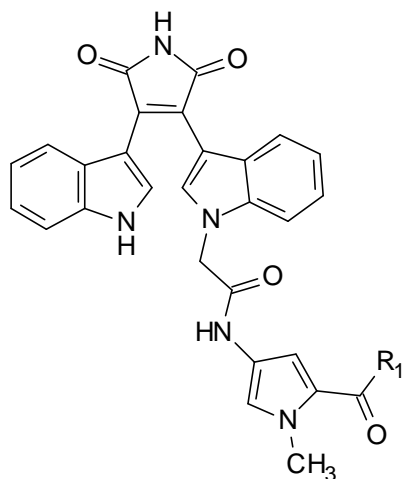
In diesem Abschnitt sollen die einzelnen Strukturelemente der synthetisch geplanten Combilexine in Hinblick auf einen Systematikaufbau diskutiert werden (s. Abb. 1.13, S. 21).

### 2.1 C-terminale Seitenfunktion

Aus der Literatur sind einige Lexine bzw. Oligopyrrolcarboxamide mit verschiedenen C-terminalen Seitenfunktionen bekannt [45]. So wurde beispielsweise die Carbonylfunktion der 4-Amino-*N*-methyl-pyrrol-2-carbonsäure zum Methylester umgesetzt sowie mit Guanidin, *N,N*-Dimethyl-propylamin und 3-Aminopropionitril derivatisiert.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten die unterschiedlichen Einflüsse der C-terminalen Seitenfunktionen in Hinsicht auf die Antitumoraktivität und die DNA-Bindung mit Hilfe von zellbiologischen, biochemischen und DNA-biophysikalischen Testungen aufgezeigt werden.

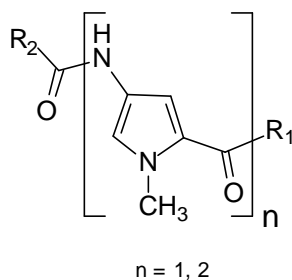
In einer Arbeit von *Lown* [42] wurde der Einfluß einer C-terminalen Methylesterfunktion im Vergleich zu einer *N,N*-Dimethyl-propanamin-Funktion auf die Inhibierung von PKC- $\alpha$  analysiert. Das hier eingesetzte Combilexin (**23**) (Ester und Amin) (Abb. 2.1, S. 24) hatte einen schwächeren Effekt als der bekannte PKC- $\alpha$ -Inhibitor Staurosporin; darüberhinaus waren die Methylester des Combilexins **23** aktiver als dessen Propanamine.



23

Abb. 2.1: Combilexin **23** mit verschiedenen C-terminalen Substituenten [42].

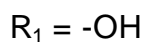
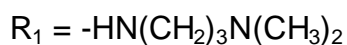
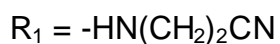
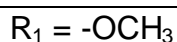
Dieses Phänomen führte zu der Überlegung, daß in der vorliegenden Arbeit zunächst die Methyl ester ( $R_1 = -OCH_3$ ) von Oligopyrrolcarboxamiden synthetisiert werden sollten; darüber hinaus sollten jedoch zum Vergleich auch einige weitere C-terminale Funktionen in die Pyrrolketten eingeführt und die Produkte getestet werden (s. Tab. 2. 1).




---

C-terminale Substituenten in der Syntheseplanung:

---



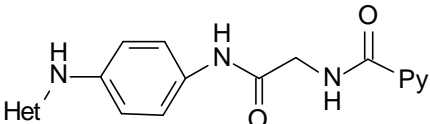
Tab 2.1: C-terminale Substituenten.

## 2.2 Linker

Die Entwicklung eines geeigneten Linkers, der den  $\pi$ -elektronenreichen Heteroaromaten mit dem Oligopyrrolcarboxamid am N-terminalen Ende verbindet, sollte ein entscheidender Bestandteil des Designs der Combilexine darstellen. Die Arbeit von *Bailly et al.* [43, 44] am NetAmsa (**22**) zeigt, daß die Flexibilität und Länge eines Linkers ein entscheidender Faktor für die gesamte Geometrie an der DNA und damit für die biologische Wirkung des Ligand-DNA-Komplexes ist. Dort wurde eine gute DNA-Bindung durch Verwendung eines Butanoyl-Restes festgestellt.

In der Literatur (s. Lit. in Tab. 2.2) sind bisher einige Beispiele wirksamer Combilexine bekannt. Die folgende Tabelle 2.2 zeigt eine Auswahl verschiedener Linker, die Bestandteil dieser Combilexine sind.

Linker	Name	Atome d. Kette	Länge [Å]	Lit.
	Lexitropsin-Pyren ( <b>18</b> )	5	5,44	[45] [46]
	Distel +2-Lexitropsin ( <b>19</b> )	6	5,87	[45] [47]
	Psoralen-Lexitropsin	6	5,80	[45] [48]
	NetAmsa ( <b>22</b> ) EllipticinNet	7	6,48	[45] [49] [50] [47]
	Porphyrin- Lexitropsin	8	6,81	[45] [51]
	AQ <sub>NC</sub> Net ( <b>20</b> ) AQ <sub>NC</sub> Dist ( <b>71</b> ) AQ <sub>CN</sub> Net ( <b>72</b> )	9	9,13	[45] [104]

Linker	Name	Atome d. Kette	Länge [Å]	Lit.
	NetGA (21)	10	9,86	[45]
				[49]

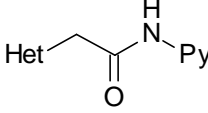
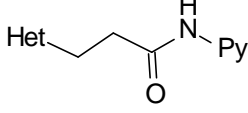
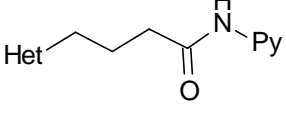
Tab 2.2: Verschiedene in der Literatur aufgeführte Linker am N- bzw. C-terminalen Ende Het = Interkalator, Py = Lexitropsin

Die Längen in [Å] bedeuten hier, daß der Aliphat maximal gedehnt ist; die Längen wurden mit einer AM1-Rechnung im SPARTAN-Programm [52] berechnet (minimiert).

Diese sind in der Mehrzahl nicht systematisch synthetisiert worden. Daher existiert bislang keine systematische Studie über eine essentielle "Minimallänge" der Linker, die eine Interkalation ermöglicht. Die in Tab. 2.2 aufgeführten Linker zeigen keine Homogenität in bezug auf die Verknüpfungsseite: sowohl C- als auch N-terminale Verknüpfungen mit den Pyrroleinheiten bzw. den Hetrocyclen sind möglich. Die kleinste Kette der aufgeführten Beispiele weist fünf Atomeinheiten auf. Es existiert ebenfalls keine Homogenität in Bezug auf die vorhandenen Atome, da sowohl Kohlenwasserstoffketten als auch Carbonsäureamide Bestandteil der Linker sein können. Es sind jedoch immer carboxamidische Randfunktionen vorhanden.

In der vorliegenden Arbeit sollten daher Linker in verschiedener Länge eingesetzt werden, um eine erste Systematik bezüglich der Minimallängen und funktionellen Gruppen (Atome) aufzubauen.

Für die Arbeitsplanung wurden konsequenterweise "kurze" Linker-Einheiten von C<sub>2</sub> bis C<sub>4</sub> am N-Terminus gewählt, deren aliphatisches Ende mit dem Hetrocyclus verbunden war (s. Tab. 2.3, S. 27). Als funktionelle Gruppe sollte in allen Fällen eine Carbonsäurefunktion dienen, um eine amidische Verknüpfung mit den Oligopyrroleinheiten zu gewährleisten.

Linker	Atome d. Kette	Länge [Å]
	3	2,42
	4	3,76
	5	5,44

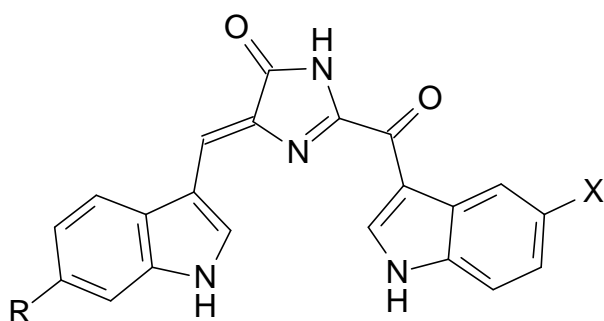
Tab. 2.3: Geplante Linker. Die Längen in [Å] bedeuten hier, daß der Aliphath maximal gedehnt ist; die Längen wurden mit einer AM1-Rechnung im SPARTAN-Programm [53] berechnet (minimiert).

### 2.3 p-Elektronenreiche Heterocyclen und Nucleotidbasen

Indol und Carbazol sind planare,  $\pi$ -elektronenreiche Hetroaromaten, die die Grundbausteine zahlreicher Naturstoffe mit physiologischen Eigenschaften sind [54, 55]. Einige dieser Stoffe besitzen Antitumoraktivität und Topoisomerase-Hemmung [56, 57].

Die Vielfältigkeit der Strukturen und die große Anzahl dieser Naturstoffe erlaubt es, nur wenige, für diese vorliegende Arbeit relevante Stoffe vorzustellen [58, 59].

Die marinen Tuniate Rhopaladin A-D (**24a-d**) besitzen ein Staurosporin (**25**) Skelett und werden aus zwei Tryptophaneinheiten aufgebaut. Diese aus Meeresschwämmen isolierten Stoffe haben antibakterielle Aktivität gegen *Sacrina lutea* und *Corynebacterium xerosis* [60].

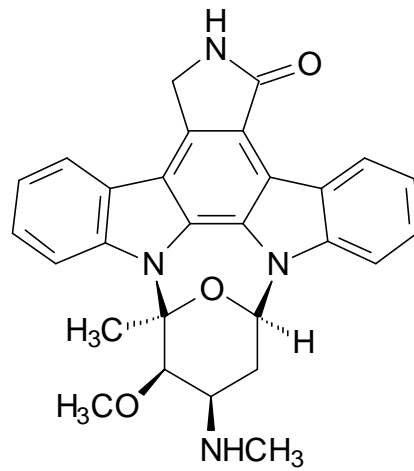


A : R = OH, X = Br  
 B : R = OH, X = H  
 C : R = H , X = Br  
 D : R = H , X = H

Rhopaladin A-D

24 a-d

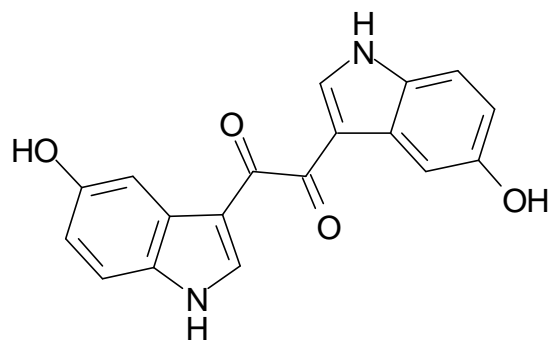




Staurosporin

25

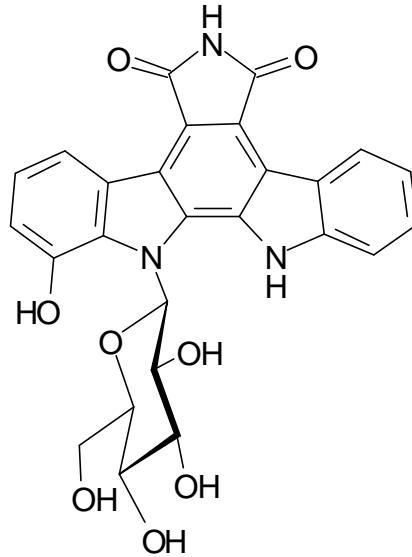
Die Hyrtiosine A und B (**26**) sind marine Alkaloide aus dem Meeresschwamm *Hyrtios erecta* isoliert worden und zeigen zytostatische Aktivität gegen das menschliche Epidermis-Karzinom KB *in vitro* [61].



Hyrtiosin B

26

Der synthetische Stoff ED-110 (**27**) besitzt Antitumorzellaktivität [62].

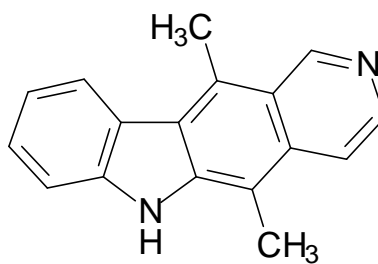


ED-110

**27**

Auch "einfache" Indole und Carbazole weisen pharmakologisch interessante Eigenschaften auf.

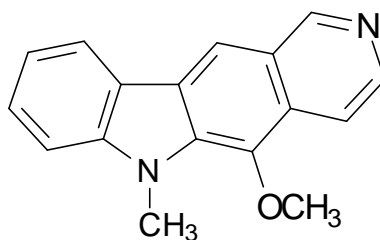
Hier sei der Interkalator Ellipticin (**10**) noch einmal erwähnt (s. Kap. 1, S. 7).



Ellipticin

**10**

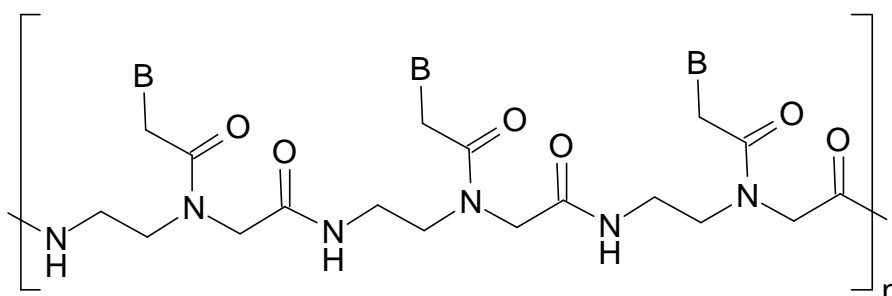
Verbindung **28** ist anti-HIV-aktiv [63].



**28**

Im Rahmen dieser Arbeit sollte auch die Mindestgröße des Hetarens und die Position des ihn mit dem Oligopyrrolcarboxamidgerüsts verknüpfenden Linkers untersucht werden. Daher sollten Indole mit Alkylcarbonsäure-Funktion in 1- und 3-Position, sowie Carbazol in 9-Position zum Einsatz kommen (s. Kap. 4, S. 50).

Thymin und Adenin sind in der DNA zueinander komplementäre Basen. Da Netropsin- und Distamycin A-Analoga bekanntlich an AT/TA-reiche Sequenzen binden, sollten Thymin und Adenin über einen Linker an die Pyrrolkette gebunden werden und der Einfluß auf die DNA-Bindung untersucht werden. *Nielsen* et al. haben auch Nucleotidbasen (G, C, A, T) zur Synthese neuer DNA-Liganden verwendet [64]. Diese wurden im Gegensatz zur DNA nicht an einen Desoxyribose-Zuckerphosphat-Rest gebunden, sondern an ein "Pseudo-Peptid" (**29**). Diese PNA (Pseudo-nucleic-acid) besitzt eine hohe DNA-Selektivität [65].



**PNA A**

**29**

Abb.2.1: Peptid-Nucleinsäure (PNA **A**) mit *N*-(2-aminoethyl)glycin "backbone". B = A, C, T, G oder eine veränderte veränderte Struktur von A, C, T oder G.

## 2.4 Oligopyrrolcarboxamide

In Anlehnung an die Leitstrukturen Netropsin (**11**) und Distamycin A (**12**) und deren Basis-Chemie sollte die Anzahl der Pyrroleinheiten innerhalb eines Oligopyrrolcarboxamids die Zahl drei nicht überschreiten. Zum Aufbau der angestrebten Systematik sollten zunächst Combilexine stufenweise von "innen" nach "ausen" aus einem einzelnen Pyrrolkern aufgebaut werden.

### 3 Synthese der Pyrrolcarboxamide mit verschiedenen C-terminalen Funktionen

Im folgenden soll auf die Synthese der unterschiedlichen Pyrrolcarboxamide eingegangen werden. Die Strategie basierte zunächst weitgehend auf der Distamycin A (**12**) Totalsynthese nach *Lown* [66] und *Bialer* [67]. Auch die Einführung der verschiedenen C-terminalen Seitenfunktionen folgte dieser Strategie. Es sollten als C-terminale funktionelle Gruppen Methylester, Aminopropyl und *N,N*-Dimethylpropan-1,3-diamin-Substituenten eingeführt werden. Anschließend erfolgte der sukzessive Aufbau zu Pyrrolcarboxamiden mit zwei oder drei Pyrroleinheiten, wobei u. a. Verfahren aus der Peptidchemie verwendet wurden [69, 72]. Obwohl diese Strategien und Verfahren bekannt waren, mußten diese gewissermaßen als de-novo-Methode erarbeitet und optimiert werden. Die Vorschriften waren in vielen Bereichen ungenau und nicht reproduzierbar.

#### 3.1 Darstellung von 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester (**32**)

Die Darstellung des 1-Methyl-4-nitropyrrolcarbonsäuremethylesters **32** erfolgte zunächst durch Nitrierung der von den Firmen Fluka und Aldrich erhältlichen *N*-Methyl-pyrrol-2-carbonsäure (**30**). Die Nitrierung erfolgte mittels aus  $\text{HNO}_3$  (70%)/Acetanhydrid *in situ* hergestelltem Acetylnitrat unter Kühlung ( $-25^\circ \text{C}$ ). Der Methylester wurde durch anschließende Umsetzung mit Methanol/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  gewonnen.

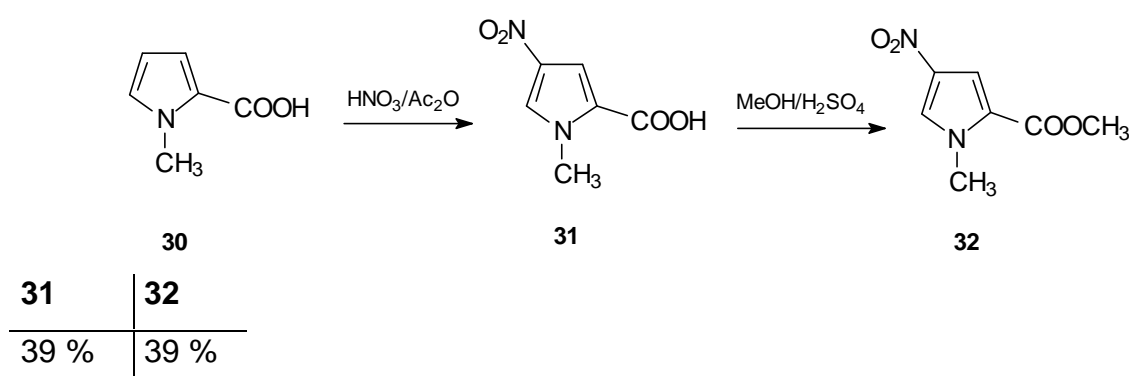


Abb.3.1: Darstellung von 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester (**32**).

Aus der Tabelle in Abb.3.1 ist ersichtlich, daß diese Baustein-Synthese unbefriedigende Ausbeuten erbrachte. Daher wurde nach einem alternativen

Syntheseverfahren recherchiert. Die Wahl fiel auf eine Kondensationsreaktion, bei der Nitromalondialdehyd (**34**) mit Glycinmethylester (**35**) unter basischen Bedingungen direkt zu 4-Nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester (**36**) umgesetzt wurde [68] (s. Abb. 3.2). Das entsprechende *N*-Methylpyrrol-Derivat (**32**) wurde am Ende der Reaktionskette durch *N*-Alkylierung mit Methyljodid erhalten [69]. Die vereinfachte Variante dieser Kondensationsreaktion, bei der Sarcosinmethylester (**37**) statt des Glycinmethylesters eingesetzt wurde, hätte den folgenden Schritt zur *N*-Alkylierung erspart; es erfolgte jedoch in diesem Fall keine Umsetzung zum gewünschten Produkt. Der Nitromalondialdehyd **34** wurde durch Umsetzung von Mucochlorsäure (**33**) mit  $\text{NaNO}_2$  und anschließender Decarboxylierung erhalten (12%) [70]. Der Glycin- (**35**) und Sarcosinmethylester (**37**), sowie die Mucochlorsäure **33** wurden von der Firma Fluka bezogen.

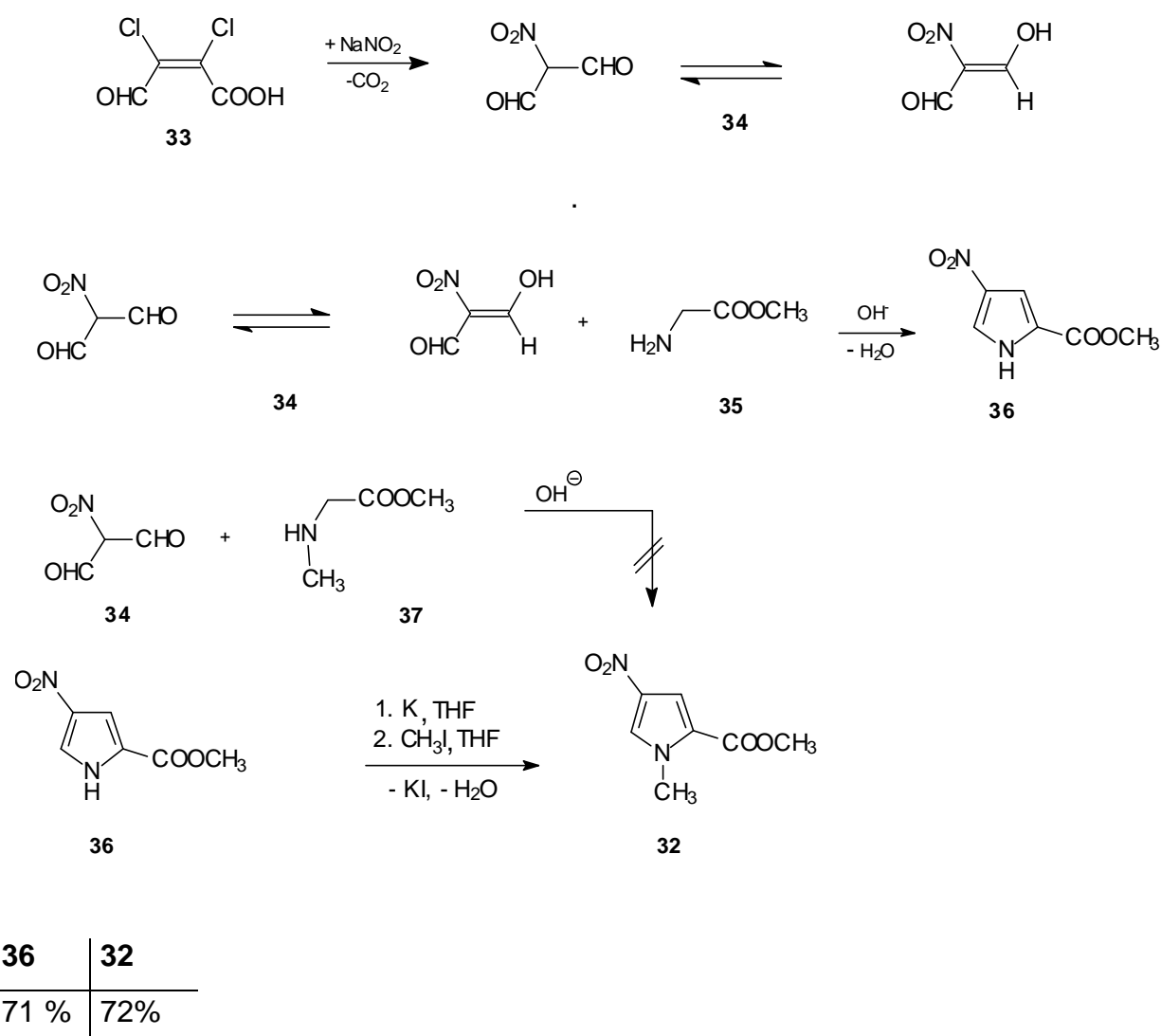


Abb.3.2. Darstellung von 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester durch Kondensation.

Die Kondensationsreaktion erbrachte wesentlich bessere Ausbeuten als die erste Variante und war präparativ auch leicht zugänglich. Eine sehr ähnliche Synthese wurde auch von *C. Bailly* verwendet [71], bei der anstatt Mucochlorsäure Mucobromsäure zur Darstellung verwendet wurde; Baillys Ausbeuten lagen mit 55% deutlich niedriger als die auf der Basis der hier entwickelten Methode (72%). Der Kondensationsmechanismus dieser Reaktion wurde bisher noch nicht beschrieben. Man kann jedoch aus vergleichbaren Kondensationen folgenden Mechanismus postulieren:

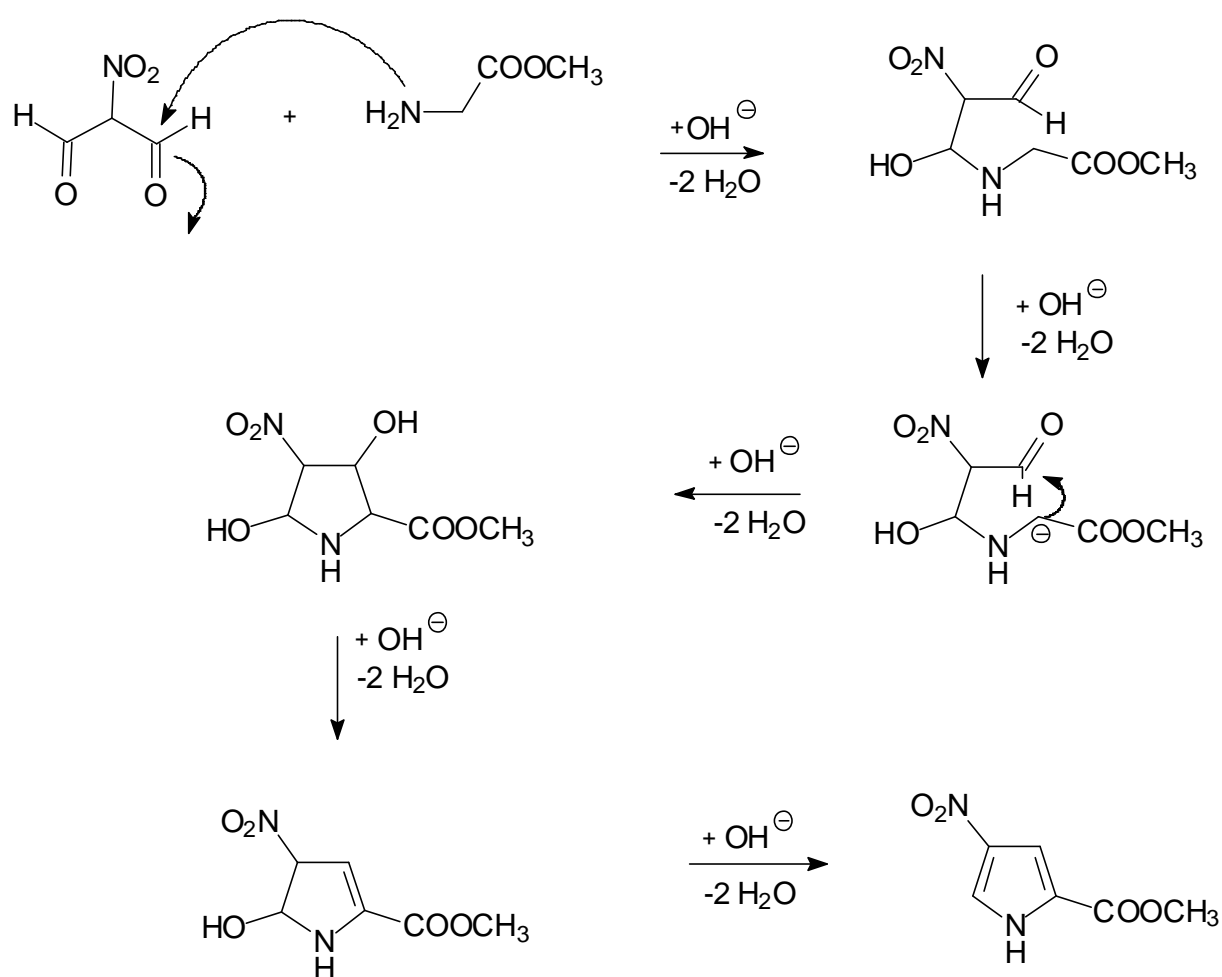


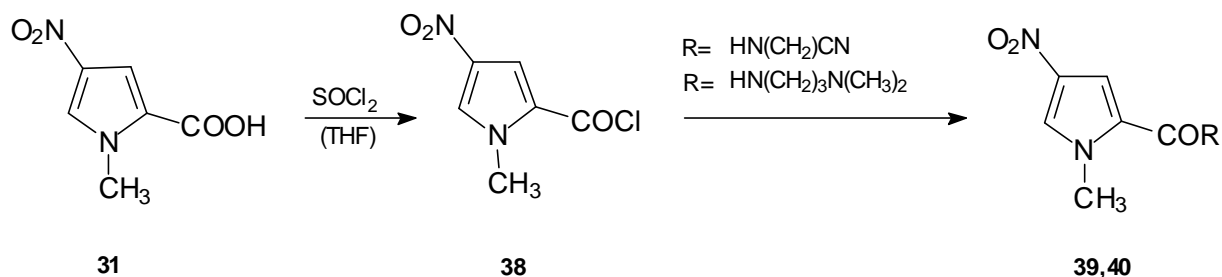
Abb. 3.3: Postulierter Reaktionsmechanismus aus Nitromalonaldehyd (**34**) und Glycinmethylester (**35**) zum 4-Nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester (**36**) unter Basenkatalyse (NaOH)

Der hier postulierte Mechanismus geht davon aus, daß im ersten Reaktionsschritt eine Kondensation zwischen primärem Amin-Stickstoff des Glycinesters und einer Carbonylgruppe des Nitromalonaldehyds erfolgt. Diese Michael-Addition führt zur

Bildung eines Halbaminals. Die folgende intramolekulare Aldoladdition (Knoevenagel) führt dann basenkatalysiert zum Ringschluß, welcher durch Dehydratisierung zum Pyrrolderivat **36** führt.

### 3.2 Darstellung der 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamide

Die folgenden beiden Reaktionen erfolgten nach einem identischen Verfahren: die Nitropyrrolcarbonsäure (**31**) wird zunächst mit Thionylchlorid zum entsprechenden Carbonsäurechlorid umgesetzt. Die Verknüpfung zum Pyrrolcarboxamid erfolgt dann entweder mit Propionitril (zu **39**) oder *N,N*-Dimethyl-propan-1,3-diamin (zu **40**) [66][67] unter Zusatz von Hünigs Base.



<b>39</b>	<b>40</b>
79 %	66 %

Abb.3.4 :Syntheschema zur Einführung der C-terminalen, funktionellen Gruppen. Carboxamid **39** besitzt eine C-terminale Propionitril-, Carboxamid **40** eine C-terminale Propylendiamin-Funktion.

Die Synthesen zur Einführung der C-terminalen, funktionellen Gruppen zu den Zielmolekülen erbrachten zufriedenstellende Ausbeuten und waren präparativ leicht zugänglich.

### 3.3 Strukturaufklärung der 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamide

An dieser Stelle sollen die Strukturen der C-terminalen Funktionen mittels der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie geklärt werden. Die 2,4-Disubstitution wird an anderer Stelle besprochen.



Die 1-Aminopropio-3-nitril Seitenfunktion stellt ein  $A_1B_2X_2$  Kopplungssystem [73] dar, da es sich hier nicht um ein Kopplungsmuster 1. Ordnung handelt und das Stickstoffproton durch NH-ND-Austausch an der Kopplung partizipiert. Das Spektrum lässt sich jedoch wie ein Spektrum 1. Ordnung interpretieren, da die  $^4J$ -Kopplungen aufgrund der Auflösung des NMR-Gerätes nicht in Erscheinung treten. So spaltet die  $\alpha$ -Methylengruppe des Nitrils als Triplet auf, die  $\beta$ -Methylengruppe als Quartett, da hier das Stickstoffproton ebenfalls koppelt. Das Stickstoffproton erscheint als Triplet.  
 $\delta$  [ppm] = 2,65 (t, 2H,  $^3J = 6,5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-CN}$ ), 3,51 (2H, q,  $^3J = 6,5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 8,05 (t, 1H,  $^3J = 5,0$  Hz, NH)

Eine kompliziertere Betrachtung ist bei der *N,N*-Dimethylpropan-1,3-diamin Seitenfunktion nötig (s. Abb 3.5, S. 37): die Propan-Gruppierung selbst verhält sich scheinbar zueinander wie ein  $A_2M_2X_2$ -System (1. Ordnung), da die Kopplungskonstanten Werte im Bereich von  $\delta$  [ppm] = 6,5 bis 7,4 Hz besitzen. Es erscheint die mittlere Methylengruppe als Quintett, die an die *N,N*-Dimethylgruppierung gebundene als Triplet. Das Quintett ist eigentlich ein doppeltes Triplet, da die Kopplung durch je eine Methylengruppe erzeugt wird. Da aber auch eine Kopplung des Stickstoffprotons mit in dieses System eingeht (die dem Stickstoff des Amides benachbarte Methylengruppe erscheint als Quartett), lässt sich eine Betrachtung des Systems als eines rein 1. Ordnung nicht mehr aufrecht erhalten. Die *Long range*-Kopplungen sind jedoch bei diesem Meßverfahren nicht mehr sichtbar und deswegen könnte man dieses System formal zur einfacheren Deutung als zwei nebeneinander liegende Systeme Pseudo-1. Ordnung betrachten ( $A_2B_2X_2$ -System und  $A_1B_2X_2$ -System). Die *N,N*-Dimethylgruppen sind für sich gesehen ein  $A_6$ -System und erscheinen deswegen als Singulett.

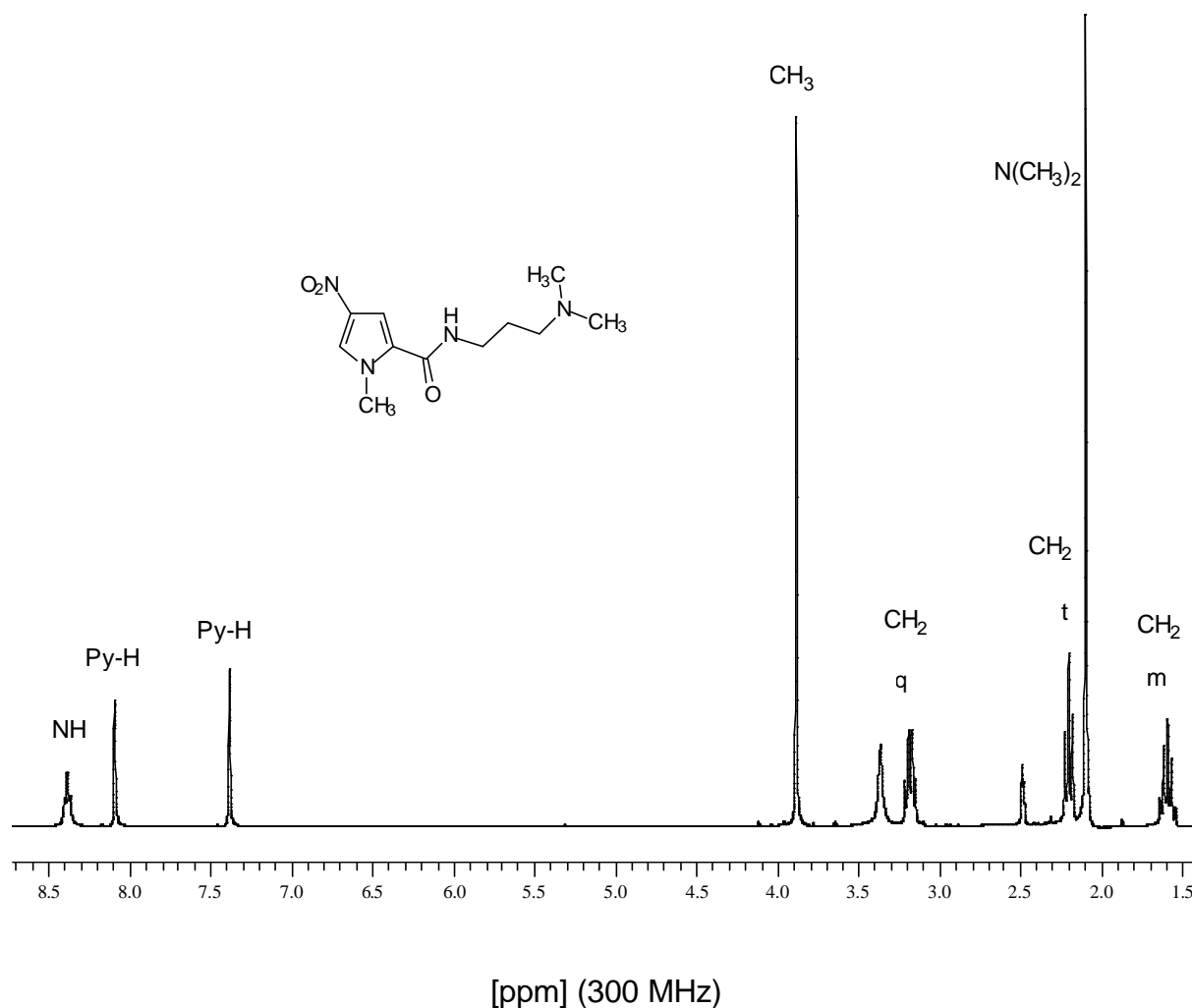


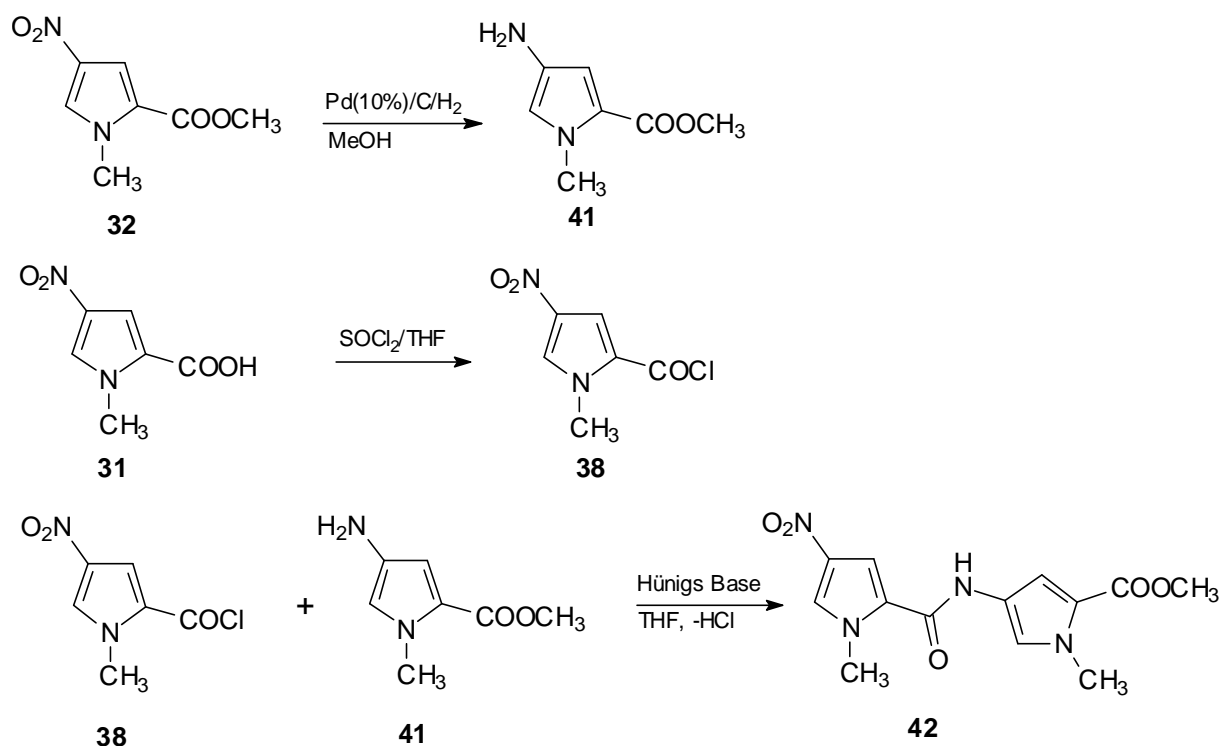
Abb. 3.5:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum ( $\text{DMSO } d_6$ ) der Verbindung **40**.

$\delta$  [ppm] = 1,63 (m, 2H,  $^3J = 6,5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,05 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,21 (t, 2H,  $^3J = 6,7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,18 (q, 2H,  $^3J = 6,7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 8,40 (t, 1H,  $^3J = 7,4$  Hz, NH)

### 3.4 Synthese der Oligopyrrolcarboxamide

Zur Darstellung von Oligo-carbonsäureamiden, die zwei oder drei Pyrroleinheiten aufweisen, erfolgte zunächst nur der Aufbau von Oligopyrrolcarboxamiden mit C-terminaler Methylesterfunktion. Dies erfolgte ebenfalls nach dem von *Lown* beschriebenen Syntheschema [66, 67]. Auch hier mußte erheblich de-novo-Syntheseentwicklung angegangen werden, da die Verfahren nur unzureichend beschrieben sind. Hierbei wird der 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester

(**32**) in Methanol mit einem Palladium-Aktivkohle Katalysator (Pd10%/ C) unter Wasserstoffatmosphäre zum entsprechenden 4-Aminopyrrol reduziert. Die freie 1-Methyl-4-nitropyrrolcarbonsäure **31** wird durch Umsetzung mit  $\text{SOCl}_2$  aktiviert und bei  $0^\circ\text{C}$  mit dem 4-Aminopyrrol zum Dicarboxamid umgesetzt. Das entsprechende Oligopyrrolcarboxamid mit drei Pyrroleinheiten wird in gleicher Weise dargestellt, indem der Mono-pyrrolester **32** durch Bis-pyrrolester **42** ersetzt wird.

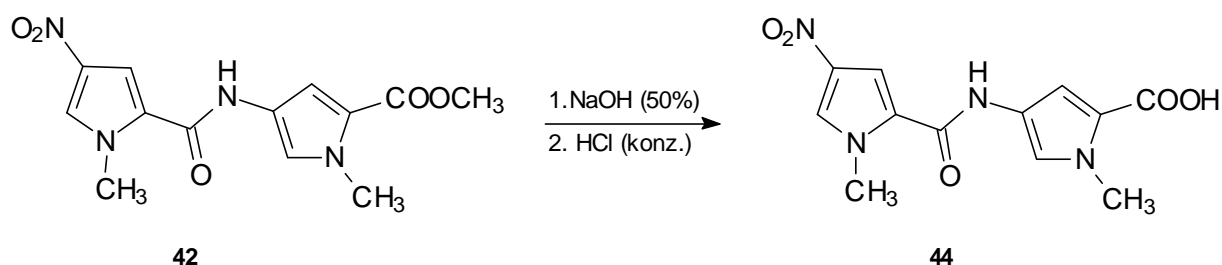


<b>42</b>	<b>43</b>
69%	42%

Abb.3.6 : Darstellung der Oligopyrrolcarboxamide mit C-terminaler Esterfunktion am Beispiel eines Bis-pyrrols (**42**). Die Darstellung des Tris-pyrrols (**43**) erfolgt nach dem gleichen Schema.

### 3.5 Darstellung von 1-Methyl-4-[[[(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol)carbonyl]-amino]-1-*H*-2-pyrrolcarbonsäure

Die Darstellung der freien Carbonsäure (**44**) erfolgte durch schonende Esterhydrolyse von Bis-pyrrol **42** mit NaOH (50%) in Methanol und anschließender Fällung mit HCl<sub>konz</sub> [66, 72].



**44**

---

86%

Abb.3.7.: Darstellung von 1-Methyl-4-[[[(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol)carbonyl]-1-*H*-2-pyrrolcarbonsäure durch Esterhydrolyse aus Bis-pyrrol **42**.

### 3.6 Strukturaufklärung der Bis-pyrrol-carboxamide

Zunächst sollte an den *N*-methyl-4-nitropyrrol-Monomeren, die in 2 Position eine Carboxy-Gruppe mit Seitenfunktion tragen, die 2,4-Substitution, also die Regiochemie der Cyclisierung, nachgewiesen werden. Die Konstitution ist für die "Curvature" der Oligopyrrolcarboxamide von Relevanz (s. S. 7-16). Durch die <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie konnte dieses leicht bewiesen werden: es sind zwei aromatische Resonanzen registriert, deren Kopplungskonstante (*J*) in allen Beispielen eine Aufspaltung von 1,4 bis 1,9 Hz hatten; dieser Bereich entspricht einer AB-Kopplung

[73], bzw. einer Metakopplung ( $^4J$ ) in aromatischen Systemen. Diese Werte stimmen auch mit in der Literatur bekannten Werten [66, 67] überein (s. Abb 3.8).

Am Beispiel des Bis-pyrrols mit C-terminaler Esterfunktion sollten die aromatischen und die aliphatischen Protonen genau zugeordnet werden, um für die Konstitutionsaufklärung der Targetmoleküle eine fundierte Basis zu geben. Eine Konformationsanalyse der Carboxamid-Gruppe nach s-cis/s-trans sollte im Anschluß erfolgen.

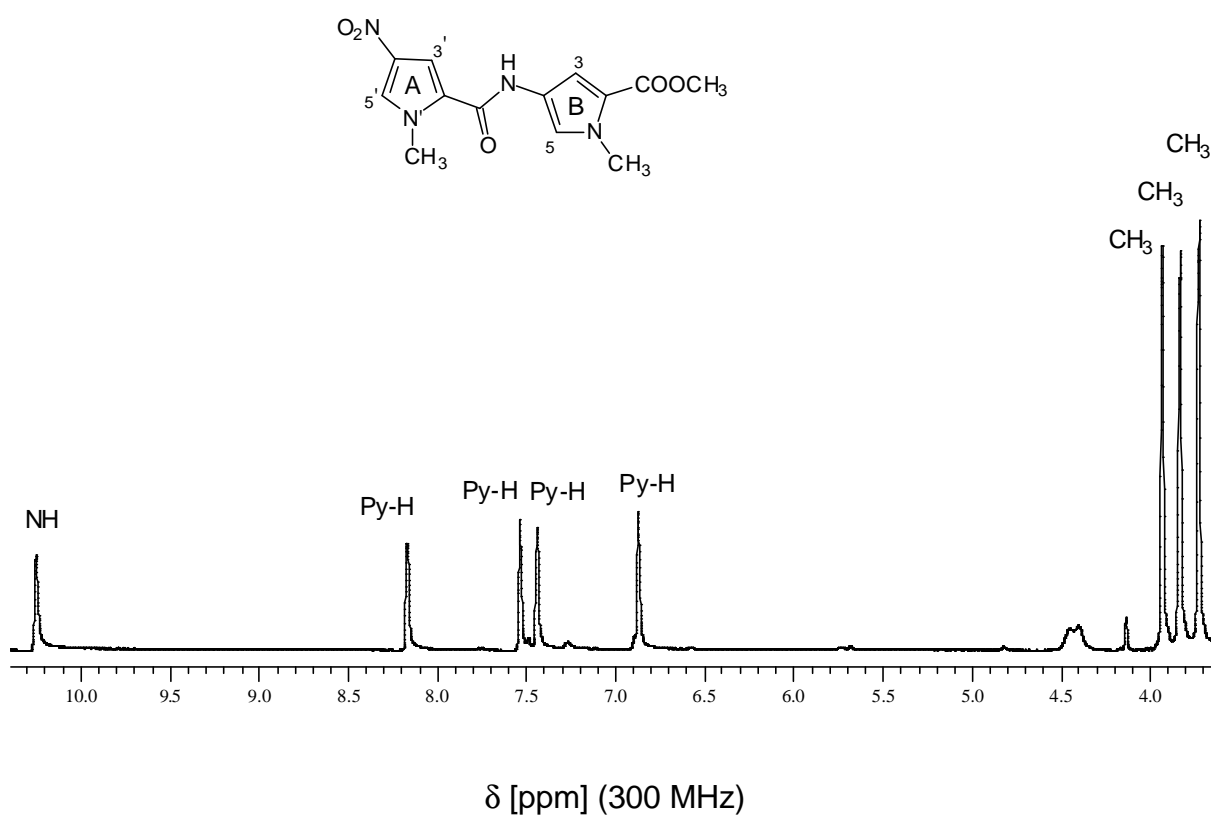


Abb.3.8:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ( $\text{DMSO } d_6$ ) (300 MHz) des Bis-pyrrolmethylesters (**42**).

Wie das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Abb.3.8 zeigt, ist zunächst lediglich das NH-Signal eindeutig zuzuordnen. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte folgende Protonen:  $\delta$  [ppm]: 3,72 ( $\text{CH}_3$ ), 3,82 ( $\text{CH}_3$ ), 3,93 ( $\text{CH}_3$ ), 6,89, 7,43, 7,53, 8,17 (4-Pyrrol-H,  $^4J = 1,73\text{-}1,93$  Hz), 10,25 (NH).

Zur weiteren Konstitutionsaufklärung wurde der Kern-Overhauser-Effekt (NOE: *Nuclear Overhauser Effect*) [73] mittels NOE Differenzanalyse an diagnostisch relevanten Kernpositionen genutzt.

Im NOE-Differenzspektrum wurde zuerst auf  $\delta$  [ppm]= 10,25 (NH) (7868,34 Hz) eingestrahlt (s. Abb. 3.9). Das aromatische Proton bei  $\delta$  [ppm] = 8,17 (7243,69 Hz) zeigte keine Signalintensivierung, im Gegensatz zu den anderen aromatischen Protonen. Im Ausschlußverfahren muß das Proton bei  $\delta$  [ppm] = 8,17 Pyrrol-H5' sein.

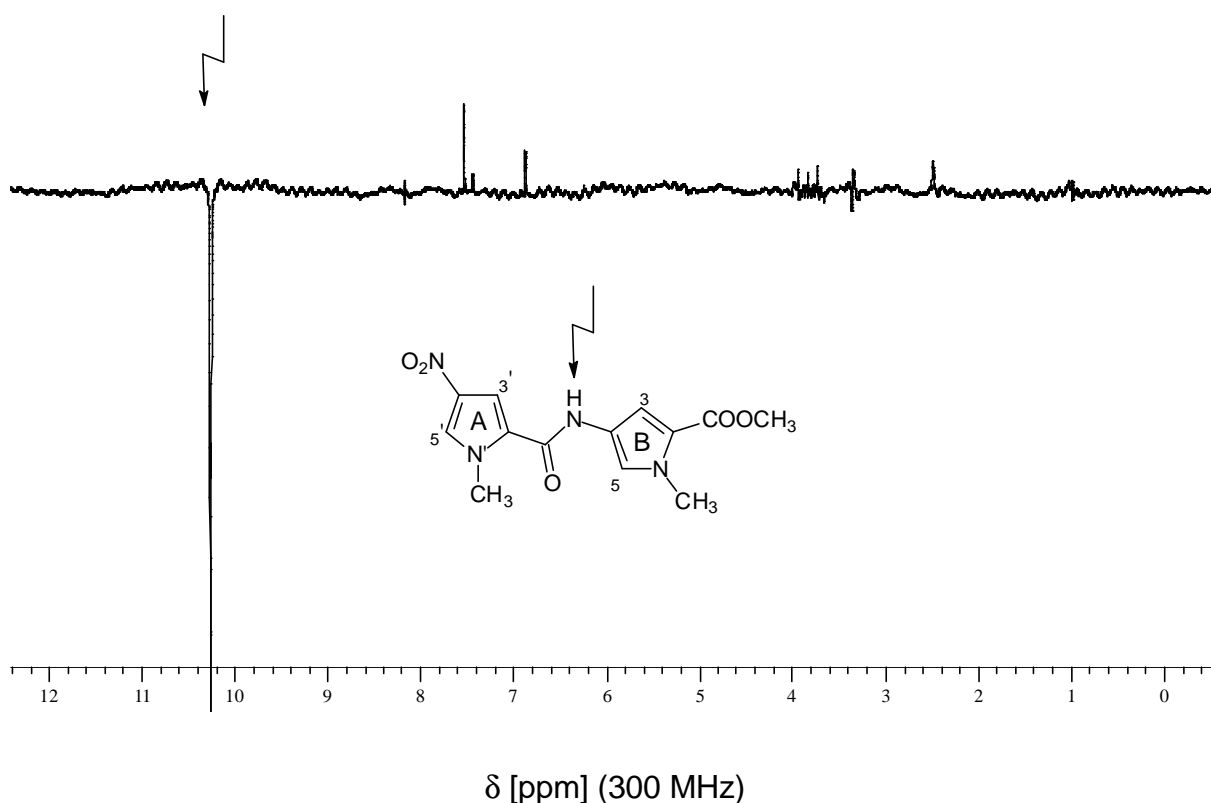


Abb 3.9: Das NOE-Differenzspektrum zeigt Einstrahlung auf die NH-Gruppe.

Das Einstrahlexperiment auf Proton Pyrrol-H5' ( $\delta$  [ppm] = 8,17, 7243,69 Hz) zeigte nur eine Signalintensivierung bei  $\delta$  [ppm] = 3,93 (5971,96 Hz); somit handelt es sich bei  $\delta$  [ppm] = 3,93 um N'-CH<sub>3</sub> (s. Abb. 3.10, S. 42).

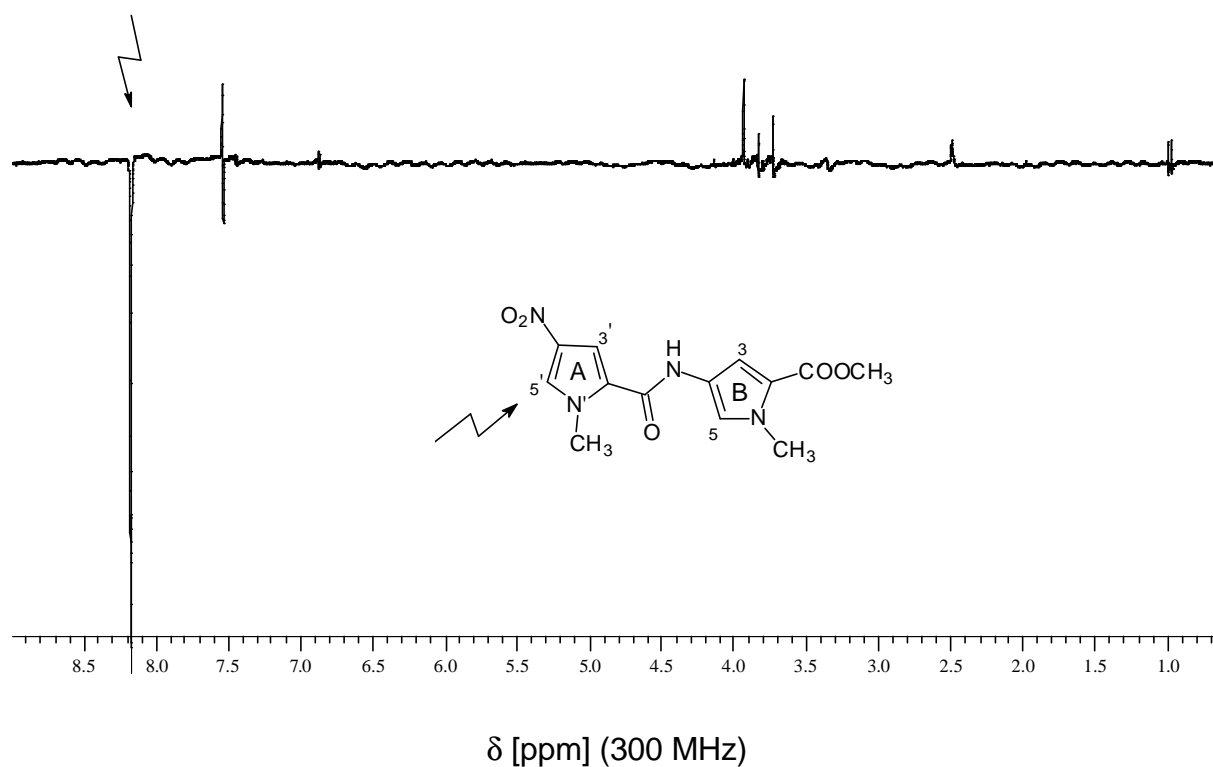


Abb 3.10: Das NOE-Differenzspektrum (DMSO  $d_6$ ) zeigt Einstrahlung auf Pyrrol-H5'; das Signal bei  $\delta = 3,93$  ppm kann als Methylgruppe  $N'-CH_3$  identifiziert werden.

Beim Einstrahlen auf die Resonanzfrequenz der  $CH_3$ -Gruppe auf  $\delta$  [ppm] = 3,72 (5910,45 Hz) konnte keine Signalintensivierung für Pyrrol-Protonen festgestellt werden und somit der Methyl-Gruppe des Esters zugeordnet werden (s. Abb 3.11, S. 43).

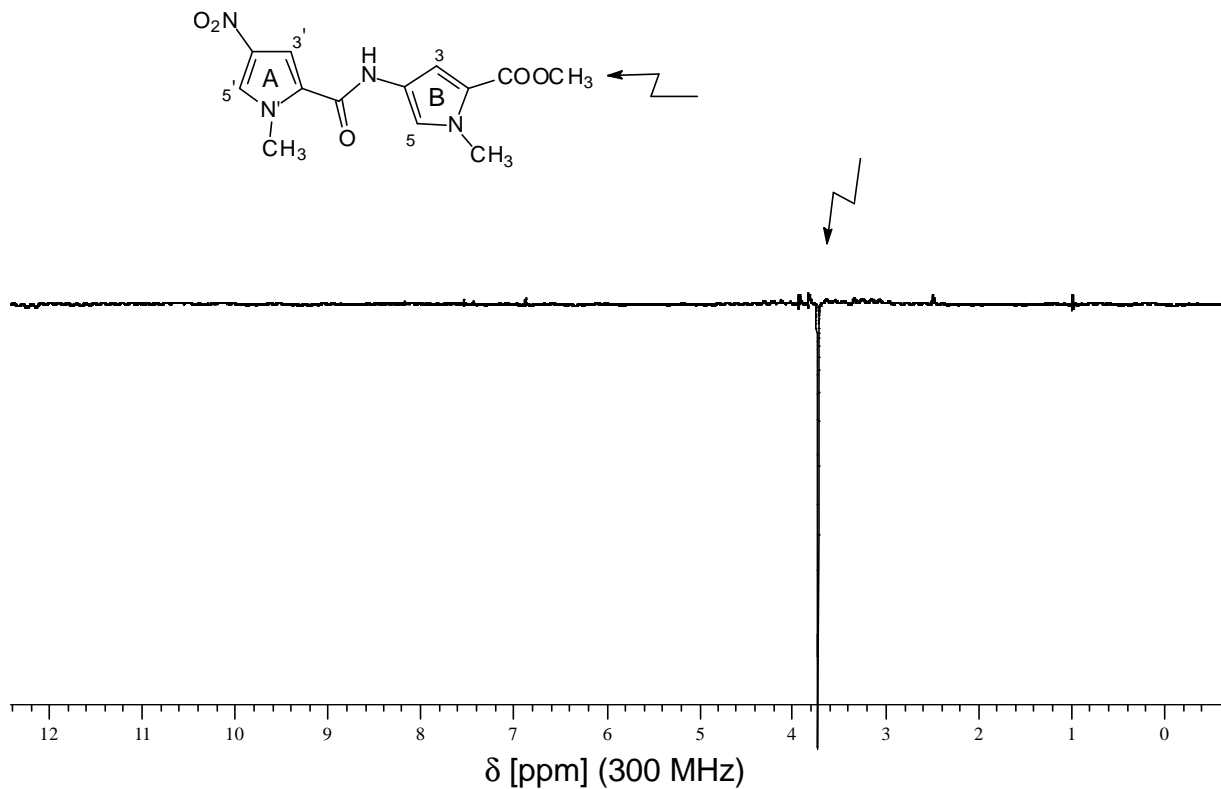


Abb 3.11: Das NOE-Differenzspektrum (DMSO  $d_6$ ) zeigt bei Einstrahlung auf  $\delta = 3,72$  ppm keine Signalintensivierung

Konsequenterweise wurde dann auf  $\delta$  [ppm] = 3,82 (nach kombinatorischer Interpretation entspricht dieses Signal N-CH<sub>3</sub>) eingestrahlt (5941,92 Hz); es zeigte sich nur eine Signalintensivierung bei  $\delta$  [ppm] = 7,43, wodurch sich  $\delta$  [ppm] = 7,43 als Pyrrol-H5 zuordnen lässt. Damit bleibt Pyrrol-H3 ( $\delta$  [ppm] = 6,87) kombinatorisch übrig (s. Abb.3.12, S. 44).



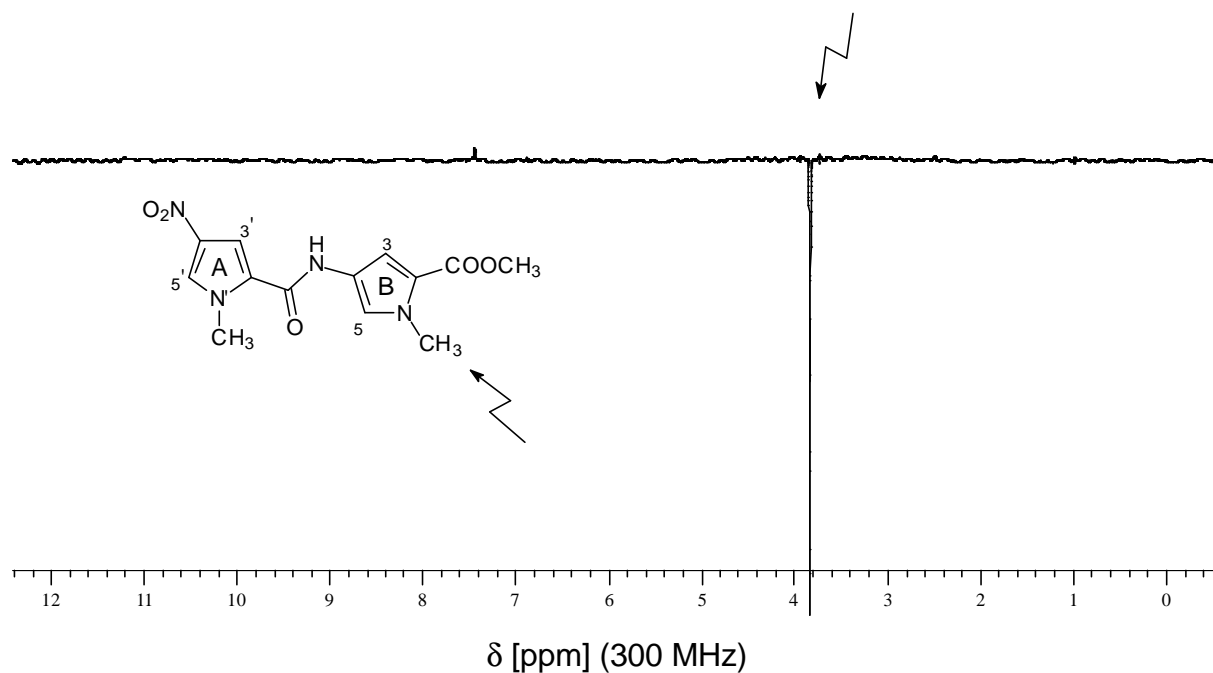


Abb 3.12: Das NOE-Differenzspektrum (DMSO  $d^6$ ) zeigt Einstrahlung auf  $\delta$  [ppm]= 3,82 (N-CH<sub>3</sub>).

Um die Lage der Protonen  $\delta$  [ppm] = 6,82 und 7,53 zu erkennen, waren zwei Spin-Entkopplungsexperimente (Doppelresonanz) [74] [73] nötig: zuerst wurde ein Experiment bei Pyrrol-H5' (7243,69 Hz ,  $\delta$  [ppm] = 8,17) durchgeführt. Das Einstrahlen auf das Proton bei  $\delta$  [ppm] = 7,53 zeigte keine  $^4J$ -Kopplung mehr und konnte somit Pyrrol-H3' zugeordnet werden (s. Abb. 3.13, S. 45).

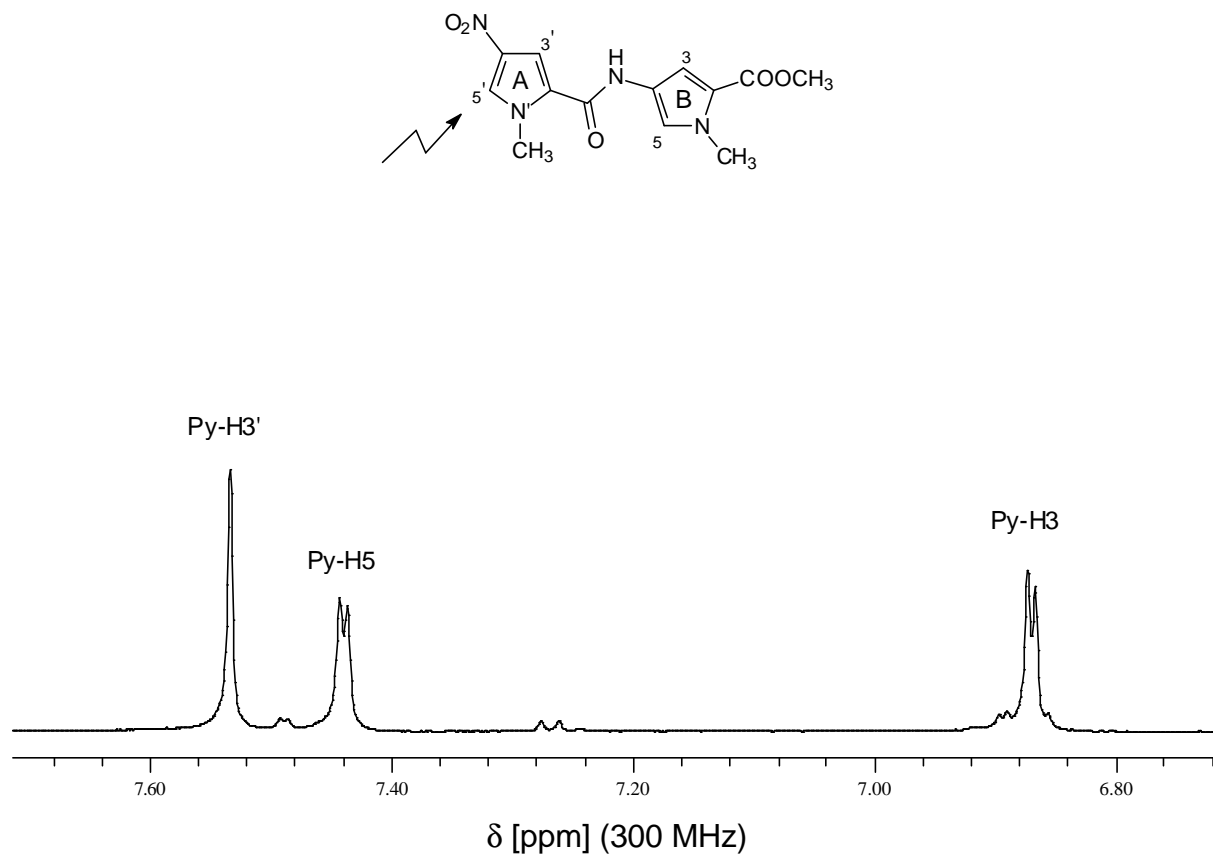


Abb 3.13: Entkopplungsexperiment auf Pyrrol-H5' ( $\text{DMSO } d^6$ ).

Diese Annahme mußte jedoch durch das zweite Entkopplungsexperiment belegt werden. Daher wurde auf Pyrrol-H5 ( $7024,82 \text{ Hz}$ ,  $\delta$  [ppm] =  $7,43$ ) ebenfalls eingestrahlt; wie erwartet zeigte sich bei dem Proton bei  $\delta$  [ppm] =  $6,87$  auch keine  $^4\text{J}$ -Kopplung mehr, so daß dieses Proton als Pyrrol-H3 eindeutig identifiziert werden konnte (s. Abb. 3.14, S. 46). Daher konnte die erste Annahme bestätigt werden.

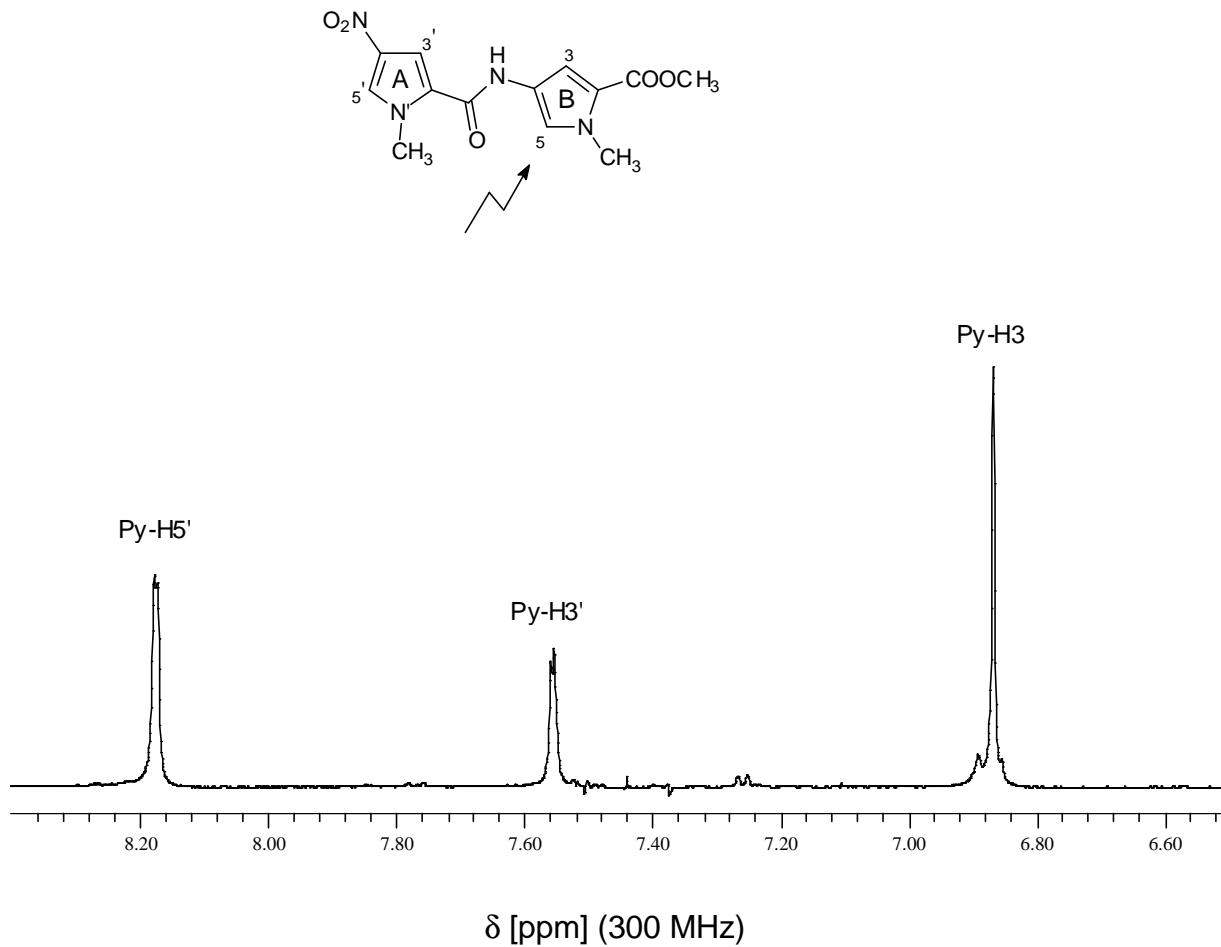


Abb.3.14: Entkopplungsexperiment auf Pyrrol-H5 ( $\text{DMSO } d_6$ ).

Das Signal bei  $\delta$  [ppm] = 3,82 wurde durch kombinatorische Interpretation als N- $\text{CH}_3$ -Gruppe angenommen; der Beweis sollte durch NOE-Differenzanalyse erfolgen. Es wurde auf Pyrrol-H5 ( $\delta$ [ppm] = 7,43, 7024,82 Hz) eingestrahlt und es zeigte sich tatsächlich eine Signalintensivierung bei  $\delta$  [ppm] = 3,82 (s. Abb. 3.15, S. 47).

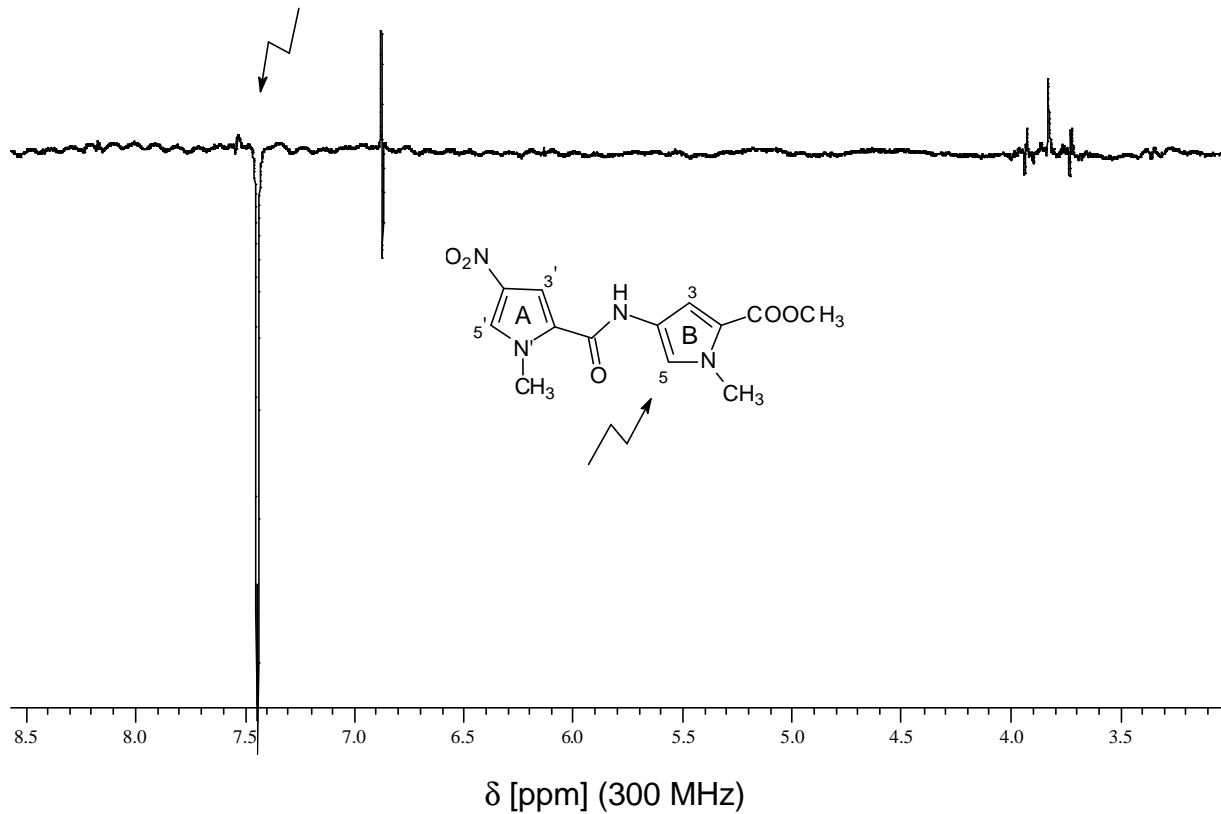


Abb. 3.15: Einstrahlexperiment auf Py-H5.

Zur Überprüfung der korrekten Zuordnung des Pyrrol-H5' diene noch eine letzte NOE-Differenzanalyse, bei der auf N'-CH<sub>3</sub> ( $\delta$  [ppm] = 3,93, 5971,96 Hz) eingestrahlt wurde. Auch hier bestätigte sich die Annahme, da eine Signalintensivierung bei  $\delta$  [ppm] = 8,17 auftrat (s. Abb 3.16, S. 48).

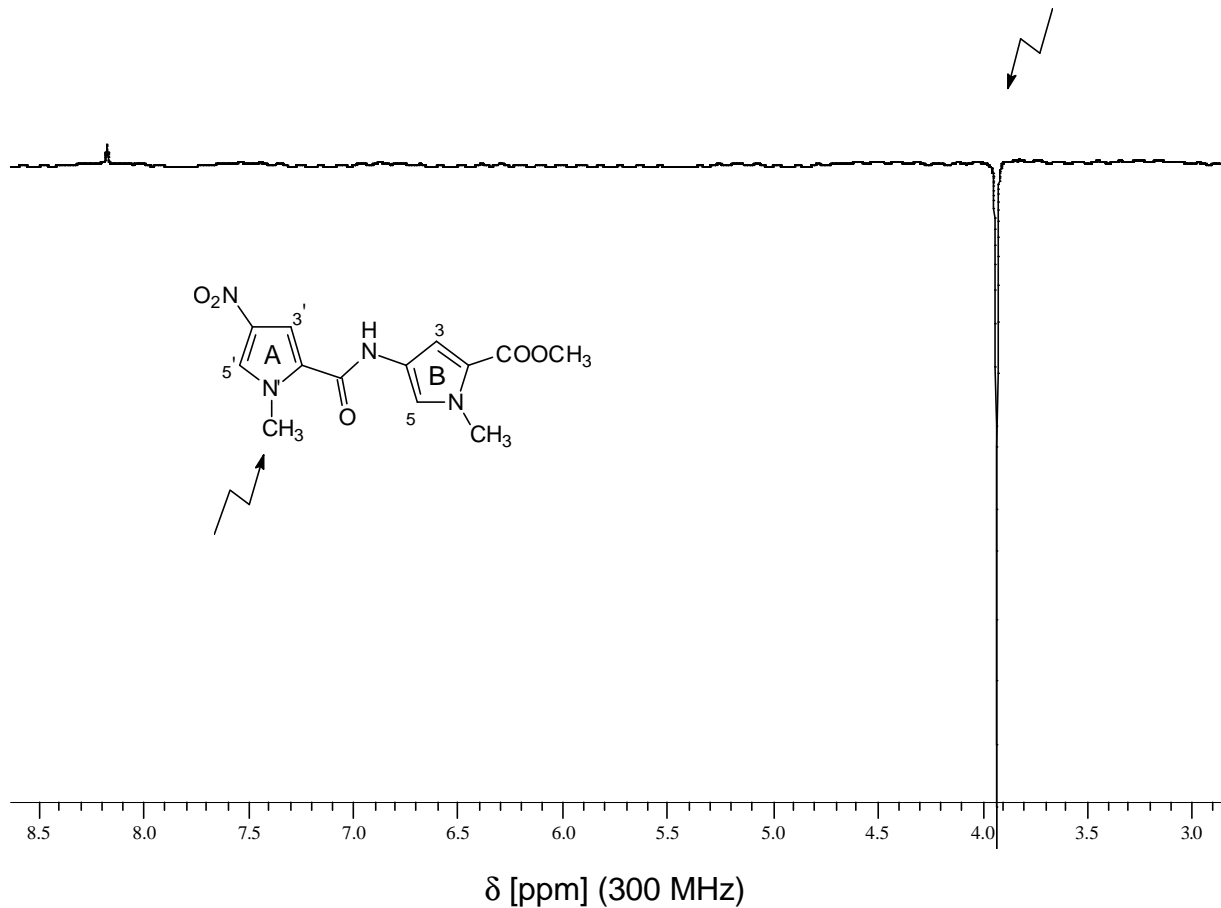


Abb. 3.16. : Das NOE-Differenzspektrum zeigt Einstrahlung auf N'-CH<sub>3</sub>

Durch diese Experimente lässt sich nun die genaue Lage der Protonen des vorliegenden Bis-pyrrolmethylesters wie folgt beschreiben:

$\delta$  [ppm]: 3,72 (OCH<sub>3</sub>), 3,82 (N-CH<sub>3</sub>), 3,93 (N'-CH<sub>3</sub>), 6,87 (Pyrrol-H3), 7,43 (Pyrrol-H5), 7,53 (Pyrrol-H3'), 8,17 (Pyrrol-H5'), 10,25 (NH).

Das zweite Problem, welches für die DNA-Bindung relevant sein sollte, sollte die Konformation zwischen den beiden Pyrrolringen und der Carboxamid-Bindung klären. Für die Bindungsgeometrie an der DNA ist es essentiell, daß die Oligopyrrolcarboxamide eine sichelförmige Geometrie besitzen. Dabei ist es eine Voraussetzung, daß die Substituenten der C-N-Amid-Bindung s-trans angeordnet sind, in Anlehnung an Angaben zu natürlichen Peptidstrukturen.

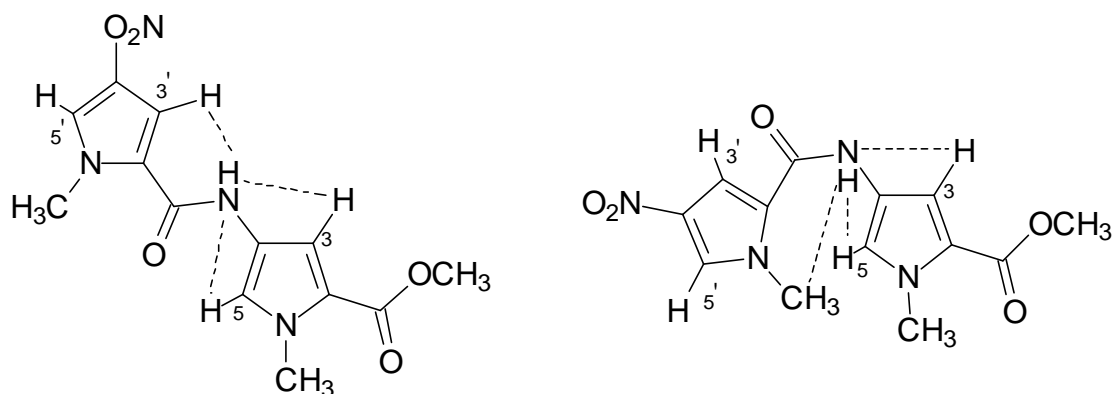


Abb.3.17: Links ist die transoide Konformation des Moleküls, rechts die cisoid Konformation abgebildet. Bei der transoiden Konformation stehen der Sauerstoff und der am Stickstoff gebundene Pyrrolring auf der gleichen Seite vom Stickstoff aus betrachtet, die Pyrrol-Reste allerdings trans.

Bei der Annahme, daß die cisoid Konformation vorliegt, müßte beim Einstrahlen auf NH ( $\delta$ [ppm] = 10,25, 7868,34 Hz) eine Signalintensivierung bei N-CH<sub>3</sub>' ( $\delta$  [ppm] = 3,93), Pyrrol-H5 ( $\delta$  [ppm] = 7,43 ) und Pyrrol-H3 ( $\delta$  [ppm] = 6,81) zu erkennen sein. Das Experiment zeigt jedoch keine Signalintensivierung bei  $\delta$  [ppm] = 3,93 (N'-CH<sub>3</sub>), so daß diese Konformation als unwahrscheinlich gelten kann (s. Abb. 3.17).

Vielmehr lassen sich Signalintensitäten bei Pyrrol-3' ( $\delta$ [ppm] = 7,53 ), Pyrrol-H5 ( $\delta$ [ppm] = 7,43) und Pyrrol-H3 ( $\delta$ [ppm] = 6,87) erkennen, so daß eine transoide Konformation angenommen werden kann. Dies stimmt auch mit Röntgenstrukturanalysen von Netropsin und Distamycin A überein, ebenso mit deren Bindekonformation an der DNA.

Das zweite Problem ist durch die kombinatorische Interpretation der vorliegenden Daten nicht restlos geklärt worden, läßt die "cis" Konformation aber als sehr unwahrscheinlich gelten. Deswegen waren noch AM1 Rechnungen nötig, um dieses Problem auch theoretisch zu rationalisieren (s. Kap. 10, S. 101 ff.).

Eine weitere NOE-Differenzanalyse zur Strukturaufklärung des Tris-pyrrol-Analogons wurde nicht durchgeführt, da hier eine weitere Carboxamid-Bindung vorliegt und deshalb eine eindeutige Zuordnung der NH-Protonen mit den vorgegebenen Methoden nicht möglich war.

An dieser Stelle sei Frau Dr. M. Jansen für die Messung der NOE- und der Spin-Entkopplungsexperimente gedankt.

## 4 Darstellung der heterocyclischen Carbonsäuren

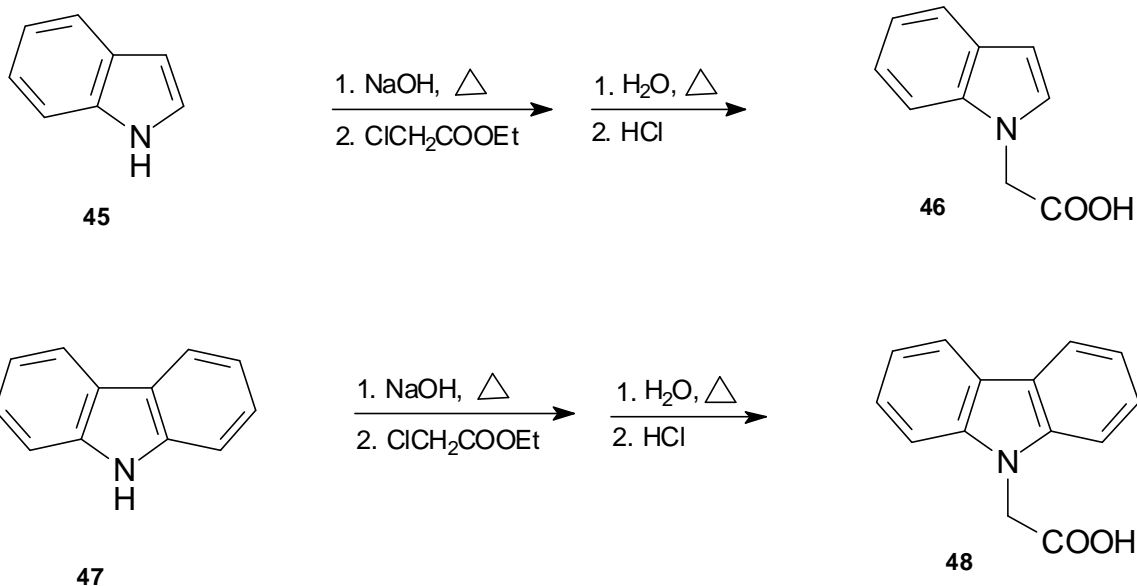
Einleitend zu diesem Abschnitt sei gesagt, daß nicht alle im weiteren Synthesepfad benötigten heterocyclischen Carbonsäuren synthetisiert werden mußten; so waren die 2-Indol-1-yl-essigsäure und die 3-Indol-3-yl-propionsäure bei der Firma Fluka, die 2-Thymin-1-yl-essigsäure bei der Firma Aldrich erhältlich.

### 4.1 Darstellung der 2-(1-*H*-1-indolyl)essigsäure und der 2-(9*H*-9-carbazolyl)essigsäure

Zur N-Substitution am Indol (**45**) bzw. Carbazol (**47**) mußte der Stickstoff zunächst deprotoniert werden. Dies sollte zunächst mittels eines Standardverfahrens im Arbeitskreis *Pindur* durch *n*-BuLi erfolgen [75]. Die Rückreaktion zum Indol bzw. Carbazol war jedoch bevorzugt. Dieses Phänomen ist wahrscheinlich auf die Basenhärte des *n*-BuLi gegenüber unsubstituiertem Indol bzw. Carbazol zurückzuführen; die Literatur beschreibt auch mögliche Konkurrenzreaktionen, wenn der Reaktionspartner selbst acide Protonen aufweist (Chloressigsäureethylester) und deswegen empfindlich für nucleophile Angriffe ist [76]. Entsprechende Versuche mit *tert*-BuLi liefen ebenso erfolglos. Außerdem gibt es in der Literatur Verfahren, die Hinweise auf eine Steuerung von Alkylierungen und Acylierungen an Indolen durch die Auswahl von Kationen liefern [77]; danach wird eine Alkylierung bzw. Acylierung mit Lithium und Magnesium als Kationen in 2 und 3 Position des Indols bevorzugt, der Einsatz von Kalium- und Natriumkationen bevorzugt die N-Alkylierung bzw. -Acylierung.

Es wurde deshalb nach einem Verfahren gesucht, das sich des Einsatzes "schwächerer" Basen bediente, die Kalium oder Natrium als Kationen besaßen (NaOH, KOH).

Durch Verschmelzen des Indols [78] bzw. Carbazols [79] mit pulverisiertem Natriumhydroxid gelang die Erzeugung zum Indolat- bzw. Carbazolat- Anion. Diese Anionen wurden zwar nicht isoliert, konnten aber als existent gelten, da die folgende Umsetzung mit trockenem Chloressigsäureethylester ( $S_N2$  Mechanismus), anschließender alkalischer Hydrolyse und Fällung mit wässriger 1N-HCl das gewünschte Produkt lieferte (s. Abb. 4.1, S. 51).



<b>46</b>	<b>48</b>
12%	14%

Abb.4.1 Darstellung der 2-Indolyl- (**46**) und der 2-Carbazolyl-essigsäure (**48**). Die nicht umgesetzten Indol-/ Carbazol-Anionen reagierten zum Indol/ Carbazol zurück.

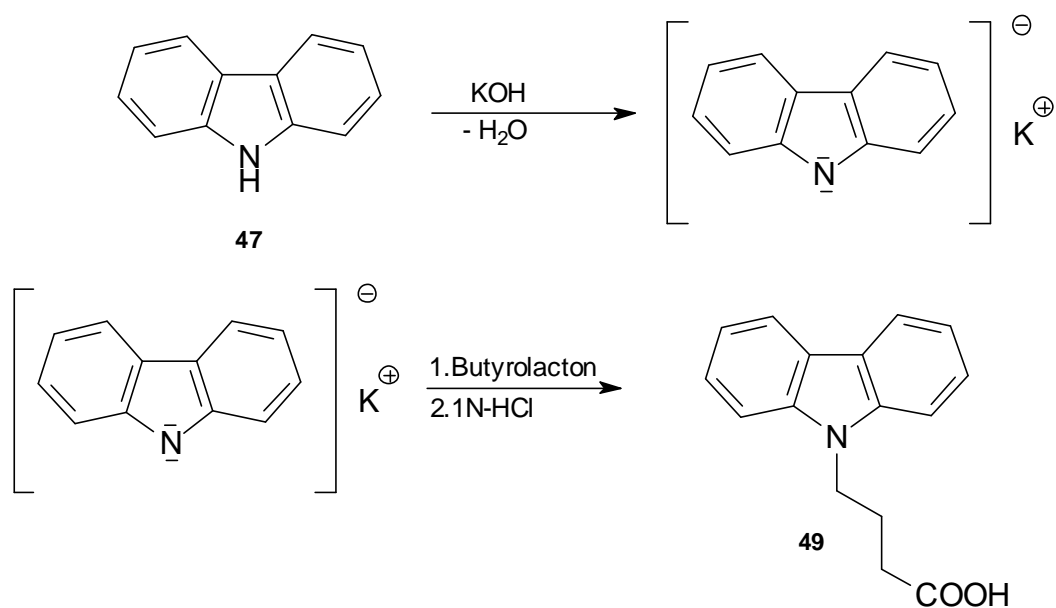
Die Ausbeuten, wie aus der Tabelle in Abb 4.1 ersichtlich ist, waren nicht befriedigend, sollten aber in der erhaltenen Quantität für die weiteren Vorhaben ausreichend sein. Aus diesem Grunde wurde auf eine Optimierung dieses Verfahrens bzw. auf eine Alternative verzichtet.

## 4.2 Darstellung von 4-(9H-9-Carbazolyl)buttersäure

Aufgrund der räumlichen Ausdehnung des Carbazols sollte durch das Einfügen eines Butanoyl-Linkers eine möglichst spannungsfreier interkalativer Bindungsmodus an den Targets (Tumorzellen, DNA) geschaffen werden. Um eventuell eintreffende Auswirkungen auf die Antitumorwirkung in Bezug auf den variierten Linker deutlich zu machen, wurde an dieser Stelle der systematische Linker-Aufbau verlassen; es wurde in dieser Arbeit auf das Einfügen eines Propanoyl-Rests verzichtet. Aus den Erfahrungen mit der 2-Carbazoylessigsäure wurde ein Verfahren gewählt, welches eine Alkalischmelze beinhaltet [80]. Hierbei wird das Carbazol zur Deprotonierung



mit KOH geschmolzen, pulverisiert und anschließend mit  $\gamma$ -Butyrolacton alkyliert. Die Hydrolyse lieferte nach Ansäuern mit wässriger 1N-HCl das gewünschte Produkt. Das im ersten Schritt entstandene Salz wurde zwar isoliert, jedoch nicht auf dessen Existenz hin untersucht (s. Abb. 4.2).

**49**

---

17%

Abb.4.2: Darstellung 4-Carbazoylbuttersäure.

## 5 Darstellung der Combilexine mit verschiedenen N-terminalen und C-terminalen funktionellen Gruppen

### 5.1 Synthese der Combilexine

Die Combilexine besitzen eine weitere Carbonsäureamid-Funktion, für deren Synthese ein präparativ gut zugängliches Verfahren gefunden werden sollte. Es boten sich zur Amid-Synthese verschiedene, in der Literatur bekannte Verfahren an, wie z.B. die CDI- [81] und die DCC-Methode [82] (**50**) (*N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid), aber auch die klassische Umsetzung eines Carbonsäurechlorids [66, 69, 72] mit einem freien Amin. Nach systematischen Versuchen mit diesen drei Reagenzien fiel die Wahl auf die für die Problemstellung geeignetste DCC-Methode. Bei dieser Methode wird das primäre Amin zusammen mit der Carbonsäure und einem basischen Katalysator wie z. B. 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst. Das ebenfalls in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöste DCC wird dann bei  $-20^\circ\text{C}$  tropfenweise zugegeben, dabei wird die Carbonsäure zum reaktiven O-Acylisoharnstoff umgesetzt (s. Abb. 5.1).

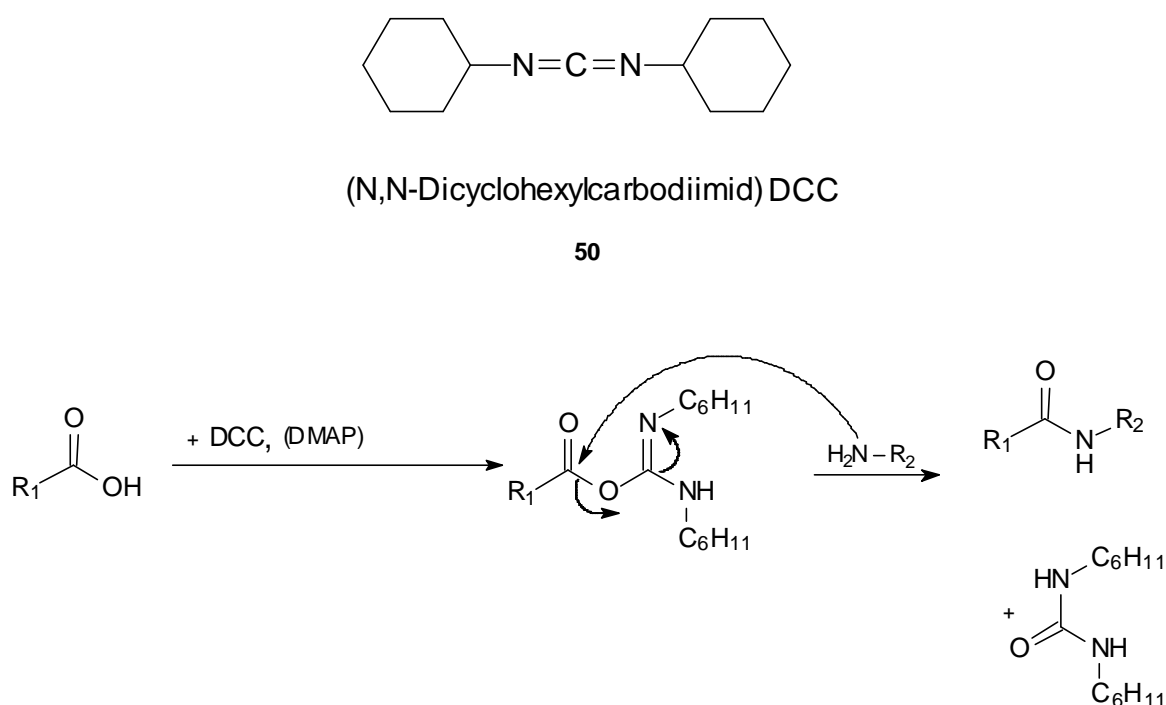


Abb.5.1: Amidbildung mittels DCC (**50**)

Die Amine wurden zuvor durch Reduktion der Nitro-Pyrrolderivate mit Pd10%/ C in Methanol unter Wasserstoffatmosphäre *in situ* erzeugt und nicht isoliert (s. Tab. 5.1 u. Abb. 5.2, S.55). Nach Umsetzung zum Carboxamid waren die reinen Produkte durch Säulenchromatographie leicht zugänglich.

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in der präparativ einfachen Handhabung und in der schonenden Behandlung der Edukte. Die Carbonsäurechlorid- und die CDI-Methode führten zu keiner Umsetzung.

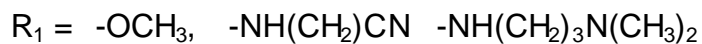
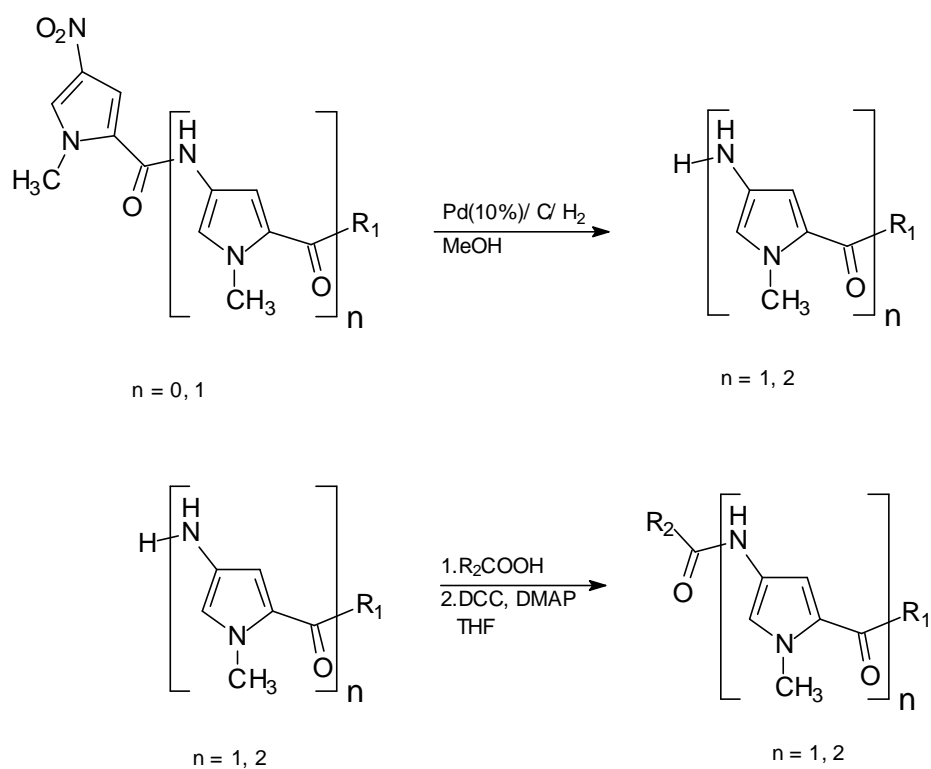
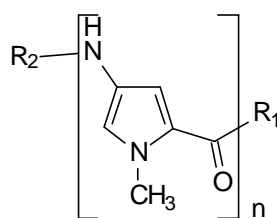


Abb.5.2 : Darstellung der Combilexine. Zunächst wird ein Mono- oder Bis-pyrrol reduziert. Nachdem das entstandene Amin mit der Carbonsäure versetzt worden ist, wird das Gemisch mit DCC zum Carboxamid (Combilexin) verknüpft. ( $\text{R}_2 =$  s. Tab. 5.1, S. 55)



R <sub>2</sub> -	R <sub>1</sub>	n	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
	-OCH <sub>3</sub>	1	72	<b>51</b>
	-HN(CH <sub>2</sub> )CN	1	42	<b>54</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	39	<b>56</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	25	<b>52</b>
	-HN(CH <sub>2</sub> )CN	1	45	<b>55</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	38	<b>57</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	42	<b>58</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	45	<b>59</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	78	<b>53</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	45	<b>60</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	26	<b>61</b>
	-HN(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1	17	<b>62</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	27	<b>63</b>

Tab.5.1: Diese Tabelle zeigt die Combilexine, die nach dem in Abb.5.2 gezeigten DCC-Schema synthetisiert wurden. Py = Pyrrolcarboxamid.

Tabelle 5.1 zeigt, daß die Ausbeuten unterschiedlich befriedigend ausfielen. Ein Grund hierfür liegt darin, daß sich die Carbonsäuren zwar mit DCC umsetzen, das

Zwischenprodukt aber nicht weiter mit dem Amin reagierte. Diese Tatsache zeigte sich durch verschiedene  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ) Untersuchungen: es erschienen, neben den zu erwartenden Carbonsäuresignalen, im Bereich von  $\delta$  [ppm] = 1,0 bis 1,7 starke Signale, die man den Cyclohexylresten zuordnen kann. Ursächlich hierfür ist eine literaturbekannte intramolekulare Umlagerung des Adduktes, die irreversibel zur Bildung eines stabilen Ureids führt [82].

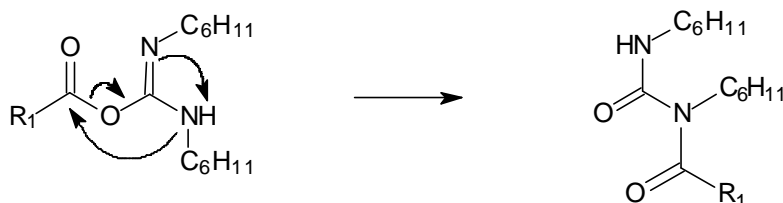


Abb.5.3: Ureidbildung, die u. a. zum Ausbeuteverlust führt.

Außerdem polymerisieren Pyrrole und Pyrrolamine im Sauren ähnlich leicht wie Aniline. Die Polymerisierung wurde nicht untersucht. Hinweise darauf gab es jedoch beim Entfernen des Lösungsmittels, nachdem ein 4-Nitropyrrolderivat (**32**, **42**) reduziert wurde: im Destillationsrückstand befand sich einige Male ein dunkelbrauner Rückstand, der sich nur mäßig in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wieder aufnehmen ließ.

Zur Verbesserung des Verfahrens wurde die Reaktion bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt ( $0^\circ\text{C}$ ,  $60^\circ\text{C}$ ,  $-40^\circ\text{C}$ ), was jedoch keinen weiteren Fortschritt brachte. Der Austausch der Lösungsmittel (THF, Dioxan) während der Phase der Combilexinsynthese brachte ebenfalls keine Ausbeuteverbesserung. Deshalb wurde das gewählte Verfahren beibehalten. Hinsichtlich der bevorstehenden biologischen Testungen und der strukturellen Beschreibungen der Verbindungen konnten die Ausbeuten für die Praxis als ausreichend betrachtet werden.

## 5.2 Strukturaufklärung der Combilexine

Da sich die N-terminalen Funktionsgruppen im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum nicht verändert haben und diese schon in vorherigen Kapiteln besprochen wurden, soll hier nur auf die veränderte Lage der Pyrrolprotonen der Oligopyrrolcarboxamide eingegangen werden. Details sind im Experimentellen Teil (12.2.14.1 - 12.2.14.13, S.141 - 153) dokumentiert.

Durch das Fehlen der Nitrogruppe und die Einführung einer weiteren carboxamidischen Funktion auf dem Weg zu den Combilexinen zeigt sich ein relativ starker Hochfeld-Shift der Pyrrol-Wasserstoff-Protonen im Vergleich zu der Bis-pyrrolnitroverbindung **42** (s. Tab 5.2).

Pyrrol-H	O <sub>2</sub> N-Py-Py-OMe	Het-CONH-Py-Py-OMe
	δ [ppm]	δ [ppm]
3	6,86	6,81
5	7,45	7,11
3'	7,53	7,22
5'	8,18	7,41

Tab.5.2: Diamagnetischer-Shift eines in dieser Arbeit synthetisierten Combilexins gegenüber der Bis-pyrrol-Ausgangsverbindung mit Nitrogruppe; Py = 4-Amino-1-methyl-pyrrol-2-carboxy-

## 6 Zellbiologische Studien und biophysikalische, biochemische Untersuchungen an der DNA

In diesem Kapitel sollen die die Ergebnisse der Untersuchungen auf DNA-Affinität, Interkalation und zellbiologische Eigenschaften der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen hin untersucht werden. Es soll daran überprüft werden, in wie weit sich eine Struktur-Wirkungsbeziehung oder zumindestens eine Vororientierung für nachfolgende Arbeiten erkennen läßt.

Einige der Substanzen wurden vom NCI (*National Cancer Institute*, Bethesda, Maryland, USA) [83] mit einem zellbiologischen Verfahren auf Tumorcytotoxizität untersucht.

Außerdem wurden im Arbeitskreis *Pindur* [84] validierte biophysikalische und biochemische Testungen vorgenommen (Dr. Marotto).

Die Verfahrensweise und deren Ergebnisse sollen in folgender Weise besprochen werden:

- 1) Zellbiologische NCI-Testungen und deren Ergebnisse
- 2) Kurze Beschreibung der verwendeten biophysikalischen und biochemischen Verfahren
- 3) Ergebnisse der Verfahren aus 2)
- 4) Bilanz der Ergebnisse

### 6.1 Zellbiologische NCI-Testungen und deren Ergebnisse

Einige der Substanzen der ersten Serie der vorliegenden Arbeit wurden vom NCI für die Bestimmung von Cytotoxizität in drei empfindlichen Tumorzelllinien (*Preliminary Screening*) ausgewählt (Tab.6.1 u. Abb. 6.1, S. 59 u. 60).

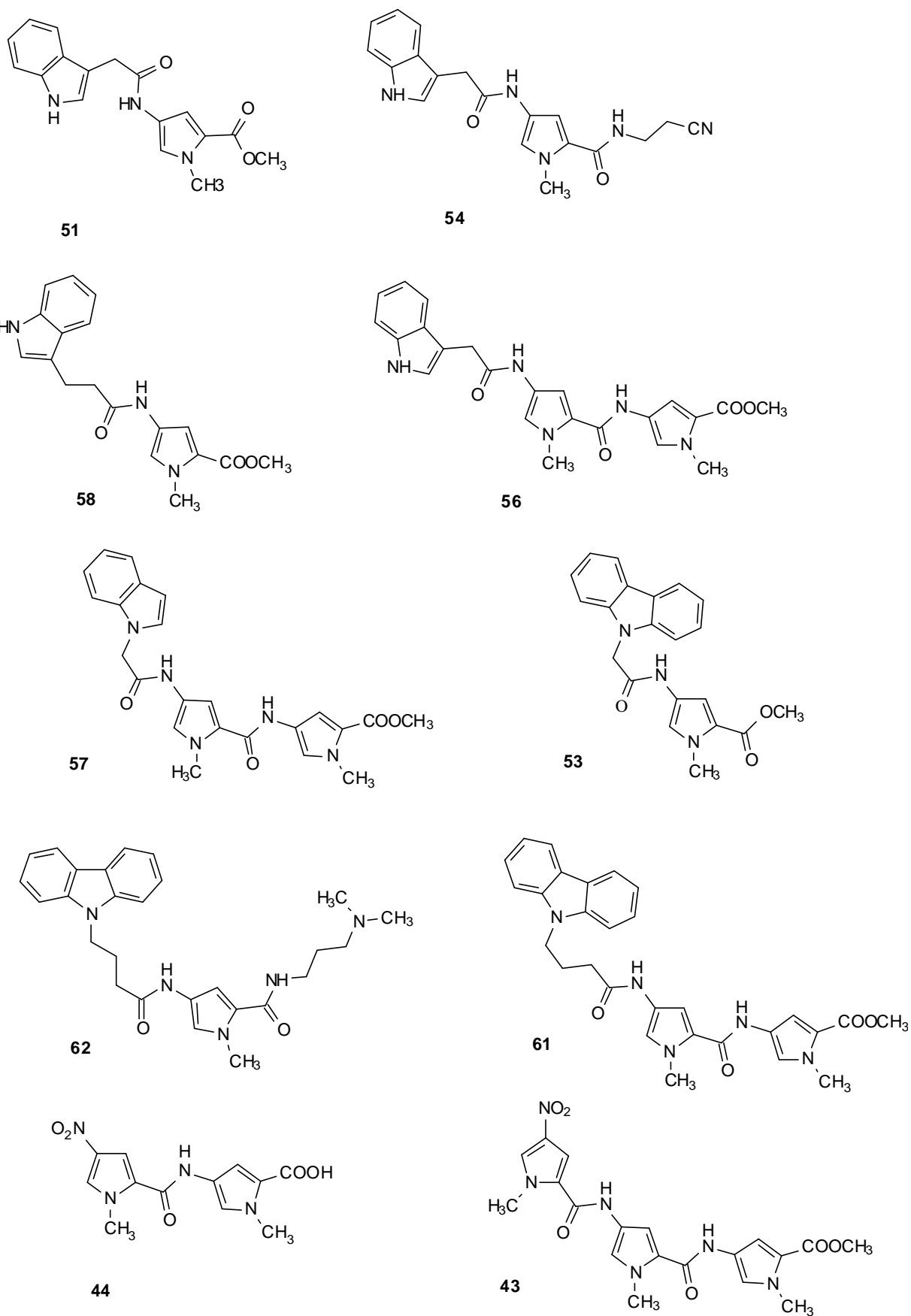


Abb.6.1: Pyrrolcarboxamide, die vom NCI in der ersten Anmelde-Serie ausgewählt wurden.



Verbindung	NCI-H460 (Lunge)	MCF7 (Brust)	SF-268 (ZNS)	Ergebnis
<b>51</b>	31	24	41	aktiv
<b>54</b>	86	53	76	inaktiv
<b>58</b>	102	91	62	inaktiv
<b>56</b>	-2	12	23	aktiv
<b>57</b>	109	90	93	inaktiv
<b>59</b>	113	86	83	inaktiv
<b>53</b>	14	31	7	aktiv
<b>62</b>	10	13	36	aktiv
<b>62</b>	93	84	96	inaktiv
<b>44</b>	104	74	97	inaktiv
<b>43</b>	14	62	59	aktiv

Tab 6.1.: Vom NCI ausgewählte Verbindungen der ersten synthetischen Serie und die Ergebnisse des Preliminary Screenings. Die Werte in der Tabelle geben das Zellwachstum der Tumorzell-Linien in Prozent an, nachdem die Zellkulturen mit einer  $10^{-4}$  M Lösung der Testsubstanz versetzt worden sind. Je kleiner die Werte in der Tabelle sind, um so stärker cytotoxisch wirksam ist die Substanz.

Die Verbindungen **51**, **56**, **53**, **62** und **43** zeigten eine richtungsweisende Zellwachstumshemmung und wurden vom NCI im Hauptassay auf 60 Tumorzell-Linien weiter getestet (*Primary Screening*). Die Ergebnisse dieses Tests mit einigen Tumorzell-Linien, die biologisch ausreichend gehemmt werden, sind in Tabelle 6.2, S. 61 aufgeführt.

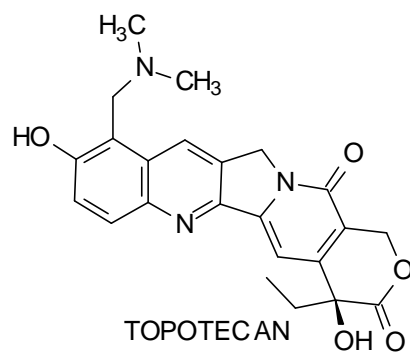
Verbindung	60 Zelllinien (Auswahl)	Tumorzell-Linie	GI <sub>50</sub> [M]
<b>51</b>	UACC-62	Melanom	8,69 10 <sup>-6</sup>
<b>53</b>	HS 578T	Brust	1,47 10 <sup>-5</sup>
<b>56</b>	SK-MEL	Melanom	1,60 10 <sup>-6</sup>
<b>62</b>	HOP 92	Nicht kl.-zell. Lungenkrebs	2,30 10 <sup>-5</sup>
<b>43</b>	IGROV1	Ovarial Krebs	1,47 10 <sup>-8</sup>

Tab 6.2: Die hier angegebenen Werte stammen aus der 60 Tumorzell-Linien Testung (Primary Screening). Die Werte aus dem Zellpool geben die molare Konzentration der Testsubstanz an, bei der die Wachstumshemmung der Zellen 50% beträgt (GI<sub>50</sub> in Mol).

Die Ergebnisse des *Primary Screenings* zeigten eine ausgeprägte Selektivität der zytotoxischen Wirkung von **62** für die Linie HOP 92 (*non small lung cancer* oder nicht kleinzelliger Lungenkrebs) und von Verbindung **43** für die Linie IGROV1 (Ovarialkrebs). Da die angegebenen Hemm-Konzentrationen noch zu hoch waren, wurde die Testung am Tier nicht weiter fortgesetzt. Der Vergleich mit dem Topoisomerase I-Hemmstoff Topotecan (**64**) (Tab. 6.3) zeigt aber, daß in Hinsicht auf die Selektivität der Wirkung und dem Konzentrationsbereich für die durchschnittlichen GI<sub>50</sub> Werte die Substanzen **62** und **43** von pharmakologischem Interesse sind.

Verbindung	<b>62</b>	<b>43</b>	Topotecan
Mean GI <sub>50</sub>	-4,52	-4,27	-7,2
GI <sub>50</sub> HOP92	-5,67	-4,84	-6,94
GI <sub>50</sub> IGROV1	-5,18	-7,83	-6,39

Tab 6.3: Durchschnittliche GI<sub>50</sub> Werte und Selektivität der Verbindungen **62** und **43** als log<sub>10</sub> der molaren Konzentration im Vergleich mit dem Topoisomerase I-Hemmer Topotecan (**64**).



## 6.2 Kurze Beschreibung der verwendeten biophysikalischen und biochemischen Verfahren

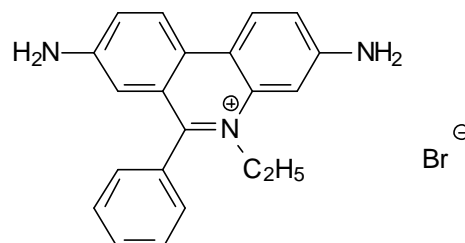
### 6.2.1 Thermische Denaturierung/Bestimmung der Schmelztemperatur der DNA ( $DT_m$ -Wert) [85] [84]

Durch Temperaturerhöhung einer wässrigen DNA-Lösung kommt es zum "Schmelzen" der DNA, d. h. die Doppel-Stränge trennen sich voneinander. Der Denaturierungsprozeß wird über eine charakteristische Absorption im UV-Bereich ( $\lambda = 250-280$  nm) bestimmt. Die Absorption erfährt durch eine Denaturierung eine hypochrome Verschiebung. Der  $T_m$ -Wert ist der Wendepunkt der Absorptionskurve (die Hälfte der DNA liegt als Doppelstrang, die andere Hälfte als Einzelstrang vor).

Tritt eine Substanz in Wechselwirkung mit der DNA, wird die Doppelhelix stabilisiert und es kommt zu einer Erhöhung der charakteristischen Denaturierungstemperatur. Die Differenz zwischen  $T_m^0$  der reinen Nucleinsäure und  $T_m$  der Nucleinsäure mit gebundener Substanz ist der  $\Delta T_m$ -Wert. Dieser korreliert mit der Bindungsaffinität einer Substanz an die DNA, aber ohne Informationen über den Bindungsmodus. Im Arbeitskreis *Pindur* (Dr. Marotto) wurde für die vorliegenden Testungen das Polynucleotid Poly [dA-dT]•Poly [dA-dT] verwendet ( $T_m = 46,6^\circ$  C).

### 6.2.2 Ethidiumbromid-Verdrängungsassay [85]

Ethidiumbromid (**65**) ist ein Fluoreszenzfarbstoff, der durch Interkalation an die DNA bindet.



Ethidiumbromid (**65**)

Der Ethidiumbromid-Verdrängungsassay [86,87] basiert auf einer fluorimetrischen Titration. Die DNA wird mit Ethidiumbromid beladen, wodurch ein fluoreszierender Komplex entsteht. Durch Zugabe einer DNA-bindenden Substanz nimmt die Fluoreszenz ab, denn das Ethidiumbromid wurde aus seinen Bindungsstellen auf der DNA verdrängt. Die Konzentration einer Substanz, die eine 50%ige Abnahme der Fluoreszenz verursacht, wird als  $C_{50}$  bezeichnet. Mit dem Ethidiumbromid-Verdrängungsassay wird die DNA-Affinität einer Reihe strukturell ähnlicher Verbindungen verglichen, insbesondere, wenn sie einen ähnlichen Bindungsmodus aufweisen (z. B. Interkalatoren). Ist der Bindungsmodus verschiedener Substanzen nicht bekannt, können die  $C_{50}$ -Werte im Vergleich zu fehlerhaften Aussagen führen. Im Arbeitskreis *Pindur* wurde für die hier vorliegenden Stoffe der kleinen Rinnenbinder Distamycin A (**12**) als Vergleichs-Substanzen verwendet.

### 6.2.3 Topoisomerase I-Hemmung

Topoisomerasen sind ein interessantes Target für Stoffe mit antitumoraler Wirkung [88], denn sie stellen für die Zellen lebenswichtige Enzyme dar [5] (s. Kap. 1, S. 2). Die Topoisomerase I relaxiert superhelikale DNA durch einen Einzelstrangbruch, so daß die Replikation und Transkription stattfinden können.

Die Bestimmung der Topoisomerase I-Hemmung wird mit einer DNA durchgeführt, die zu 80% aus der superhelikalen Form I und höchstens 20% der "nicked" Form II (mit einem Einzelstrangbruch) besteht (Plasmid-DNA pUC 19, GIBCO Life Technologies; 0,033  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ).

In diesem Assay wird die Plasmid-DNA für 15 min bei 35° C in Anwesenheit verschiedener Konzentrationen der Testverbindungen (5, 20 ,50  $\mu\text{M}$ ) in einem Reaktionspuffer für die Topoisomerase I, der die physiologischen Verhältnisse wiedergibt, inkubiert, anschließend mit Topoisomerase I (Topo Gen; 0,25 U/ $\mu\text{l}$ ) versetzt, so daß ein Gesamtvolumen von 21  $\mu\text{l}$  erreicht wurde. Dann wurde nochmals für 15 min bei 35° C inkubiert [84].

Jede Reaktion wurde mit einer 1:1 Mischung aus SDS (Sodium Dodecylsulfat) und Proteinkinase K behandelt, um die Reaktion zu stoppen und die Topoisomerase abzuspalten [89,90]. Die erhaltene Lösung wurde mit 2  $\mu\text{l}$  Auftragspuffer versetzt und auf ein 1%iges Agarosegel aufgetragen und mittels Gelelektrophorese getrennt; superhelikale DNA wandert durch ihre kompakte Struktur schneller als relaxierte

durch das poröse Gel. Wird die Topoisomerase I durch die Testsubstanz gehemmt, bleibt die DNA superspiralisiert. Als Vergleichssubstanz wurde Camptothecin aufgetragen.

Nach der Trennung wird das Gel mit Ethidiumbromid gefärbt und mit Wasser gewaschen; die Dokumentation erfolgte mittels Polaroid-Photographie und Scannen zur digitalen Verarbeitung.

Je weniger Testsubstanz benötigt wird, um so stärker ist die Topoisomerase I-Hemmung [91].

#### **6.2.4 Topoisomerase II-Hemmung [84]**

Die Topoisomerase II-Hemmung wurde an einigen der vorliegenden Verbindungen im Arbeitskreis von *Prof. C. Bailly* in einem ähnlichen Verfahren wie bei der Topoisomerase I-Hemmung durchgeführt [92]. Da aber bei den getesteten Verbindungen keine deutliche Hemmung der Topoisomerase II festzustellen war, soll hier auch nicht näher auf dieses Testsystem eingegangen werden.

#### **6.2.5 Bestimmung des Bindungsmodus [84,86,87]**

Eine exakte Bestimmung des Bindungsmodus eines DNA-Liganden kann direkt nur mit der NMR-Spektroskopie oder Röntgen-Kristallographie erreicht werden.

Deshalb ist nur eine indirekte Bestimmung durch Veränderungen an der DNA-Struktur, die durch Interkalation bzw. Rinnenbindung verursacht wird möglich [93,94]. Eine im Arbeitskreis *Pindur* etablierte Methode zur Bestimmung der Interkalation ist der Unwinding-Assay [95]. Da diese Methode auf der Topoisomerase I-Wirkung basiert, konnten viele der synthetisierten Substanzen nicht untersucht werden, da sie eine Topoisomerase I-Hemmung zeigen.

Für die Bestimmung der Bindungsstellen auf der DNA wird auch der Footprinting-Assay eingesetzt [96]. Eine Footprinting-Analyse wurde an einigen unserer Substanzen bei *Prof. C. Bailly* exemplarisch durchgeführt, wobei aber keine sequenzspezifische DNA-Bindung festgestellt werden konnte.

### 6.3 Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Verfahren

Die in Tab. 6.4 zusammengefassten Verbindungen wurden mit den oben beschriebenen Methoden analysiert. Die Ergebnisse werden anschließend kommentiert.

R <sub>2</sub> -	R <sub>1</sub>	n	Verbind. Nr.
	-OCH <sub>3</sub>	1	<b>51</b>
	-HN(CH <sub>2</sub> )CN	1	<b>54</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	<b>56</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	<b>52</b>
	-HN(CH <sub>2</sub> )CN	1	<b>55</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	<b>57</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	<b>58</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	<b>59</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	<b>53</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	<b>60</b>
	-OCH <sub>3</sub>	2	<b>61</b>
	HN(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1	<b>62</b>
	-OCH <sub>3</sub>	1	<b>63</b>

Tab.6.4: Testsubstanzen, die untersucht wurden Py = Bindungsstelle zur Pyrrolbasis-Einheit (s. o.).

Die Denaturierungsexperimente wurden nur bei den Substanzen **25, 42, 44, 51, 53, 56, 59, 61, 62** und **63** durchgeführt, die bei NCI eine Antitumoraktivität aufwiesen. Keine dieser Substanzen zeigte eine Temperaturerhöhung der DNA-Schmelztemperatur.

Der Ethidiumbromid-Assay wurde an den Substanzen **25, 42, 44, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62** und **63** durchgeführt. Es konnte eine geringe Abnahme der Fluoreszenz bei allen Substanzen gefunden werden. Die Abnahme der Fluoreszenz kann jedoch nicht nur durch Verdrängung von Ethidiumbromid verursacht worden sein, sondern auch durch eine Art Quenching. Ein  $C_{50}$ -Wert konnte in keinem Fall ermittelt werden, da die Stoffe offenbar zu lipophil waren und sich nicht vollständig lösten.

Einige der getesteten Substanzen (**25, 42, 44, 53, 54, 56, 57** und **59**), zeigten eine Topoisomerase I-Hemmung, die einer der Kern-Effekte der Stoffe war.

Verbindung	<b>25</b>	<b>42</b>	<b>44</b>	<b>53</b>	<b>54</b>	<b>56</b>	<b>57</b>	<b>59</b>
TOPO I- [ $\mu$ M]	05	50	50	05	20	20	20	05

Tab. 6.5.: Die Tabelle zeigt die Werte der Topoisomerase I-Hemmungs-Konzentrationen [ $\mu$ M] [83, 84].

Der Footprinting-Assay (C. Bailly) zeigte keine Selektivität.

#### 6.4 Bilanz der Ergebnisse

Die Testergebnisse dieser ersten Serie in der Arbeit lassen sich wie folgt kommentieren:

Einige der Substanzen zeigten eine Topoisomerase I-Hemmung (**25, 42, 44, 53, 54, 56, 57** und **59**), so daß eine Fortsetzung dieser Substanzreihe in pharmakologischer Hinsicht sinnvoll erschien. Durch das Assay-System bedingt (physikalische Gründe, u. a. die Löslichkeit der Testsubstanzen), ließ sich eine Interkalation bisher nicht nachweisen.

Vergleicht man die bei NCI aktiven Substanzen hinsichtlich ihrer Strukturen, so läßt sich feststellen, daß sich aufgrund einer großen strukturellen Heterogenität der vorliegenden Stoffe keine klare Struktur-Wirkungsbeziehung ableiten läßt.



Bemerkenswert ist jedoch die Tatsache, daß beide antitumoraktiven Verbindungen **53** und **62** einen Carbazolring enthalten.

Die aktive Verbindung **56** enthält zwei und **43** enthält drei Pyrrolringe.

Die meisten der bei NCI aktiven Verbindungen (**53**, **56**, **43**) zeigen auch eine Topoisomerase I-Hemmung.

Wie es in der Zielsetzung schon erwähnt wurde (s. Kap. 1.3, S. 20), sollte u. a. der Einfluß des C-Terminus untersucht werden. Bei den Estern handelt es sich um hydrophobe Substanzen. So sollte bei der folgenden Serie von Combilexinen als C-Terminus *N,N*-dimethyl-propan-1,3-diamin eingesetzt werden, der eine größere elektrostatische Ähnlichkeit mit der Amidin-Gruppe des Netropsin aufweist als die entsprechenden Methyl ester bzw. als die Propionitrile. Da es sich beim *N,N*-dimethyl-propan-1,3-diamin-Rest um einen hydrophilen C-Terminus handelt, sollte diese Gegebenheit auch eine bessere Löslichkeit in Bezug auf den Ethidiumbromid-Assay zur Folge haben. In einigen Fällen konnte eine exakte Bestimmung der Verdrängung von Ethidiumbromid an der Test-DNA nicht durchgeführt werden, da keine ausreichende Löslichkeit der Testsubstanzen vorlag.

## 7 Darstellung der Oligopyrrolcarboxamide mit C-terminaler N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion

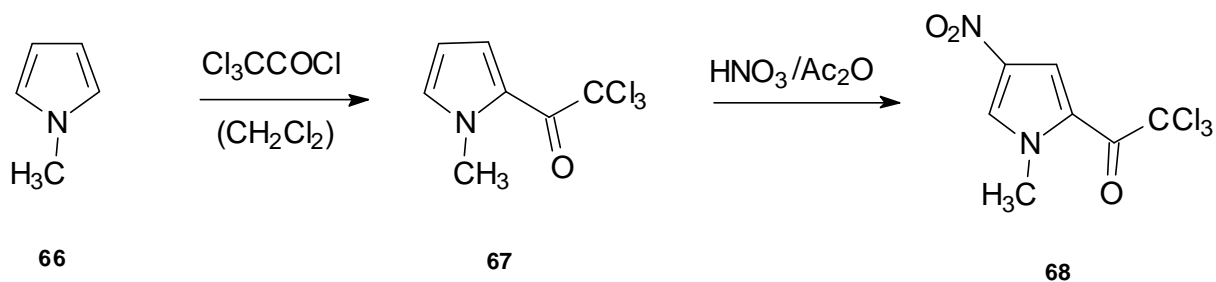
### 7.1 Synthese der Oligopyrrolcarboxamide

Es war u. a. Ziel der vorliegenden Arbeit den Einfluß des C-Terminus zu untersuchen. In der ersten Substanz-Testreihe (s. Kap. 5, S. 53) wurden Methylester, Carbonsäuren und Propionitrile als C-Terminus eingeführt. Die geplante Variation am C-Terminus und Löslichkeits-Probleme beim Ethidiumbromid-Assay (s. Kap. 6, S. 63) ließen es zur Molekülprofilierung sinnvoll erscheinen, in die Oligopyrrolcarboxamide *N,N*-Dimethylamino-1,3-diaminopropan-Gruppe als C-terminale Funktion einzuführen. Dies zeigt auch eine gewisse elektrostatische Verwandtschaft zum Amidin-System im Netropsin und Distamycin A. Dieses sollte zunächst nach dem Verfahren von *Lown* [66], bzw. *Bialer* [67] erfolgen (durch Carbonsäurechloride), da dieses bei der Mono-pyrrol-Variante (s.Kap. 3.2/3.5, S. 35 u. 39) erfolgreich verlief. Es sollten Bis- und Tris-pyrrole aufgebaut werden, die diese Seitenfunktion tragen.

Das Carbonsäurechlorid-Verfahren führte aber zu keiner Umsetzung zu den gewünschten Produkten. Das Mono-pyrrol mit der schon vorhandenen C-terminalen Seitenfunktion (**40**) wurde in Methanol (Pd(10%)/ C/ H<sub>2</sub>) reduziert und ohne Aufarbeitung, nach Entfernen des LM, mit Mono-pyrrol-2-carbonsäurechlorid (**38**) umgesetzt. Es zeigte sich aber, daß die Bildung des Methylesters (**32**) in Gegenwart von Methanol bevorzugt war. Daher wurde bei den nächsten Versuchen das Methanol gegen THF bzw. Dioxan ausgetauscht. Die Bildung des Esters unterblieb, die Umsetzung zum gewünschten Produkt erfolgte hier ebenfalls nicht.

Daher wurde nach einem alternativen Verfahren gesucht, welches eine nucleofugere Abgangsgruppe des Carbonsäurepartners benutzte.

Es wurde ein Syntheseverfahren gefunden, welches von *Nishiwaki* und *Shibuya* entwickelt worden ist [97]. Hierbei wird *N*-Methylpyrrol (**66**) wird in 2 Position mit Trichloressigsäurechlorid in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei RT zu **67** acetyliert. Es folgt eine Nitrierung von **67** bei -40 °C mit Acetanhydrid/HNO<sub>3</sub> (65%) unter Bildung von **68**.

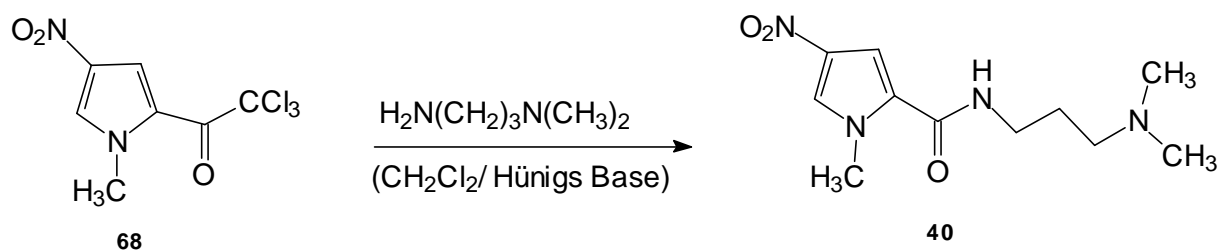


<b>67</b>	<b>68</b>
41 %	53 %

Abb.7.1: Darstellung von 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon (**68**). Nach Acetylierung von *N*-Methylpyrrol wird das Zwischenprodukt Nitriert.

Im weiteren Verlauf der Synthese von Bis- und Tris-pyrrolen mit C-terminaler Propylendiamin Seitenfunktion sollte sich die Tauglichkeit der nucleofugeren "Trichlormethylcarbanion"-Abgangsgruppe unter Beweis gestellt werden.

Der Versuch, *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  unter Zusatz von Hünigs Base mit **68** umzusetzen, führte zur einer quantitativ gleichen Ausbeute (66%) wie bei **40** (s. Kap. 3.2, S. 35)



**40**

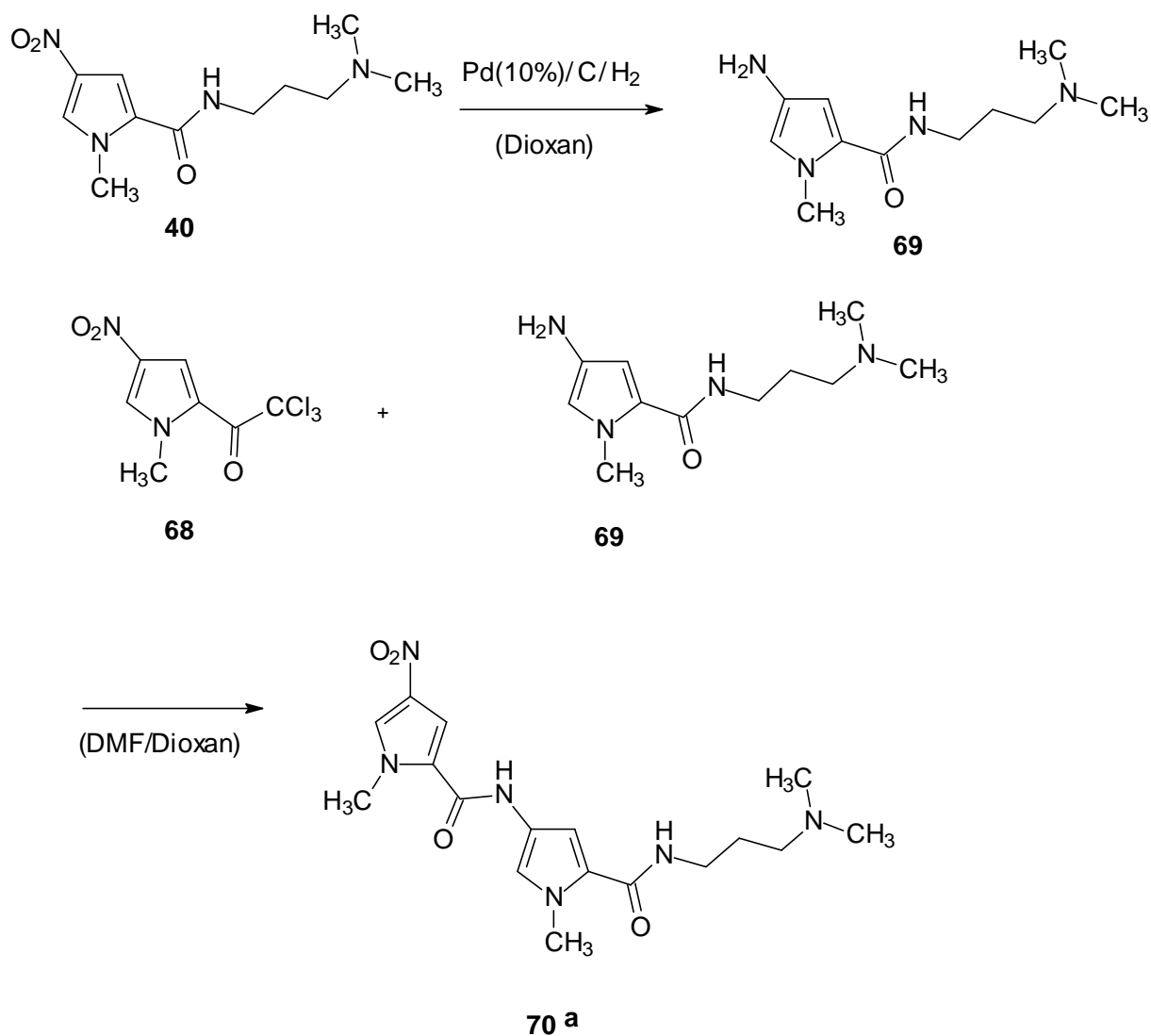
66%

Abb.7.2: Einführung der Propylendiaminseitenfunktion.

Wie schon bei dem ersten Syntheseverfahren nach *Lown* und *Bialer* wurde der Pyrrolbaustein **40** mit Pd(10%)/C/H<sub>2</sub> in Dioxan reduziert. Dioxan muß im Gegensatz zu Methanol im ersten Verfahren (s. Kap. 3.2, S. 35) nach erfolgter Reduktion nicht

destillativ entfernt werden und konnte so direkt als Lösungsmittel bei der DCC-Kupplung verwendet werden. Dadurch wird das entstandene Amin thermisch geschont.

Nach erfolgter Reduktion wurde das aktivierte Pyrrolderivat **68** in DMF gelöst und zu der Lösung des Amins **69** zugegeben. Bei dieser Methode entstand das gewünschte Bis-pyrrolderivat (**70a**) (s. Abb. 7.3).



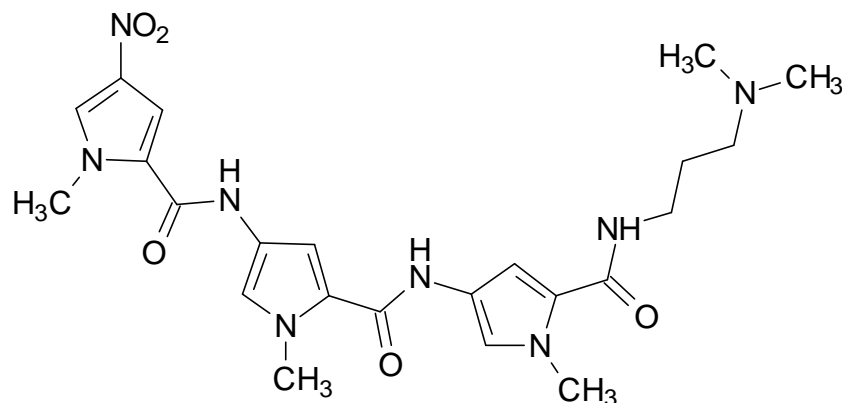
**70a**

---

22 %

Abb.7.3. Darstellung eines Bis-pyrrols (**70a**) mit C-terminaler Propandiamin Funktion.

Das entsprechende Tris-pyrrol (**70b**) wurde auf die gleiche Weise synthetisiert, nur daß anstelle des Mono-pyrrols **40** das Bis-pyrrol **70a** reduziert wurde. Anschließend wurde das Amin ebenfalls mit dem aktivierten Pyrrol-Baustein **68** umgesetzt (34%).



**70b**

Somit waren die Oligopyrrolcarboxamideinheiten, die zum Aufbau der zweiten Generation Combilexine der vorliegenden Arbeit benötigt wurden, vorhanden.

## 7.2 Strukturaufklärung von Pyrroleinheiten mit C-terminaler Propylendiamin Funktion

Bei Verbindung **67** ist eine eindeutige Zuordnung der drei Pyrrol-Protonen mit einer einfachen  $^1\text{H-NMR}$ -Messung nicht möglich, da hier ein ABC-Spin-System vorliegt.

Die beiden heteroaromatischen Protonen in Verbindung **68** zeigen eine  $^4\text{J}$ -Kopplung, welche die 2,4-Substitution am Pyrrolring beweist. Im Gegensatz zur Verbindung **32** [(7,31 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,6$  Hz, Pyrrol-H3), 8,05 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,6$  Hz, Pyrrol-H5)], liegt hier ein paramagnetische Verschiebung vor, der sich durch die starken -I-Effekte der  $\text{COCCl}_3$  und der Nitrogruppe (die einen zusätzlichen -M-Effekt aufweist) erklären läßt [7,78 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,84$  Hz, Pyrrol-H3), 8,55 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,7$  Hz, Pyrrol-H5)].

Die Daten des Mono-pyrrol-Propylendiamins **40** befinden sich in Kap. 3.3 (S. 36).

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Signal des Oligopyrrolcarboxamids **70a** mit C-terminaler Propylamin-Funktion besitzen nahezu die gleichen  $\delta$  [ppm] Werte wie Verbindung **42** mit C-terminaler Methyl ester-Funktion. Nur das Pyrrol-H5-Atom ist hier etwas ins hohe Feld verschoben (von 7,45 bei **42** zu 7,19 bei **70a**). Die Position der Pyrrol-Protonen sollte

daher die gleiche sein wie sie in Kap. 3.6, S. 40 ff. besprochenen NOE-Experiment ermittelt wurde. Die mit diesem Experiment durch Signalüberlagerung nicht durchführbare Zuordnung betrifft wie bei Verbindung **43** auch Verbindung **70b** (s. Kap. 3.6).

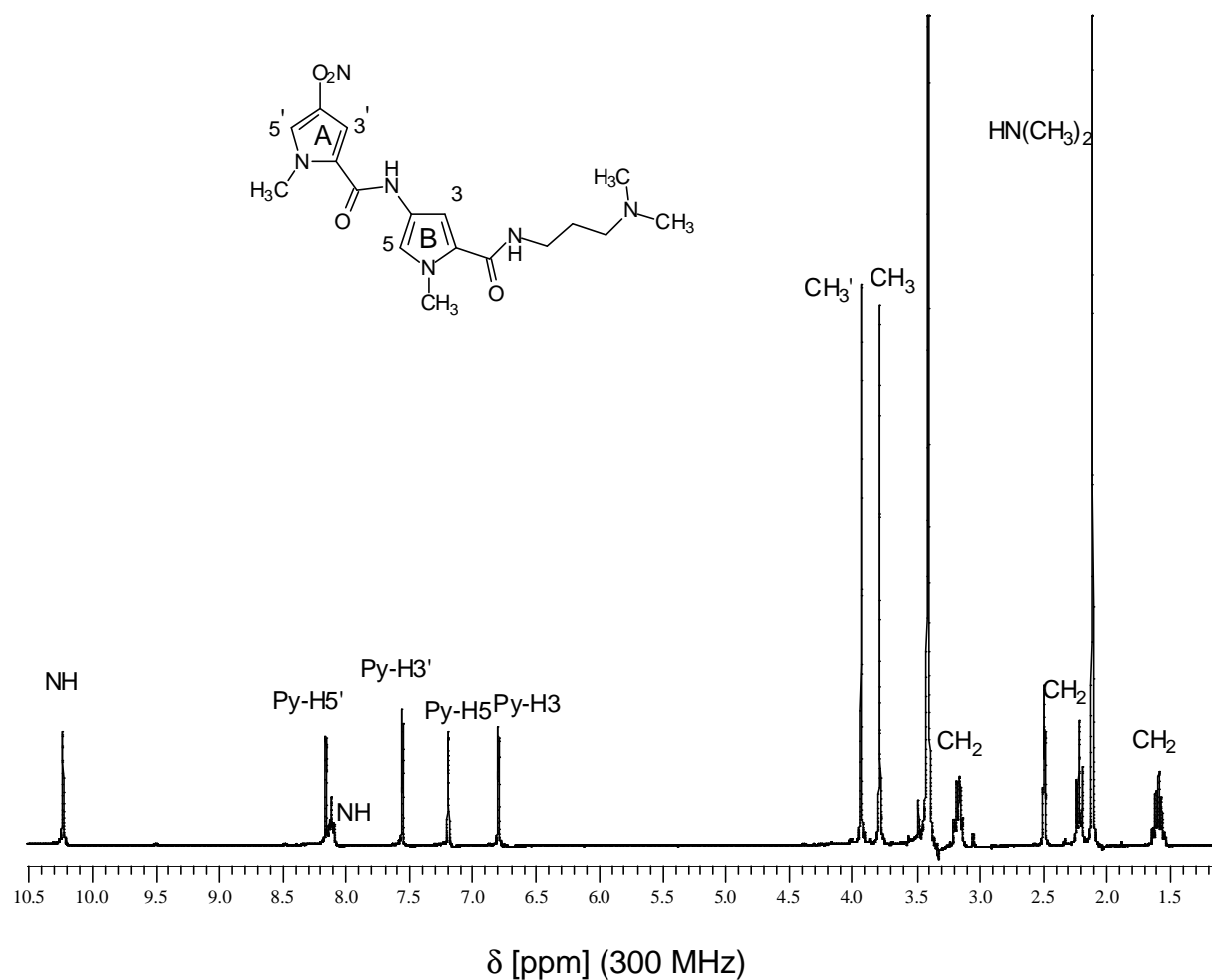


Abb.7.4: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung **70a**.

## **8 Darstellung der Combilexine mit Mono-, Bis-, Tris-pyrroleinheiten, C-terminaler N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan Funktion und verschiedenen N-terminalen Gruppen**

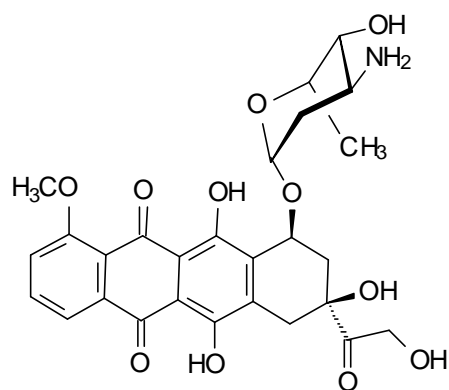
Einleitend zu diesem Abschnitt sollen die folgenden Auswahlkriterien (s. auch Zielsetzung, s. 20) der verschiedenen N-terminalen funktionellen Gruppen erörtert werden.

Durch die vorangegangenen biophysikalischen und biochemischen Testungen gab es Hinweise auf die Bedeutung von mindestens drei Carboxamidgruppen in den getesteten Molekülen (s. S. 67). Daher sollte neben dem Einfügen heterocyclischer Carbonsäuren (s. erste Syntheserieihe, Kap. 5, S. 53) auch eine einfache Acetylgruppe eingeführt werden, um den Einfluß der Amid-Funktion als Strukturelement sowie deren Anzahl auf die biologische Wirksamkeit zu überprüfen.

Desweiteren hatten die Testungen gezeigt (s. S. 66-68), daß eine interkalierende Eigenschaft der synthetisierten Moleküle nicht nachgewiesen werden konnte. Offensichtlich waren die eingesetzten Heterocyclen zu gering anelliert, um eine Interkalation zu bewirken. Daher wurde nach einem literaturbekannten Interkalator als Chromophor recherchiert.

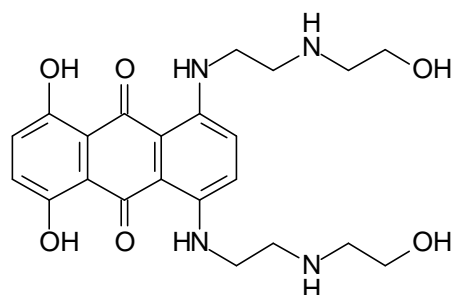
Die Wahl fiel auf 9,10-Anthrachinon, weil dieses in der Wirkstoffentwicklung zur Tumor-Apoptose beschrieben wird [98]. Anthrachinone und deren Konjugate [99] katalysieren die DNA-Spaltung durch (UV)Lichtaktivierung [100]. Außerdem sind Anthrachinone geeignet, um freie Radikale abzufangen.

Auch Doxorubicin (**5**) und Mitoxantron (**6**) sind antitumoraktive Anthrachinone, welche die DNA durch Enzymaktivierung spalten [101]. Das vollsynthetische Mitoxantron besitzt eine basisch funktionalisierte Anthrachinonstruktur und zeigt ein vergleichbares Strukturprinzip, wie es in Anthracyclinen vorliegt: Ring A der Anthracycline hat einen  $\alpha$ -glycosidisch verknüpften Aminozucker [102].



Doxorubicin

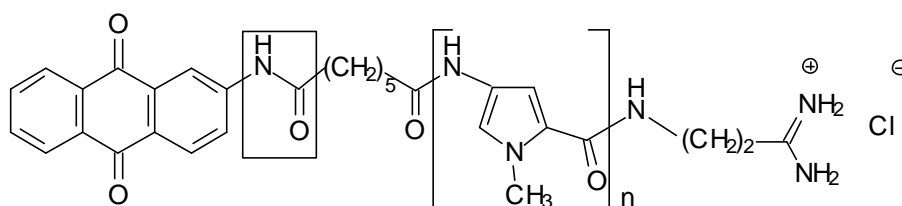
6



Mitoxantron

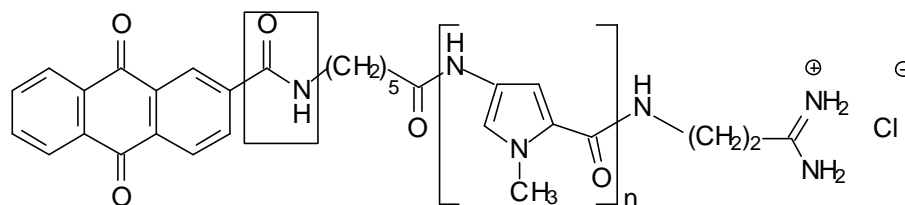
7

9, 10-Anthrachinone, die in  $\beta$ -Position mit einer Amino-Gruppe substituiert sind, gelten als effiziente "Strang-Spalter" der DNA [99] [103]. In der Literatur sind solche Konjugate oder Combilexine bekannt, die von *Helissey* et al. erstmals synthetisiert und getestet wurden [104]



$n = 2$ , AQ<sub>NC</sub>-Net 20

$n = 3$ , AQ<sub>NC</sub>-Dist 71



$n = 2$ , AQ<sub>CN</sub>-Net 72

Die Substanzen AQ<sub>NC</sub>-Net (20) und AQ<sub>NC</sub>-Dist (71) spalten die DNA unspezifisch, AQ<sub>CN</sub>-Net (72) ist als Wirkstoff in Bezug auf eine Spaltung inaktiv, bindet aber an AT-reiche DNA-Sequenzen [99].



Da in dieser Reihe noch kein Sulfonamid-Strukturelement existiert, sollte nach Berücksichtigung der genannten Kriterien Anthrachinon-2-sulfonsäure zum Einsatz kommen, die direkt als Sulfonamid an die Oligopyrrolcarboxamide synthetisiert werden sollte. Als Variante dazu sollte die Anthrachinon-2-sulfonsäure über einen  $\gamma$ -Aminobuttersäure-Linker verknüpft werden, um den pharmakologischen Unterschied zwischen den Substanzen der direkten Anthrachinonsulfonyl-Verknüpfung mit der Pyrrolkette und der Substanz, die über einen C4-Linker (GABA) gebunden ist, zu untersuchen. GABA wurde in als Linker gewählt, da dieser dem räumlich ausgedehnten Anthrachinon-Ringsystem die konformativ nötige "interkalative Flexibilität" in Bezug auf deren Target-Bindung (Tumorzellen, DNA) geben sollte.

Schließlich sollten aber auch die bisher verwendeten heterocyclischen Carbonsäuren zum Einsatz kommen, um den Vergleich zwischen den verschiedenen C-terminalen Funktionen (Methylester, Propionitrile und Propandiamine) hinsichtlich der oben durchgeführten Testungen zu gewährleisten.

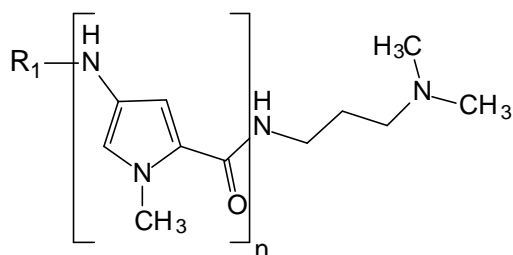
Außerdem war es von Interesse, verschiedene in der DNA vorkommende Basen (Thymin, Adenin) mit Hilfe von Schutzgruppentechniken als N-terminale Funktionen einzusetzen, um deren Effekt auf die Bindung in der kleinen Rinne der DNA zu untersuchen, bzw. um ein gut zugängliches Verfahren zu deren Darstellung zu entwickeln, wie es auch schon in der Zielsetzung (s. Kap. 1.3, S. 20) besprochen worden ist.

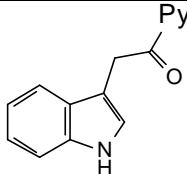
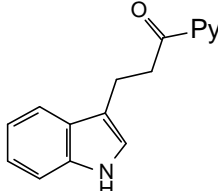
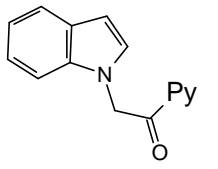
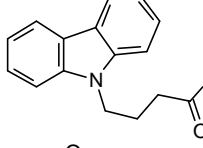
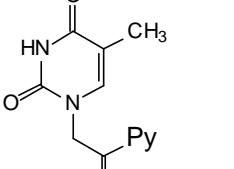
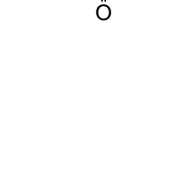
### **8.1 Darstellung neuer Combilexine mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion mittels der DCC-Methode**

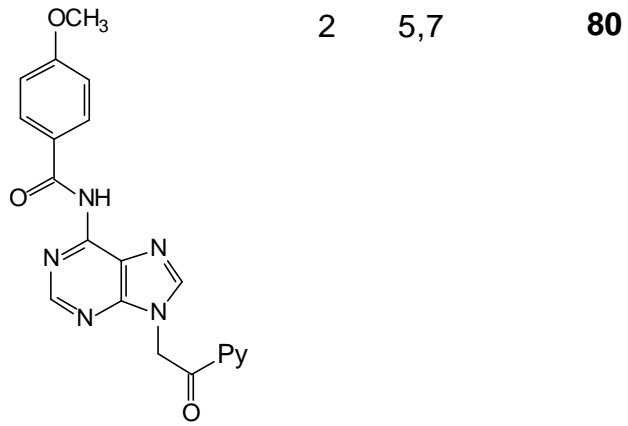
In analoger Weise wie in Kap.5 (S. 53) beschrieben, wurden die in der Tabelle 8.1 (S. 77) gezeigten Combilexine durch die DCC-Methode [82] dargestellt. Sie beinhalten fast alle die gleichen N-terminalen funktionellen Gruppen, die in der ersten Synthesereihe (ab S. 53) vorgestellt wurden. Geändert wurden bei der Synthese das Lösungsmittel (Dioxan, z.T. auch DMF anstelle von  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) und die Reaktionstemperatur (RT, zuvor  $-20^\circ\text{C}$ ). Nach erfolgter Umsetzung waren die reinen Produkte durch Säulenchromatographie über Kieselgel [(MeOH/NH<sub>3</sub>(25%)-97/3)] erhältlich. Bei der Auswahl des Laufmittels wurde der gestiegenen Polarität der

Produkte Rechnung getragen. Als Nachteil wirkte sich jedoch in einigen Fällen die durch das Kieselgel katalysierte Zersetzung der Bis- und Tris-pyrrol-Einheiten zu Mono-pyrroleinheiten aus ( $^1\text{H-NMR}$ -Analysen, DC-Kontrolle).

Der Mechanismus der Amidbildung mit DCC wurde bereits beschrieben (s. Kap. 5, S. 53 f.). Die heterocyclischen Carbonsäuren wurden kommerziell erworben oder, wie oben beschrieben, (s. Kap. 4, S. 50 ff.) synthetisiert (**46**, **48**, **49**)[78,79,80].



R <sub>1</sub>	n	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
Py	1	44,6	<b>73</b>
	2	27,8	<b>74</b>
	2	23,1	<b>75</b>
	3	6,7	<b>76</b>
	2	80,6	<b>77</b>
	2	48,9	<b>78</b>
	2	35,1	<b>79</b>

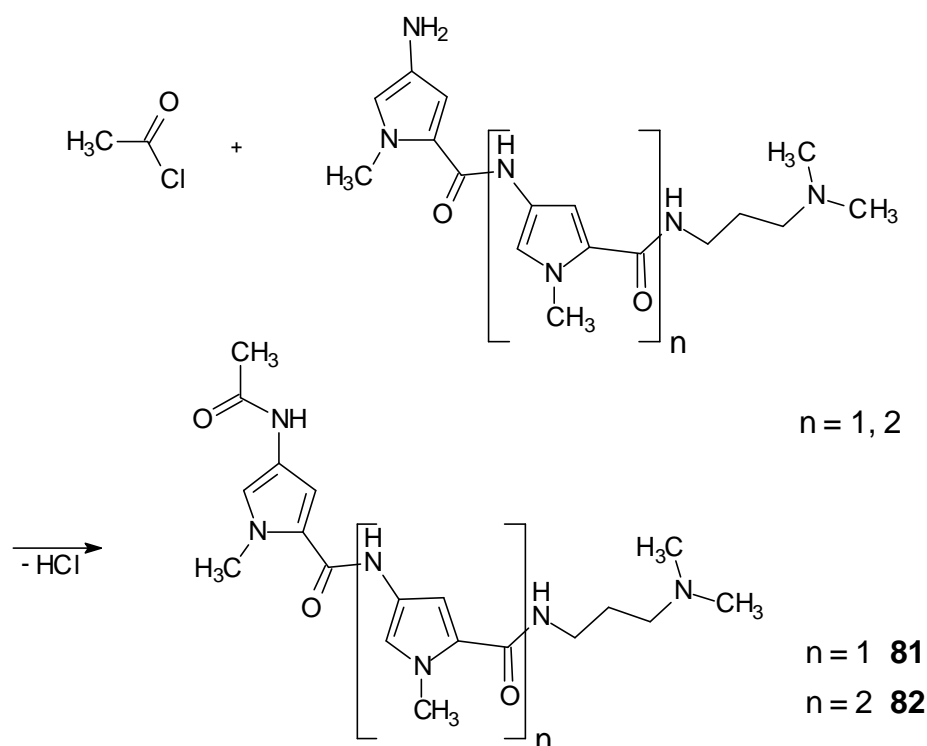


Tab. 8.1. Combilexine mit C-terminaler Propylendiamin Seitenfunktion. Py gibt die Stelle an, an der der Chromophor mit dem Pyrrol-NH verknüpft ist.

## 8.2 Darstellung der Combilexine mit N-terminaler Acetylfunktion

Infolge der Existenz guter Acetylierungsreagenzien, wie z. B. Acetylchlorid, erübrigte sich der Einsatz der DCC-Methode.

Nach Reduktion des Nitro-bis- (**70a**) bzw. -tris-pyrrols (**70b**) mit Pd10%/ C/ H<sub>2</sub> in Dioxan wurde unter Eiskühlung mit Zusatz von Hünigs Base frisch destilliertes Acetylchlorid tropfenweise hinzu gegeben [72]. Die reinen Produkte waren wie auch in den anderen Fällen (Abb. 8.1) durch Säulenchromatographie über Kieselgel (MeOH/NH<sub>3</sub>(25%)-97/3) leicht erhältlich.



<b>81</b>	<b>82</b>
46 %	10 %

Abb.8.1: Darstellung der acetylierten Oligopyrrolcarboxamide.

### 8.2.1 Strukturaufklärung der Oligopyrrolcarboxamide mit N-terminaler Acetylfunktion

Die diamagnetisch relevanten Methylprotonen der Acetylgruppe sind im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **81** bei  $\delta$  [ppm] = 1,9 bis 1,96 anzutreffen. Die Verschiebung der Pyrrolprotonen der Verbindungen **81** und **82** zeigten im Vergleich zu den aromatischen Pyrrolprotonen der Verbindungen **70a** und **70b** gute Übereinstimmung, da der Anisotropieeffekt der Pyrrolprotonen durch die Acetylgruppe im Vergleich zur Nitro-Gruppe hier offenbar nicht beeinflusst wird.

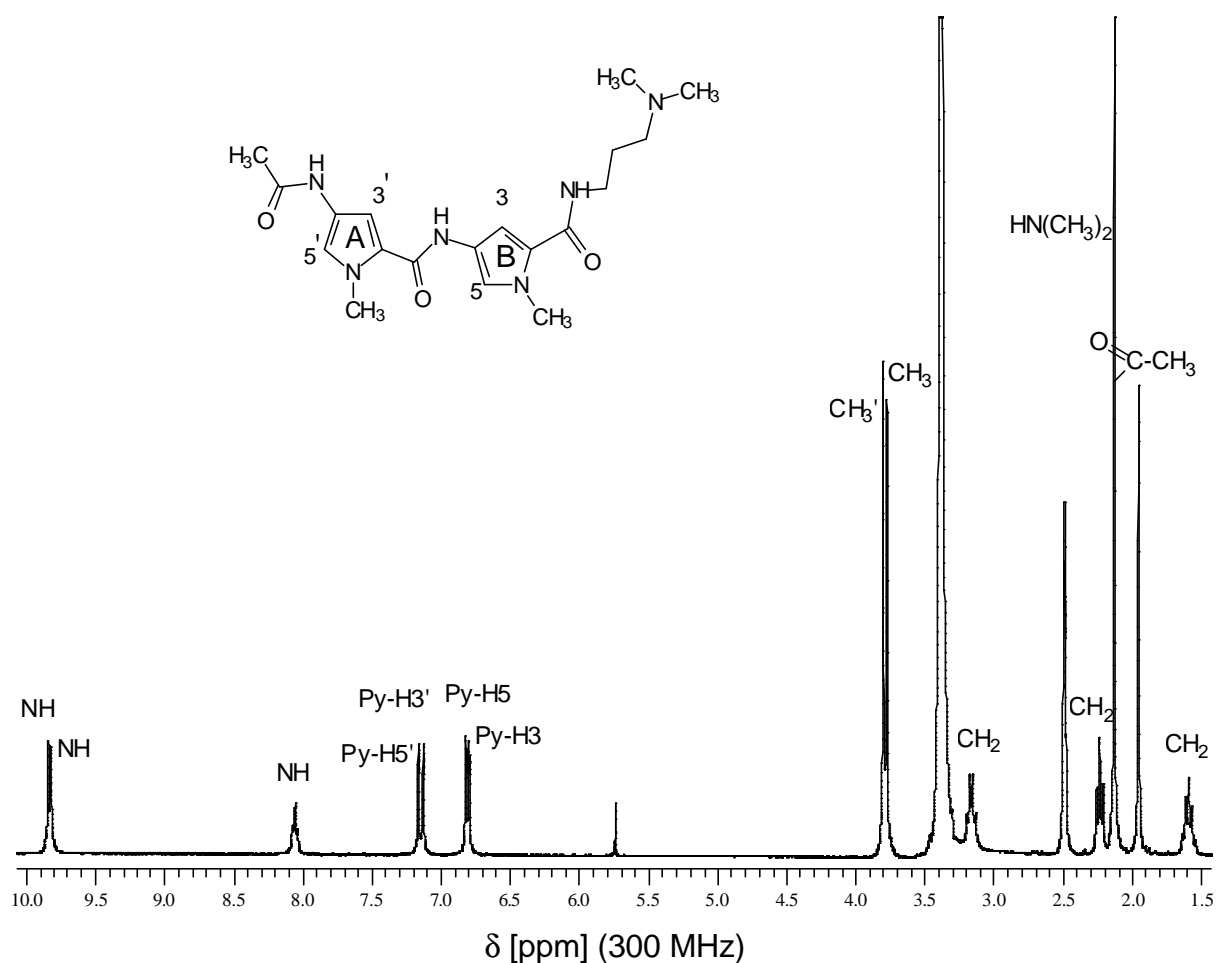


Abb.8.2:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz) der Verbindung **81**.

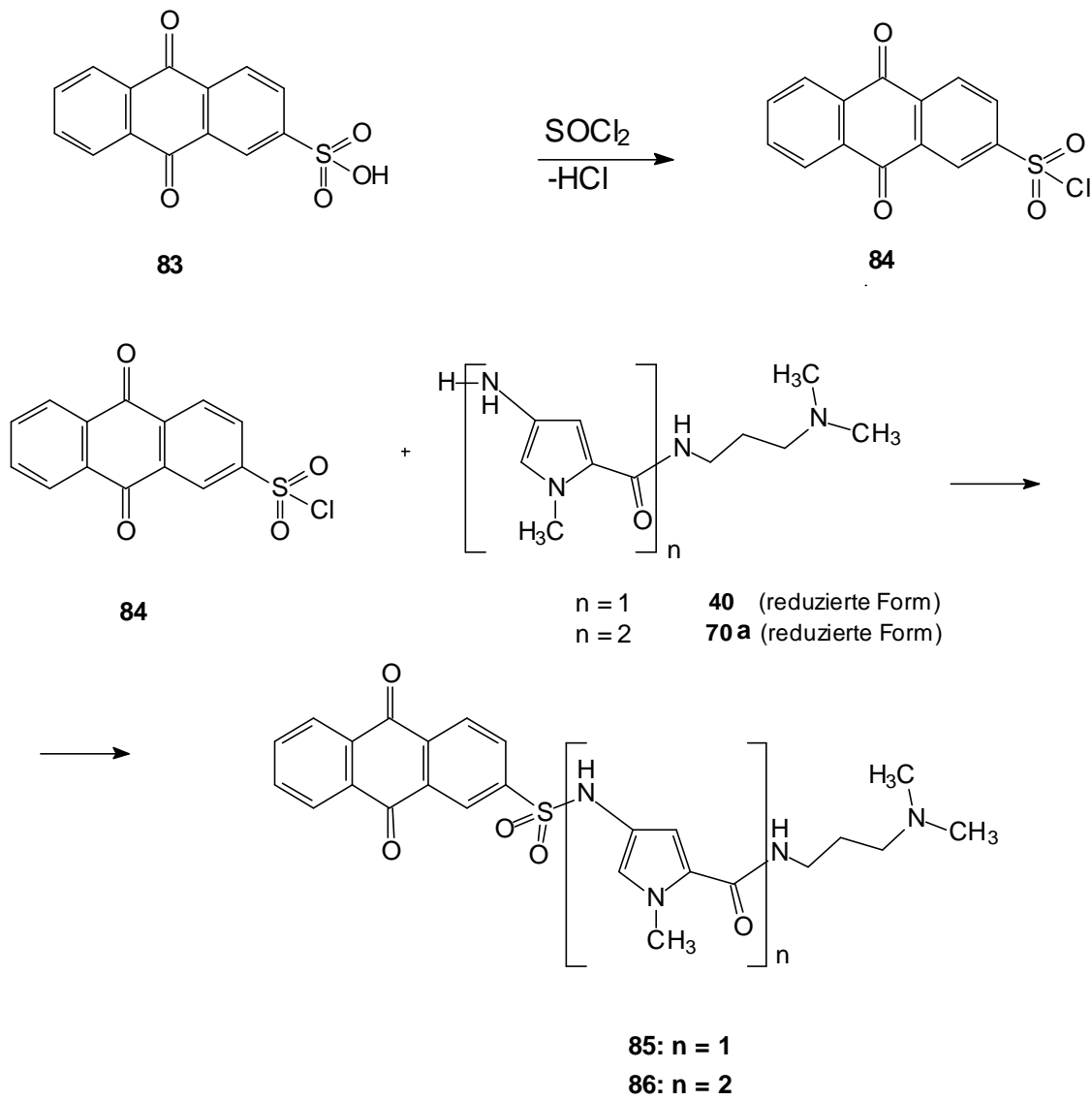
### 8.3 Darstellung der Combilexine mit N-terminaler-Anthrachinon-2-sulfonylfunktion

Anthrachinon-Derivate sind Struktur-Bestandteil mehrerer DNA-Zytostatika (s. Kap. 1, S. 18), z. B. AQ<sub>NC</sub>-Net (**20**), Doxorubicin (**6**) und Mitoxantron (**7**) (s. S. 74 ff.). Neu ist in der vorliegenden Arbeit eine Kombination eines Anthrachinons über ein Sulfonamid mit der Pyrrolkette (s. S. 76).

Zur Synthese wurde das in der vorliegenden Arbeit durchgängig angewendete Konzept der stufenweisen Kupplungs-Strategie realisiert. Im letzten Schritt sollte am "fertigen" Aminopyrrol über einen geeigneten Linker das Chromophor eingeführt werden.

Dabei wurde ein in der Literatur bekanntes Standardverfahren zum Aufbau gewählt [72]. Natrium-Anthrachinon-2-sulfonat wurde mit SOCl<sub>2</sub> zum entsprechenden Sulfonylchlorid umgesetzt. Nach *in situ* Reduktion der Mono-pyrrol-Einheit (**40**) mit Pd(10%)/ C/ H<sub>2</sub> in Dioxan wurde das Anthrachinon-2-sulfonylchlorid tropfenweise zum Amin in Anwesenheit von Hünigs Base gegeben. Nach erfolgter Umsetzung wurde auch hier das reine Sulfonamid durch Säulenchromatographie über Kieselgel [(MeOH/NH<sub>3</sub>(25%)-97/3)] erhalten (s. Abb. 8.3, S. 82).

Nach dieser erfolgreichen Synthese wurde das entsprechende Bis-pyrrol auf die gleiche Weise dargestellt; hierbei wurde statt Mono-pyrrol (**40**) das Bis-pyrrol (**70a**) eingesetzt.



<b>85</b>	<b>86</b>
52 %	19 %

Abb. 8.3: Darstellung der Combilexine mit N-terminaler Anthrachinon-2-sulfonyl-Funktion.

### 8.3.1 Strukturaufklärung der Oligopyrrolcarboxamide mit N-terminaler Anthrachinon-2-sulfonyl-Funktion

Das Anthrachinon-2-sulfonylchlorid-Edukt zeigt im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren folgende Signalsätze:  $\delta$  [ppm]: 7,89 (m, 2H,), 8,09 (pd, 1H,), 8,19 (m, 3H,), 8,38 (ps, 1H,) Da die Multipletts hier sehr eng zusammenliegen, lassen sich die Kopplungskonstanten nicht eindeutig zuordnen. Es handelt sich hier nach der Molekülsymmetrie um ein ABCDEFG-System, da keines der Protonen chemisch oder magnetisch äquivalent ist. Nach dem das Molekül mit dem Oligopyrrolcarboxamid-Rest verknüpft worden ist, zeigt sich an den Anthrachinonprotonen keine nennenswerte Verschiebung im Vergleich zu der Ausgangsverbindung (**84**). Im Gegensatz hierzu weisen die Pyrrolprotonen H3' und H5' einen Hochfeld-Shift auf gegenüber den Acetylderivaten **81** und **82**. Die Stärke des Anisotropieeffekts der Pyrrolprotonen H3' und H5' wird durch die Sulfonamidgruppe gegenüber der Acetylgruppe verändert.

Pyrrol-H	Acetyl-Py $\delta$ [ppm]	Anth-Sulf-Py $\delta$ [ppm]
	<b>81, 82</b>	<b>85, 86</b>
3	6,79	6,68
5	6,82	6,70
3'	7,12	6,74
5'	7,16	7,09

Tab 8.2: Die Tabelle zeigt den Hochfeld-Shift der Pyrrolprotonen bei einer Anthrachinon-2-sulfonylgruppe im Gegensatz zu einer "normalen" Carboxamidbindung (Acetyl-Derivate).



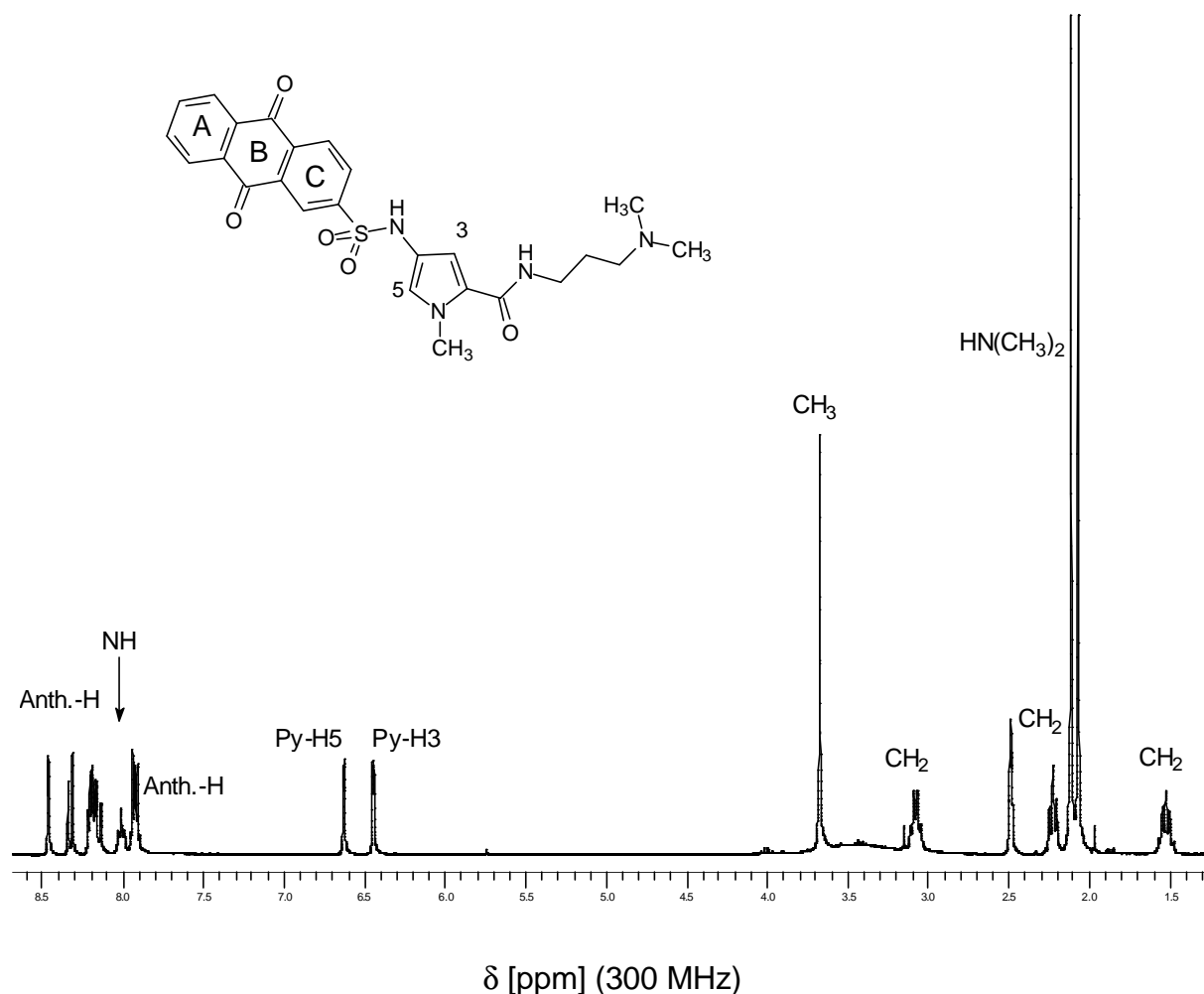


Abb.8.4:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ) der Verbindung **85**.

#### 8.4 Versuch zur Darstellung eines Combilexins mit N-terminalem 4-[[9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino}butanoyl-Substituent

Da zur Testung potentieller DNA-interkalativer Eigenschaften der hier beschriebenen Verbindungen der Einfluß der Länge des Linkers (s. Kap. 2, S. 25) überprüft werden sollte, war es von Interesse, auch das Anthrachinon in Bezug auf die Länge des Linkers zu variieren. Durch den präparativ einfachen Zugang zu der oben genannten N-terminalen Anthrachinon-Funktionen und einer erwarteten Interkalation an der DNA, sollte an der Sulfonylgruppe zunächst ein genügend "langer"  $\gamma$ -Aminobuttersäure-Rest (GABA) amidisch verknüpft werden. Der GABA-Linker wies nach Erfahrungen aus der Literatur [43-45] eine vielversprechende Länge auf, um eine sterisch und konformativ nicht behinderte Interkalation neben der Rinnenbindung durch die Pyrrol-Kette zu bewirken.

Nach Umsetzung des Natrium-Anthrachinon-2-sulfonats (**83**) zum entsprechenden Sulfonylchlorid (**84**) [72] wurde gelöste GABA (Dioxan/DMF-1:1) tropfenweise hinzugegeben [72]. Anschließend wurde das reine Sulfonamid isoliert (**87**) (13,7%) (s. Abb. 8.5).

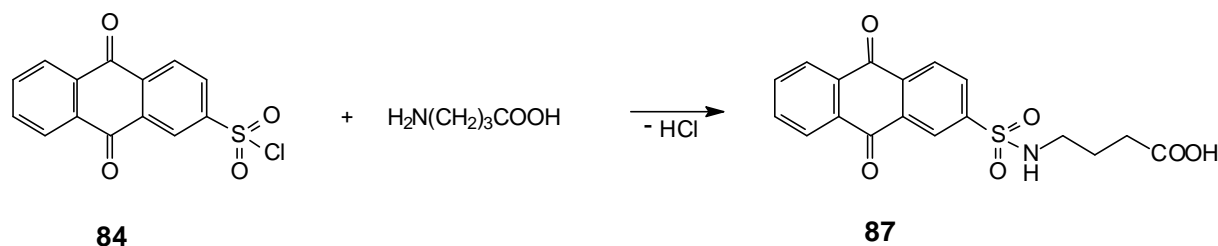


Abb 8.5: Darstellung von 4-{{9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl}amino}butansäure (**87**)

Das Produkt **87** wurde in das Säurechlorid mit  $\text{SOCl}_2$  überführt und anschließend tropfenweise zu der Pyrrolaminlösung aus der Reduktionsreaktion von **70a** unter Eiskühlung gegeben. Hierbei wurde keine Umsetzung zu Verbindung **88** beobachtet. Auch der Zusatz von Hünigs Base oder Triethylamin als basische Katalysatoren brachte keinen Erfolg. Verschiedene Temperaturvarianten führten ebenfalls nicht zum Ziel ( $0^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $100^\circ$ ,  $-20^\circ$  C).

So wurde auch der Versuch unternommen, eine Verknüpfung mit Hilfe der Peptid-Reagenzien DCC sowie CDI herbeizuführen. Auch diese Versuche blieben ohne Erfolg, so daß auf weitere Versuche verzichtet wurde (s. Abb. 8.6, S. 86).

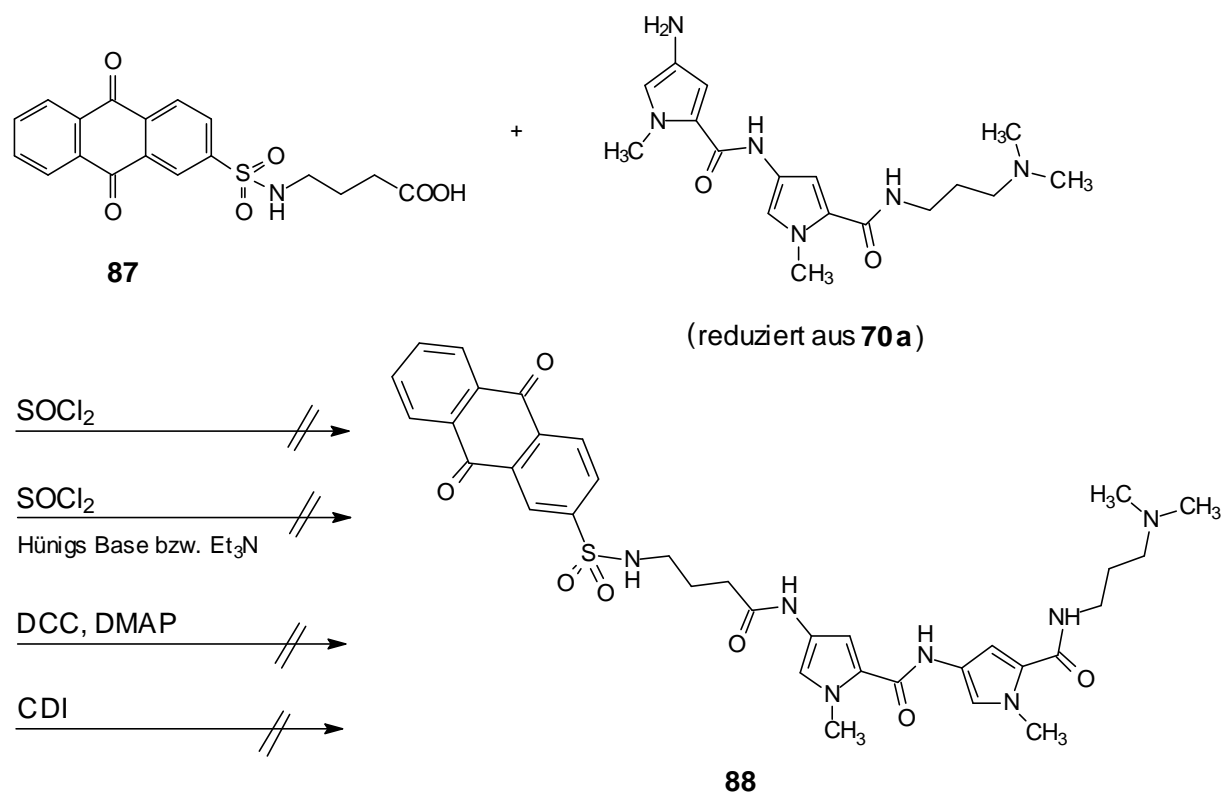


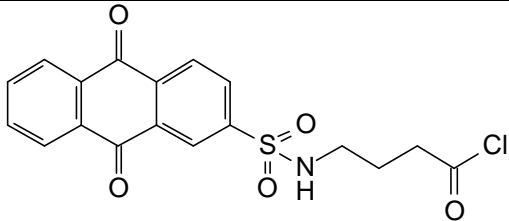
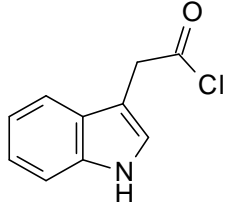
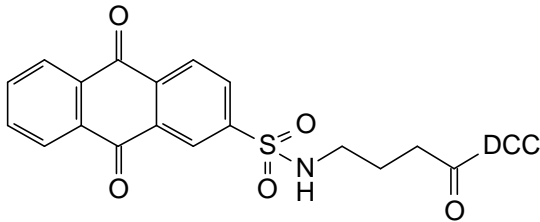
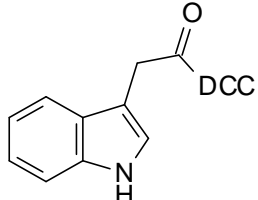
Abb. 8.6: Schema der Varianten zur nicht erfolgten Synthese des Combilexins **88**.

### 8.5 MO-Berechnungen zur Betrachtung der Reaktivität von 4-[[9,10-Dioxo-(9,10-dihydro-(2-anthracenyl)sulfonyl]amino}buttersäure (**87**)

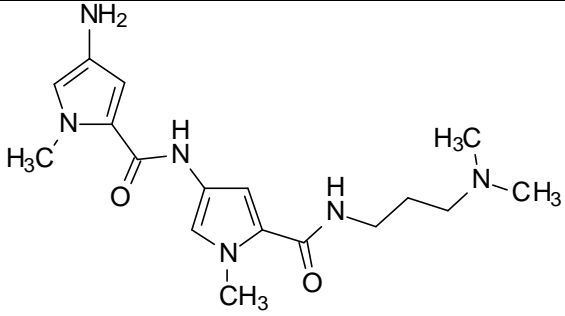
Um die nicht erfolgte Umsetzung zu deuten, wurde eine semiempirische AM1 Rechnung mit dem SPARTAN Programm [105] durchgeführt [1] [106, 107]. Da ein vergleichbares Bis-pyrrol in bezug auf die Synthese mit N-terminaler 3-Indol-2-yl-essigsäure Funktion in dieser Arbeit vorliegt (**74**) (Kap. 8.1, S. 76), wurde die 3-Indol-2-yl-essigsäure in Bezug auf eine möglicherweise andere Reaktivität zum Vergleich herangezogen. Es wurden bei diesem Experiment die beiden Carbonsäurechloride und die beiden durch DCC aktivierten Zwischenprodukte auf Atomladung und den LUMO-Energien am Carbonylkohlenstoff miteinander verglichen (s. Tab. 8.3, S. 87).

[1] Semiempirische MO-Verfahren lösen die Schrödinger Gleichung nur partiell für die Valenzelektronen unter gleichzeitiger Verwendung von experimentell bestimmten Parametersätzen. In SPARTAN sind die Parametersätze AM1 (Austin Model 1) implementiert.

Außerdem sollte die Nucleophilie einer Reaktion mit dem Oligopyrrolcarboxamid überprüft werden. Hierzu wurde auch eine Berechnung des HOMO als Nucleophilieparameter und der Atomladung des Aminstickstoffs durchgeführt (s. Tab. 8.3).

	Atomladung Carbonyl-C	LUMO [eV]	LUMO+1 [eV]
	+0,5348	-1,83	-0,92
	+0,5269	-0,04	+0,40
	+0,8255	-1,76	-0,83
	+0,7381	+0,18	+0,76

Tab.8.3: Die Atomladungen ("Atomic charge" aus der AM1-Rechnung) der Carbonylkohlenstoffe und die LUMOs der Carbonsäurechloride mit verschiedenen Substituenten. Es wurde eine AM1-Rechnung durchgeführt; die Angaben der Atomladung und der LUMO-Werte beziehen sich auf die Konformationen, die ein lokales Minimum aufweisen.

	Atomladung	HOMO	HOMO-1
	Amin-N	[eV]	[eV]
	-0,935818	-8,216	-8,453

Tab.8.4: Die Tabelle zeigt die Atomladung ("Atomic charge" aus der AM1-Rechnung) des primären Aminstickstoffs und das HOMO des Oligopyrrolcarboxamids. Es wurde eine AM1-Rechnung durchgeführt; die Angaben der Atomladung und der LUMO-Werte beziehen sich auf die Konformationen, die ein lokales Minimum aufweisen.

Die in der Tabelle aufgeführten Werte können wie folgt interpretiert werden:

Die positive Ladung der Carbonsäurechloride am Carbonyl-Kohlenstoff ist in beiden Fällen fast gleich. Bei der DCC-Methode ist die positive Ladung am Carbonyl-Kohlenstoff höher.

Sind die HOMO/LUMO-Energiedifferenzen klein, so läßt sich eine schnelle Reaktion erwarten. Diese Energiedifferenzen sind zwischen dem Aminopyrrol (s. Tab. 8.4) und dem Anthrachinonsulfonsäurechlorid bzw. dem Anthrachinonsulfonsäure-DCC-Addukt niedriger als die vergleichbaren Indol-2-yl-essigsäure-Zwischenprodukte (Carbonsäurechloride bzw DCC-Addukte).

Die AM1-Rechnung ist ein theoretisches Modell, das den Umstand der mißlungenen Synthese nicht zufriedenstellend erklären kann. Man muß auch in Betracht ziehen, daß das Grenzorbitalkonzept (als Gasphasenbetrachtung) nicht alle realen Parameter einer Reaktionen berücksichtigen kann kann, weil gemäß der Klopman-Gleichung [108] Reaktionen auch ladungskontrolliert sein können.

Möglicherweise spielten hier auch Lösungsmittelleffekte eine große Rolle . Als weitere Variante könnte man auch hier den Versuch machen, eine nucleofugere Abgangsgruppe als aktivierenden Substituenten in die Carbonsäure-Komponente einzufügen (z.B. eine Trichloracetylgruppe).

Eine weitere Variante bestand im Versuch der direkten Amid-Verknüpfung des Pyrrolamins mit der GABA und anschließender Umsetzung zum Sulfonamid erprobt

werden, die jedoch mit den oben beschriebenen Methoden (Carbonsäurechlorid, DCC und CDI) ebenfalls erfolglos blieb (s. Abb. 8.6, S. 86).

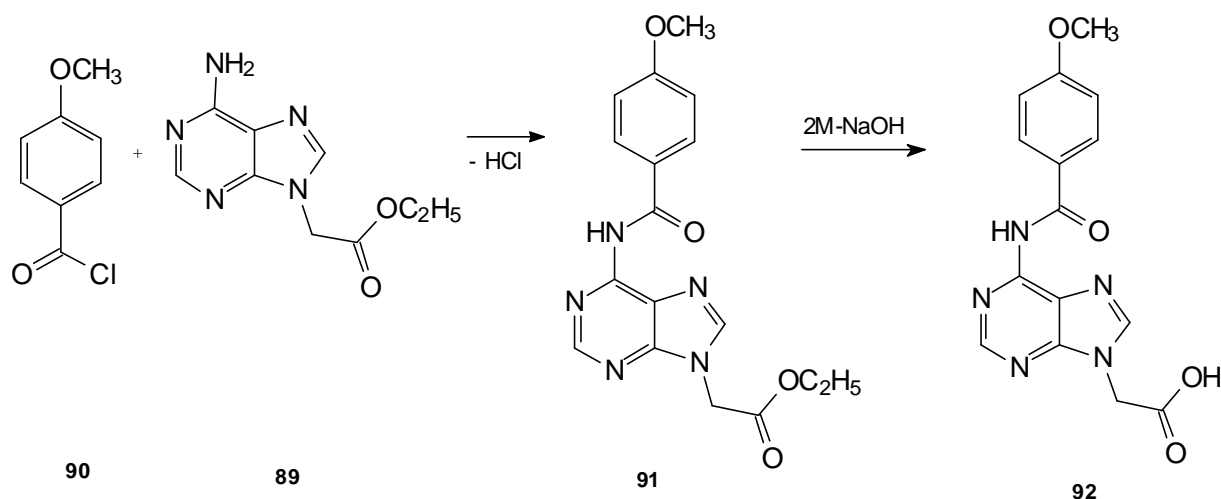
Damit wurde der Versuch der Synthese dieses sicher interessanten Moleküls eingestellt.

### 8.6 Darstellung von [N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrol]-4-[(2-{6-[(4-methoxybenzoyl)amino]-9*H*-9-puriny]acetyl)amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid

Wie schon besprochen und geplant (s. S. 74), sollten die DNA-Basen Thymin und Adenin über einen Linker (z. B. eine Essigsäure-Funktion) amidisch mit den Oligopyrrolcarboxamiden verknüpft werden. Die Thyminkomponente konnte als Thymin-2-yl-essigsäure problemlos direkt mit DCC zu den Amiden **63** und **79** verknüpft werden (s. S. 53 f. u. 74 f.). Wie schon in Kap. 2, S. 30 erwähnt worden ist, wurden von *Nielsen* et al. sog. PNA-Moleküle als Peptidomimetika von hoher DNA-Sequenzselektivität synthetisiert [64].

Da beim Adenin-9-yl-essigsäureethylester (**89**) jedoch der Carbonsäure-(ester)-Funktion ein freie basische N-Funktion vorliegen, war es nicht möglich, nach erfolgter Esterhydrolyse, direkt mit DCC zum Amid zu verknüpfen. Außerdem war die Substanz **89** und deren freie Carbonsäure in keinem Solvens löslich.

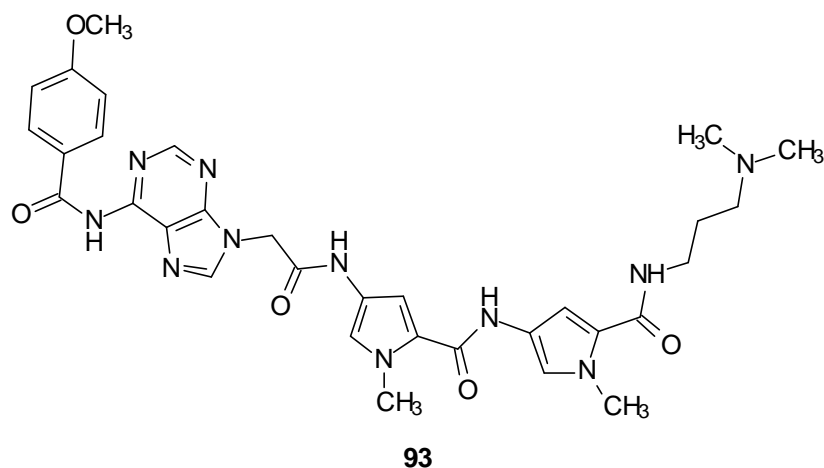
Daher mußte am 6-Sickstoff des freien Amins der Adeninkomponente eine Schutzgruppe eingeführt werden. Es wurde ein literaturbekanntes Verfahren [109] gewählt, bei dem der Adenin-9-yl-essigsäureethylester mit *p*-Methoxybenzoylchlorid (**90**) zum Amid (**91**) umgesetzt wird (70,9 %). Anschließend erfolgte eine alkalische Hydrolyse mit 2M-NaOH (**92**) (52,9 %) (s. Abb. 8.5, S. 90).



<b>91</b>	<b>92</b>
71 %	53 %

Abb 8.5: Einführen einer *p*-Methoxybenzoyl Gruppe an N-6 von Adenin-9-yl-essigsäureethylester und anschließende alkalische Hydrolyse

Die amidische Verknüpfung zum Combilexin **93** mit der Pyrrolkomponente erfolgte dann nach der DCC-Methode. Die Synthese wurde exemplarisch an der Bis-pyrrolkomponente **70a** durchgeführt und verlief trotz niedriger Ausbeuten (6 %) erfolgreich (s. Abb.8.6).



**93**

5,7%

Abb 8.7: Darstellung von [N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrol]-4-[(2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl]-9-*H*-9-puriny]-1-methylethyl)amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (**93**) durch die DCC Methode.

Das reduktive Entfernen der Schutzgruppe erfolgte nicht, da an dieser Stelle zunächst nur ein gut zugängliches Syntheseverfahren im Hinblick auf zukünftige Forschungsarbeiten erprobt werden sollte.

#### **8.6.1 Strukturaufklärung von N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrol]-4-[(2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl)-9-*H*-9-puriny]-1-methylethyl)amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (93)**

Die Strukturaufklärung erfolgte auch hier hauptsächlich durch die <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie. Beim 4-Methoxy-benzoyl Rest handelt es sich um ein AA'BB'-System. Erwartungsgemäß erscheinen die Protonen daher formal als zwei Dubletts, denen je zwei Protonen zugeordnet werden können bei  $\delta$  [ppm] 6,98 (pd, 2H, <sup>3</sup>J= 8,8 Hz), 7,73 (pd, 2H, <sup>3</sup>J= 8,8 Hz). Es handelt sich hier um Pseudodubletts, weil jedes Dublett eigentlich aus zwei übereinander liegenden Dubletts besteht. Die Methylprotonen der Methoxygruppe lassen sich als Singulett bei  $\delta$  [ppm] 3,78 leicht zuordnen.

Die beiden aromatischen Adeninprotonen treten jeweils als Singulett auf bei  $\delta$  [ppm] 8,53 (s, 1H,) und 8,66 (s, 1H,), die am N9 gebundene Methylen-Gruppe bei  $\delta$  [ppm] 5,23.

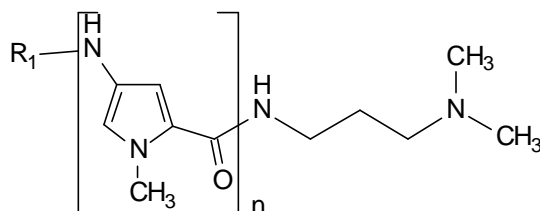
Die Pyrrolprotonen des Oligopyrrolcarboxamids zeigen hier keine Shift-Effekte.



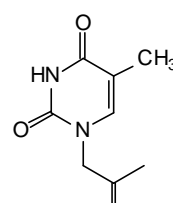
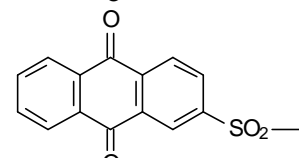
## 9 Zellbiologische Studien und biophysikalische, biochemische Untersuchungen an der DNA

Genau wie im ersten Abschnitt (s. Kap. 6, S. 58) biophysikalischer, biochemischer und zellbiologischer Testungen, wurden auch bei der letzten Reihe der synthetisierten Combilexine diese Untersuchungen durchgeführt.

Da es sich bei vielen der untersuchten um ähnliche Stoffe wie in der ersten Testreihe (s. Kap. 5, S. 53 u. Kap. 6, S. 58) handelt, bei denen lediglich der Methylester am C-terminalen Ende der Oligopyrrolcarboxamid Kette gegen eine Propylendiamin Funktion ausgetauscht wurde, konnte speziell der Einfluß der C-terminalen Gruppe auf die Effekte betrachtet werden.



R <sub>1</sub>	n	Verbindung Nr.
	1	<b>73</b>
	2	<b>74</b>
	2	<b>75</b>
	3	<b>76</b>
	2	<b>77</b>
	2	<b>78</b>

	2	<b>79</b>
	1	<b>85</b>
	2	<b>86</b>
CH <sub>3</sub> CO-	2	<b>81</b>
	3	<b>82</b>
NO <sub>2</sub>	2	<b>70a</b>
	3	<b>70b</b>

Tab 9.1: Untersuchte Verbindungen mit C-terminalem *N,N*-Dimethylamino-propan-1,3-diamin-Rest.

Alle aufgeführten Stoffe wurden zum *Preliminary Screening* beim NCI zugelassen; desweiteren wurden im Arbeitskreis *Pindur* die auf s. Kap. 6, S. 58 ff. schon ausführlich beschriebenen DNA-Denaturierungsexperimente, der Ethidiumbromid-Assay und das Topoisomerase I-Hemmungs-Experiment durchgeführt.

## 9.1 NCI-Testung

Die NCI-Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Verb.	<b>74</b>	<b>75</b>	<b>79</b>	<b>78</b>	<b>81</b>	<b>82</b>	<b>77</b>	<b>70b</b>	<b>73</b>	<b>85</b>	<b>86</b>
NCI-H460 (Lunge)	98	98	100	0	99	112	98	97	99	01	76
MCF7 (Brust)	53	48	88	0	106	77	66	96	98	01	06
SF-268 (ZNS)	77	94	109	0	100	62	105	101	96	01	86
60 Zelllinien	Inaktiv	Inaktiv	Inaktiv	aktiv	Inaktiv	Inaktiv	Inaktiv	Inaktiv	Inaktiv	aktiv	aktiv

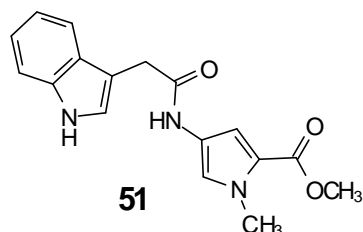
Tab.9.2: NCI Testergebnisse im Überblick. Die Ergebnisse des *Preliminary Screenings* (NCI-H460, MCF7, SF-268) in der Tabelle geben das Zellwachstum in Prozent an, nachdem die Zellkulturen mit einer 10<sup>-4</sup> M Lösung der Testsubstanz versetzt worden sind. Je kleiner die Werte in der Tabelle sind, um so stärker wirksam ist die Substanz. Das *Primary Screening* umfaßt die 60 Zelllinien. Die Substanz **85** zeigte hier eine Wirksamkeit auf MALME-3M (5,5 10<sup>-6</sup>) und Substanz **86** auf SK-OV-3 (1 10<sup>-8</sup>).

Es zeigten nur drei Substanzen, **85**, **86** und **78** bei den drei Humantumor-Zell-Linien eine stärkere Wirksamkeit im *Preliminary Screening*. Im Gegensatz zu den Verbindungen mit C-terminaler Methylester-Funktion der ersten Testreihe aus Kap.6, S.58 waren deutlich schwächere zellbiologische Hemm-Aktivitäten zu verzeichnen (s. Tab 9.3 u. 9.4, s. S. 94 u. 95).

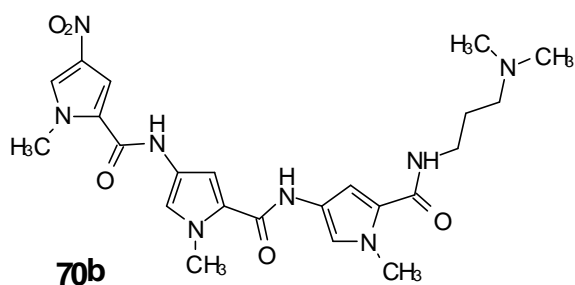
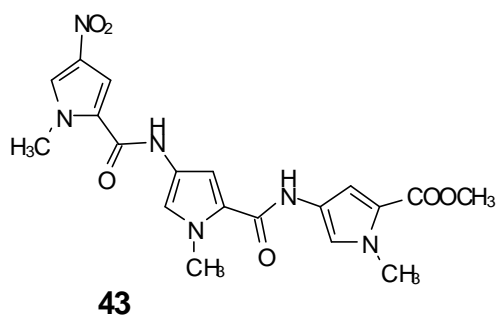
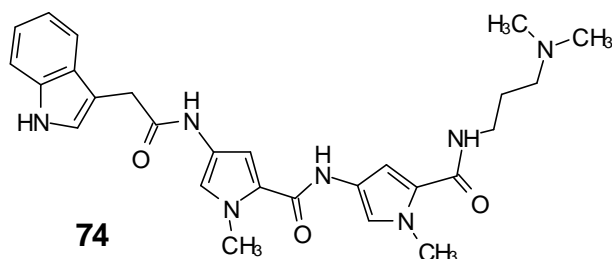
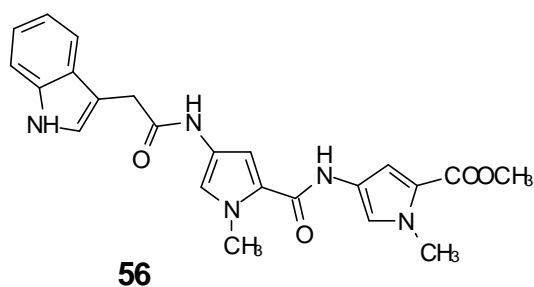
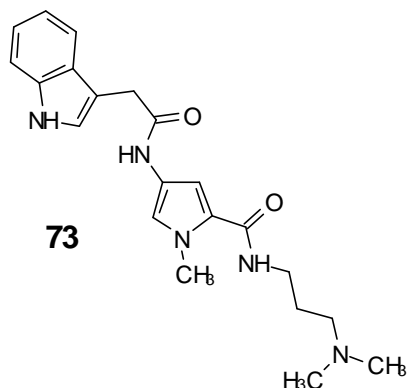
Verbindung mit C-terminaler Methylester- Funktion	NCI	Verbindung mit C-terminaler Propylendiamin- Funktion	NCI
<b>51</b>	aktiv	<b>73</b>	inaktiv
<b>56</b>	aktiv	<b>74</b>	inaktiv
<b>43</b>	aktiv	<b>70b</b>	inaktiv

Tab. 9.3 : Die Tabelle zeigt, daß die hier gezeigten Verbindungen mit C-terminaler Methylester-Funktion zellbiologische Hemm-Aktivität zeigen, während die analogen Verbindungen mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion keine zellbiologische Hemm-Aktivität aufweisen. Die Formeln zu den Verbindungen sind in Tab. 9.4, S. 92 abgebildet.

Verbindung mit C-terminaler  
Methylester-Funktion



Homologe Verbindung mit C-terminaler  
Propylendiamin-Funktion



Tab. 9.4: Oligopyrrolcarboxamide mit C-terminaler Methylester-Funktion im Vergleich mit den Verbindungen mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion.

Die Aktivität der Verbindung **78** (Tab. 9.1, S. 92/93) ist wahrscheinlich auf den Carbazolrest zurückzuführen, denn auch die Verbindungen **53** und **62** (Tab. 5.1, S. 55) besitzen einen Carbazolrest und sind bei den NCI-Testungen aktiv.

Der Anthrachinonrest der Verbindungen **85** und **86** (Tab. 9.1, S. 92/93) führt zu einer besonders starken Aktivität.

Somit läßt sich bilanzieren, daß die zellbiologischen Aktivitäten zum einen stark von einem N-terminal eingeführten anellierten Ringsystem anhängig sind, zum anderen wird - wie auch schon von *Lown* beschrieben worden ist - die Aktivität durch Einführen eines lipophilen Substituenten am C-terminalen Ende stark erhöht [42].

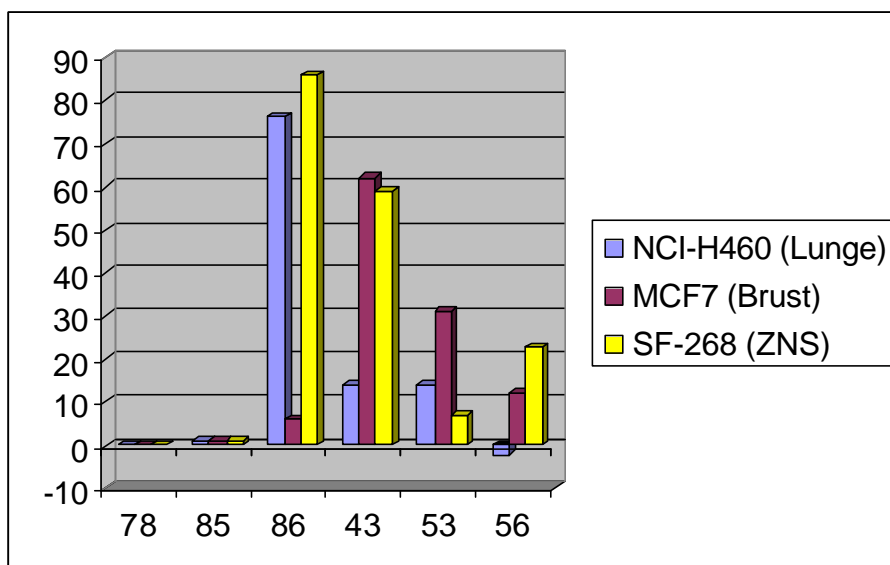


Abb.9.1 : Ordinate: Prozent an Wachstum, welches durch Einwirken einer  $10^{-4}$  M Lösung der Testsubstanz auf die jeweilige Tumor-Zellkultur verbleibt.

## 9.2 Denaturierungsexperimente

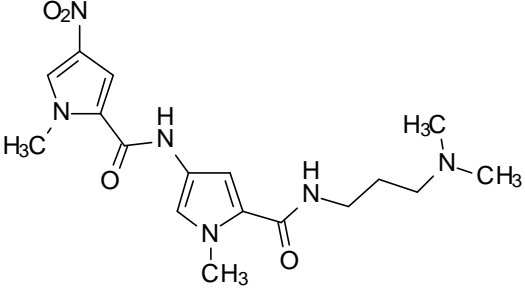
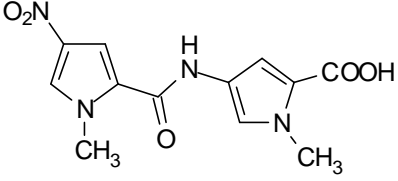
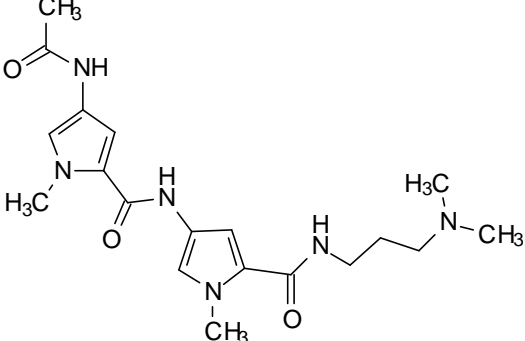
Die in Tab.9.5 aufgeführten  $\Delta T_m$ -Werte zeigten fast alle eine Erhöhung der Schmelztemperatur. Die Verbindungen aus der ersten Testreihe (s. Kap 6, S. 58) zeigten hingegen keinen Effekt.

Verb	74	75	79	78	81	77	70b	73	85	86
$\Delta T_m$	8,4	10,4	7,6	0	12,7	14,0	9,0	0	15,0	0
[° C]										

Tab. 9.5: Denaturierungsexperiment; die Temperaturerhöhung der DNA-Schmelztemperaturen [° C].

Somit liegt die Vermutung nahe, daß eine DNA-Bindung durch die Dimethylaminopropylen-Gruppe erhöht wird. Dieser Vermutung steht das Ergebnis der Verbindungen **62** (s. S. 66) und **73** (s. S. 92) gegenüber, die keine Temperaturerhöhung zeigten, obwohl auch diese eine Dimethylaminopropylen-Gruppe als C-terminale Seitenfunktion tragen. Die Ursache hierfür liegt eventuell am Vorhandensein von nur einem Pyrrolring im Molekül.

Um den Einfluß der Anzahl der Pyrrolringe zu überprüfen, wurden die  $\Delta T_m$ -Werte von den Verbindungen **70a**, **44** und **81** untereinander verglichen:

Verbindung	Nr	$\Delta T_m$ -Werte [° C]
	<b>70a</b>	0
	<b>44</b>	0
	<b>81</b>	12,7

Tab 9.6: Vergleich der Verbindungen **70a**, **44** und **81** bezüglich der Struktur und der  $\Delta T_m$ -Werte.

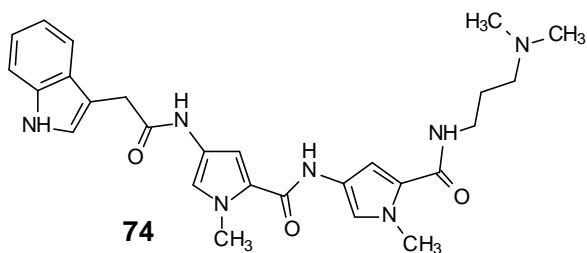
Obwohl **70a** und **44** zwei Pyrrolringe besitzen und **70a** außerdem eine Propylendiamin-Seitenfunktion trägt, führt nur Verbindung **81** eine Schmelzpunktänderung herbei. Dies Verbindung verfügt über drei Carboxamid Gruppen, die offensichtlich eine DNA-Bindung begünstigen.

### 9.3 Ethidiumbromid-Verdrängungsassay

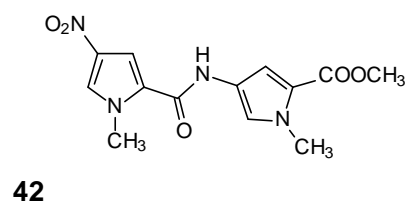
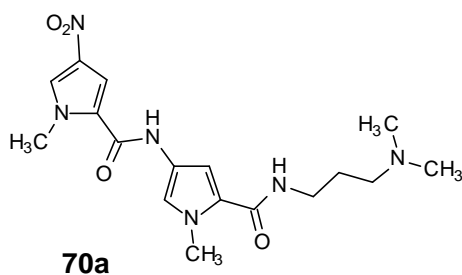
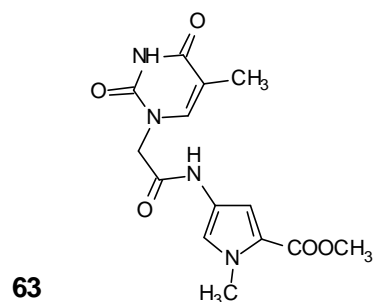
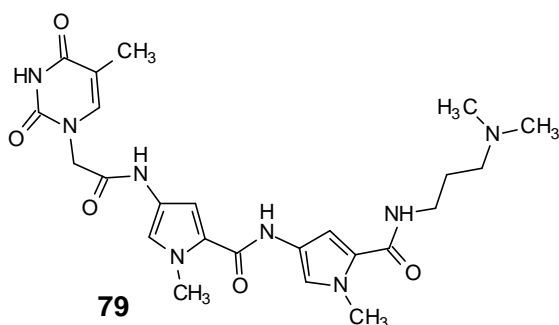
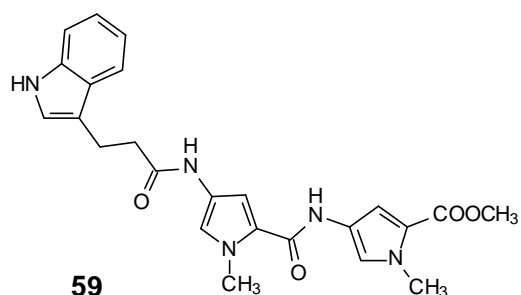
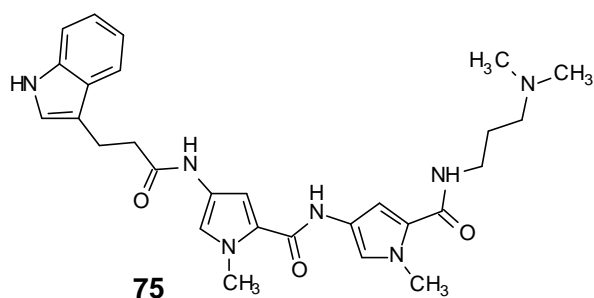
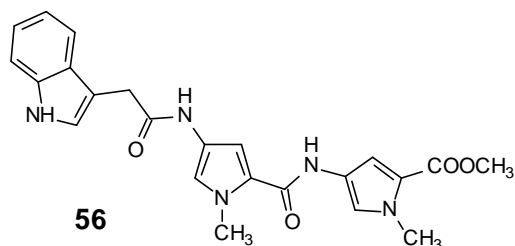
Die Bedeutung der C-terminalen Propylendiamin Seitenfunktion konnte in bezug auf die DNA-Bindung auch mit diesem Assay bestätigt werden. Es wurde zwar in keinem Fall ein  $C_{50}$ -Wert experimentell messbar. Dennoch zeigten aber die Verbindungen **74** und **75** qualitativ eine deutlich höhere Fluoreszenzabnahme als die entsprechenden Methylester **56** und **59**.

Derselbe Trend konnte bei den Thyminderivaten **63** und **79**, sowie bei den Bis-pyrrolen **42** und **70a** beobachtet werden (s.Tab. 9.7, S. 99) .

Verbindung mit C-terminaler  
Propylendiamin-Funktion



Verbindung mit C-terminaler  
Methylester-Funktion



Tab 9.7: Struktur-Vergleich der Verbindungen im Ethidiumverdrängungsassay.

Es besteht jedoch keine Korrelation zwischen der Verdrängung des Ethidiumbromids mit der Helixstabilisierung in den Denaturierungsexperimenten.

Ursache hierfür können die zur Testung benutzten DNA-Moleküle mit unterschiedlichen Basenfolgen sein: beim Ethidiumbromid-Verdrängungsassay



wurde Kalbsthymus DNA verwendet, die aus einer gleichen Anzahl an AT- und GC-Basenpaaren besteht, während beim Denaturierungsexperiment ein synthetisches Polynukleotid aus nur AT-Basenpaaren verwendet wurde. Auch ist das Problem der Korrelation von Datensätzen aus verschiedenen physiologischen und biophysikalischen Teilsystemen literaturbekannt.

#### 9.4 Topoisomerase I-Hemmung

Die in der Tabelle 9.8 aufgeführten Verbindungen zeigten alle bis auf Verbindung **77** und **81** eine Hemmung der Topoisomerase I.

Verb.	<b>74</b>	<b>75</b>	<b>79</b>	<b>78</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>70a</b>	<b>85</b>	<b>86</b>
TOPO-I- [ $\mu$ M]	50	05	50	50	keine Hem- mung	keine Hem- mung	50	20	50

Tab.9.8: Topoisomerase I-Hemmung. Die Plasmid-DNA wird 15 min. bei 35° C in Anwesenheit verschiedener Konzentrationen der Testverbindungen (5, 20, 50  $\mu$ M) in einem Reaktionspuffer für die Topoisomerase I inkubiert. Je kleiner die Konzentration ist, umso stärker hemmt die Substanz die Topoisomerase I.

Da zwischen den biochemischen und biophysikalischen Testungen und den NCI Ergebnissen keine Korrelation besteht, könnte die Topoisomerase I-Hemmung als mögliche Erklärung für die Divergenz der Daten aus den verschiedenen Testsystemen herangezogen werden.

## 9.5 Bilanz der Ergebnisse

Tabelle 9.9 zeigt noch einmal alle Testergebnisse der letzten Testreihe dieses Kapitels im Überblick:

Verbind.	NCI-H460 (Lunge)	MCF7 (Brust)	SF-268 (ZNS)	60 Zell- Linien	$\Delta T_m$ [° C]	TOPO I [ $\mu$ M]
<b>74</b>	98	53	77	inaktiv	8,4	50
<b>75</b>	98	48	94	inaktiv	10,4	05
<b>79</b>	100	88	109	inaktiv	7,6	50
<b>78</b>	0	0	0	aktiv	0	50
<b>81</b>	99	106	100	inaktiv	12,7	keine
<b>82</b>	112	77	?	inaktiv	8,3	keine
<b>77</b>	98	66	105	inaktiv	14,0	keine
<b>70a</b>	97	96	101	inaktiv	9,0	50
<b>73</b>	99	98	96		0	
<b>85</b>	01	01	01	MALME-3M $5,5 \cdot 10^{-6}$	15,0	20
<b>86</b>	76	06	86	SK-OV-3 $1 \cdot 10^{-8}$	0	50

Tab 9.9: Alle Testergebnisse im Überblick. Die Ergebnisse des Preliminary Screenings in der Tabelle geben das Zellwachstum in Prozent an, nachdem die Zellkulturen mit einer  $10^{-4}$  M Lösung der Testsubstanz versetzt worden sind. Je kleiner die Werte in der Tabelle sind, um so stärker wirksam ist die Substanz.

Es gibt zahlreiche positive Ergebnisse, die einige Aussagen auf eine Korrelation zwischen Struktur und Wirkung zulassen:

- 1) Eine DNA-Bindung ist durch eine Propylendiamin-Seitenfunktion am C-terminalen Ende eines Oligopyrrolcarboxamides begünstigt.
- 2) Mindestens zwei Pyrrolringe in einem Oligopyrrolcarboxamid sowie mindestens drei Carboxamidfunktionen in der Molekülkette sind für eine DNA-Bindung erforderlich.

- 3) Die zellbiologischen Aktivitäten sind im Gegensatz zu den Punkten 1) und 2) begünstigt durch einen lipophilen Substituenten (beispielsweise einer Methoxy Gruppe) am C-terminalen Ende.
- 4) Der Einfluß des anellierten Ring-Chromophors am N-terminalen Ende der Oligopyrrolcarboxamid Kette läßt darauf schließen, daß ein heteroaromatisches Ringsystem mit mindestens drei anellierten Ringen (also nicht Indol!) sowie ein Anthrachinon-Gerüst die Antitumoraktivität der Verbindungen auf die Zelllinien der NCI-Testung begünstigt.
- 5) Es handelt sich bei fast allen Substanzen um Topoisomerase I-Hemmstoffe.

Aufgrund der Inaktivität der zum Vergleich synthetisierten Substanzen konnten die Einflüsse der Länge der aliphatischen Carbonsäure-Linker auf die DNA-Bindung nicht vollkommen studiert werden.

Darüberhinaus konnte weder eine Interkalation der Substanzen nachgewiesen werden, noch der Bindungsmodus.

Dennoch läßt sich aus den Punkten 1) bis 5) eine vororientierende Struktur-Wirkungs-Beziehung ableiten:

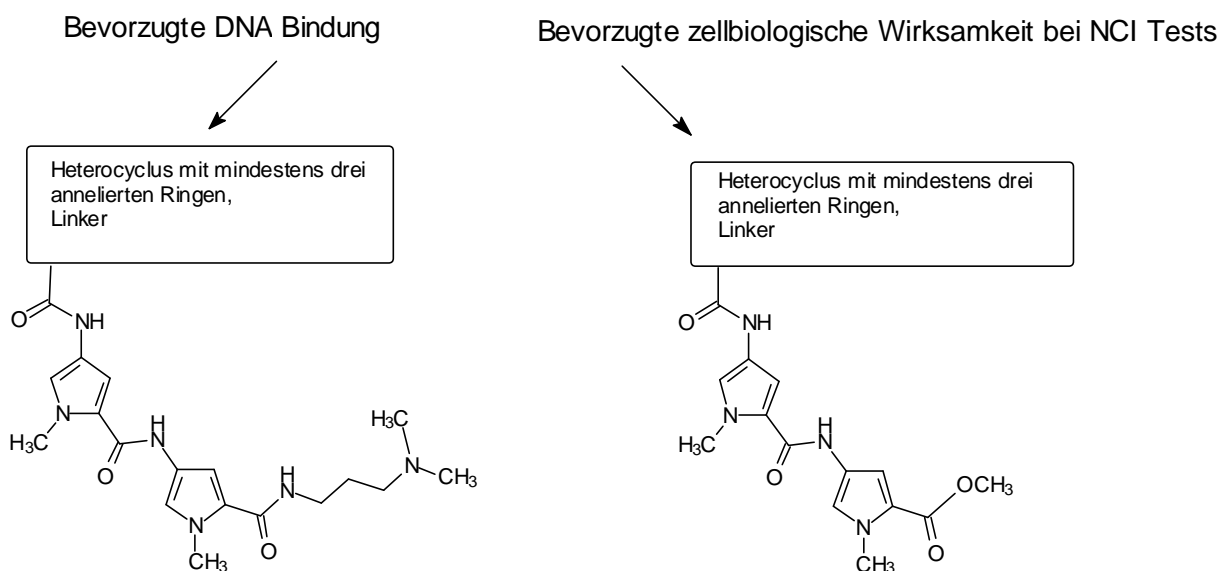


Abb 9.2: Combilexine im Vergleich; die Graphik zeigt eine postulierte Struktur-Wirkungsbeziehung

Nach der Summation aller Ergebnisse aus Synthese und Testung könnten aus den vorliegenden Verbindungsserien durch Fortsetzung der Arbeiten möglicherweise neue Topoisomerase I-Hemmstoffe zur therapeutischen Anwendung resultieren.

## **10 Theoretische strukturelle Betrachtungen auf der Basis von Berechnungen (MOPAC-Tool in SPARTAN) [105]; Liganden Vergleich mit experimentellen Datensätzen zu ausgewählten Substanzen**

Abschließend zu dieser Arbeit sollten ausgewählte Combilexine auf eine energetisch günstige Konformation untersucht werden, die eventuell für die Rinnenbindung wie bei Netropsin und Distamycin A relevant ist ("Curvature", Carboxamid-Bindung in bezug auf cis/trans-Isomerie).

Die Ligand-Molekül-Berechnungen an den ausgewählten Verbindungen sollen auch dazu dienen, evtl. einen Bezug zu den biologischen bzw. biochemischen/physikalischen Daten zu finden. Als Program wurde SPARTAN eingesetzt und das darin implementierte semiempirisch-quantenchemische AM1-Tool genutzt [107]

Dazu sind folgende Schritte geplant:

- 1) Validierung des Berechnungsverfahrens
- 2) Berechnen der Konformation der ausgewählten Moleküle
- 3) Ausgewählte Moleküle im Vergleich mit Konformation, Molekulares elektrostatisches Potential (MEP), LUMO (tiefstes unbesetztes Molekülorbital) und mit den biochemischen und biophysikalischen Daten
- 4) Bilanz der SPARTAN-Berechnungen

### **10.1 Validierung des Berechnungsverfahrens**

Um die Strukturen der zu berechnenden Oligopyrrolcarboxamide (**56, 53, 77, 86, 85, 43, 44, 79, 54, 57, 81, 78**) vergleichen zu können, sollten Netropsin (**11**) und Distamycin A (**12**) als strukturverwandte Stellvertreter der entsprechenden Derivate mit zwei, bzw. drei Pyrroleinheiten hinsichtlich ihrer Konformation, Standardbildungsenthalpie und Ladungsverteilung herangezogen werden.

Da die Rechnungen möglichst realitätsnahe Ergebnisse liefern sollten, mußte dieses Programm zunächst auf seine Aussagekraft hin validiert werden.

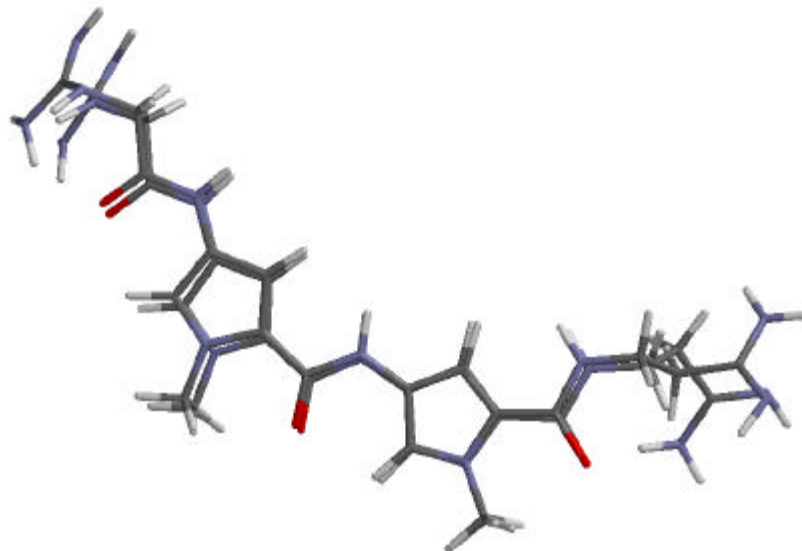
Dazu wurden die Röntgenkristallstrukturen von Netropsin und Distamycin A an DNA gebunden aus der PDB-Datenbank [110] in das Programm WEB-LAB-VIEWER

importiert. Vom Komplex wurden das Kristallwasser und die DNA-Helix entfernt; anschließend sind die Moleküle als PDB-file in das Programm SPARTAN importiert worden. Dort mußten die Atome der Moleküle auf ihren Hybridisierungszustand konfiguriert werden, weil SPARTAN die Hybridisierungen der Atome nicht erkennen kann.

Um die eigenen Moleküle mit den Geometrien aus der Datenbank vergleichen zu können, muß man berücksichtigen, daß die Konformation der beiden Moleküle, Netropsin und Distamycin A, an der DNA eine andere ist als isoliert bzw. in einem isoliert minimierten Zustand. Um aber die gewünschten Berechnungsergebnisse zu erhalten, wurde mittels einer AM1-Rechnung minimiert. Da von den eigenen Molekülen keine Kristallstrukturen existieren, sollte die Strukturgeometrie zum Teil aus den SPARTAN-Tools aufgebaut werden.

Die Röntgenstrukturgeometrie von Netropsin und Distamycin A aus der Datenbank wurden mit AM1 minimiert. Dann wurden aus dem SPARTAN-Programm die gleichen Moleküle aufgebaut und ebenfalls minimiert.

Netropsin (beide Berechnungen übereinandergelegt)



## Distamycin A (beide Berechnungen übereinandergelegt)

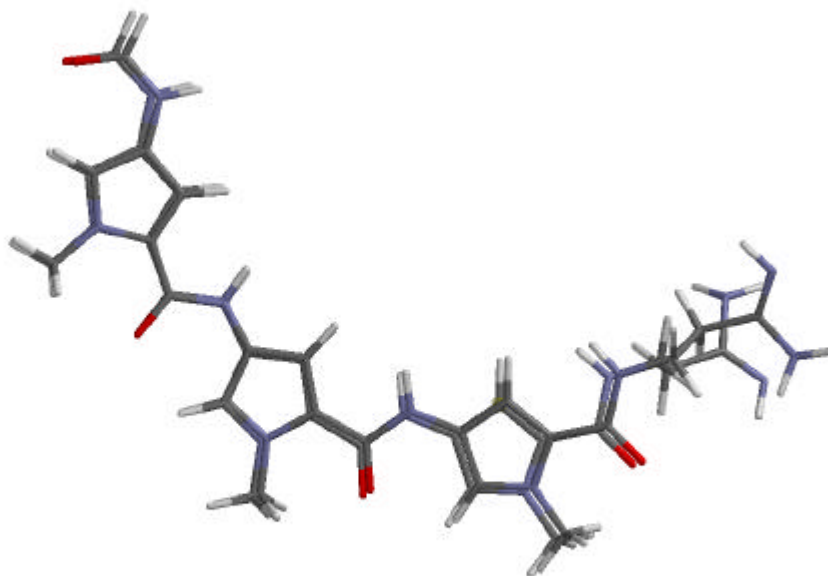


Abb.10.1: De-novo berechnete Konformationen aus SPARTAN (AM1) und aus der Startgeometrie der Röntgenstrukturen. Die Moleküle sind superpositioniert.

	Dist A (PDB)	Dist A (SPART.)	Net (PDB)	Net (SPART.)
$\Delta H_{f0}$ [kcal/mol]	18,848	19,013	26,583	29,692

Tab 10.1.: Standardbildungsenthalpien der aus der Datenbank (PDB) importierten und der aus SPARTAN aufgebauten Moleküle im Vergleich. Diese *Root Mean Square*-Methode nutzt man zum Geometrie-Vergleich (RMS-Verfahren).

Die Tabelle zeigt, daß die Bildungsenthalpien der Berechnungen sehr ähnlich sind. Damit kann man feststellen, daß das SPARTAN-Programm realitätsnahe Ergebnisse liefert. Damit konnte das Verfahren bezüglich der Energievergleiche als validiert betrachtet werden. Die sog. *Root-Mean-Square*-Methode nutzt man zum Geometrie-Vergleich (RMS-Verfahren). Es soll hier aber nicht vergessen werden, daß es sich bei den durchgeführten AM1-Berechnungen um reine Vakuumminimierungen handelt, d. h. ein Lösungsmiteleinfluß wurde nicht berücksichtigt.

## 10.2 Berechnung der Konformationen eigener Moleküle

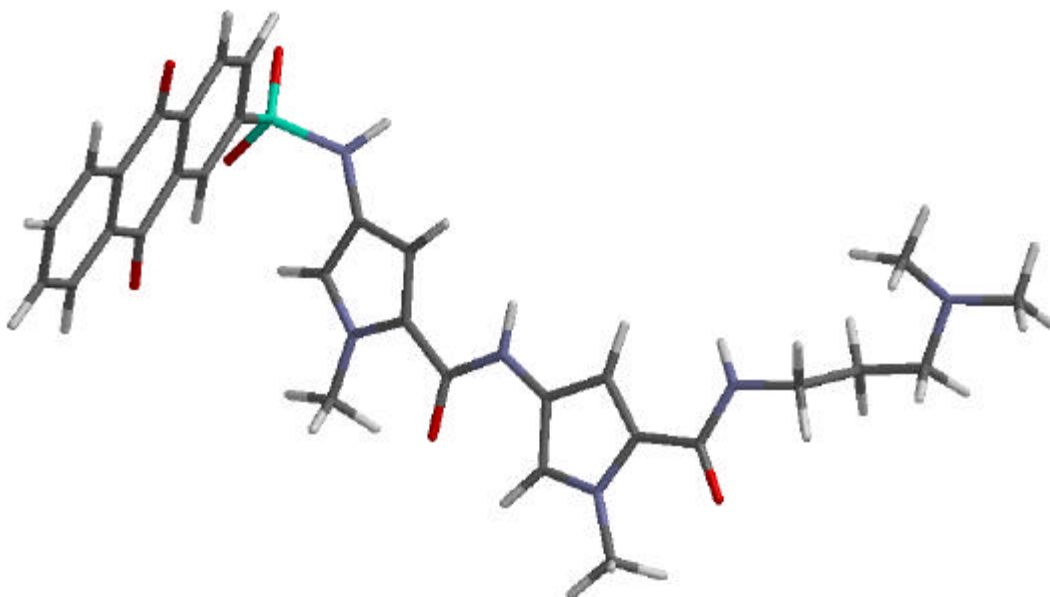
Es wurden aus der Datenbank (PDB) [110] die Geometrien von Distamycin A und Netropsin in SPARTAN importiert (s. S. 104 f.). Diese Moleküle wurden dazu durch die SPARTAN-"bulid-up"-Tools verändert: die C- und N-terminalen Reste der Moleküle wurden, substituiert. Dann wurde eine AM1-Rechnung durchgeführt.

Es soll hier gezeigt werden, daß eine "sichelförmige" Struktur der Oligopyrrolcarboxamide vorliegt und welches die molekularen Ursachen hierfür sind.

Es wurden bei einigen Molekülen mehrere Berechnungen mit verschiedenen Ausgangskonformationen berechnet, um möglichst lokale (energiearme) Konformationsminima aufzufinden (s. Abb. 10.2).

? H<sub>0</sub>

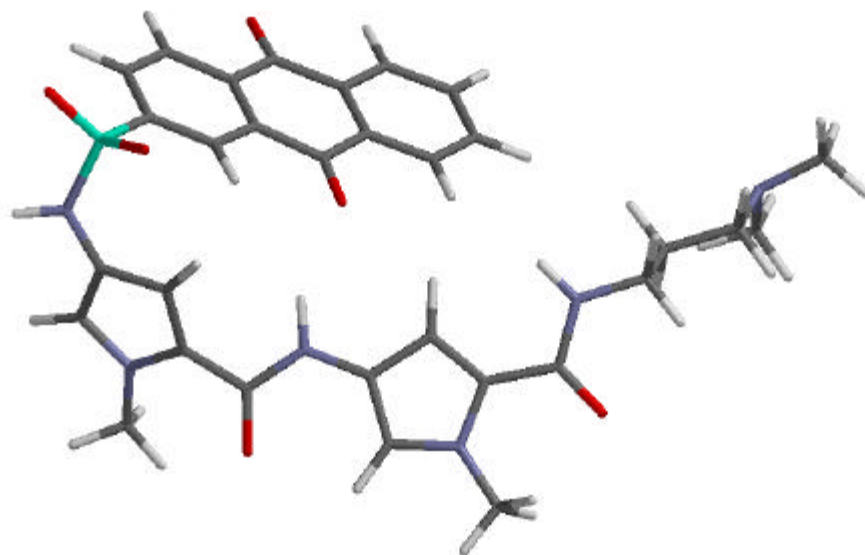
-40,55 kcal/mol





$? H_0$ 

-41,72 kcal/mol

 $? H_0$ 

-42,88 kcal/mol

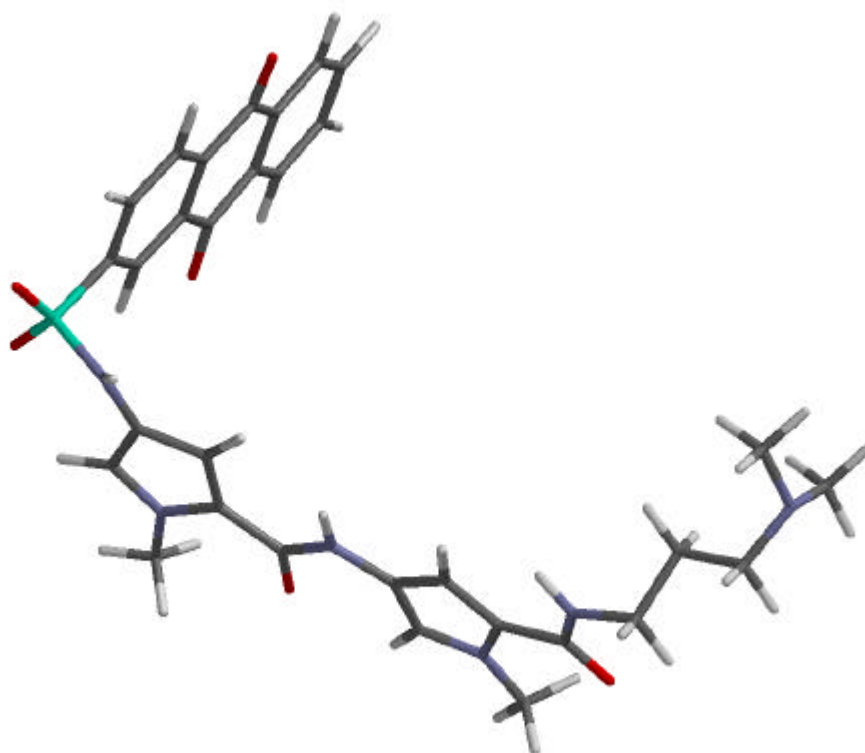
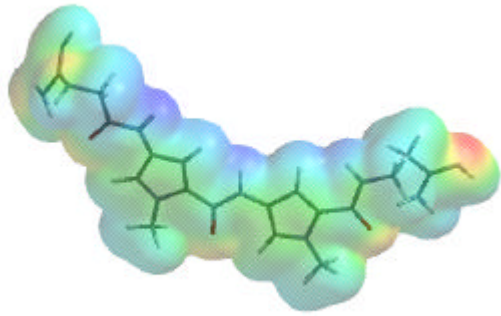
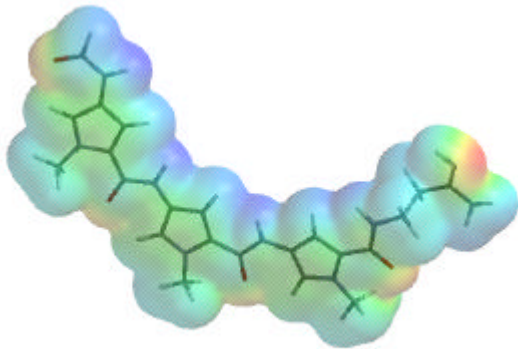
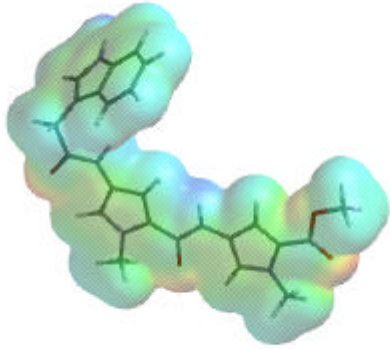
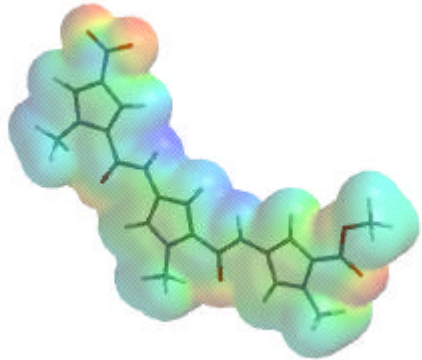
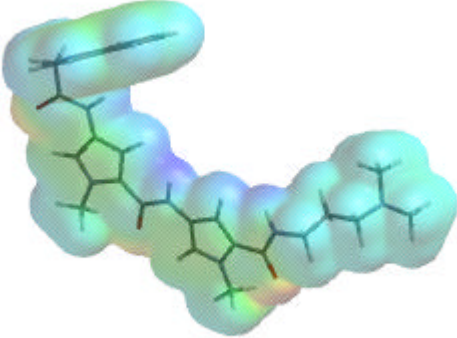
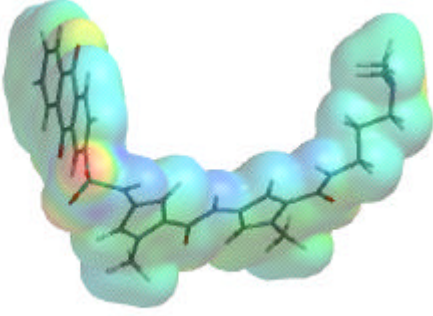


Abb.10.2: Drei verschiedene lokale Minima (aus drei verschiedenen Startgeometrien) der Anthrachinon-Verbindung **86**. In allen Fällen ist die sichelförmige Teilgeometrie erhalten.

Die folgenden, abgebildeten Beispiele zeigen, daß alle Moleküle nach Minimierung zu einer sichelförmigen Konformation führen (s. Tab.10.2, S. 110 u. 111).

Verbindung	Konformation	$\Delta H_{fo}$ [kcal/mol]
Netropsin		+26,58
Distamyc. A		+18,84
56		-6,86
43		-30,65

Verbindung	Konformation	$\Delta H_{fo}$ [kcal/mol]
77		+52,06
86		-40,55

Tab. 10.2: Die Tabelle zeigt eine Auswahl berechneter Minimums-Konformationen von verschiedenen Bis- und Tris-pyrrol-Combilexinen. Es ist hier die "Curvature" bei allen Molekülen und deren Standardbildungsenthalpie aufgezeigt. Die Standardbildungsenthalpien entsprechen einem besonders günstigen lokalen Minimum. Auf der Wave-Oberfläche ist das Molekulare elektrostatische Potential (MEP) mit Farben visualisiert: rot bedeutet negativ, gelb schwach negativ bis neutral, grün neutral bis schwach positiv und blau positiv.

Die strukturellen Ursachen für die Sichelform sind wie folgt zu erklären:

- 1) Alle Moleküle besitzen Fünfring-Heteroaromaten, die jeweils 2- und 4-Position substituiert sind. Eine freie Drehung der Ringe um die Carboxamidbindung ist durch den partiellen Doppelbindungscharakter dieser Bindung erschwert (eine(E)/(Z)-Isomerisierung in Peptiden benötigt eine Aktivierungsenergie von etwa 90 kJ/mol).
- 2) Unterstützt wird diese Geometrie durch die Winkelung der Carboxamidatome; im Idealfall beträgt der N-C-O Winkel  $120^\circ$ , der C-C-O Winkel  $120^\circ$  und der H-N-C Winkel auch  $120^\circ$ . Hier zeigt die AM1-Rechnung, daß die Winkel der

Kristallstruktur von Netropsin eine Curvature begünstigen: N-C-O beträgt 121,96°, O-C-C 121,88° und H-N-C nur 116,22°.

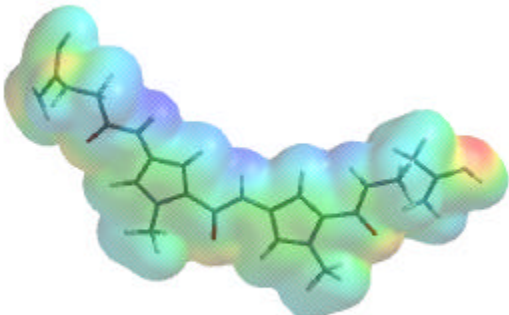
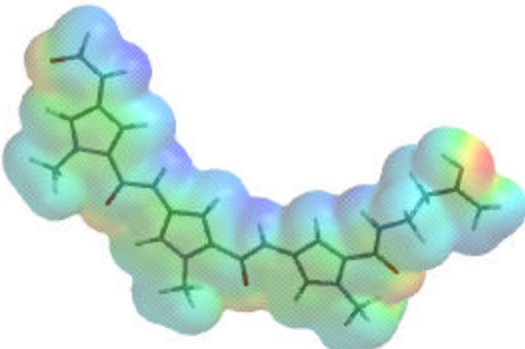
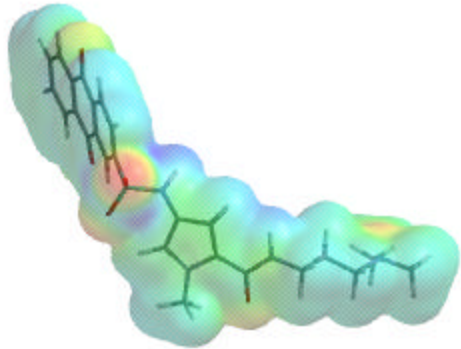
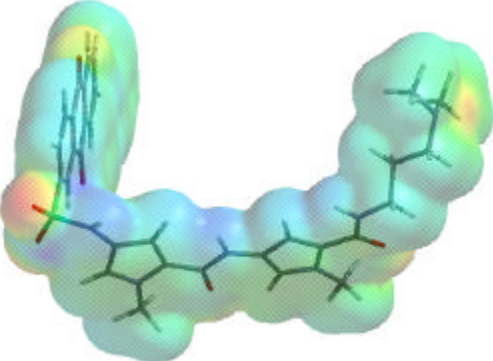
- 3) Desweiteren zeigen die AM1-Rechnungen aller Moleküle, daß in allen berechneten Molekülen eine trans- oder Z-Konformation der Carboxamidgruppe vorliegt, da diese Konformation energetisch günstiger ist im Vergleich zu der cis- oder E-Konformation. Diese strukturelle Gegebenheit ist eine wichtige Voraussetzung für eine sichelförmige Konformation. Auf die <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Untersuchungen an der Bis-pyrrol-Verbindung **42** sei an dieser Stelle noch einmal hingewiesen; in Lösung (DMSO d<sup>6</sup>) konnte eine trans-Geometrie der Amid-Bindung von Substanz **42** bewiesen werden (s. Kap 3.6, S. 40 ff., NOE-Differenzspektren).

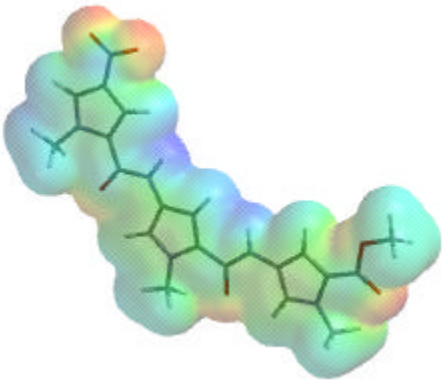
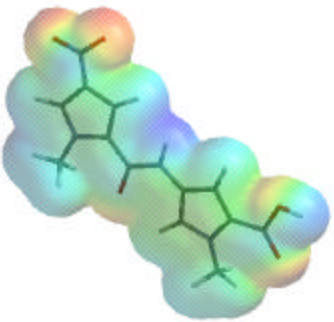
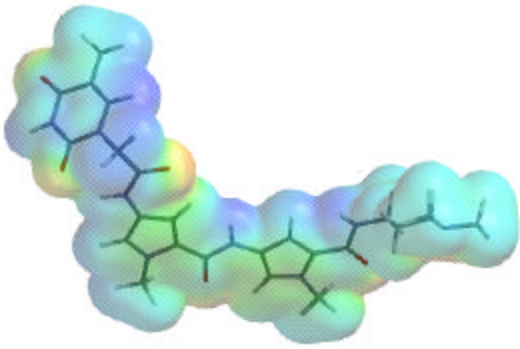
### **10.3 Vergleich des Molekularen elektrostatischen Potentials (MEP) und der LUMOs mit biologischen/biophysikalischen Daten**

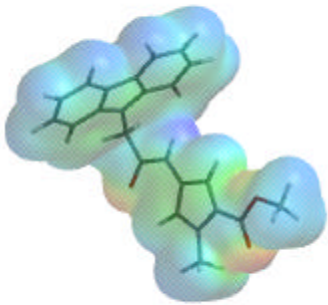
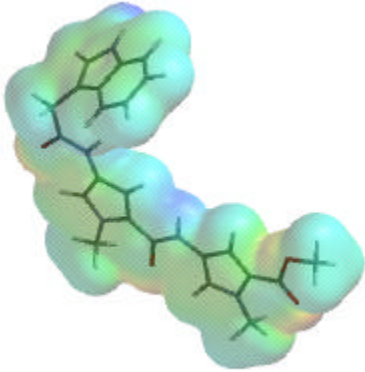
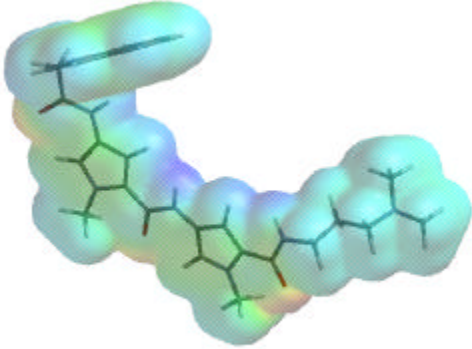
In diesem Abschnitt wurden die berechneten Parameter der eigenen Moleküle mit den NCI-Testungen und den biophysikalischen Testungen verglichen.

Da Pyrrol-Lexitropsine an AT-reichen Sequenzen der DNA binden, ist es wichtig, die innere Seite der Curvature der Liganden hinsichtlich der Ladungsverteilung zu untersuchen. Hierzu betrachten wir das MEP der Moleküle. Eine MO-Rechnung (z.B. AM1) liefert die Elektronendichte im Raum. Diese Elektronenverteilung wird in Elektronenzahlen überführt, die einem bestimmten Atomorbital zugeordnet sind. Die Summe über alle Atomorbitale ergibt dann die Gesamtelektronenzahl, welche einem Kern zugeordnet wird. Die Differenz zur Kernladung ist die Atomladung [106]. Das SPARTAN-System ordnet den einzelnen Atomladungen bestimmte Farben zu, so daß diese schnell und übersichtlich dem Betrachter die Atomladung (also die Elektronenverteilung) eines Moleküls auf der Oberfläche zeigen. Blau ist positiv, rot negativ, grün schwach positiv bis neutral und gelb ist schwach negativ bis neutral. So läßt sich aus den Abbildungen in der Tab. 10.3, S. 113-117 leicht erkennen, wie bei den Molekülen die Ladungen an der concaven Innenseite der Curvature verteilt ist.

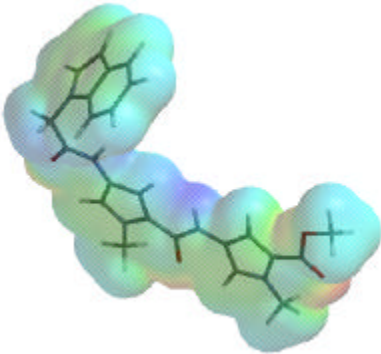
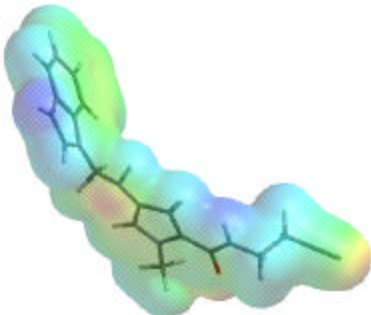
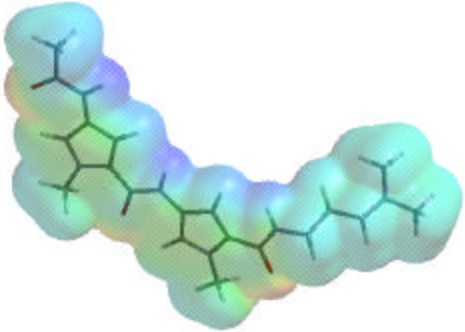
Außerdem sollen an dieser Stelle auch die LUMOs der Moleküle tabellarisch mit den MEPs und den zellbiologischen und biophysikalischen Testergebnissen verglichen werden.

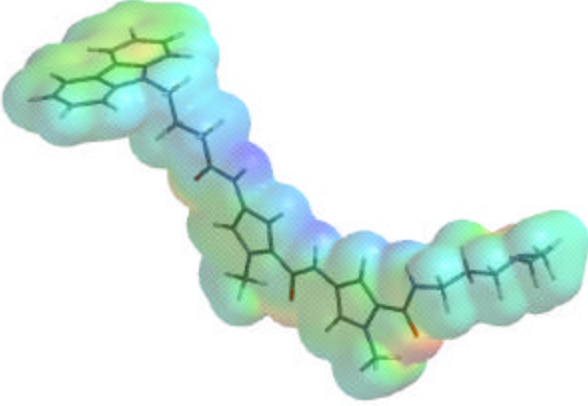
Verb.	MEP	LUMO [eV]	LUMO+1 [eV]
<b>Net.</b>		-0,10	+0,00
<b>Dist A</b>		+0,01	+0,06
<b>85</b>		-1,85	-0,92
<b>86</b>		-1,81	-0,90

Verb.	MEP	LUMO [eV]	LUMO+1 [eV]
43		-0,64	-0,50
44		-0,63	-0,51
79		-0,49	+0,03

Verb.	MEP	LUMO [eV]	LUMO+1 [eV]
<b>53</b>		-0,39	+0,03
<b>56</b>		-0,14	+0,12
<b>77</b>		-0,11	+0,13



Verb.	MEP	LUMO [eV]	LUMO+1 [eV]
57		-0,09	+0,08
54		+0,08	+0,18
81		+0,16	+0,32

Verb.	MEP	LUMO [eV]	LUMO+1 [eV]
<b>78</b>		-0,16	+0,11

Tab.10.3: Die MEPs der berechneten Moleküle im Vergleich zu den LUMO und LUMO+1 Werten. Blau zeigt die positiven, rot die negativen und gelb-grün die neutralen Atomladungen an. Die Werte von Netropsin und Distamycin A stehen am Anfang zum Vergleich. Man erkennt durchweg die elektronenarme Zone in der concaven Seite der Moleküle

Um die Tabelle 10.3 zu kommentieren, werden die Betrachtungen am MEP in einer weiteren Tabelle (Tab. 10.4, S.118) mit den LUMO-Werten und den zellbiologischen und biophysikalischen Testergebnissen verglichen.

Die MEP-Farbcodierung zu Tab. 10.4 (unten): rot: negativ, gelb: schwach negativ bis neutral  
grün: schwach positiv bis neutral, blau: positiv.

Subst	LUMO [eV]	NH	N-ter- minal	C-ter- minal	NCI aktiv	NCI Lunge	NCI Brust	NCI ZNS	$\Delta T_m$ [°C]	TOPO I [ $\mu M$ ]
<b>85</b>	-1,85	blau	grün	gelb	ja	1	1	1	15	20
<b>86</b>	-1,81	blau	blau	grün	ja	76	6	86	neg	50
<b>43</b>	-0,64	blau	rot	grün	ja	14	62	59	neg	05
<b>44</b>	-0,63	blau	rot	blau	nein	104	74	97	-	50
<b>79</b>	-0,49	gelb	blau	grün	nein	100	88	109	7,6	50
<b>53</b>	-0,39	blau	blau	blau	ja	14	31	07	neg	05
<b>56</b>	-0,14	blau	blau	grün	ja	-2	12	23	neg	20
<b>77</b>	-0,11	blau	grün	grün	nein	98	66	102	14	Nein
<b>57</b>	-0,09	blau	grün	grün	nein	109	90	93	-	20
<b>54</b>	+0,08	gelb	grün	rot	nein	86	53	76	-	20
<b>81</b>	+0,16	blau	blau	grün	nein	99	106	100	12,7	nein
<b>78</b>	-0,16	blau	grün	grün	ja	0	0	0	neg	50

Tab 10.4: Die Tabelle zeigt die LUMO Werte im Vergleich zu den Atomladungen am Carboxamid Stickstoff (NH), dem C- und N-terminalen Teil, sowie die NCI- und die biophysikalischen Testergebnisse im Vergleich.

Betrachtet man die LUMOs und die MEPs nebeneinander mit den Testergebnissen, so läßt sich folgendes aussagen:

- 1) Um eine signifikante zellbiologische Wirkung in der NCI-Testung zu erzielen, sollte das LUMO eines Combilexins einen Wert von mindestens -0,15 eV oder darunter besitzen (also ein relativ tiefliegendes LUMO aufweisen).
- 2) Der Stickstoff der Carboxamidgruppe des N-Terminus sollte eine positive Atomladung aufweisen (hier als blaue Farbe zu erkennen)
- 3) Der C-Terminus sollte nicht negativ sein (rot); es sind hier eher hydrophobe bzw. hydrophile Wechselwirkungen von entscheidender Natur. Lipophile Reste am C-Terminus sind wahrscheinlich für eine Zelldiffusion bevorzugt.
- 4) Der N-terminale Heterocyclus (falls vorhanden) sollte eine Konformation aufweisen, bei dem die Seite mit der positiven Atomladung des Rings zur concaven Innenseite der Lexin-Curvature gedreht ist

- 5) Der  $\Delta T_m$ -Wert steht in keinem direkten Zusammenhang mit den berechneten Werten. Wie auch schon im vorigen Kapitel beschrieben, hängt eine Veränderung der  $\Delta T_m$ -Werte offensichtlich mit dem Vorhandensein der Propanaminseitenfunktion zusammen.
- 6) Es läßt sich ebenfalls keine sinnvolle Beziehung zwischen dem LUMO bzw. dem MEP und einer Topoisomerase I Hemmung erkennen.

#### 10.4 Bewertung der SPARTAN-AM1-Berechnungen

Als Bewertung der in diesem Kapitel durchgeführten Berechnungen sei hier gesagt, daß die Energiewerte und Ladungsverteilungen wenig aussagekräftig sind, da es sich um einen statistischen Vergleich mit sehr wenigen Verbindungen handelt. Weder die zellbiologischen und biophysikalischen Testungen, noch die SPARTAN Berechnungen sagen etwas über die Bindungsqualität und -lokalität aus. Wie bereits erwähnt, beziehen sich die Berechnungen auf Systeme, die sich bei 0 K (-273,15 °C) ohne Lösungsmittel im Vakuum befinden.

Trotzdem lassen sich einige Gemeinsamkeiten ablesen. Wie schon aus der Literatur bekannt ist [111, 112, 45], sollte die Concavseite der Curvature positive Atomladungen aufweisen, um an die DNA, d. h. an die elektronenreiche AT-haltige kleine Rinne der DNA, zu binden; Moleküle dieser Testreihe, deren NH in der Concavseite der Curvature zu negativ geladen waren, zeigten keine Wirkung (s. Tab 10.4, S. 118), Verb **79** und **54**). Das zweite entscheidende Kriterium ist das LUMO als Elektronenakzeptor-Orbital eines Moleküls, welches mindestens -0,15 eV aufweisen sollte, oder darunter.

## 11 Zusammenfassung und Ausblick

Die DNA ist für die Genexpression von Enzymen, die tumorpromovierende Eigenschaften besitzen - wie z. B. Topoisomerasen - verantwortlich und stellt somit ein interessantes Target in der Entwicklung von Krebstherapeutika dar. Diese Wirkstoffe sollten sequenzspezifische DNA-Liganden mit potentieller Antitumorwirkung sein. Grundsätzlich lassen sich drei Bindungsmodi unterscheiden: Alkylantien und Platin-Komplexe, Interkalatoren und Rinnenbinder.

Rinnenbinder besitzen die Eigenschaft, durch nicht-kovalente Bindung in der kleinen und großen Rinne der DNA durch H-Brücken und *van-der-Waals*-Kräfte selektiv an AT-reiche Sequenzen zu binden. Rinnenbinder besitzen alle eine "Sichelform" und einen Elektronenmangel an der Concavseite dieser "Sichel". Als Leitsubstanzen in der vorliegenden Arbeit dienten Netropsin (**11**) und Distamycin A (**12**), zwei Oligopyrrolcarboxamide.

Werden die Pyrrole in der Oligopeptidkette durch Imidazol, Thiophen, Furan oder Pyrazol ausgetauscht, so kann eine Selektivität auch für GC-reiche Sequenzen erzielt werden; diese Eigenschaft Sequenzen "lesen" (lat.: legere) führte zur Einführung des Begriffs "Lexine".

Die Verknüpfung eines Interkalators mit einem Oligopyrrolcarboxamid (oder eines anderen Lexins) über einen Linker führt zur Gruppe der "Combilexine". Der Lexinteil solcher Moleküle soll an eine bestimmte Sequenz der DNA binden, während der interkalativ operierende Teil in der Nähe dieser Lokalität sich zwischen die Basenstapelung einschleibt. Als Leitsubstanz für die vorliegende Arbeit diente NetAmsa (**22**), ein Konjugat aus Handelszytostatikum Amsacrin (**7**) und Netropsin (**11**).

Obwohl mehrere Beispiele solcher Combilexine in der Literatur vorliegen, existiert bislang noch keine Systematik einer Struktur-Wirkungsbeziehung. Es sollten daher im Rahmen dieser Arbeit neue Combilexine mit variablen "Randfunktionen" an den C- und N-terminalen Enden, flexiblen Gliederlängen der Pyrrolketten und der Linker synthetisiert werden. Die aus der Peptidchemie und der Distamycin A-Totalsynthese bekannten synthetischen Arbeiten sollten hierbei zum Einsatz kommen und optimiert werden.

Als Pyrrolkerneinheiten sollten zunächst Ketten von ein bis drei Pyrrolkernen aufgebaut werden, die in Anlehnung an Verfahren von *Lown* und *Bialer* erfolgte. Nach der Nitrierung von 1-Methylpyrrol-2-carbonsäure (**30**) sollte das Produkt (**31**)

zum Methylester **32** umgesetzt werden. Dieses Reaktions-Verfahren ergab nicht zufriedenstellende Ausbeuten, so daß ein Kondensationsverfahren gewählt wurde, bei dem aus Nitromalonaldehyd (**34**) mit Glycinmethylester durch alkalische Katalyse Pyrrolester **36** dargestellt wurde, der durch anschließende Alkylierung mit Methyljodid Produkt **32** in einer besseren Ausbeute ergab.

Pyrrole mit C-terminaler Propylenamin- (**40**) bzw. Propionitril-Funktion (**38**) entstanden durch Umsetzung von **31** zum Carbonsäurechlorid **38** mit den entsprechenden Aminen.

Die Bis- (**42**) und Tris-pyrrole (**43**) mit C-terminaler Methylesterfunktion wurden durch Reduktion von Pyrrolester **32** und anschließender Umsetzung mit Carbonsäurechlorid **38** dargestellt.

Als N-terminalen Hetarene sollten zunächst Indol und Carbazol, sowie Thymin als Nukleotidbase zum Einsatz kommen. Diese sollten mit einem variablen Carbonsäure-Linker (in unterschiedlicher Position am Aromaten) von zwei bis vier Kohlenstoffeinheiten versehen werden. Die Linker wurden durch ein Standardalkylierungsverfahren eingeführt.

Die Verknüpfung der Hetaren- bzw. Thymincarbonsäuren mit dem Nitro-Monopyrrolester **32** bzw. dem Nitro-bis-pyrrolester **42** erfolgte durch DCC/DMAP, nachdem die Nitro-Pyrrole mit Pd(10%)/ C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert worden waren.

Durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie, NOE-Experimente und Entkopplungsexperimente konnten die vier Pyrrolprotonen des Nitro-bis-pyrrolesters **42** eindeutig zugeordnet werden. Die Kopplungen der Signale ergaben des weiteren, daß eine transoide Konformation der Amidbindung wahrscheinlich ist.

Biochemische, biophysikalische und zellbiologische Testungen in unserem Arbeitskreis ergaben, daß ein großer Teil der Substanzen eine Topoisomerase I-Hemmung zeigten, jedoch keine DNA-Bindung. Eine DNA-Interkalation konnte aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit (Ethidiumbromid-Assay) nicht nachgewiesen werden.

NCI-Testungen (zellbiologisches Antitumorscreening) zeigten, daß Verbindung **44**, **53**, **56**, und **62** eine Zytotoxizität Aktivität zeigten.

Die meisten Verbindungen dieser ersten Testreihe hatten als C-terminales Ende einen Methylester. Die Nitrilverbindungen **54** und **55** zeigten keine Aktivität; Verbindung **62** war die einzige Verbindung dieser Testreihe mit C-terminaler

Propylendiamin-Seitenfunktion. Diese war aktiv und besser wasserlöslich als die anderen Verbindungen, so daß eine zweite Synthese-Reihe mit C-terminaler Propylendiamin-Seitenfunktion geplant wurde. Diese sollte neben analogen Verbindungen in bezug auf die N-terminalen Enden zur Komplettierung auch durch Anthrachinon-, Acetyl- und Adenin-Funktionen ergänzt werden.

Es war nach der Synthese der ersten Serie nicht möglich, Bis- (**70**) bzw. Tris-pyrrole (**70a**) mit C-terminaler Propylendiamin-Seitenfunktion auf diese Weise darzustellen, da sich das Pyrrolcarbonsäurechlorid **38** in Gegenwart von Methanol bevorzugt zum Methylester **32** umsetzte. Deshalb wurde ein anderes Verfahren gewählt, daß eine nucleofugere Abgangsgruppe bei der Carbonsäureaktivierung aufwies. Aus 1-Methylpyrrol wurde mit Trichloressigsäurechlorid in 2-Position acyliert (**67**) und anschließend nitriert (**68**). Pyrrol-propylendiamin **40** wird mit Pd(10%)/ C/ H<sub>2</sub> reduziert und anschließend mit dem aktivierten Pyrrol **68** zum Bis-pyrrol **70** umgesetzt (entsprechendes gilt für das Tris-pyrrol **70a** aus **70**).

Die Verknüpfung der entsprechenden Indol-, Carbazol-, Adenin- und Thymincarbonsäuren mit Mono-, Bis- und Tris-pyrrol-propylendiaminen zu Combilexinen erfolgte durch die DCC-Methode. Die Anthrachinonsulfonsäure wurde über das Sulfonsäurechlorid und anschließender Umsetzung mit den reduzierten Pyrrolen **40** und **70** zu den Combilexinen **85** und **86** umgesetzt. Die acetylierten Combilexine **81** und **82** entstanden durch direkte Umsetzung der reduzierten Pyrrole **70** und **70a** mit Acetylchlorid.

Die zellbiologische NCI-Testung dieser weiteren Substanzreihe ergab, daß nur die Substanzen **78**, **85** und **86** eine zellbiologische Aktivität zeigten.

Die biochemischen und biophysikalischen Testungen ergaben bei den Substanzen, die mindestens drei Carboxamidgruppen und mindestens zwei Pyrrolringe hatten eine DNA-Bindung; viele der Stoffe hemmten die Topoisomerase I.

Eine abschließend durchgeführte semiempirische quantenmechanische AM1-Rechnung mit dem SPARTAN-Program sollte zum einen Aufschluß über die Konformationen der Substanzen in Hinsicht auf die "Sichelform" und auf die zur Bindung an die kleine Rinne der DNA essentielle Elektronenmangelbereich der concaven Seite der "Sichel" ergeben.

Zunächst wurde das Programm auf seine Aussagefähigkeit hin validiert, indem die Röntgenkristallstruktur von Netropsin und Distamycin A aus der PDB-Datenbank minimiert wurden und mit den Netropsin- und Distamycin-Molekülen, die aus den

SPARTAN-Tools aufgebaut wurden, verglichen. Die Ergebnisse hinsichtlich der Standardbildungsenthalpie und der Geometrie stimmten nahezu überein (RMS-Verfahren).

Einige der in dieser Arbeit synthetisierten Substanzen wurden aus verschiedenen, möglichen Startgeometrien heraus minimiert. Das Ergebnis zeigt, daß in allen Fällen die trans-Amid-Konformation, die für die "Sichelform" essentiell ist, bevorzugt ist.

Die Berechnungen der Atomladungen (MEP-Visualisierung) zeigten, daß nicht in allen Fällen der berechneten Moleküle ein Elektronenmangel an der Concavseite der "Sichel" vorlag. Dieses Phänomen trat interessanterweise bei den Molekülen auf, die keine NCI-Zelllinienaktivität zeigten. Alle Substanzen mit NCI-Zelllinienaktivität wiesen ein LUMO von -0,15 eV oder darunter auf.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß es gelungen ist, ein präparativ gut zugängliches Verfahren zum Aufbau von Combilexinen mit variablen Randfunktionen aufzubauen.

Hinsichtlich der Struktur-Wirkungsbeziehung lassen sich folgende vororientierende Aussagen treffen:

- 1.) eine C-terminale Methylester-Funktion führt nicht zur DNA-Bindung, zeigt aber Antitumoraktivität auf NCI-Tumor-Zelllinien.
- 2.) Eine C-terminale Propylendiamin-Funktion führt zur DNA-Bindung, jedoch zeigt diese keine Aktivität auf NCI-Zelllinien.
- 3.) Für die Bindung an die DNA sind neben der Propylendiamin-Seitenfunktion mindestens zwei Pyrrolringe und drei Carboxamid-Funktionen essentiell.
- 4.) Je größer und elektronenärmer das aromatische System des N-terminalen Ende ist, um so stärker wirkt sich dieser Einfluß auf die Hemm-Aktivität gegenüber den NCI-Tumor-Zelllinien aus. Dieses wird besonders bei den Carbazol- und dem Anthrachinon-Derivaten sichtbar.
- 5.) Aus den AM1 Rechnungen an SPARTAN geht eindeutig hervor, daß an der Concavseite der "Sichel" der Oligopyrrolcarboxamide ein durchgehender Elektronenmangelbereich vorhanden sein muß, der für eine Hemm-Aktivität an NCI-Tumor-Zelllinien offenbar essentiell ist.



6.) Substanzen dieser Stoffklasse, die die Bedingungen aus Punkt 5 erfüllen und ein LUMO von  $-0,15$  eV oder darunter besitzen, sind auf NCI-Tumor-Zelllinien generell aktiv.

Künftige Arbeiten sollten sich noch näher mit den Einflüssen der Linker in bezug auf deren Länge und Beschaffenheit beschäftigen. Interessant wäre auch eine Fortsetzung der Synthesen mit Nucleotidbasen am N-terminalen Ende der Oligopyrrolketten und eine fortsetzende Optimierung der begonnenen Verfahren dieser Arbeit. Die Ergebnisse der AM1-Rechnungen könnten mit den hier gewonnenen Erkenntnissen in Hinsicht auf ein rationales Wirkstoff-Design unterstützend sein.

## 12 Experimenteller Teil

### 12.1 Allgemeine Angaben

#### Schmelzpunkte:

Gerät: Büchi 510, unkorrigierte Werte in ° C

#### Elementaranalysen:

Gerät: Haereus CHN rapid, (Institut für Organische Chemie, Universität Mainz)

#### Massenspektren:

Geräte: Mascom 311-A EI-Massenspektrometer (Institut für Pharmazie, Universität Mainz, Frau Dr. Kohl, Herr Dr. Schweppenhäuser, Herr Peifer);

70 eV Ionisierungsenergie

Finnigan MAT 7 FD-Massenspektrometer (Institut für Organische Chemie Universität Mainz, Frau Eider), 7 kV Ionisierungsenergie

#### IR-Spektren:

Gerät: Perkin-Elmer 1310 (Institut für Pharmazie, Universität Mainz), Frau Schulze

Medium: KBr-Preßlinge (feste Proben)

#### NMR-Spektren:

Geräte: 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) bzw. 50,3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ): Bruker AC-200 (Institut für Orga-

nische Chemie, Universität Mainz, Herr Wüstner, Herr Kolshorn)  
300 MHz ( $^1\text{H}$ ) bzw. 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ): Bruker AC-300 (Institut für Pharmazie, Universität Mainz, Frau Dr. Jansen, Frau Dr. Meyer, Herr Dr. Lemster, Herr Dr. Aygün, Herr Perlick, Frau Buechs)

Abkürzungen:

s:	Singulett
d:	Dublett
dd:	Doppeldublett
t:	Triplet
dt:	Doppeltriplett
q:	Quartett
quint:	Quintett
m:	Multiplet
b:	breites Signal
p:	pseudo; der nachfolgende Kennbuchstabe beschreibt lediglich den Signalhabitus
J:	Kopplungskonstante als Absolutwert in [Hz]

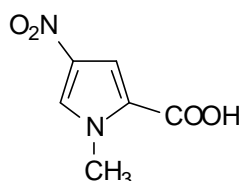
Chromatographie:

Dünnschichtchromatographie (DC): DC-Plastikfolien, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0,25 mm (Fa. Merck)

Säulenchromatographie (SC): Kieselgel 60, Korngröße 0,063-0,2 mm (Fa. Merck), Aluminiumoxid (neutral), Korngröße 0,063-0,2 mm. (Fa. Merck)

## 12.2 Synthesevorschriften

### 12.2.1 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure [66](31)



8 ml Acetanhydrid und 1,6 ml HNO<sub>3</sub> (70%) werden auf -25 °C gekühlt und dann gemischt. Die Mischung wird bei -25 °C langsam (!) zu einer Suspension aus 2 g (16 mmol) 1-Methyl-pyrrol-2-carbonsäure **30** in 12 ml Acetanhydrid (gekühlt bei -25 °C) getropft. Diese Mischung wird bei -15 °C 0,5 h gerührt. Man rührt anschließend 20 min. bei RT weiter.

Die Mischung wird erneut auf -25 °C gekühlt; die erfolgende Fällung wird in einem mit Trockeneis gekühlten Trichter gesammelt. Die Fällung wird mit -25 °C gekühltem Acetanhydrid gewaschen; danach wird erneut mit einer Mischung aus Acetanhydrid-Chloroform 1:1 gewaschen, dann mit Chloroform und Hexan. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EE-1:1) gereinigt.

Ausbeute: 2,1 g (11,5 mmol) (39% d. Th.), gelbe Nadeln

Schmelzpunkt: 204-205 °C (Literatur: 201-201,5 °C) [66]

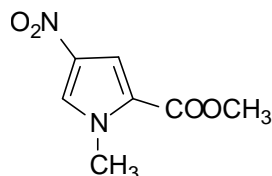
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,90 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 7,23 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 2,0 Hz, Pyrrol-H3), 8,22 (200 MHz) (CDCl<sub>3</sub>): (d, 1H, <sup>4</sup>J = 2,0 Hz, Pyrrol-H5)

EI-MS: m/z (%): 170 (100)

Summenformel: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 170,12

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3140 (s), 3090 (s), 3010 (s), 2870 (m), 1700 (s), 1580 (s), 1520 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1400 (s), 1360 (s), 1320 (s), 1270 (s), 1200 (s), 1130 (m), 1090 (m), 850 (m), 825 (m), 750 (s), 610 (w);

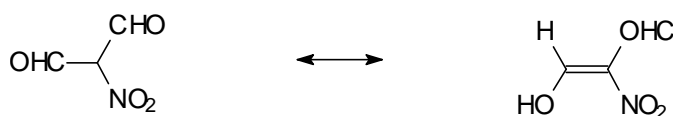
### 12.2.2 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester [66] (32)



5g (29,4 mmol) 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure **31** werden in einer kalten Lösung aus 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 50 ml MeOH gelöst und anschließend 12 h unter Rückfluß erhitzt. Danach versetzt man mit Wasser und extrahiert mit CHCl<sub>3</sub>. Die organische Schicht wird getrocknet, das LM entfernt. Der Rückstand wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EE -3:1) gereinigt.

Ausbeute: 2,1 g (11,5 mmol) (39% d. Th.), gelbes, amorphes Pulver  
 Schmelzpunkt: 121 °C (Literatur: 120 °C) [66]  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,04 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 7,31 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H 3), 8,05 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5)  
 EI-MS: m/z (%): 184 (100)  
 Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 184,15  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3200 (s), 3110 (m), 3100(m), 3040(m), 1710(s), 1510 (s), 1485 (s), 1470 (w), 1405 (m), 1395 (w), 1320 (s), 1260 (s), 1240 (s), 1200 (s), 1190 (s), 1050 (m), 1010 (w), 905 (w), 880 (m), 780 (s);

### 12.2.32-Nitromalonaldehyd [70] (34)

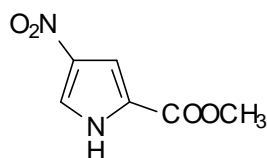


33,8 g (200 mmol) Mucochlorsäure **33** werden in 100 ml EtOH (96%) gelöst; diese Lösung wird zu einer wäßrigen NaNO<sub>2</sub>-Lösung (55,2 g in 100 ml Wasser), bei 40 °C unter Rühren hinzuge tropft. Das Hinzutropfen erfolgt innerhalb von 25 min. Man kühlt mit Eis, um die Reaktionstemperatur in einem Intervall von 35 °C bis 60 °C zu halten.

Während der Reaktion findet eine heftige Gasentwicklung statt. Man läßt 35 min. rühren; den entstandenen Niederschlag stellt man dann über Nacht in den Kühlschrank. Der Niederschlag wird mit 70 ml kochendem EtOH (75%) filtriert und extrahiert (Umkristallisation in EtOH); das Produkt befindet sich im ethanolischen Auszug (DC-Kontrolle!). Die Mutterlauge wird zum Extrahieren des Rests benutzt, wobei weiteres Produkt (0,69 g) erhalten wird.

Ausbeute: 2,8 g (24 mmol) (12% d. Th.), orangefarbene Kristalle  
 Schmelzpunkt: 124 °C (Literatur: 124 °C) [70]  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 8,42 (s, 1H, Enol-H), 9,71 (s, 1H, Aldehyd-H), 12,04 (1H, s, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): OH)  
 EI-MS: m/z (%): 117 (100)  
 Summenformel: C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>, 117,06  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3510 (m), 3440 (m), 3370 (m), 3290 (m), 1650 (s), 1600 (m), 1570 (m), 1530 (w), 1480 (m), 1380 (s), 1350 (m), 1270 (w), 930 (w), 820 (w), 760 (w);

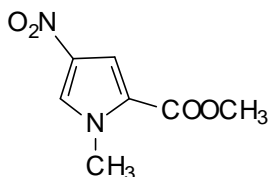
#### 12.2.4 4-Nitropyrrol-2-carboxymethylester [68](36)



1,3 g (11,15 mmol) Natrium-Nitromalonaldehyd **34** und (1,4 g) (11,15 mmol) Glycin-Methylester **35** werden in 6-7 ml warmem EtOH (65%) gelöst. 40 Tropfen 20%iger NaOH-Lsg. werden dann zugegeben; die rote Reaktionsmischung wird 30 min. bei 50 °C gerührt. Nach Zugabe von Wasser fällt ein gelber Niederschlag aus. Das Filtrat wird mit Ether mehrere Male ausgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet, der Ether unter vermindertem Druck eingedampft und das Produkt durch Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EE 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 1,35 g (7,94 mmol) (71 % d. Th.), hellgelbe Kristalle  
 Schmelzpunkt: 197 °C (Literatur: 197 °C) [68]  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7,28 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H3), 8,96  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,6 Hz , Pyrrol-H5)  
 EI-MS: m/z (%): 170 (100)  
 Summenformel: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 170,12  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3280 (s), 3260 (s), 3140 (m), 1700 , 1560 (s), 1500 (s), 1450  
 (m), 1440 (w), 1410 (w), 1385 (s), 1340 (s), 1325 (s), 1260 (s),  
 1215 (s), 1180 (w), 1145 (w), 1090 (m), 980 (m), 960 (m), 930  
 (w), 850 (w), 840 (m), 820 (m), 800 (m), 780 (s), 750 (s);

### 12.2.5 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester [67] (32)

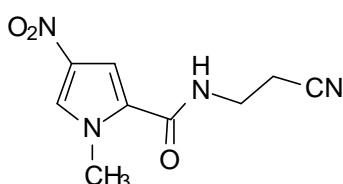


300 mg (1,75 mmol) 4-Nitro-Pyrrol-2-carbonsäuremethylester **36** werden in THF (abs) gelöst und zu einer Suspension aus THF (abs.) und 200 (5,1 mol) mg Kalium tropfenweise zugegeben. Man beobachtet eine Gasentwicklung (Blasenzähler) und einen Niederschlag. Danach werden 250 mg (141,91 mmol = 0,1 ml) Methyljodid in 2 ml THF (abs.) tropfenweise zugegeben. Am Ende der Reaktion wird mit MeOH versetzt, um überschüssiges Kalium zu zerstören. Nach Entfernen des LM nimmt man in Ether (trocken !) auf. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EE-3:1) gereinigt.

Ausbeute: 231 mg (1,25 mmol) (72 % d. Th.) gelbe Kristalle  
 Schmelzpunkt: 121 °C (Literatur: 120 °C) [67]  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,04 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 7,31 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): Hz, Pyrrol-H3), 8,05 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5);

EI-MS: m/z (%): 184 (100)  
 Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 184,15  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3150 (m), 1710 (s), 1570 (w), 1510 (s), 1500 (s), 1445 (w),  
 1420 (m), 1400 (m), 1370 (w), 1340 (w), 1320 (s), 1260 (s),  
 1200 (s), 1120 (s), 1090 (m), 985 (w), 945 (w), 860 (m), 830  
 (m), 800 (w), 765 (m), 750 (s);

### 12.2.6 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamid-propionitril [66](39)

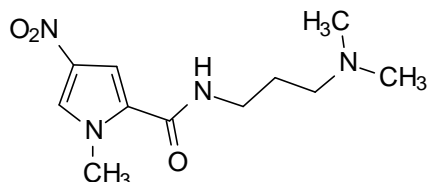


Eine Lösung aus 7 g (41 mmol) 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure **31** und einem Überschuß SOCl<sub>2</sub> (5 bis 10 fach) wird 5 bis 10 min. unter Rückfluß erhitzt. Die Mischung wird mit THF versetzt; das LM und überschüssiges SOCl<sub>2</sub> werden unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wird in THF aufgenommen und auf -20 °C gekühlt. Eine Lösung aus 3,12 ml (42,37 mmol) Aminopropionitril und 7,8 ml „Hünigs Base“ in 10 ml THF wird tropfenweise zugegeben. Danach läßt man bei RT Rühren. Das LM wird dann unter vermindertem Druck entfernt, das Produkt anschließend mit Wasser/Ether ausgeschüttelt.

Ausbeute: 7,22 g (32,5 mmol) (79 % d. Th.), gelbe Kristalle  
 Schmelzpunkt: 132 °C (Literatur: 132-133 °C) [66]  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 2,65 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>2</sub>-CN), 3,51 (2H, q, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz),  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 3,91 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 7,25 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H3), 7,81  
 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5), 8,05 (s, 1H, NH)  
 EI-MS: m/z (%): 222 (100)  
 Summenformel: C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, 222,20  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3310 (s), 3115 (m), 2875 (w), 2240 (w), 1640 (s), 1550 (s),  
 1525 (s), 1410 (s), 1320 (s), 1140 (w), 1110 (w), 1070 (w), 855  
 (m), 750 (s);



**12.2.7 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol-carboxamid**  
**[66](40)**



Eine Lösung aus 0,7 g (4,1 mmol) der 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure **31** in 2ml THF und einem Überschuß  $\text{SOCl}_2$  (5 bis 10 fach) wird 5 bis 10 min. unter Rückfluß erhitzt. Die Mischung wird mit THF versetzt; das LM und überschüssiges  $\text{SOCl}_2$  werden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in THF aufgenommen und auf  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt. Eine Lösung aus 0,6 ml (4,8 mmol) *N,N*-Dimethyl-1,3-propandiamin und 0,8 ml „Hünigs Base“ in 10ml THF wird tropfenweise zugegeben. Danach rührt man bei RT. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie (Aluminiumoxid MeOH:EE/1:4) gereinigt.

Ausbeute: 688 mg (2,7 mmol) (66 % d. Th.), farblose Kristalle

Schmelzpunkt:  $125\text{ }^\circ\text{C}$  (Literatur:  $125,5\text{-}127\text{ }^\circ\text{C}$ ) [66]

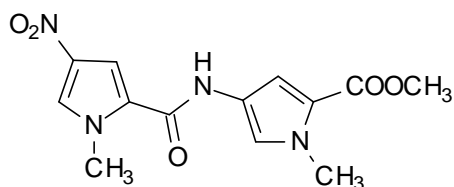
$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,63 (m, 2H,  $^3\text{J} = 6,5\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 2,05 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,21 (t, (300 MHz) ( $\text{DMSO-}d_6$ ): 2H,  $^3\text{J} = 6,7\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,18 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6,7\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,77 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 7,38 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,6\text{ Hz}$ , Pyrrol-H3), 8,09 (1H, d,  $^4\text{J} = 1,6\text{ Hz}$ , Pyrrol-H5), 8,40 (t, 1H,  $^3\text{J} = 7,4\text{ Hz}$ , NH)

EI-MS: m/z (%): 254 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ , 254,28

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3420 (s), 2720 (m), 2340 (w), 1650 (s), 1540 (m), 1530 (m), 1490 (w), 1470 (w), 1410 (w), 1305 (m), 1265 (w), 1215 (m), 1035 (m), 820 (w), 755 (m);

**12.2.81-Methyl-4-[[[(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)carbonyl]amino]-1*H*-2-pyrrol-carbonsäuremethylester [67] (42)**



Eine Lösung aus 200 mg (1,08 mmol) 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäuremethylester **32** in 10 ml trockenem Methanol wird mit 60 mg Pd(10%)/ C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert. Nach 3 h Rühren bei RT wird der Katalysator durch Filtration entfernt. Das LM wird unter reduziertem Druck eingedampft; den Rückstand nimmt man in 3 ml THF und 0,5 ml Hünigs Base auf. Diese Lösung wird auf -20 °C gekühlt.

200 mg (1,18 mmol) 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure **31** in 2 ml THF werden mit einem Überschuß SOCl<sub>2</sub> (5 bis 10-fach) 5 bis 10 min. unter Rückfluß erhitzt. Die Mischung wird in THF aufgenommen; das LM und überschüssiges SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in THF aufgenommen und auf -20 °C gekühlt,

Diese Lösung wird tropfenweise zu der Pyrrolaminlösung gegeben. Man läßt 30 min. bei RT rühren. Nach Entfernen des LM wird das Produkt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOG:EE/1:4) gereinigt.

Ausbeute: 228 mg (0,75 mmol) (69% d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 225 °C (Literatur: 225 °C) [67]

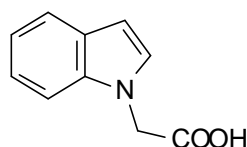
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,96 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 6,86 (1H, d, <sup>4</sup>J = 1,8 Hz, Pyrrol-H3), 7,45 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,7 Hz, Pyrrol-H5), 7,53 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,8 Hz, Pyrrol-H3'), 8,18 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,7 Hz, Pyrrol-H5'), 10,28 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm]

(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>):

EI-MS: m/z (%):	306 (100)
Summenformel:	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> , 306,27
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3370 (m), 3140 (m), 2980 (w), 2500 (w), 1690 (s), 1660 (s), 1565 (s), 1500 (m), 1480 (m), 1440 (m), 1390 (m), 1320 (s), 1250 (s), 1210 (m), 1120 (m), 1100 (m), 845 (w), 815(w), 780 (w), 750 (w);
Elementaranalyse	Ber.: C 50,98 H 4,61 N 18,29
	Gef.: C 51,07 H 4,52 N 18,00

### 12.2.92-(1*H*-1-Indolyl)essigsäure [78] (46)



22 g (188 mmol) geschmolzenes Indol **45** werden mit 17 g (425,1 mmol) fein gepulvertem NaOH in einem Wasserabscheider gerührt (Volumen: 200 ml); als Schlepper verwendet man Toluol, das unter Rückfluß erhitzt wird. Wenn sich kein Wasser mehr abscheidet, wird der Kolben auf RT abgekühlt.

36 g (285 mmol) an trockenem Chloressigsäureethylester werden hinzugefügt und man erhitzt erneut 4 h auf 140-150 °C unter Rühren.

Dann werden 100 ml einer wäßrigen NaOH-Lsg. (25%) zugefügt; es wird 3 h auf einem Wasserbad erhitzt; danach gibt man die Mischung in 250 ml Wasser. Nach einigen Stunden wird das nicht umgesetzte Indol abgetrennt und das Filtrat mit einer 1N-HCl auf pH 1 angesäuert; das kristalline Produkt wird gewaschen, getrocknet und in Ether ausgeschüttelt; die Lösung wird filtriert, das Produkt mittels Säulenchromatographie (Aluminiumoxid PE/EE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 3,95 g (22,56 mmol)(12% d. Th.), braune Nadeln

Schmelzpunkt: 175 °C (Literatur: 174-179 °C) [78]

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 4,63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,48 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H3), 7,0 (pt, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 1H, <sup>3</sup>J = 7,6 Hz, 1H, Indol-H 5 oder 6), 7,13 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz,

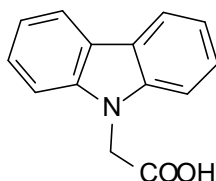
Indol-H 5 oder 6), 7,32 (d, 1H,  $^3J = 7,6$  Hz, Indol-H2), 7,34 (d, 1H,  $^3J = 7,7$  Hz, Indol-H7), 7,58 (d, 1H,  $^3J = 7,9$  Hz, Indol-H2)

EI-MS: m/z (%): 175 (100)

Summenformel:  $C_{10}H_9NO_2$ , 175,18

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ): 3420 (w), 3200 (w), 3110 (m), 3100 (m), 3040 (m), 1710 (s), 1610 (w), 1510 (m), 1485 (m), 1470 (m), 1405 (m), 1395 (m), 1340 (m), 1320 (m), 1260 (m), 1240 (s), 1200 (m), 1200 (m), 1190 (m), 1125 (w), 1050 (w), 1010 (w), 905 (w), 880 (w), 780 (w), 740 (s);

### 12.2.10 2-(9H-9-Carbazolyl)essigsäure [79] (48)



20 g (119,76 mmol) an geschmolzenem Carbazol **47** werden mit 15 g (441,3 mmol) fein gepulvertem KOH solange gerührt, bis kein Dampf mehr entweicht. Die entstandene Masse wird dann auf RT gekühlt und anschließend pulverisiert. Es erfolgt eine Zugabe von 36 g (285 mmol) trockenem Chloressigsäureethylester. Diese Mischung wird 4 h bei 180 °C erhitzt. Nach Zugabe von 100 ml Wasser wird tropfenweise HCl (1N) zugefügt, bis ein Niederschlag entsteht. Die Kristallmasse wird in  $CH_2Cl_2$  gelöst und mehrere Male bis zur Trockene einrotiert.

Ausbeute: 3,77g (16,77 mmol)(14% d. Th.); braune, amorphe Masse

Schmelzpunkt: 192 °C (Literatur: 193-194 °C); [79]

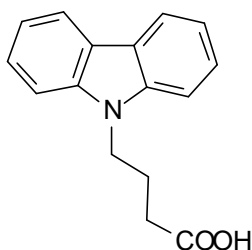
$^1H$ -NMR,  $\delta$  [ppm] 4,62 (s, 2H,  $CH_2$ ), 7,11 (pt, 2H,  $^3J = 7,2$  Hz, Carbazol-H1,8), (300 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 7,35 (m, 4H,  $^3J = 7,3$  Hz, Carbazol-H2,3,6,7), 8,13 (pt, 2H,  $^3J = 7,3$  Hz, Carbazol-H4,5)

EI-MS: m/z (%): 225 (100)

Summenformel:  $C_{14}H_{11}NO_2$ , 225,24

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3480 (s), 3400 (s), 2800 (m), 2350 (m), 1600 (s), 1480 (w), 1450 (w), 1425 (s), 1400 (s), 1305 (m), 1215 (w), 1070 (w), 1000 (w), 750(m), 725 (m);

### 12.2.11 4-(9H-9-Carbazolyl)buttersäure [80] (49)



Ein Gemisch aus 20 g (119,76 mmol) Carbazol **47** und 10 g (294,2 mmol) gepulvertem KOH wird bei 260 °C geschmolzen. Die entstandene Kristallmasse wird nach dem Erkalten pulverisiert und mit 300 g (3,488 mmol)  $\gamma$ -Butyrolacton 10 h auf 180-200° C erhitzt. Man gibt das Reaktionsprodukt auf Eis, trennt nicht umgesetztes Carbazol ab und fällt es durch Ansäuern auf pH 1 mit 1N-HCl aus; das Produkt wird mittels Säulenchromatographie (Aluminiumoxid PE/EE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 5,15 g (20,36 mmol)(17% d. Th.), braune Nadeln

Schmelzpunkt: 150 °C (Literatur: 150 °C) [80]

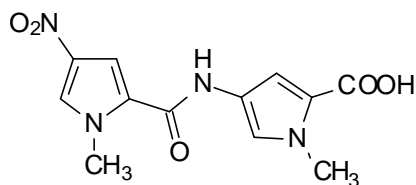
$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,95 (m, 2H,  $^3\text{J} = 6,5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,25 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6,4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), (300 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ): 4,43 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6,6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 7,22 (d, 2H,  $^3\text{J} = 6,3$  Hz, Carbazol-H1,8), 7,42 (pt, 2H,  $^3\text{J} = 6,9$  Hz, Carbazol-H2,7), 7,63 (pt, 2H,  $^3\text{J} = 6,9$  Hz, Carbazol-H3,6), 8,13 (d, 2H,  $^3\text{J} = 7,0$  Hz, Carbazol-H4,5), 11,51 (s, 1H, COOH);

EI-MS: m/z (%): 253 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ , 253,30

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3100 (m), 2930 (m), 2860 (m), 2330 (w), 1680 (s), 1565 (m), 1460 (m), 1430 (m), 1380 (m), 1350 (w), 1320 (m), 1300 (m), 1230 (m), 1210 (s), 1190 (w), 1150 (w), 1120 (w), 1100 (w), 900 (w), 725 (s), 700 (s);

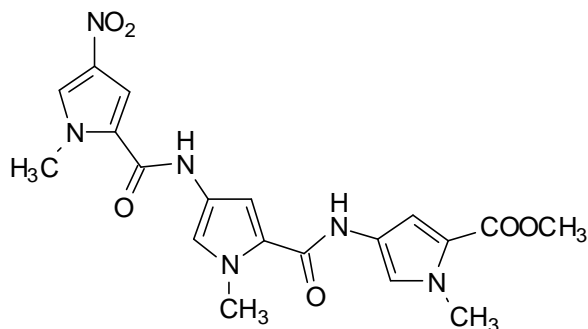
**12.2.12 1-Methyl-4-[(1-methyl-4-nitro-1H-2-pyrrol)carbonyl]-1-H-2-pyrrol-carbonsäure [66] (44)**



1 g (3,27 mmol) 1-Methyl-4-(1-methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamido)pyrrol-2-carbonsäuremethylester **42** wird in 30 ml Methanol gelöst und mit 10 ml Natronlauge (50%) versetzt. Man läßt 12 h unter Rückfluß rühren. Anschließend fügt man HCl (konz.) tropfenweise hinzu, bis der pH einen Wert von 1 erreicht hat. Der entstandene Niederschlag wird mit Wasser gewaschen, in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und bis zur Trockene einrotiert.

Ausbeute:	0,82 g (2,8 mmol) (86% d. Th.), gelbe Kristalle
Schmelzpunkt:	231 °C (Literatur: 233-234 °C) [66]
<sup>1</sup> H-NMR, δ [ppm] (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	3,92 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 3,95 (s, 3H, N'-CH <sub>3</sub> ), 6,91 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,8 Hz, Pyrrol-H3), 7,42 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,7 Hz, Pyrrol-H5), 7,53 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,8 Hz, Pyrrol-H3'), 8,13 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,7 Hz, Pyrrol-H5'), 10,25 (s, 1H, COOH);
EI-MS: m/z (%):	292 (100)
Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> , 292,25
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3360 (s), 3040 (m), 3010 (m), 1640 (s), 1550 (m), 1480 (s), 1430 (m), 1400 (w), 1300 (s), 1280 (m), 1230 (m), 1190 (m), 1100 (m), 800 (w), 740 (w);
Elementaranalyse	Ber.: C 49,32 H 4,14 N 19,17 Gef.: C 49,67 H 4,47 N 18,96

**12.2.13 1-Methyl-4-[[[(1-methyl-4-[(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol)-carbonyl]amino}-1*H*-2-pyrrolyl)carbonyl]amino]-1*H*-2-pyrrol-carbonsäuremethylester [67] (43)**



612 mg (2 mmol) 1-Methyl-4-(1-methyl-4-nitropyrrol-2-carboxamido)pyrrol-2-carbonsäuremethylester **42** und 200 mg Pd(10%)/ C werden in trockenem Methanol (10 ml) gelöst und unter Wasserstoffatmosphäre reduziert. Man läßt 8 h Rühren. Nach vollständiger Reduktion zum Amin (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid/EtOH) wird der Katalysator durch Filtration, das LM unter reduziertem Druck eingedampft; man nimmt anschließend in trockenem THF auf (3 ml) und ergänzt 1 ml Hünigs Base. Die Mischung wird auf – 20 °C gekühlt.

Eine weitere Lösung aus 340 mg (2 mmol) 1-Methyl-4-nitropyrrol-2-carbonsäure **31** in 2 ml THF und einem Überschuß SOCl<sub>2</sub> (5 bis 10 fach) wird 5 bis 10 min. unter Rückfluß erhitzt. Die Mischung wird mit THF versetzt; das LM und überschüssiges SOCl<sub>2</sub> werden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in THF aufgenommen und auf – 20 °C gekühlt und anschließend mit 5 ml trockenem THF versetzt.

Dann wird die Aminlösung zu der Säurechloridlösung bei 0 °C tropfenweise zugegeben. Nach 30 min. Rühren bei RT wird das LM unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 360 mg (0,84 mmol) (42% d. Th.), gelbes Kristalle

Schmelzpunkt: 228 °C (Literatur: > 270 °C) [67]

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,11

(300 MHz) (DMSO  $d^6$ ): (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6,91 (d, 1H,  $^4J = 1,7$  Hz, Pyrrol-H), 7,05 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Pyrrol-H), 7,32 (d, 1H,  $^4J = 1,7$  Hz, Pyrrol-H), 7,44 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Pyrrol-H), 7,63 (d, 1H,  $^4J = 1,7$  Hz, Pyrrol-H), 8,13 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Pyrrol-H), 9,90 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH), 10,41 (s, 1H, NH)

EI-MS: m/z (%): 428 (100),

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, 428,40

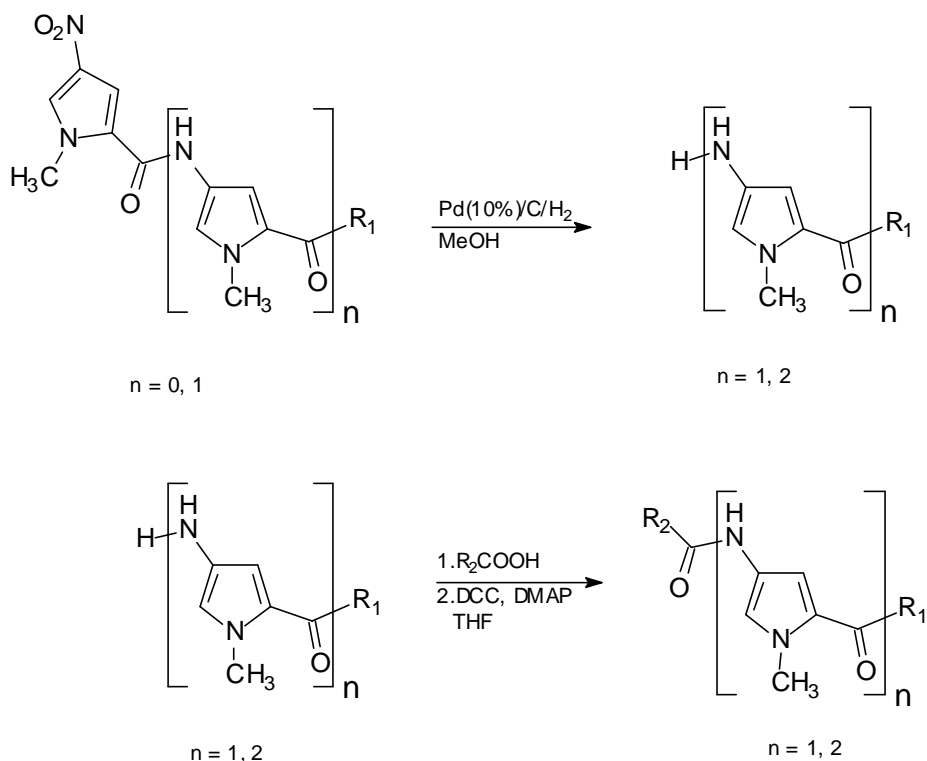
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3390 (s), 3030 (m), 2970 (m), 1700 (s), 1640 (s), 1550 (s), 1430 (s), 1390 (m), 1300 (s), 1250 (m), 1200 (m), 1100 (w), 1050 (s), 790 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 53,27 H 4,71 N 19,62

Gef.: C 53,11 H 4,61 N 19,50



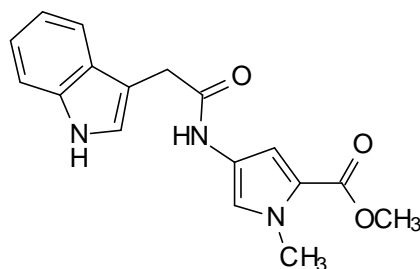
### 12.2.14 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Oligo-carboxamide [82]



- $n = 1, 2, 3$   
 $\text{R}' = \text{OH}$   
 $\text{R}' = \text{OCH}_3$   
 $\text{R}' = \text{HN}(\text{CH}_2)\text{CN}$   
 $\text{R}' = \text{HN}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$

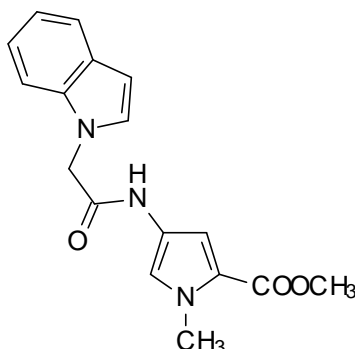
4 mmol der Carbonsäure werden in 40 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst. Dazu gibt man 4,4 mmol des entsprechenden Pyrrolamins, welches zuvor durch Reduktion der entsprechenden Nitropyrroleinheit mit  $\text{Pd}(10\%)/\text{C}$  in 20 ml  $\text{MeOH}$  unter Wasserstoffatmosphäre hergestellt wurde; man gibt eine Spatelspitze  $\text{DMAP}$  zu. Die Mischung wird auf  $-15\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlt. Eine Lösung aus 1,2 g  $\text{DCC}$  (Dicyclohexyl-Carbodiimid  $\text{Mr}=206,33$ ) (4,8 mmol) in 10 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wird tropfenweise zugegeben. Man läßt 24 h bei RT rühren. Dicyclohexylharnstoff Niederschlag) wird entfernt, das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel  $\text{PE}/\text{EE}$  1:1) gereinigt.

**12.2.14.1 4-[[2-(1*H*-3-Indolyl)acetyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol  
carbonsäuremethylester (51)**



Ausbeute:	896 mg (2,88 mmol) (72 % d.Th.), braune Nadeln
Schmelzpunkt:	155 °C
<sup>1</sup> H-NMR, δ [ppm] (300 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> ):	3,67 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 3,75 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 3,85 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 6,72 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,88 Hz, Pyrrol-H3), 6,91 (pt, 1H, <sup>3</sup> J = 7 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,00 (pt, 1H, <sup>3</sup> J = 6,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,21 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,8 Hz, Pyrrol-H5), 7,33 (d, 1H, <sup>3</sup> J = 7,9 Hz, Indol-H7), 7,34 (s, 1H, Indol-H2), 7,53 (d, 1H, <sup>3</sup> J = 7,9 Hz, Indol-H4), 10,00 (s, 1H, NH), 10,81 (s, 1H, Indol-NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ [ppm] (75 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> ):	33,0 (CH <sub>2</sub> ), 36,5 (CH <sub>3</sub> ), 51,3 (CH <sub>3</sub> ), 108,0 (CH), 109,5 (C <sub>q</sub> ), 111,8 (CH), 118,9 (CH), 119,0 (CH), 120,6 (CH), 121,5 (CH), 123,6 (C <sub>q</sub> ), 124,3 (CH), 127,4 (C <sub>q</sub> ), 136,8 (C <sub>q</sub> ), 160,9 (C=O), 168,8 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	311 (100)
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> , 311,34
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3400 (m), 3330 (m), 3270 (m), 3110 (m), 3040 (w), 2900(w), 2870 (w), 1700 (s), 1650 (s), 1575 (m), 1480 (m), 1450 (s), 1400 (m), 1350 (w), 1315 (w), 1260 (m), 1215 (m), 1195 (m), 1140 (m), 1100 (s), 1060 (w), 1015 (w), 750 (m);
Elementaranalyse	Ber.: C 65,58 H 5,50 N 13,50 Gef.: C 65,75 H 5,75 N 13,42

**12.2.14.2 4-[[2-(1*H*-1-Indolyl)acetyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol  
carbonsäuremethylester (52)**



Ausbeute: 310 mg (1 mmol) (25% d. Th.), orangegelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 160 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,70 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,78 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,90 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 6,41 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 2,7 Hz, Pyrrol-H3), 6,72 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, Indol-H3), 7,01 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,3 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,13 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,35 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 3,0 Hz, Pyrrol-H5), 7,38 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,2, Indol-H2), 7,52 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz, Indol-H7), 7,54 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, Indol-H7), 10,31 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 36,0 (CH<sub>3</sub>), 49,3 (CH<sub>2</sub>), 51,1 (CH<sub>3</sub>), 105,3 (CH), 113,0 (CH), (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 115 (CH) 121,6 (C<sub>q</sub>), 122,1 (CH), 124,2 (CH) 125,1 (CH), 125,3 (CH), 127,0 (C<sub>q</sub>), 133,1 (C<sub>q</sub>), 135,8 (CH) 141,1 (C<sub>q</sub>), 166,3 (C=O), 171,0 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 311 (100)

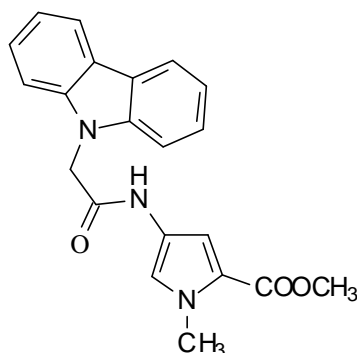
Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, 311,34

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3560 (w), 3480 (w), 3400 (w), 3340 (w), 3270 (m), 3195 (w), 3120 (m), 3050 (m), 2980 (w), 2950 (w), 1700 (s), 1650 (s), 1590 (s), 1505 (w), 1460 (s), 1445 (s), 1400 (s), 1365 (w), 1330 (w), 1310 (w), 1260 (m), 1240 (s), 1200 (m), 1140 (m), 1100 (s), 1060 (w), 1010 (w), 960 (w), 825 (w), 790 (w), 740 (s);

Elementaranalyse Ber.: C 65,58 H 5,50 N 13,50

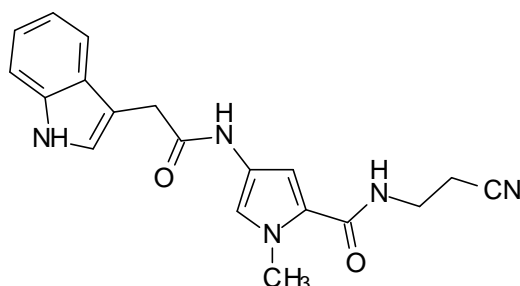
Gef.: C 65,84 H 5,75 N 13,20

**12.2.14.3 4-[[2-(9H-9-Carbazolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1H-2-pyrrol carbonsäuremethylester (53)**



Ausbeute:	1,13 g (3,62 mmol) (78% d. Th.), braune, amorphe Masse
Schmelzpunkt:	195 °C
$^1\text{H-NMR}$ , $\delta$ [ppm] (300 MHz) (DMSO $d^6$ ):	3,70 (s, 3H, $\text{OCH}_3$ ), 3,77 (s, 3H, $\text{N-CH}_3$ ), 5,17 (s, 2H, $\text{CH}_2$ ), 6,71 (d, 1H, $^4\text{J} = 2,0$ Hz, Pyrrol-H3), 7,20 (pt, 2H, $^3\text{J} = 7,8$ Hz, Carbazol-H3,6), 7,29 (d, 1H, $^4\text{J} = 2,8$ Hz, Pyrrol-H5), 7,42 (pt, 2H, $^3\text{J} = 7,5$ Hz, Carbazol-H2,7), 7,53 (d, 2H, $^3\text{J} = 8,2$ Hz, Carbazol-H1,8), 8,12 (d, 2H, $^3\text{J} = 7,7$ Hz, Carbazol-H4,5), 10,42 (s, 1H, NH)
$^{13}\text{C-NMR}$ , $\delta$ [ppm] (75 MHz) (DMSO $d^6$ ):	36,5 ( $\text{CH}_3$ ), 44,5 ( $\text{CH}_2$ ), 52,8 ( $\text{CH}_3$ ), 108,0 (CH), 109,8 (2t), 119,4 (CH), 119,7 (2t), 120,5 (2t), 122,5 ( $4_q$ ), 126,1 (2t), 141,2 ( $\text{C}_q$ ), 141,3 ( $\text{C}_q$ ), 164,9 (C=O), 169,6 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	361 (100)
Summenformel:	$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$ , 361,40
IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):	3380 (m), 3300 (m), 3050 (w), 3010 (w), 2910 (w), 2860 (m), 2800 (w), 1710 (s), 1660 (s), 1630 (s), 1610 (s), 1605 (s), 1595 (m), 1580 (m), 1490 (m), 1460 (s), 1450 (s), 1405 (m), 1380 (m), 1350(m), 1330(m), 1265 (m), 1240 (m), 1210 (m), 1200 (m), 1150 (m), 1130 (m), 1120 (m), 1100 (s), 1060 (m), 750 (s);
Elementaranalyse	Ber.: C 69,79 H 5,30 N 11,63 Gef.: C 69,70 H 5,72 N 11,32

**12.2.14.4 N2-(2-cyanoethyl)-4-{{2-(1*H*-3-indolyl)acetyl}amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (54)**



Ausbeute: 586 mg (1,68 mmol) (42% d. Th.), gelbe, amorphe Kristalle

Schmelzpunkt: 126 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 2,71 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6,4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,39 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6,4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,67 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,75 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 6,72 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,8 Hz, Pyrrol-H3), 6,96 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,1 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,04 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 6,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,13 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, Pyrrol-H5), 7,22 (s, 1H, Indol-H2), 7,32 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H7), 7,53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, Indol-H4), 9,90 (s, 1H, NH), 10,82 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 32,0 (CH<sub>2</sub>), 32,4 (CH<sub>2</sub>), 35,2 (CH<sub>2</sub>), 37,4 (CH<sub>3</sub>), 107,9 (CH), (75 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>): 113,2 (C<sub>q</sub>), 116,1 (CH), 123,1 (CH), 123,8 (CH), 124,0 (C<sub>q</sub>), 126,3 (2t), 127,0 (C<sub>q</sub>), 128,9 (CH), 132,5 (C<sub>q</sub>), 140,6 (C<sub>q</sub>), 165,1 (C=O), 168,1 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 349 (100)

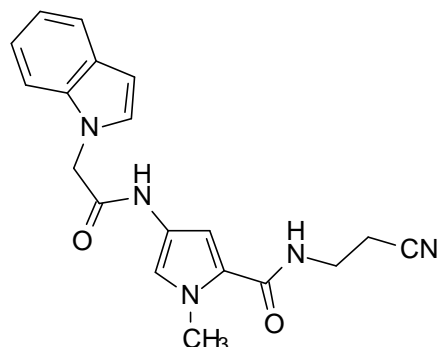
Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, 349,39

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3400 (s), 3330 (s), 3270 (m), 3100 (w), 3040 (w), 2920 (s), 2850 (s), 2790 (w), 2400 (w), 2220 (w), 1720 (m), 1650 (s), 1620 (s), 1570 (s), 1520 (s), 1430 (s), 1400 (s), 1310 (s), 1290 (m), 1270 (m), 1240 (s), 1215 (s), 1150 (m), 1085 (s), 1060 (m), 1005 (m), 890 (m), 800 (m), 780 (m), 740 (s);

Elementaranalyse Ber.: C 65,32 H 5,48 N 20,04

Gef.: C 65,04 H 5,89 N 19,83

**12.2.14.5 N2-(2-cyanoethyl)-4-{[2-(1*H*-1-indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (55)**



Ausbeute: 628 mg (1,8 mmol) (45% d.Th.), braune, amorphe Masse

Schmelzpunkt: 109 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 2,68 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6,4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,37 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6,4 Hz, CH<sub>2</sub>), (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 3,75 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,92 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,42 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 3,1 Hz, Pyrrol-H3), 6,76 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Indol-H3), 7,02 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,11 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 6,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,34 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, Pyrrol-H5), 7,36 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8,1 Hz, Indol-H2), 7,39 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,6 Hz, Indol-H7) 7,54 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H4), 8,34 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 32,0 (CH<sub>2</sub>), 35,1 (CH<sub>2</sub>), 37,4 (CH<sub>3</sub>), 44,1 (CH<sub>2</sub>), 107,9 (CH), (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 113,2 (C<sub>q</sub>), 116,1 (CH), 123,1 (CH), 123,8 (CH), 124,0 (C<sub>q</sub>), 126,3 (2t), 127,0 (C<sub>q</sub>), 128,9 (CH), 132,5 (C<sub>q</sub>), 140,6 (C<sub>q</sub>), 165,1 (C=O), 168,1 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 349 (100)

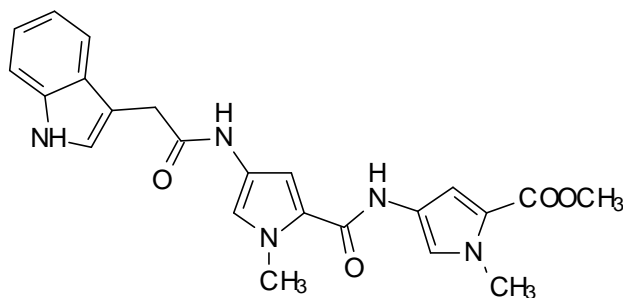
Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, 349,39

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3600 (m), 3550 (m), 3450 (m), 3380 (m), 3320 (s), 3010 (w), 2920 (s), 2850 (s), 1720 (m), 1650 (s), 1620 (s), 1570 (s), 1510 (s), 1440 (s), 1400 (m), 1360 (m), 1310 (s), 1270 (m), 1240 (s), 1200 (w), 1150 (w), 1085 (m), 1010 (m), 890 (m), 850(w), 805 (w), 780 (m), 760 (m), 750 (s);

Elementaranalyse Ber.: C 65,32 H 5,48 N 20,04

Gef.: C 65,13 H 5,83 N 19,70

**12.2.14.6 4-[[4-[[2-(1*H*-3-Indolyl)acetyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl]-carbonyl]-1-methyl-1*H*-2-pyrrolcarbonsäuremethylester (56)**



Ausbeute: 675 mg (1,56 mmol) (39 % d. Th.), gelbe Nadeln

Schmelzpunkt: 173 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,78 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>),  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 3,81 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), 5,50 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, Indol-H2), 6,81  
(d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,8 Hz, Pyrrol-H3), 6,92 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-  
H5 oder 6), 7,04 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,11 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,4 Hz, Pyrrol-H5), 7,22 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-  
H3'), 7,32 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, Indol-H4), 7,41 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6  
Hz, Pyrrol-H5'), 7,53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H7), 9,90 (s, 1H,  
NH), 10,82 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 33,6 (CH<sub>2</sub>), 36,4 (CH<sub>3</sub>), 47,8 (CH<sub>3</sub>), 51,2 (CH<sub>3</sub>), 104,4 (CH),  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 108,6 (CH) 109,2 (C<sub>q</sub>), 111,6 (CH), 115,8 (CH), 118,5 (CH),  
118,7 (CH), 121,2 (CH), 121,3 (CH), 122,4 (C<sub>q</sub>), 122,8 (C<sub>q</sub>),  
124,0 (CH), 127,5 (C<sub>q</sub>), 136,4 (C<sub>q</sub>), 158,7 (C=O), 161,1 (C=O),  
168,3 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 433 (100)

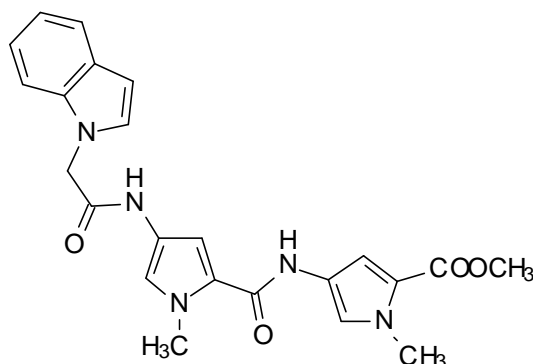
Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 433,46

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3600 (w), 3450 (w), 3380 (s), 3320 (s), 3240 (m), 3160 (m),  
3080 (m), 3000 (w), 2930 (s), 2850 (m), 2780 (w), 1700 (m),  
1650 (s), 1620 (s), 1570 (s), 1530 (s), 1435 (s), 1400 (s), 1350  
(m), 1310 (m), 1250 (m), 1200 (m), 1150 (w), 1105 (m), 1080  
(m), 1060 (w), 1005 (w), 960 (w), 890 (w), 820 (w), 795 (m),  
755 (m), 745 (m), 660(m);

Elementaranalyse: Ber.: C 63,73 H 5,35 N 16,16

Gef.: C 63,66 H 5,71 N 16,31

**12.2.14.7 4-{[4-{[2-(1*H*-1-Indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl]-carbonyl]-1-methyl-1*H*-2-pyrrolcarbonsäuremethylester (57)**



Ausbeute: 658 mg (1,52 mmol) (38 % d.Th.), braune, amorphe Masse

Schmelzpunkt: 152 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,81 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 4,9 (s, 2H s, CH<sub>2</sub>), 6,42 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H3), 6,81 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,7Hz, Pyrrol-H3), 7,04 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,11 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,15 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5), 7,30 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H2), 7,32 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9, Indol-H7), 7,38 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, Pyrrol-H3'), 7,41 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,8 Hz, Pyrrol-H5'), 7,45 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H4), 9,90 (s, 1H, NH), 10,35 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 36,8 (CH<sub>3</sub>), 46,9 (CH<sub>3</sub>), 51,8 (CH<sub>3</sub>), 58,9 (CH<sub>2</sub>), 104,4 (CH), (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 108,9 (CH) 109,3 (C<sub>q</sub>), 111,6 (CH), 115,8 (CH), 118,5 (CH), 118,7 (CH), 120,6 (CH), 121,1 (CH), 122,9(CH), 123,3 (C<sub>q</sub>), 124,0 (CH), 127,9(C<sub>q</sub>), 135,9 (C<sub>q</sub>), 158,6 (C=O), 161,2 (C=O), 168,7 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 433 (100)

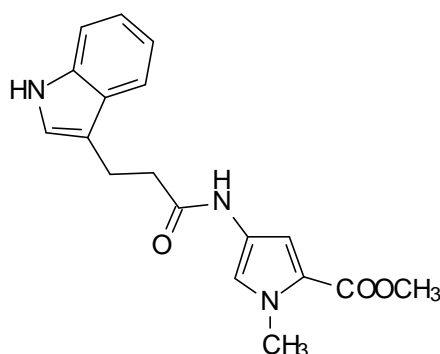
Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 433,46

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3550 (m), 3480 (m) 3400 (m), 3330 (s), 2970 (w), 1740 (m), 1625 (s), 1590 (s), 1425 (s), 1310 (m), 1215 (m), 1190 (m), 1120 (m), 1090 (m), 755 (m), 725 (m);



Elementaranalyse: Ber.: C 63,73 H 5,35 N 16,16  
 Gef.: C 63,32 H 5,82 N 16,01

**12.2.14.8 4-[[3-(1*H*-3-Indolyl)propanoyl]amino]-1-methyl-1*H*-2-pyrrol  
 carboxsäuremethylester (58)**



Ausbeute: 546 mg (1,68 mmol) (42 % d. Th.), braune Nadeln

Schmelzpunkt: 116 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 2,71 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz), 2,90 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,93 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 6,81 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, Pyrrol-H3), 6,93 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,05 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,15 (s, 1H, Indol-H2), 7,25 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,8 Hz, Pyrrol-H5), 7,33 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H7), 7,53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H4), 10,34 (s, 1H, NH), 10,81 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 25,8 (CH<sub>2</sub>), 33,2 (CH<sub>2</sub>), 36,5 (CH<sub>3</sub>), 51,3 (CH<sub>3</sub>), 108,0 (CH), (300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>): 109,4 (C<sub>q</sub>), 111,6 (CH), 115,1 (C<sub>q</sub>), 118,9 (CH), 119,1 (CH), 120,5 (CH), 121,5 (CH), 123,8 (C<sub>q</sub>), 124,5 (CH), 127,5 (C<sub>q</sub>), 136,9 (C<sub>q</sub>), 160,6 (C=O), 171,4 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 325 (100)

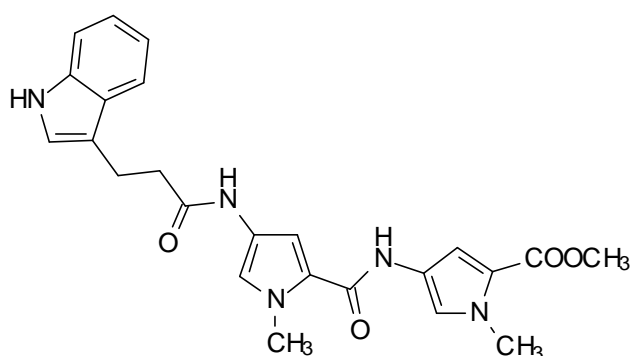
Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, 325,36

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3350 (m), 3260 (m), 3190 (m), 3100 (m), 3040 (m), 2980 (s), 2800 (w), 1640 (s), 1570 (m), 1550 (m), 1450 (m), 1400 (m),

1350 (m), 1260 (s), 1190 (m), 1130 (s), 1100 (s), 1020 (s), 850 (w), 780 (s), 720 (m), 650 (w);

Elementaranalyse: Ber.: C 66,45 H 5,89 N 12,91  
Gef.: C 66,82 H 6,13 N 12,57

**12.2.14.9 4-[2-(4-{[3-(1*H*-Indolyl)propynolyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl)-carbonyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carbonsäuremethylester (59)**



Ausbeute: 805 mg (1,8 mmol)(45 % d. Th.), orangegelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 163 °C

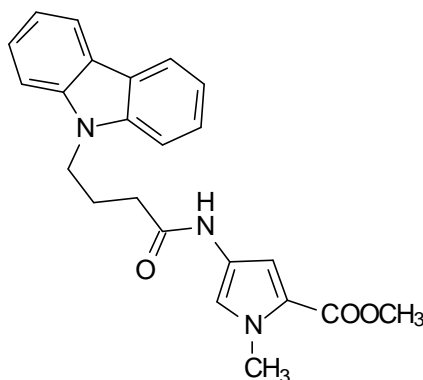
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 2,71 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz, CH<sub>2</sub>), 2,92 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, CH<sub>2</sub>), (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 3,70 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,80 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,90 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), 6,81 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, Pyrrol-H3), 6,90 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,05 (pt, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,15 (s, 1H, Indol-H2), 7,31 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, Indol-H7), 7,45 (d, 1H, <sup>4</sup>J = Pyrrol-H5), 7,53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7,8 Hz, Indol-H4), 7,55 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,7 Hz, Pyrrol-H3'), 8,11 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,7 Hz, Pyrrol-H5'), 9,80 (s, 1H, NH), 10,31 (s, 1H, NH), 10,90 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 25,4 (CH<sub>2</sub>), 33,0 (CH<sub>2</sub>), 36,1 (CH<sub>3</sub>), 47,1 (CH<sub>3</sub>), 51,0 (CH<sub>3</sub>), (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 104,6 (CH), 108,1 (CH), 108,3 (C<sub>q</sub>), 111,2 (C<sub>q</sub>), 111,6 (CH), 113,9 (C<sub>q</sub>), 115,8 (CH), 118,0 (C<sub>q</sub>), 118,7 (CH), 119,1 (CH), 120,4 (CH), 121,6 (CH), 124,6 (CH), 125,6 (C<sub>q</sub>), 127,4 (C<sub>q</sub>), 135,3 (C<sub>q</sub>), 158,5 (C=O), 165,4 (C=O), 170,1 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 447 (100)

Summenformel: C<sub>24</sub> H<sub>25</sub> N<sub>5</sub> O<sub>4</sub>, 447,49  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3350 (m), 3260 (m), 1700 (s), 1640, (s) 1600 (s), 1550 (m),  
 1440 (s), 1400 (s), 1350 (m), 1250 (m), 1200 (m), 1100 (m),  
 750 (m);  
 Elementaranalyse: Ber.: C 64,42 H 5,63 N 15,65  
 Gef.: C 64,12 H 5,95 N 15,30

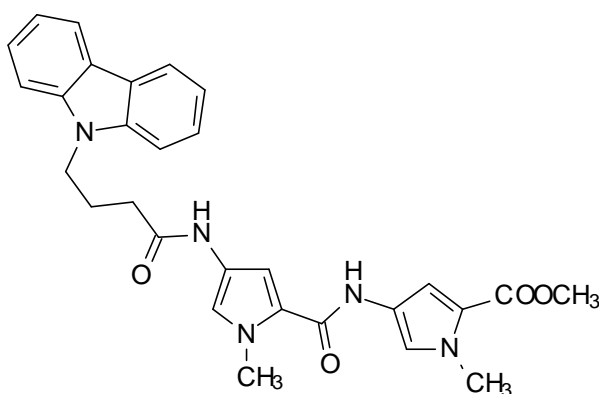
**12.2.14.10 4-[[4-(9H-9-Carbazolyl)butanoly]amino}-1-methyl-1H-2-pyrrol  
 carbonsäuremethylester (60)**



Ausbeute: 700 mg (1,8 mmol)(45 % d. Th.), gelbe, amorphe Masse  
 Schmelzpunkt: 240 °C  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 2,01 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz), 2,33 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6,9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,70 (s,  
 (300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>): 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,81 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,42 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6,7 Hz, CH<sub>2</sub>),  
 6,61 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H3), 7,23 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7,3 Hz,  
 Carbazol-H2,7), 7,31 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5), 7,44 (pt,  
 2H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, Carbazol-H3,6), 7,61 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8,1 Hz,  
 Carbazol-H1,8), 8,12 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 7,6 Hz, Carbazol-H4,5), 9,80  
 (s, 1H, NH);  
<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 24,6 (CH<sub>2</sub>), 32,6 (CH<sub>2</sub>), 36,4 (CH<sub>3</sub>), 42,0 (CH<sub>2</sub>), 51,2 (CH<sub>3</sub>),  
 (300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>): 108,0 (CH), 109,4, (CH), 109,5 (CH), 118,9 (C<sub>q</sub>), 118,9 (CH),  
 119,0 (CH), 120,5 (CH), 120,7 (CH), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,4 (C<sub>q</sub>)  
 123,0 (C<sub>q</sub>), 125,8 (CH), 125,9 (CH), 126,0 (CH), 140,2 (C<sub>q</sub>),  
 140,3 (C<sub>q</sub>), 161,0 (C=O), 169,1 (C=O)  
 EI-MS: m/z (%): 389 (100)

Summenformel:  $C_{23}H_{23}N_3O_3$ , 389,45  
 IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ): 3320, 2930, 2850, 1700, 1650, 1620, 1570, 1480, 1450, 1400,  
 1350, 1260, 1190, 1140, 1100, 780, 750;  
 Elementaranalyse: Ber.: C 70,93 H 5,95 N 10,79  
 Gef.: C 70,99 H 6,40 N 10,51

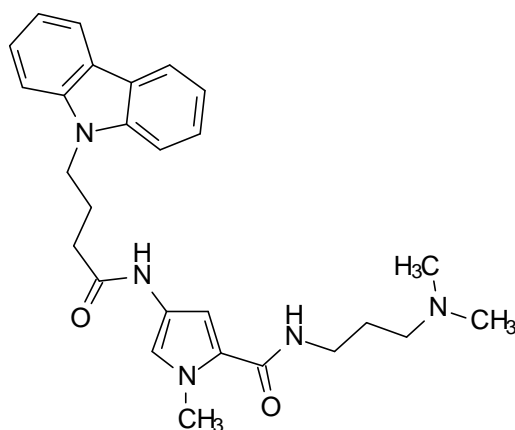
**12.2.14.11 4-{-[(9*H*-Carbazolyl)butanoyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl)-  
 carbonyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carbonsäuremethylester (61)**



Ausbeute: 531 mg (1,04 mmol) (26 % d. Th.), gelbe, amorphe Masse  
 Schmelzpunkt: 104 °C  
 $^1H$ -NMR,  $\delta$  [ppm] 1,91 (t, 2H,  $^3J = 6,4$  Hz,  $CH_2$ ), 2,30 (q, 2H,  $^3J = 6,9$  Hz,  $CH_2$ ),  
 (300 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 3,70 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3,81 (s, 3H,  $N-CH_3$ ), 3,91 (s, 3H,  $N'-CH_3$ ),  
 4,42 (t, 2H,  $^3J = 6,7$  Hz,  $CH_2$ ), 6,81 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Pyrrol-H3), 7,24 (pt, 2H,  $^3J = 7,3$  Hz, Carbazol-H2,7), 7,35 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Pyrrol-H5), 7,4 (pt, 2H,  $^3J = 7,5$  Hz, Carbazol-H3,6),  
 7,45 (d, 1H,  $^4J = 1,7$  Hz, Pyrrol-H3'), 7,63 (d, 2H,  $^3J = 8,1$  Hz, Carbazol-H1,8), 8,03 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Pyrrol-H5'), 8,13 (d, 2H,  $^3J = 7,6$  Hz, Carbazol-H4,5), 9,81 (s, 1H, NH), 10,44 (s, 1H, NH), 10,80 (s, 1H, NH)  
 $^{13}C$ -NMR,  $\delta$  [ppm] 24,3 ( $CH_2$ ), 33,0 ( $CH_2$ ), 36,5 ( $CH_3$ ), 39,6 ( $CH_3$ ), 42,0 ( $CH_2$ ),  
 (75 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 51,5 ( $CH_3$ ), 104,7 (CH), 108,0 (CH), 109,1 (CH), 109,6 (CH),  
 111,2 ( $C_q$ ), 113,9 ( $C_q$ ), 115,6 (CH), 118,8 ( $C_q$ ), 118,9 (CH),  
 119,0 (CH), 120,3 (CH), 120,6 (CH), 122,6 ( $C_q$ ), 122,7 ( $C_q$ ),  
 123,0 ( $C_q$ ), 126,0 (CH), 126,1 (CH), 126,2 (CH), 140,7 ( $C_q$ ),

	140,8 (C <sub>q</sub> ), 158,9 (C=O), 161,0 (C=O), 169,0 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	512 (100)
Summenformel:	C <sub>29</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub> , 512,58
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3410 (w), 3350 (m), 1700 (m), 1650 (m), 1560 (m), 1450 (s), 1400 (m), 1350 (m), 1320 (m), 1250 (m), 1200 (m), 1140 (m), 1100 (s), 820 (w), 780 (m), 750 (m), 720 (m);
Elementaranalyse:	Ber.: C 67,95 H 5,90 N 12,49
	Gef.: C 68,36 H 6,15 N 12,81

**12.2.14.12 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-4-[[4-(9H-carbazolyl)butanoly]amino]-1-methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (62)**



Ausbeute:	312 mg (0,68 mmol)(17 % d. Th.), braune, amorphe Masse
Schmelzpunkt:	118 °C
<sup>1</sup> H-NMR, δ [ppm] (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ):	1,62 (m, 2H, <sup>3</sup> J = 6,5 Hz), 1,90 (m, 2H, <sup>3</sup> J = 6,5 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2,04 (s, 6H, N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 2,21 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6,8 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2,33 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7,6 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3,12 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6,7 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3,80 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 4,42 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6,8 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7,22 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7,3 Hz, Carbazol-H2,7), 7,31 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,6 Hz, Pyrrol-H3), 7,41 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7,5 Hz, Carbazol-H3,6), 7,63 (d, 2H, <sup>3</sup> J = 8,1 Hz, Carbazol-H1,8), 8,05 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5), 8,1 (d, 2H, <sup>3</sup> J = 7,6 Hz, Carbazol-H4,5), 8,41 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 7,4 Hz, NH), 9,90 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ [ppm] (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ):	24,5 (CH <sub>2</sub> ), 28,0 (CH <sub>2</sub> ), 32,6 (CH <sub>2</sub> ), 36,4 (CH <sub>3</sub> ), 38,1 (CH <sub>2</sub> ), 42,0 (CH <sub>2</sub> ), 45,0 (N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 59,2 (CH <sub>2</sub> ), 108,0 (CH), 109,3

(CH), 109,4 (CH), 118,0 (C<sub>q</sub>), 119,0 (CH), 119,1 (CH), 120,1 (CH), 120,6 (CH), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,6 (C<sub>q</sub>), 123,0 (C<sub>q</sub>), 125,8 (CH), 126,0 (CH), 126,1 (CH), 140,0 (C<sub>q</sub>), 140,3 (C<sub>q</sub>), 160,3 (C=O), 171,0 (C=O);

EI-MS: m/z (%): 459 (100)

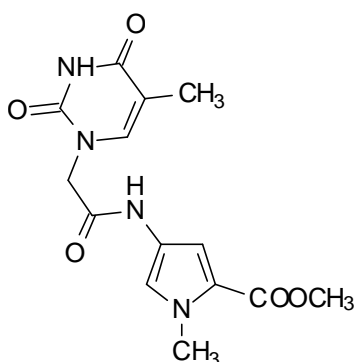
Summenformel: C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, 459,59

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3320 (m), 2920 (m), 2845 (m), 1650 (s), 1550 (s), 1450 (m), 1350 (w), 1310 (m), 1220 (m), 820 (m), 800 (w), 780 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 70,56 H 7,24 N 15,24

Gef.: C 70,49 H 7,11 N 15,10

### 12.2.14.13 1-Methyl-4-{[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino}-1*H*-2-pyrrol carbonsäuremethylester (63)



Ausbeute: 199 mg (1,08 mmol) (27 % d. Th.), gelbe, amorphe Masse

Schmelzpunkt: > 250 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,42 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,82 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 6,71 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,2 Hz, Pyrrol-H3), 7,22 (s, 1H Thymin-H6), 7,41 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,2 Hz, Pyrrol-H5), 10,20 (s, 1H, NH), 11,31 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 12,2 (CH<sub>3</sub>), 36,5 (CH<sub>3</sub>), 49,8 (CH<sub>2</sub>), 51,3 (CH<sub>3</sub>), 108,0 (CH), (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 108,4 (C<sub>q</sub>), 119,2 (C<sub>q</sub>), 122,3 (C<sub>q</sub>), 142,6 (CH), 142,7 (CH), 151,4 (C=O), 161,0 (C=O), 164,5 (C=O), 164,8 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 320 (100)

Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, 320,30

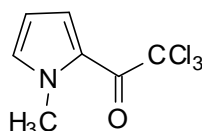
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3500 (m), 3410 (m), 3360 (s), 3180 (m), 3030 (m), 3000 (m),

2810 (m), 1700 (s), 1580 (s), 1470 (s), 1450 (s), 1410 (s), 1380 (m), 1360 (m), 1270 (m), 1240 (s), 1220 (s), 1140 (m), 1100(m), 1060 (m), 960 (m), 785 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 52,50 H 5,03 N 17,49

Gef.: C 52,09 H 5,41 N 17,22

### 12.2.15 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon [97](67)



Man gibt zu 2,03 g (25 mmol) *N*-Methylpyrrol **66** 10 ml wasserfreies CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und 4,55 g, (28 mmol) Trichloressigsäurechlorid unter Stickstoffatmosphäre bei RT. Nach Zugabe des Säurechlorids färbt sich die Lösung purpurrot bis violett. Man läßt 40 min. Rühren (DC-Kontrolle: PE/EE-3:1). Bei erfolgter Umsetzung entfernt man das LM unter vermindertem Druck.

Den purpurroten, öligen Rückstand versetzt man mit PE (40/60) und EtAc. Man läßt 10 min. unter Rückfluß rühren; danach bleibt ein purpurfarbener Rückstand übrig, von dem man die überstehende gelbe Lösung abfiltriert. Die gelbe Lösung wird über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Es bilden sich farblose bis gelbe Kristalle. Die Kristalle werden mit einer Fritte abtrennt.

Ausbeute: 2,3 g (10,16 mmol) (41% d. Th.), gelbe Nadeln

Schmelzpunkt: 62 °C (Literatur: 62-63 °C)[97]

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,89 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 6,27 (d,d, 1H, Pyrrol-H), 7,40 ( d, 1H, <sup>4</sup>J= (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 1,56 Hz, Pyrrol-H), 7,42 (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,71 Hz, Pyrrol-H)

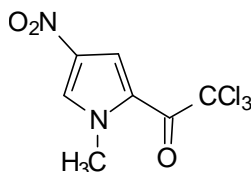
EI-MS: m/z (%): 226 (100)

Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>NOCl<sub>3</sub>, 226,48

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3350 (m), 3000 (s), 2850 (m), 1600 (s), 1480 (s), 1400 (s), 1350 (s), 1300 (s), 1280 (s), 1200 (s), 1160 (s), 1050 (s), 1020

(s), 920 (s), 820 (m), 800 (s), 760 (s), 700 (s), 650 (s);

### 12.2.16 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon [97](68)



1 g (4,43 mmol) 2-Trichloroacetyl-N-methylpyrrol **67** werden in 6 ml Acetanhydrid suspendiert und auf  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Man tropft eine Mischung aus 4 ml Acetanhydrid und 0,8 ml  $\text{HNO}_3$  (65%) hinzu. Nach 1,5 h wird die Kühlung entfernt.

Nach einer 1h Rühren bei RT erfolgt eine DC Kontrolle (Kieselgel PE/EtAc-8:1), wobei es sich bei der unteren Zone um das Produkt handelt (Vgl.:**67**). Man stumpft die Lösung mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung ab und schüttelt mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mehrmals aus; die vereinigten  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach dem Entfernen des LM wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EtAc-8:1) gereinigt.

Ausbeute: 640 mg (2,35 mmol) (53,3% d. Th.)(farblose Kristalle)

Schmelzpunkt:  $134\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Literatur:  $134 - 135\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) [97]

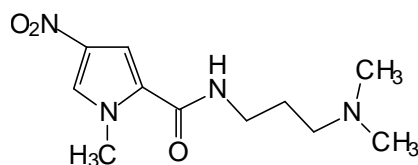
$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 3,98 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 7,78 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,84\text{ Hz}$ , Pyrrol-H3), 8,55 (300 MHz) ( $\text{DMSO-}d_6$ ): (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,7\text{ Hz}$ , Pyrrol-H5)

EI-MS: m/z (%): 271 (100)

Summenformel:  $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_3$ , 271,48

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3250 (m), 3020 (s), 2970 (m), 1630 (s), 1480 (s), 1440 (s), 1380 (s), 1350 (s), 1260 (s), 1180 (s), 1060 (s), 1030 (m), 950 (s), 810 (s), 800 (s), 760 (s), 750 (s), 700 (s), 660 (s), 640 (s);

### 12.2.17 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol-carboxamid (**40**)





Man löst 1,4 g (5,16 mmol) 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon **68** in 15 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und kühlt auf 0 °C. Man gibt 150 Tropfen (700 mg) *N,N*-dimethyl-1,3-propandiamin (6,86 mmol) hinzu. Nach 1 h Rühren bei RT wird das LM unter vermindertem Druck eingedampft und das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert. Der Rückstand wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOH/EtAc 1:4) gereinigt

Ausbeute: 688 mg (2,7 mmol) (66 % d. Th.), farblose Nadeln

Schmelzpunkt: 125 °C (Literatur: 125,5-127 °C)

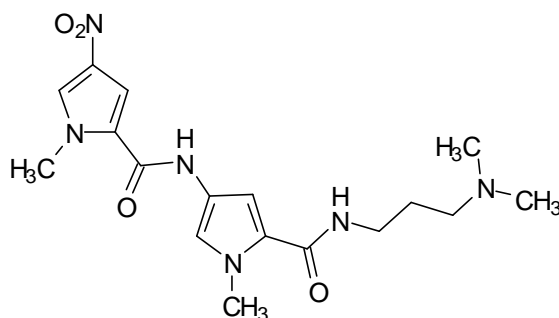
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,62 (m, 2H, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, CH<sub>2</sub>), 2,05 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,22 (t, (300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>): 2H, <sup>3</sup>J = 6,7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,18 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6,7 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,77 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7,38 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H3), 8,09 (1H, d, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, Pyrrol-H5), 8,40 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz, NH)

EI-MS: m/z (%): 254 (100)

Summenformel: C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, 254,28

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3420 (s), 2720 (m), 2340 (w), 1650 (s), 1540 (m), 1530 (m), 1490 (w), 1470 (w), 1410 (w), 1305 (m), 1265 (w), 1215 (m), 1035 (m), 820 (w), 755 (m);

### 12.2.18 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol carboxamid (**70a**)

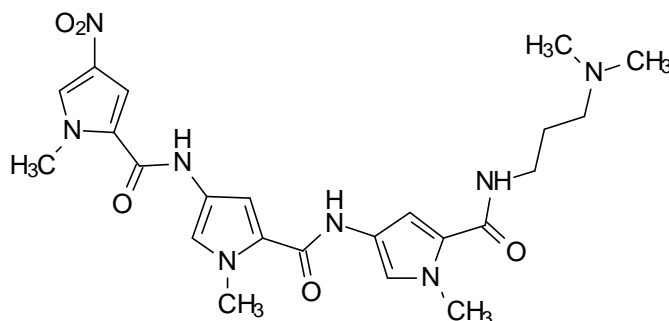


Es werden 2 g (7,86 mmol) N2-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid in 20 ml Dioxan mit 800 mg Pd(10%)/ C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert. Nach vollständiger Reduktion (DC Kontrolle mit EtOH/EE 1:4 auf Alox-Platte) filtriert man den Katalysator ab, entfernt das LM und

nimmt in 25 ml DMF auf. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt (Eis-Kochsalz). 2 g (7,36 mmol) 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon werden in 15 ml DMF gelöst und ebenfalls auf 0 °C gekühlt. Man läßt diese Lösung zu der Aminlösung tropfen. Die Mischung wird bei RT weiter gerührt. Nach erfolgter Umsetzung des Eduktes wird das LM eingedampft, das Rohprodukt mit Isopropanol gewaschen und mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25%) 97:3) gereinigt.

Ausbeute:	655 mg (1,74 mmol) (22,14% d. Th.), gelbe Kristallmasse
Schmelzpunkt:	190 °C
<sup>1</sup> H-NMR, δ [ppm] (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ):	1,62 (quint, 2H, <sup>3</sup> J= 7,14 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2,10 (s, 6H, N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 2,23 (t, 2H, <sup>3</sup> J= 3,0 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3,14 (q, 2H, <sup>3</sup> J= 6,95 Hz, CH <sub>2</sub> N), 3,79 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 3,91 (s, 3H, N'-CH <sub>3</sub> ), 6,79 (d, 1H, <sup>4</sup> J= 1,94 Hz, Pyrrol-H3), 7,19 (d, 1H, <sup>4</sup> J= 1,65, Pyrrol-H5), 7,55 (d, 1H, <sup>4</sup> J= 1,92, Pyrrol-H3'), 8,10 (t, 1H, <sup>4</sup> J= 1,63 Hz, NH), 8,16 (d, 1H, <sup>4</sup> J= 1,71 Hz, Pyrrol-H5'), 10,22 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ [ppm] (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ):	27,3 (CH <sub>2</sub> ), 36,3 (CH <sub>3</sub> ), 37,3 (CH <sub>2</sub> ), 37,6 (CH <sub>3</sub> ), 45,5 (N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 57,7 (CH <sub>2</sub> ), 104,1 (CH), 107,7 (CH), 107,8 (CH), 117,5 (CH), 121,7 (C <sub>q</sub> ), 123,6 (C <sub>q</sub> ), 126,6 (C <sub>q</sub> ), 134,1 (C <sub>q</sub> ), 157,1 (C=O), 161,4 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	376 (100)
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> , 376,41
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3200 (s), 3000 (s), 2850 (s) , 2720 (m), 2700 (m), 1610 (s), 1560 (s), 1520 (s), 1410 (s), 1380 (s), 1250 (s), 1200 (s), 1150 (s), 1100 (s), 1060 (s), 1000 (m), 980 (m), 880 (w), 840 (w), 800 (s), 760 (s), 720 (s), 700 (s), 650 (m);
Elementaranalyse:	Ber.: C 54,25 H 6,43 N 22,33 Gef.: C 54,66 H 6,63 N 22,30

**12.2.19 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-H-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{(1-methyl-4-nitro-1Hpyrrolyl)carbonyl}-amino}-1H-2-pyrrolcarboxamid (70b)**



2 g (5,3 mmol) N2-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol carboxamid **70** werden in 20 ml Dioxan gelöst und mit 800 mg Pd(10%)/C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert (12 h). Der Katalysator wird abfiltriert und , wird das LM unter Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird in 20ml DMF aufgenommen und auf 0° C abgekühlt. Eine zweite Lösung aus 2 g (7,36 mmol) 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)-1-ethanon **68** in 15 ml DMF wird bei 0 °C tropfenweise hinzugegeben. Nach erfolgter Zugabe läßt man bei RT noch weitere 30 min. Rühren. Das LM wird entfernt, der Rückstand mit Isopropanol gewaschen. Das kristalline Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub>(25%) 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 900 mg (1,8 mmol) (34,0% d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 127 °C (Literatur: 136-137 °C) [97]

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J=6,9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2,15 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,26 (t, (300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>): 2H, <sup>3</sup>J=6,9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,17 (q, 2H, <sup>3</sup>J=6,0 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,78 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6,81 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,6 Hz, Pyrrol-H), 7,02 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,6 Hz, Pyrrol-H), 7,18 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,5 Hz, Pyrrol-H), 7,26 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,6 Hz, Pyrrol-H), 7,58 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,5 Hz, Pyrrol-H), 8,08 (t, 1H, <sup>3</sup>J=5,3 Hz, NH), 8,17 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,5 Hz, Pyrrol-H), 9,94 (s, 1H, NH), 10,30 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C}$ -NMR,  $\delta$  [ppm] 26,6 ( $\text{CH}_2$ ), 36,2 ( $\text{CH}_3$ ), 36,3 ( $\text{CH}_3$ ), 37,7 ( $\text{CH}_2$ ), 38,9 ( $\text{CH}_3$ ),  
 (75 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ): 45,5 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 57,4 ( $\text{CH}_2$ ), 104,2 ( $\text{CH}$ ), 104,2 ( $\text{CH}$ ), 104,3  
 ( $\text{CH}$ ), 104,7 ( $\text{CH}$ ), 107,8 ( $\text{CH}$ ), 107,8 ( $\text{CH}$ ), 121,7 ( $\text{C}_q$ ), 122,3  
 ( $\text{C}_q$ ), 123,3 ( $\text{C}_q$ ), 123,6 ( $\text{C}_q$ ), 126,6 ( $\text{C}_q$ ), 134,0 ( $\text{C}_q$ ), 157,2  
 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 158,6 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 161,4 ( $\text{C}=\text{O}$ )

EI-MS: m/z (%): 498 (100)

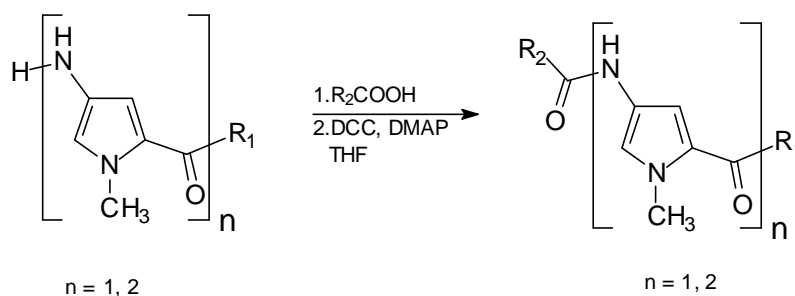
Summenformel:  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_8\text{O}_5$ , 498,54

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3380 (s), 3250 (s), 3100 (s), 2900 (s), 2820 (m), 2800 (m),  
 1640 (s), 1620 (s), 1560 (s), 1500 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1380  
 (s), 1290 (s), 1240 (s), 1200 (s), 1150 (s), 1100 (s), 1050 (m),  
 1020 (w), 1000 (w), 980 (w), 880 (w), 800 (m), 760 (m), 740  
 (m), 700 (w), 650 (w);

Elementaranalyse: Ber.: C 55,41 H 6,07 N 22,48

Gef.: C 55,54 H 6,36 N 22,20

### 12.2.20 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Oligocarboxamide



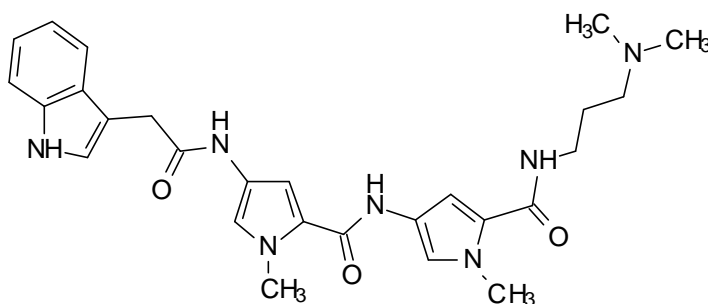
$n =$  1, 2, 3

$\text{R}_1 =$   $\text{HN}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$

1 mmol der Carbonsäure wird in 20 ml Dioxan gelöst. Dann gibt man diese Lösung zu 1 mmol des entsprechenden Pyrrolamins, welches zuvor durch Reduktion der entsprechenden Nitropyrroleinheit mit  $\text{Pd}(10\%)/\text{C}$  unter Wasserstoffatmosphäre in 20 ml Dioxan erzeugt wurde. Man gibt 12 mg DMAP (0,1 mmol) zu der Mischung. Diese wird bei RT 12 h gerührt. Es erfolgt die tropfenweise Zugabe einer Lösung aus 288

mg DCC (1,4 mmol) in 10 ml Dioxan. Nach 24 h Rühren wird der Dicyclohexylharnstoff Niederschlag abgetrennt, das LM entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel Methanol/NH<sub>3</sub>(25%) 97:3) gereinigt.

**12.2.20.1 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-H-3-pyrrolyl]-4-{[2-(1H-3-indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (74)**



Ausbeute: 140 mg (0,28 mmol) (27,8% d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 96 °C

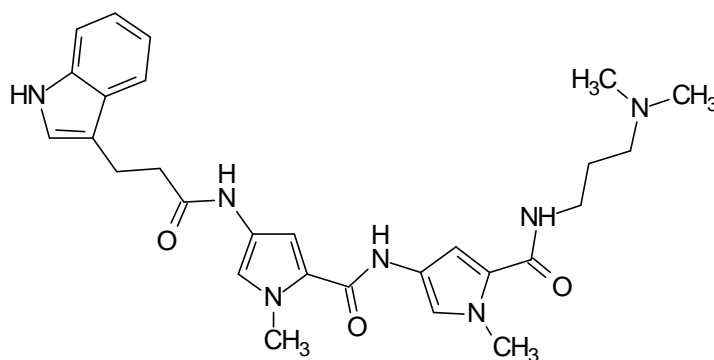
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,6 (quint, 2H, <sup>3</sup>J=7,0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2,1 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,3 (t, 2H, <sup>3</sup>J=5,8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,17 (q, 2H, <sup>3</sup>J=6,0 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,7 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,8 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), 5,7 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,8 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,65 Hz, Pyrrol-H3), 6,9 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,63 Hz, Pyrrol-H5), 6,95 (pt, 1H, <sup>3</sup>J=7,1 Hz, Indol-H 5 oder 6), 7,04 (pt, 1H, <sup>3</sup>J=7,0 Hz, Indol-H 5 oder 6), 7,13 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,41 Hz, Pyrrol H3'), 7,15 (d, 1H, <sup>3</sup>J=1,51 Hz, Pyrrol-H5'), 7,21 (s, 1H, Indol-H2), 7,33 (d, 1H, <sup>3</sup>J=8,0 Hz, Indol-H7), 7,57 (d, 1H, 7,9 Hz, Indol-H4), 8,05 (t, 1H, <sup>3</sup>J=5,03 Hz, NH), 9,8 (s, 1H, NH), 9,9 (s, 1H, NH), 10,87 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 27,5 (CH<sub>2</sub>), 33,4 (CH<sub>2</sub>), 36,2 (CH<sub>3</sub>), 36,3 (CH<sub>3</sub>), 37,3 (CH<sub>2</sub>), 45,5 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 57,4 (CH<sub>2</sub>), 104,2 (CH), 109,2 (C<sub>q</sub>), 111,6 (CH), 111,6 (CH), 118,6 (CH), 118,6 (CH), 119,0 (CH), 121,2 (CH), 121,2 (CH), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,3 (C<sub>q</sub>), 123,0 (C<sub>q</sub>), 123,3 (C<sub>q</sub>), 124,0 (CH), 127,5 (C<sub>q</sub>), 136,4 (C<sub>q</sub>), 158,6 (C=O), 161,4 (C=O), 168,3 (C=O);

EI-MS: m/z (%): 503 (100)

Summenformel:  $C_{27}H_{33}N_7O_3$ , 503,60  
 IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ): 3360 (s), 3250 (s), 3080 (m), 2900 (m), 2830 (m), 1620 (s),  
 1560 (m), 1520 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1380 (s), 1350 (s), 1290  
 (m), 1250 (m), 1190 (m), 1130 (m), 1090 (m), 1050 (m), 1000  
 (w), 800 (m), 760 (m), 730 (m), 650 (w);  
 Elementaranalyse: Ber.: C 64,40 H 6,60 N 19,47  
 Gef.: C 64,63 H 6,81 N 19,11

**12.2.20.2 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-{{[2-(1*H*-3-indolyl)propanoyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (75)}**



Ausbeute: 120 mg (0,23 mmol) (23,1% d. Th.), gelbe Kristalle  
 Schmelzpunkt: 75 °C  
 $^1H$ -NMR,  $\delta$  [ppm] 1,57 (quint, 2H,  $^3J=6,96$  Hz,  $CH_2$ ), 2,12 (s, 6H,  $N(CH_3)_3$ ), 2,22  
 (300 MHz) (DMSO  $d_6$ ): (t, 2H,  $^3J=7,11$  Hz,  $CH_2$ ), 2,59 (t, 2H,  $^3J=7,4$  Hz,  $CH_2$ ), 2,98 (t,  
 2H,  $^3J=7,5$  Hz,  $CH_2$ ), 3,15 (q, 2H,  $^3J=6,15$  Hz,  $CH_2N$ ), 3,77 (s,  
 3H, N- $CH_3$ ), 3,80 (s, 3H, N'- $CH_3$ ), 6,79 (d, 1H,  $^4J=1,66$  Hz,  
 Pyrrol-H3), 6,83 (d, 1H,  $^4J=1,4$  Hz, Pyrrol-H5), 6,97 (pt, 1H,  
 $^3J=7,65$  Hz, Indol-H 5 oder 6), 7,04 (pt, 1H,  $^3J=7,8$  Hz, Indol-H  
 5 oder 6), 7,13 (d, 1H,  $^4J=1,62$  Hz, Pyrrol-H3'), 7,16 (d, 1H,  
 $^4J=1,66$  Hz, Pyrrol-H5'), 7,19 (s, 1H, Indol-H2), 7,30 (d, 1H,  
 $^3J=7,8$  Hz, Indol-H7), 7,54 (d, 1H,  $^3J=8,4$  Hz, Indol-H4), 8,05 (t,  
 1H,  $^3J=5,05$  Hz, NH), 9,82 (s, 1H, NH), 10,22 (s, 1H, NH),

10,82 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 21,3 ( $\text{CH}_2$ ), 27,5 ( $\text{CH}_2$ ), 33,4 ( $\text{CH}_2$ ), 36,2 ( $\text{CH}_3$ ), 36,3 ( $\text{CH}_3$ ),  
(75 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ): 37,3 ( $\text{CH}_2$ ), 45,5 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 57,4 ( $\text{CH}_2$ ), 104,2 ( $\text{CH}$ ), 109,2 ( $\text{C}_q$ ),  
116,6 ( $\text{CH}$ ), 111,6 ( $\text{CH}$ ), 118,6 ( $\text{CH}$ ), 118,6 ( $\text{CH}$ ), 119,0 ( $\text{CH}$ ),  
121,2 ( $\text{CH}$ ), 121,2 ( $\text{CH}$ ), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 123,0 ( $\text{C}_q$ ),  
123,3 ( $\text{C}_q$ ), 124,0 ( $\text{CH}$ ), 127,5 ( $\text{C}_q$ ), 136,4 ( $\text{C}_q$ ), 158,6 ( $\text{C}=\text{O}$ ),  
161,4 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 168,3 ( $\text{C}=\text{O}$ );

EI-MS: m/z (%): 517 (100)

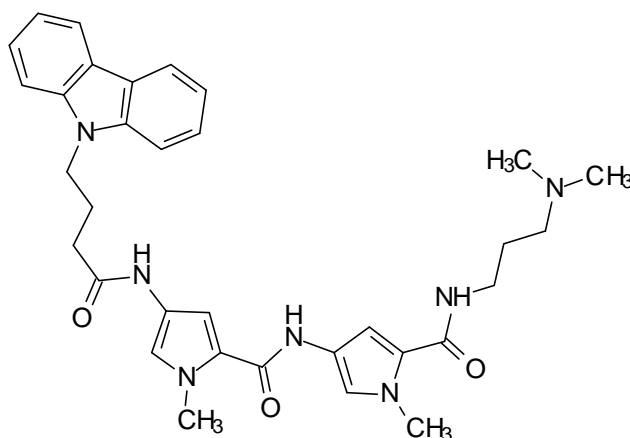
Summenformel:  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{O}_3$ , 517,63

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3400 (s), 3250 (s), 3100 (m), 2920 (s), 2840 (m), 2800 (m),  
2750 (m), 1620 (s), 1560 (s), 1520 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1380  
(s), 1300 (s), 1240 (s), 1200 (m), 1150 (m), 1130 (m), 1100  
(m), 1080 (m), 1050 (m), 1030 (m), 980 (w), 880 (w), 800 (m),  
760 (m), 740 (m), 650 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 64,97 H 6,82 N 18,94

Gef.: C 64,80 H 6,98 N 18,66

### 12.2.20.3 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-({[9*H*-9-carbazolyl]butanoyl]amino} -1-methyl-1-*H*-2-pyrrol carboxamid (78)



Ausbeute: 180 mg (0,3 mmol) (48,9% d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 99 °C

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,62 (quint, 2H,  $^3\text{J}=6,8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,18 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ), 2,04

(300 MHz) (DMSO  $d^6$ ): (quint, 2H,  $^3J=6,5$  Hz), 2,23 (t, 2H,  $^3J=7,0$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2,27 (t, 2H,  $^3J=6,6$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3,11 (q, 2H,  $^3J=6,4$  Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,75 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,79 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), 4,42 (t, 2H,  $^3J=6,7$  Hz, CH<sub>2</sub>), 6,80 (d, 1H,  $^4J=1,55$  Hz, Pyrrol-H3), 6,84 (d, 1H,  $^4J=1,6$  Hz, Pyrrol-H5), 7,13 (d, 1H,  $^4J=1,62$  Hz, Pyrrol-H3'), 7,16 (d, 1H,  $^4J=1,66$  Hz, Pyrrol-H5'), 7,19 (d, 2H,  $^3J=7,3$  Hz, Carbazol-H2,8), 7,41 (pt, 2H,  $^3J=7,5$  Hz, Carbazol-H2,7), 7,60 (pt, 2H,  $^3J=8,1$  Hz, Carbazol-H3,8), 8,05 (t, 1H,  $^3J=5,2$  Hz, NH), 8,10 (d, 2H,  $^3J=7,6$  Hz, Carbazol-H4,5), 9,80 (s, 1H, NH), 9,85 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR,  $\delta$  [ppm] 24,7 (CH<sub>2</sub>), 27,4 (CH<sub>2</sub>), 30,6 (CH<sub>2</sub>), 31,7 (CH<sub>2</sub>), 36,2 (CH<sub>3</sub>), 36,3 (CH<sub>3</sub>), 37,2 (CH<sub>2</sub>), 45,3 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 57,2 (CH<sub>2</sub>), 104,2 (CH), 104,3 (CH), 109,5 (CH), 109,5 (CH), 119,0 (CH), 119,0 (CH), 120,5 (CH), 120,5 (CH), 120,6 (CH), 121,7 (CH), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,4 (C<sub>q</sub>), 122,4 (C<sub>q</sub>), 123,0 (C<sub>q</sub>), 124,0 (C<sub>q</sub>), 125,9 (CH), 125,9 (CH), 140,3 (C<sub>q</sub>), 140,4 (C<sub>q</sub>), 153,5 (C<sub>q</sub>), 158,7 (C<sub>q</sub>), 161,5 (C=O), 169,1 (C=O), 169,2 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 582 (100)

Summenformel: C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 581,71

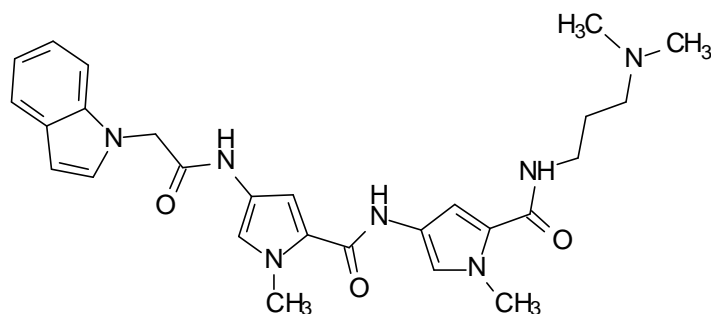
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3250 (s), 3100 (s), 3000 (s), 2900 (s), 2820 (s), 2790 (m), 1640 (m), 1600 (s), 1560 (s), 1500 (s), 1450 (s), 1380 (s), 1290(s), 1240 (s), 1190 (s), 1090 (s), 1050 (m), 880 (w), 800 (m), 740 (m), 700 (m), 650 (s);

Elementaranalyse: Ber.: C 68,14 H 6,76 N 16,85

Gef.: C 68,30 H 6,93 N 16,55

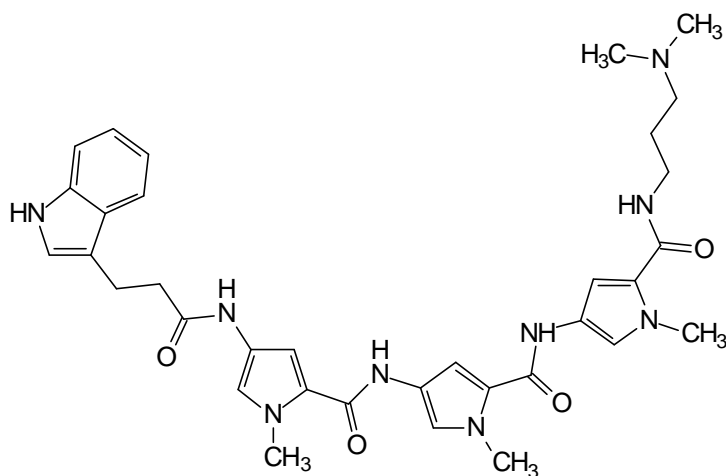
**12.2.20.4 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-{{[2-(1*H*-1-indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (77)}**





- Ausbeute: 340 mg (0,73 mmol) (80,6% d. Th.), gelbe Kristalle
- Schmelzpunkt: 98 °C
- $^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,56 (quint, 2H,  $^3\text{J}=7,0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,10 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,22 (t, (300 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 2H,  $^3\text{J}=7,0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3,16 (q, 2H,  $^3\text{J}=6,3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,77 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 3,79 (s, 3H, N'- $\text{CH}_3$ ), 4,96 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,44 (d, 1H,  $^3\text{J}=3,1$  Hz, Indol-H3), 6,78 (d, 1H,  $^4\text{J}=1,7$  Hz, Pyrrol-H3), 6,89 (d, 1H,  $^4\text{J}=2,0$  Hz, Pyrrol-H5), 7,02 (pt, 1H,  $^3\text{J}=6,9$  Hz, Indol-H 5 oder 6), 7,11 (pt, 1H,  $^3\text{J}=6,9$  Hz, Indol-H 5 oder 6), 7,13 (d, 1H,  $^4\text{J}=1,4$  Hz, Pyrrol-H3'), 7,16 (d, 1H,  $^4\text{J}=1,7$  Hz, Pyrrol-H5'), 7,36 (d, 1H,  $^3\text{J}=3,0$  Hz, Indol-H2), 7,38 (d, 1H,  $^3\text{J}=8,1$  Hz, Indol-H7), 7,54 (d, 1H,  $^3\text{J}=7,9$  Hz, Indol-H4), 8,06 (t, 1H,  $^3\text{J}=5,3$  Hz, NH), 9,85 (s, 1H, NH), 10,29 (s, 1H, NH)
- $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 27,4 ( $\text{CH}_2$ ), 36,2 ( $\text{CH}_3$ ), 36,4 ( $\text{CH}_3$ ), 37,3 ( $\text{CH}_2$ ), 45,4 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), (75 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 49,2 ( $\text{CH}_2$ ), 57,3 ( $\text{CH}_2$ ), 101,0 (CH), 104,2 (CH), 104,3 (CH), 110,0 (CH), 119,4 (CH), 119,4 (CH), 120,6 (CH), 120,6 (CH), 121,3 (CH), 121,3 (CH), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 123,3 ( $\text{C}_q$ ), 128,4 ( $\text{C}_q$ ), 128,4 ( $\text{C}_q$ ), 130,2 ( $\text{C}_q$ ), 136,6 ( $\text{C}_q$ ), 158,6 (C=O), 161,5 (C=O), 164,9 (C=O)
- EI-MS: m/z (%): 517 (100)
- Summenformel:  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{O}_3$ , 517,63
- IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3400 (s), 3250 (s), 3080 (m), 2900 (m), 2850 (m), 2800 (w), 1620 (s), 1560 (s), 1510 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1380 (s), 1340 (s), 1250 (s), 1190 (m), 1140 (m), 1090 (m), 1050 (m), 1000 (m), 950 (w), 800 (w), 750 (s), 730 (w), 650 (w);
- Elementaranalyse: Ber.: C 64,97 H 6,82 N 18,94  
Gef.: C 65,12 H 6,90 N 18,74

**12.2.20.5 N2-[5-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrol]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-4-[3-(1H-3-indolyl)propanoyl]-1-methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (76)**



Ausbeute: 43 mg (0,07 mmol)(6,7% d. Th.), gelbe Kristalle

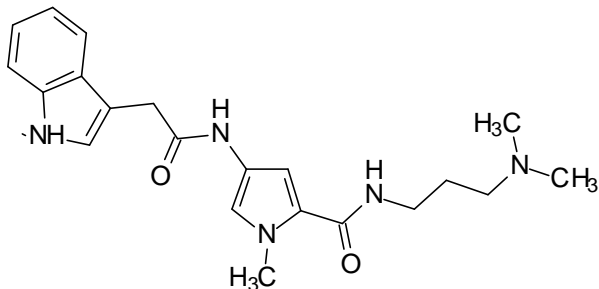
Schmelzpunkt: 139 °C

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,61 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 6,8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,11 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,25 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6,9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,61 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6,9$  Hz), 3,01 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6,9$  Hz), 3,15 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6,1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,75 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,80 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,83 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6,78 (d, 2H,  $^4\text{J} = 1,2$  Hz, Pyrrol-H), 6,89 (d, 2H,  $^4\text{J} = 1,2$  Hz, Pyrrol-H), 6,98 (pt, 1H,  $^3\text{J} = 7,6$  Hz, Indol-H5 oder 6), 7,02 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,68$  Hz, Pyrrol-H), 7,08 (pt, 1H,  $^3\text{J} = 7,0$  Hz, Indol-H5 oder 6), 7,11 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,65$  Hz, Pyrrol-H), 7,15 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,66$  Hz, Pyrrol-H), 7,20 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1,61$  Hz, Pyrrol-H), 7,21 (s, 1H, Indol-H2), 7,32 (pd, 1H,  $^3\text{J} = 7,7$  Hz, Indol-H7), 7,51 (pd, 1H,  $^3\text{J} = 7,8$  Hz, Indol-H4), 8,09 (t, 1H,  $^3\text{J} = 5,03$  Hz, NH), 9,80 (s, 1H, NH), 9,90 (s, 1H, NH), 9,99 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 21,3 ( $\text{CH}_2$ ), 27,2 ( $\text{CH}_2$ ), 31,0 ( $\text{CH}_3$ ), 36,2 ( $\text{CH}_3$ ), 36,4 ( $\text{CH}_2$ ), 36,8 ( $\text{CH}_2$ ), 37,2 ( $\text{CH}_2$ ), 45,1 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 57,1 ( $\text{CH}_2$ ), 104,2 (CH), 104,3 (CH), 140,4 (CH), 111,6 (3-CH), 114,0 ( $\text{C}_q$ ), 118,7 (CH), 119,5 (CH), 119,6 (CH), 121,2 (CH), 121,2 (CH), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 122,5 ( $\text{C}_q$ ), 123,0 ( $\text{C}_q$ ), 123,3 ( $\text{C}_q$ ), 124,0 ( $\text{C}_q$ ), 127,3

	(C <sub>q</sub> ), 136,5 (C <sub>q</sub> ), 156,5 (C=O), 158,7 (C=O), 161,5 (C=O), 169,5 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	639,7 (100)
Summenformel:	C <sub>34</sub> H <sub>41</sub> N <sub>9</sub> O <sub>4</sub> , 639,75
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3450 (s), 3200 (s), 2860 (m), 1600 (s), 1550 (s), 1500 (s), 1440 (s), 1400 (s), 1360 (m), 1230 (m), 1170 (w), 1070 (w), 1020 (w), 780 (w), 750 (w);
Elementaranalyse:	Ber.: C 63,83 H 6,46 N 19,70 Gef.: C 64,11 H 6,62 N 19,35

**12.2.20.6 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-4-{[2-(1H-3-indolyl)acetyl]amino}-1-methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (73)**



Ausbeute:	170 mg (0,45 mmol) (44,6% d. Th.), gelbe Kristalle
Schmelzpunkt:	65 °C
<sup>1</sup> H-NMR, δ [ppm] (300 MHz) (DMSO d <sub>6</sub> ):	1,57 (quint, 2H, <sup>3</sup> J=6,8 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2,11 (s, 6H, N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 2,21 (t, 2H, <sup>3</sup> J=7,13 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3,14 (q, 2H, <sup>3</sup> J=6,0 Hz, CH <sub>2</sub> N), 3,73 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ), 5,71 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6,63 (d, 1H, <sup>4</sup> J=1,7 Hz, Pyrrol-H3), 6,95 (pt, 1H, <sup>3</sup> J=7,2 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,05 (pt, 1H, <sup>3</sup> J=6,2 Hz, Indol-H5 oder 6), 7,07 (d, 1H, <sup>4</sup> J=1,4 Hz, Pyrrol-H5), 7,20 (s, 1H, Indol-H2), 7,32 (d, 1H, <sup>3</sup> J=8,0 Hz, Indol-H7), 7,56 (d, 1H, <sup>3</sup> J=7,8 Hz, Indol-H4), 8,03 (t, 1H, <sup>3</sup> J=5,3 Hz, NH), 9,89

(s, 1H, NH), 10,87 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 27,4 ( $\text{CH}_2$ ), 33,4 ( $\text{CH}_2$ ), 36,2 ( $\text{CH}_3$ ), 37,3 ( $\text{CH}_2$ ), 45,4 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ),  
 (75 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ): 57,3 ( $\text{CH}_2$ ), 103,6 ( $\text{CH}$ ), 109,2 ( $\text{C}_q$ ), 111,6 ( $\text{CH}$ ), 117,7 ( $\text{CH}$ ),  
 118,6 ( $\text{CH}$ ), 119,0 ( $\text{CH}$ ), 121,2 ( $\text{CH}$ ), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 124,0 ( $\text{C}_q$ ),  
 127,4 ( $\text{C}_q$ ), 136,4 ( $\text{C}_q$ ), 161,4 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 168,3 ( $\text{C}=\text{O}$ )

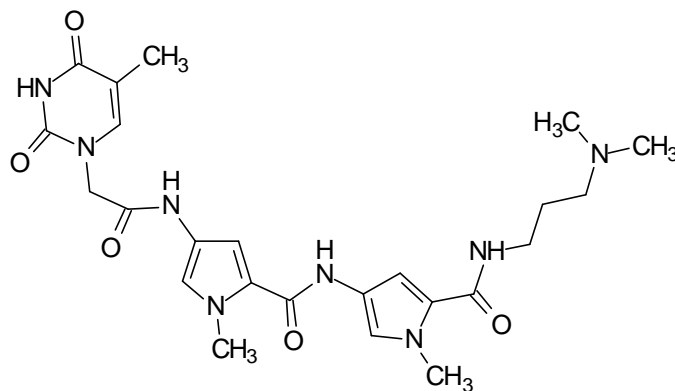
EI-MS: m/z (%): 381 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2$ , 381,41

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3350 (s), 3250 (s), 3080 (s), 2900 (s), 2820 (s), 2800 (m), 1640  
 (s), 1620 (m), 1560 (s), 1530 (s), 1440 (s), 1420 (s), 1400 (s),  
 1270 (s), 1240 (s), 1210 (m), 1140 (m), 1090 (m), 1000 (m),  
 980 (w), 950 (w), 800 (m), 770 (m), 730 (s), 600 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 66,12 H 7,13 N 18,36  
 Gef.: C 66,40 H 7,31 N 18,08

**12.2.20.7 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-{{[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino}-1*H*-2-pyrrol carboxamid (79)**



Ausbeute: (180 mg) (0,35 mmol) (35,1% d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 206 °C

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,60 (quint, 2H,  $^3\text{J}=6,99$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1,70 (s, 3H, Thymin- $\text{CH}_3$ ),  
 (300 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ): 1,76 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,10 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,24 (t, 2H,  $^3\text{J}=6,97$   
 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3,17 (q, 2H,  $^3\text{J}=7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,77 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ),  
 3,81 (s, 3H, N'- $\text{CH}_3$ ), 4,43 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,79 (d, 1H,  $^4\text{J}=4,67$

Hz, Pyrrol-H3), 6,89 (d, 1H,  $^4J=1,68$  Hz, Pyrrol-H5), 7,13 (d, 1H,  $^4J=1,4$  Hz, Pyrrol-H3'), 7,16 (d, 1H,  $^4J=1,5$  Hz, Pyrrol-H5'), 7,47 (s, 1H, Thymin-H), 8,05 (t, 1H,  $^3J=5,1$  Hz, NH), 9,83 (s, 1H, NH), 10,16 (s, 1H, NH), 10,28 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 12,2 (CH<sub>3</sub>), 27,4 (CH<sub>2</sub>), 36,2 (CH<sub>3</sub>), 36,4 (CH<sub>3</sub>), 37,3 (CH<sub>2</sub>), 45,4 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 49,8 (CH<sub>2</sub>), 57,3 (CH<sub>2</sub>), 104,2 (CH), 104,2 (CH), 104,3 (CH), 104,7 (CH), 108,2 (C<sub>q</sub>), 121,5 (C<sub>q</sub>), 122,2 (C<sub>q</sub>), 123,2 (C<sub>q</sub>), 131,9 (C<sub>q</sub>), 142,7 (CH), 151,4 (C=O), 158,5 (C=O), 161,4 (C=O), 164,3 (C=O), 168,2 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 512 (100)

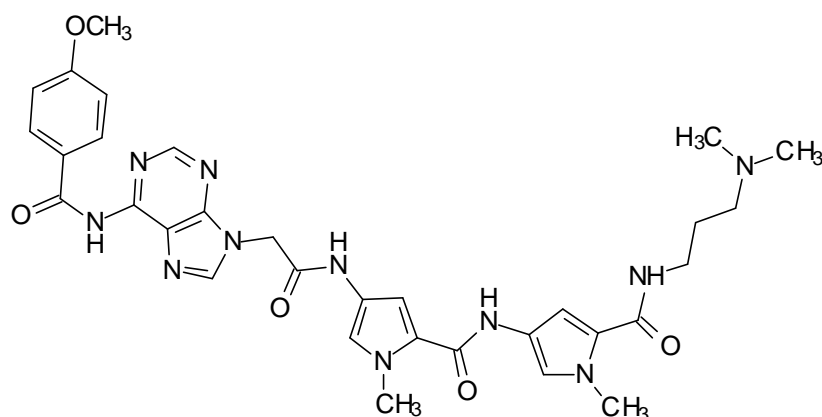
Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>, 512,56

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3400 (s), 3250 (s), 3100 (s), 2900 (s), 2800 (m), 1650 (s), 1600 (s), 1560 (s), 1500 (s), 1410 (s), 1380 (s), 1340 (s), 1210 (s), 1190 (s), 1150 (s), 1000 (m), 950 (w), 880 (w), 790 (m), 750 (s), 650 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 56,24 H 6,29 N 21,86

Gef.: C 56,50 H 6,40 N 21,66

**12.2.20.8 N2-[5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1H-3-pyrrol]-4-[(2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoethyl]-9-H-9-purinyl)-1-methylethyl]amino]-1-methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (93)**



Ausbeute: 37 mg (mmol) (5,7% d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 159 °C

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,58 (quint, 2H,  $^3\text{J}= 7,0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,10 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,23 (t, (300 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 2H,  $^3\text{J}= 7,0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3,16 (q, 2H,  $^3\text{J}= 6,3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,76 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,80 (s, 3H,  $\text{N-CH}_3$ ), 3,85 (s, 3H,  $\text{N'-CH}_3$ ), 5,23 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,75 (d, 1H,  $^4\text{J}= 1,7$  Hz, Pyrrol-H3), 6,83 (d, 1H,  $^4\text{J}= 1,7$  Hz, Pyrrol-H5), 7,00 d, 2H,  $^3\text{J}= 8,8$  Hz, Anis-H), 7,12 (d, 1H,  $^4\text{J}= 1,6$  Hz, Pyrrol-H3'), 7,17 (d, 1H,  $^4\text{J}= 1,6$  Hz, Pyrrol-H5'), 7,95 (t, 1H,  $^3\text{J}= 5,3$  Hz, NH), 8,06 (d, 2H,  $^3\text{J}= 8,8$  Hz, Anis-H), 8,53 (s, 1H, Adenin-H), 8,66 (s, 1H, Adenin-H), 9,81 (s, 1H, NH), 9,92 (s, 1H, NH), 10,22 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 26,7 ( $\text{CH}_2$ ), 36,2 ( $\text{CH}_3$ ), 36,3 ( $\text{CH}_3$ ), 36,7 ( $\text{CH}_2$ ), 44,5 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), (75 MHz) (DMSO  $d_6$ ): 45,8 ( $\text{CH}_2$ ), 55,8 ( $\text{CH}_2$ ), 56,6 ( $\text{CH}_3$ ), 104,3 ( $\text{C}_t$ ), 104,4 ( $\text{C}_t$ ), 104,4 ( $\text{C}_t$ ), 114,0 ( $\text{C}_t$ ), 114,0 ( $\text{C}_t$ ), 121,4 ( $\text{C}_q$ ), 121,5 ( $\text{C}_q$ ), 122,3 ( $\text{C}_q$ ), 123,2 ( $\text{C}_q$ ), 125,3 ( $\text{C}_q$ ), 125,8 ( $\text{C}_t$ ), 125,9 ( $\text{C}_t$ ), 127,9 ( $\text{C}_t$ ), 130,8 ( $\text{C}_t$ ), 150,6 ( $\text{C}_q$ ), 152,9 ( $\text{C}_q$ ), 156,2 ( $\text{C}_q$ ), 158,5 ( $\text{C}_q$ ), 161,6 ( $\text{C=O}$ ), 162,9 ( $\text{C=O}$ ), 163,5 ( $\text{C=O}$ ), 165,3 ( $\text{C=O}$ ).

EI-MS: m/z (%): 655 (100)

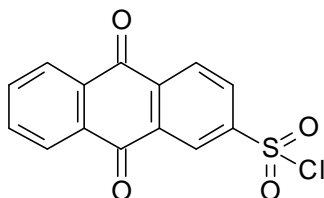
Summenformel:  $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_{11}\text{O}_5$ , 655,71

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3500 (s), 2880 (m), 1600 (s), 1550 (s), 1500 (s), 1440 (s), 1400 (s), 1220 (s), 1150 (m), 1100 (m), 1080 (m), 1000 (w), 780 (w), 740 (w), 600 (w);

Elementaranalyse: Ber.: C 58,62 H 5,69 N 23,50

Gef.: C 62,31 H 7,04 N 18,30

### 12.2.21 9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracensulfonsäurechlorid (84)

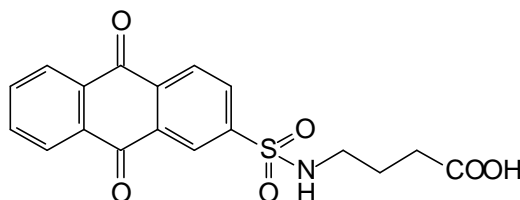


1 g (3,95 mmol) wasserfreies Natrium Anthrachinonsulfonat **83** wird in einem 25 ml Rundkölbchen mit 2 g (9,6 mmol)  $\text{PCl}_5$  gut durchmischt. Der Kolben wird mit einem Rückflußkühler mit Trockenrohr ( $\text{CaCl}_2$ ) versehen und im Metallbad 30 min. bei  $120^\circ\text{C}$

erhitzt. Nach dem Erkalten versetzt man mit 20 ml Toluol, erhitzt 20 min. zum Sieden und filtriert nach dem Abkühlen. Aus dem Filtrat gewinnt man das Sulfonylchlorid durch Entfernen des Toluens unter vermindertem Druck.

Ausbeute: 930 mg (3,66 mmol) (91,7% d. Th.), gelbe Kristalle  
 Schmelzpunkt: 197 °C  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 7,89 (m, 2H, aromatisches-H), 8,09 (pd, 1H, aromatisches,-H), (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 8,19 (m, 3H, aromatisches.-H), 8,38 (ps, 1H, aromatisches.-H);  
 EI-MS: m/z (%): 306 (100)  
 Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>7</sub>SO<sub>4</sub>Cl, 306,72  
 IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3400 (m), 3050 (m), 2950 (m), 1710 (s), 1560 (s), 1360 (s), 1310 (s), 1270 (s), 1170 (s), 1140 (s), 1050 (m), 950 (s), 910 (m), 840 (m), 800 (w), 780 (w), 690 (s), 650 (s);

#### 12.2.22 4-[[9,10-Dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino]-butansäure (87)



612 mg (2 mmol) Anthrachinonsulfonsäurechlorid **84** werden in 40 ml Dioxan gelöst. Man läßt bei RT Rühren. 300 mg (2,91 mmol)  $\gamma$ -Aminobuttersäure werden in einem Gemisch aus 40 ml Dioxan/DMF (1:1) gelöst. Man gibt die GABA-Lsg. bei RT tropfenweise zu und läßt über Nacht rühren. Das LM wird unter vermindertem Druck eingedampft. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie gereinigt (erst mit PE/EtAc 1:1, nachdem die erste Zone abgetrennt ist wird die Säule mit EtOH gespült; man erhält dann die zweite Zone, in der sich das Produkt befindet).

Ausbeute: 110 mg (0,29 mmol) (13,71% d. Th.) hellgelbe Kristalle  
 Schmelzpunkt: 236 °C  
<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,74 (q, 2H, <sup>3</sup>J= 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2,31 (t, 2H, <sup>3</sup>J= 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>),

(300 MHz) (DMSO  $d^6$ ): 2,80 (quint, 2H,  $^3J = 7,2$  Hz,  $CH_2$ ), 7,71 (s, 1H, OH), 7,90 (m, 2H, Anthrachinon-H), 8,09 (pd, 1H,  $^3J = 6,4$  Hz,  $^4J = 1,6$  Hz, Anthrachinon-H), 8,18 (m, 3H, Anthrachinon-H), 8,39 (d, 1H,  $^4J = 1,6$  Hz, Anthrachinon-H)

$^{13}C$ -NMR,  $\delta$  [ppm]

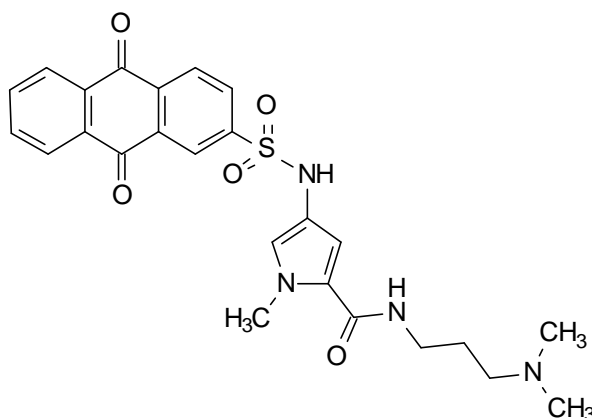
(75 MHz) (DMSO  $d^6$ ):

FD-MS: m/z (%): 373 (100)

Summenformel:  $C_{18}H_{14}NSO_6$ , 373,38

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ): 3350 (s), 3000 (s), 1670 (s), 1640 (s), 1550 (s), 1480 (m), 1440 (m), 1400 (m), 1380 (m), 1300 (s), 1260 (s), 1200 (s), 1160 (s), 1100 (s), 1050 (s), 1010 (s), 900 (m), 820 (m), 700 (s), 690 (s), 640 (s), 600 (s);

### 12.2.23 N2-[3-(dimethylamino)propyl]-4-[[9,10-dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino}-1-methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (85)



254 mg (1 mmol) N2-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1H-2pyrrol-carboxamid **40** werden in einer Mischung Dioxan/DMF (1:1) gelöst und mit 100 mg Pd(10%)/ C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert (18 h). Nachdem der Katalysator abfiltriert worden ist, werden 306 mg (1 mmol) Anthrachinsulfonsäurechlorid **68** in Dioxan/DMF gelöst und tropfenweise zu dem Filtrat bei RT gegeben. Der entstandene Niederschlag wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel Methanol/ $NH_3$  (25%) 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 259 mg (0,52 mmol) (52,4% d. Th.), gelbe, amorphe Masse



Schmelzpunkt: 195 °C

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 1,55 (quint, 2H,  $^3\text{J}=6,9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2,17 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,24 (t, (300 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ): 2H,  $^3\text{J}=7,0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3,07 (q, 2H,  $^3\text{J}=6,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,67 (s, 3H,  $\text{N-CH}_3$ ), 6,43 (d, 1H,  $^4\text{J}=1,6$  Hz, Pyrrol-H3), 6,62 (d, 1H,  $^4\text{J}=1,6$  Hz, Pyrrol-H5), 7,90 (m, 2H, Anthrachinon-H), 8,05 (t, 1H,  $^3\text{J}=5,4$  Hz, NH), 8,10 (pd, 1H, Anthrachinon-H), 8,19 (m, 3H, Anthrachinon-H), 8,32 (ps, 1H, Anthrachinon-H), 9,30 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$  [ppm] 27,0 ( $\text{CH}_2$ ), 36,5 ( $\text{CH}_3$ ), 37,1 ( $\text{CH}_2$ ), 45,1 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 57,0 ( $\text{CH}_2$ ), (75 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ): 107,4 (CH), 118,7 ( $\text{C}_q$ ), 118,7 ( $\text{C}_q$ ), 121,2 (CH), 124,6 ( $\text{C}_q$ ), 125,1 (CH), 127,2 (CH), 127,2 (CH), 128,3 (CH), 132,0 (CH), 133,3 ( $\text{C}_q$ ), 133,8 ( $\text{C}_q$ ), 135,0 ( $\text{C}_q$ ), 135,0 ( $\text{C}_q$ ), 136,6 ( $\text{C}_q$ ), 145,1 ( $\text{C}_q$ ), 160,9 (C=O), 181,8 (C=O), 181,9 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 494 (100)

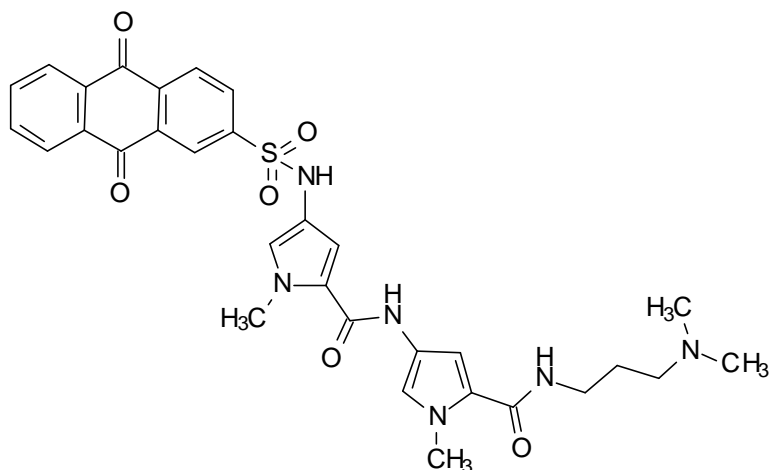
Summenformel:  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_5$ , 494,56

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3360 (m), 3050 (m), 2900 (m), 2850 (m), 2800 (m), 2750 (m), 1650 (s), 1600 (s), 1570 (s), 1500 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1380 (s), 1360 (s), 1310 (s), 1270 (s), 1170 (s), 1140 (s), 1060 (m), 1000 (m), 950 (m), 900 (m), 850 (m), 750 (m), 700 (s), 650 (m);

Elementaranalyse: Ber.: C 60,71 H 5,30 N 11,33 S 6,48

Gef.: C 61,02 H 5,46 N 11,21 S 6,23

**12.2.24 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-H-3-pyrrolyl]-4-{89,10-dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)sulfonyl]amino}-1methyl-1H-2-pyrrol carboxamid (86)**



752 mg (2 mmol) N2-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol carboxamid **70** werden in einer Mischung Dioxan/DMF (1:1) gelöst und mit 100 mg Pd(10%)/ C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert (18 h). Nachdem der Katalysator abfiltriert worden ist, werden 613 mg (2 mmol) Anthrachinsulfonsäurechlorid **84** in Dioxan/DMF gelöst und tropfenweise zu dem Filtrat bei RT gegeben. Der entstandene Niederschlag wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25%) 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 120 mg (0,2 mmol) (19,4% d. Th.), braune Kristalle

Schmelzpunkt: 110 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,61 (quint, 2H, <sup>3</sup>J=7,0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2,11 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,27 (t, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 2H, <sup>3</sup>J=7,19 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,16 (q, 2H, <sup>3</sup>J=5,75 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,72 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,74 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), 6,68 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,60 Hz, Pyrrol-H3), 6,70 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,56 Hz, Pyrrol-H5), 6,74 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,66 Hz, Pyrrol-H3'), 7,09 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,65 Hz, Pyrrol-H5'), 7,93 (m, 2H, Anthrachinon-H), 8,05 (t, 1H, <sup>3</sup>J=5,1 Hz, NH), 8,10 (pd, 1H, Anthrachinon-H), 8,20 (m, 3H, Anthrachinon-H), 8,32 (ps, 1H, <sup>3</sup>J=8,1 Hz, Anthrachinon-H), 9,78 (s, 1H, NH), 10,08 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 27,05 (CH<sub>2</sub>), 36,2 (CH<sub>3</sub>), 36,3 (CH<sub>3</sub>), 37,3 (CH<sub>2</sub>), 45,5 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 57,1 (CH<sub>2</sub>), 104,2 (CH), 107,4 (CH), 118,7 (C<sub>q</sub>), 118,7 (C<sub>q</sub>), 121,2 (CH), 123,0 (C<sub>q</sub>), 124,0 (CH), 124,6 (C<sub>q</sub>), 125,1 (CH), 127,2 (CH), 127,2 (CH), 128,3 (CH), 132,0 (CH), 133,3 (C<sub>q</sub>), 133,9 (C<sub>q</sub>), 135,0 (CH), 135,0 (CH), 136,6 (C<sub>q</sub>), 145,1 (C=O), 159,2 (C=O), 161,0 (C=O), 181,8 (C=O), 182,0 (C=O)

EI-MS: m/z (%): 616 (100)

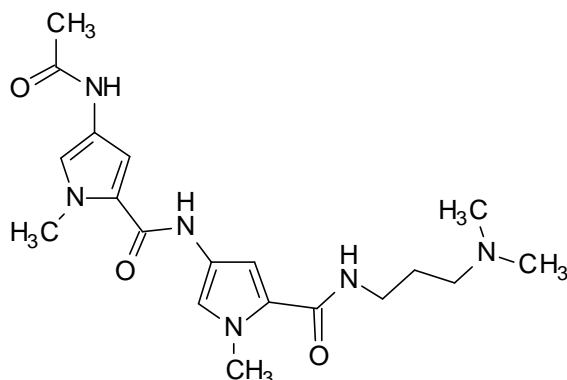
Summenformel: C<sub>31</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S, 616,69

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3390 (s), 2900 (m), 1620 (s), 1560 (s), 1520 (m), 1450 (m), 1420 (m), 1380 (m), 1270 (m), 1240 (m), 1140 (m), 950 (w), 800 (w), 760 (w), 650 (w);

Elementaranalyse: Ber.: C 60,38 H 5,23 N 13,63 S 5,20

Gef.: C 60,62 H 5,36 N 13,37 S 5,08

**12.2.25 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino} carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-4-(acetylamino)-1-methyl-1-*H*-2-pyrrol carboxamid (81)**



2 g (5,3 mmol) N2-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-1-*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1-*H*-2-pyrrol carboxamid **70** werden in 20 ml Dioxan gelöst und mit 800 mg Pd/C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert (12 h). Nachdem der Katalysator abfiltriert worden ist, wird die Lösung auf 0 °C gekühlt. Man versetzt mit 1 ml Hünigs Base. 157 mg (2 mmol) frisch destilliertes Acetylchlorid werden tropfenweise zugegeben und 12 h gerührt. Nachdem das LM unter vermindertem Druck entfernt worden ist, wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25%) 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 180 mg (0,46 mmol) (46,34% d. Th.), gelbe Kristalle

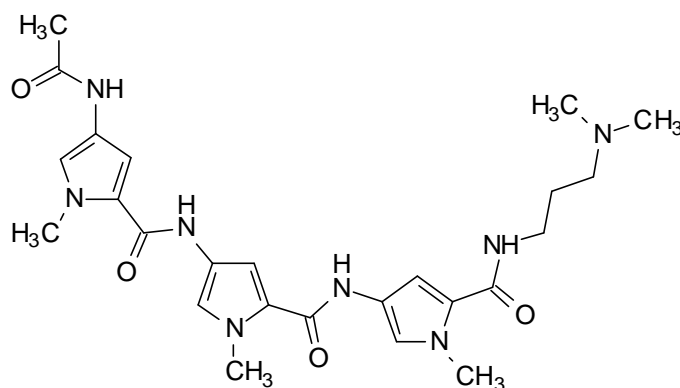
Schmelzpunkt: 77 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,61 (quint, 2H, <sup>3</sup>J=7,1 Hz, CH<sub>2</sub>), 1,9 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,10 (s, 6H, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,26 (t, 2H, <sup>3</sup>J=7,2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,17 (q, 2H, <sup>3</sup>J=5,8 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,77 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3,79 (s, 3H, N'-CH<sub>3</sub>), 6,79 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,85 Hz, Pyrrol-H3), 6,82 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,87 Hz, Pyrrol-H5), 7,12 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,6 Hz, Pyrrol-H3'), 7,16 (d, 1H, <sup>4</sup>J=1,71 Hz, Pyrrol-H5'), 8,05 (t, 1H, <sup>3</sup>J=5,0 Hz, NH), 9,80 (s, 1H, NH), 9,90 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 23,3 (CH<sub>2</sub>), 27,4 (CH<sub>2</sub>), 36,2 (CH<sub>3</sub>), 36,3 (CH<sub>3</sub>), 37,3 (CH<sub>2</sub>), (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): 45,4 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 57,3 (CH<sub>2</sub>), 104,0 (CH), 104,0 (CH), 104,3 (CH), 104,3 (CH), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,4 (C<sub>q</sub>), 123,0 (C<sub>q</sub>), 123,3

	(C <sub>q</sub> ), 158,6 (C=O), 161,5 (C=O), 166,8 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	388 (100)
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> , 388,46
IR (KBr) (cm <sup>-1</sup> ):	3400 (s), 3250 (s), 3080 (m), 2900 (m), 2830 (w), 2800 (w), 1620 (s), 1560 (s), 1510 (s), 1450 (s), 1420 (s), 1380 (s), 1250 (s), 1200 (m), 1150 (m), 1090 (m), 1050 (m), 1020 (m), 980 (w), 800 (m), 760 (m), 650 (w);
Elementaranalyse:	Ber.: C 58,75 H 7,26 N 21,63 Gef.: C 59,08 H 7,42 N 21,53

**12.2.26 N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-pyrrolyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-acetyl-1-methyl-1*H*-2-pyrrol carboxamid (**82**)**



498 mg (1 mmol) N2-[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1-*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[1-methyl-4-nitro-1-*H*-pyrrolyl]carbonyl}amino}-1-*H*-2-pyrrol-carboxamid **70a** werden in 20 ml Dioxan gelöst und mit 800 mg Pd(10%)/ C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert (12 h). Nachdem der Katalysator durch Filtration entfernt worden ist, wird die Lösung auf 0 °C gekühlt. Man versetzt mit 1 ml Hünigs Base. 157 mg an frisch destilliertem Acetylchlorid (2 mmol) werden tropfenweise zugegeben und 12 h gerührt. Nachdem das LM unter vermindertem Druck eingedampft worden ist, wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25%) 97:3) gereinigt.

Ausbeute: 55 mg (0,1 mmol)(10,7 % d. Th.) gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 135 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J= 6,9 Hz, CH<sub>2</sub>), 1,96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,15 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,27 (t, 2H, <sup>3</sup>J= 6,9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3,17 (q, 2H, <sup>3</sup>J= 6,1 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,78 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6,18 (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,5 Hz, Pyrrol-H), 6,85 (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,9 Hz, Pyrrol-H), 7,02 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, Pyrrol-H), 7,14 (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,9 Hz, Pyrrol-H), 7,17 (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,7 Hz, Pyrrol-H), 7,23 (d, 1H, <sup>4</sup>J= 1,62 Hz, Pyrrol-H), 8,07 (t, 1H, <sup>3</sup>J= 5,2 Hz, NH), 9,82 (s, 1H, NH), 9,88 (s, 1H, NH), 9,90 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ [ppm] 23,35 (CH<sub>2</sub>), 27,34 (CH<sub>2</sub>), 36,21 (CH<sub>3</sub>), 36,38 (CH<sub>3</sub>), 37,30 (CH<sub>2</sub>), 45,3 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 57,3 (CH<sub>2</sub>), 104,1 (CH), 104,2 (CH), 104,2 (CH), 104,3 (CH), 104,3 (CH), 104,9 (CH), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,3 (C<sub>q</sub>), 122,4 (C<sub>q</sub>), 122,4 (C<sub>q</sub>), 123,1 (C<sub>q</sub>), 123,3 (C<sub>q</sub>), 158,6 (C=O), 158,8 (C=O), 161,5 (C=O), 166,7 (C=O)

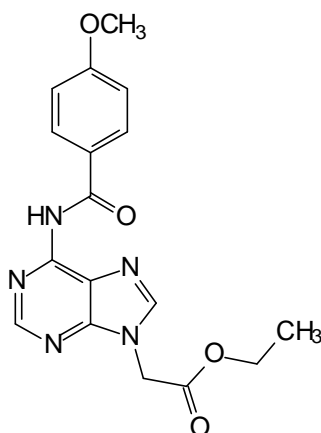
FD-MS: m/z (%): 510,5 (100)

Summenformel: C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>, 510,59

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3400 (s), 3240 (s), 3080 (m), 2900 (m), 2820 (m), 2760 (m), 1620 (s), 1550 (s), 1440 (s), 1410 (s), 1370 (s), 1240 (s), 1180 (m), 1080 (m), 1010 (m), 860 (w), 790 (m), 750 (m), 650 (w);

Elementaranalyse: Ber.: C 58,81 H 6,71 N 21,95  
Gef.: C 59,02 H 6,83 N 21,71

**12.2.27 2-{6-[(4-Methoxybenzoyl)amino]-9H-purinyl}essigsäureethylester (91) [109]**



4,42 g (20 mmol) Ethyl(adenin-9-yl)acetat **89** werden in wasserfreiem Pyridin (15 ml) suspendiert, erhitzt 0,5 h auf 80 °C und abgekühlt auf RT. 8,53 g (50 mmol) 4-Methoxybenzoylchlorid **90** werden in kleinen Portionen hinzugegeben und 18 h gerührt. Man entfernt das LM unter vermindertem Druck und wiederholt diesen Vorgang noch dreimal mit Toluol. Der Rückstand wird in 70 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und zweimal mit je 30 ml Zitronensäurelösung (10%, m/V) gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit MgSO<sub>4</sub> und entfernt das LM. Man reinigt das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (erst mit Kieselgel PE/EtAc 1:1, dann wird die Säule mit EtOH gespült und man erhält das Produkt).

Ausbeute: 5,04 g (14,2 mmol)(70,9% d. Th.), farblose Kristalle

Schmelzpunkt: 99 °C

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 1,20 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7,2 Hz, CH<sub>3</sub>), 3,78 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,71 (q, 2H, <sup>3</sup>J= 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>), 5,23 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6,98 (pd, 2H, <sup>3</sup>J= 8,8 Hz, Anis-H), 7,73 (pd, 2H, <sup>3</sup>J= 8,8 Hz, Anis-H), 8,53 (s, 1H, Adenin-H), 8,66 (s, 1H, Adenin-H)

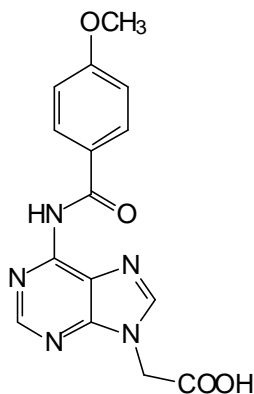
FD-MS: m/z (%): 355,3 (100)

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 355,38

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3400 (s), 3300 (m), 3000 (m), 2900 (m), 2780 (m), 1720 (s), 1650 (s), 1500 (s), 1480 (s), 1410 (s), 1380 (s), 1330 (m), 1300

(s), 1200 (s), 1130 (s), 1080 (m), 1000 (s), 940 (w), 870 (w),  
820 (s), 750 (m), 620 (m);

### 12.2.28 2-{6-[(4-Methoxybenzoyl)amino]-9H-purinyl}essigsäure (92) [109]



5,04 g (14,2 mmol) 2-{6-[(4-Methoxybenzoyl)amino]-9H-purinyl}essigsäureethylester **91** werden in in der Hitze mit 30ml EtOH gelöst kühlt dann auf RT ab. Man versetzt mit 30 ml 2M NaOH und rührt diese Mischung bei RT (DC Kontrolle). Nach 4 h wird die Reaktion beendet, indem man 35 ml 1M HCl tropfenweise hinzugibt, so daß der pH-Wert 5 ist. Das LM wird entfernt und das Rohprodukt aus MeOH umkristallisiert.

Ausbeute: 2,45 g (7,50 mmol) (52,91% d. Th.), farblose Kristalle

Schmelzpunkt: 206 °C (Literatur: 215 °C/254 °C/222-223 °C) [109]

<sup>1</sup>H-NMR, δ [ppm] 3,80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5,11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,00 (pd, 2H, <sup>3</sup>J= 8,8 Hz, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>): Anis-H), 7,88 (pd, 2H, <sup>3</sup>J= 8,8 Hz, Anis-H), 8,44 (s, 1H, Adenin-H), 8,70 (s, 1H, Adenin-H)

FD-MS: m/z (%): 327,3 (100)

Summenformel: C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 327,29

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3200 (s), 2850 (s), 2500 (s), 1620 (s), 1550 (s), 1460 (s), 1410 (s), 1220 (s), 1150 (s), 1060 (m), 1000 (s), 900 (m), 810 (m), 750 (m), 660 (w), 610 (w);

## 13 Literaturverzeichnis

- [1] H. C. Pitot, *Cancer Suppl.*, **72** (1993), 962-970
- [2] D. Voet, J. D. in *Biochemie*, (1994), Palgrave Press, USA.
- [3] C. Bailly, J. B. Chaires, *Bioconjug. Chem.*, Vol 9, **5**, (1998), 514-523.
- [4] B. Rene, P. Fosse, T. Khalifa, A. Jaquemin-Sablon, C. Bailly, *Molecular Pharmacology*, **49**, (1996), 343-350
- [5] E. Reinhard, *Pharmazeutische Biologie 1*, 3. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1986), 66-69.
- [6] C. Carrasco, P. Helissey, M. Haroun, B. Baldeyrou, A. Lansieaux, P. Colson, C. Houssier, S. Giorgi-Renault, C. Bailly; *Chem. Biochem.*, **12**, (2002), 1235-1241.
- [7] U. Pindur, G. Fischer; *Curr. Med. Chem.*, **3**, (1996), 379-406.
- [8] J. Knabe, H.-D. Höltje, *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 14. Aufl., (1999), 776-779.
- [9] S. Heinzl; *Mediz. Monatsh. Pharmaz.*, **22**, (1997), 197.
- [10] U. Pindur, M. Haber, K. Sattler; *Pharmazie in unserer Zeit*, 21. Jahrg., **1**, (1992), 21-36.
- [11] J. B. Chaires; *Biopolymers*, **44**, (1997), 201-215.
- [12] C. Rehn, U. Pindur; *Monatsh. Chemie*, **127**, (1996), 645-658.
- [13] W. Saenger in *Principles of Nucleic Acid Structure*, (1983), Springer Press, New York.
- [14] E. Mutschler, G. Geisslinger, H.-K. Kroemer, M. Schäfer-Korting; *Arzneimittelwirkungen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 8. Aufl. (2001).
- [15] S. M. Sondhi, B. S. Praveen Reddy, J. W. Lown; *Curr. Med. Chem.*; Vol. 4, **5**, (1997), 313-358.
- [16] S. Neidle, *Biopolymers*; **44**, (1997), 105-127.
- [17] S. K. Sharma, B. S. Narayan Reddy, J. W. Lown; *Drugs of the Future*; **26**, (2001), 39-49.
- [18] V. A. Ryabinin; *Europ. Journ. Med. Chem.*, **35**, (2000), 989-1000.
- [19] H. Thrum, *Naturwiss.*, **46**, (1959), 87.
- [20] F. Arcamone, S. Penco, P. Orezzi, V. Nicoletta, A. Pirelli; *Nature*, **203**, (1964), 1064-1065.
- [21] P. Cozzi, I. Beria, G. Biasoli, M. Caldarelli, L. Capolongo, R. D'Alessio, C. Geroni, S. Mazzini, E. Ragg, C. Rossi, N. Mongelli; *Bioorg & Chem. Letters*, Vol. 7, **23**, (1997), 2985-2990.
- [22] B. Wellenzohn, R. H. Winger, A. Hallbrucker, E. Mayer, K. R. Liedl; *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, (2000), 3927-3931.
- [23] P. M. Dean, *Molec. Found. Of Drug Recept. Interact.*; University Press: Cambridge; (1987), 150-185.
- [24] P. B. Dervan; *Science*; **232**, (1986), 464-471.
- [25] (a) O. Kennard, W. N. Hunter; *Angew. Chem.*, Int. Ed. Engl.; **30**, (1991), (b) K. J. Miller, J. F. Pycior; *Biopolymers*, **18**, (1979), 2683-2719; (c) K. J. Miller, J. Macrea, J. F. Pycior; *Biopolymers*, **19**, (1980), 2067-2089.
- [26] (a) H. M. Sobell; *Nucleic Acid Geometry and Dynamics*; R. H. Sarma; Ed.; Pergamon Press: New York, (1980), 289-313; (b) W. Saenger; *Principle of Nucleic Acid Structure*, Springer Verlag: New York, (1984).
- [27] M. L. Kopka, D. S. Goodsell, G. W. Han, T. K. Chiu, J. W. Lown, R. E. Dickerson; *Structure*, **5**, (1997), 1033-1046.
- [28] J. W. Lown, K. Krowicki, U. G. Bhat, B. Skorobogaty, B. Ward, J. C. Dabrowiak; *Biochemistry*, **25**, (1986), 7408-7416.
- [29] M. L. Kopka, C. Yoon, D. Goodsell, P. Pjura, R. E. Dickerson; *J. Mol. Biol.*, **183**, (1985), 553-556.
- [30] J. M. Turner, S. E. Swalley, E. E. Baird, P. B. Dervan; *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, (1998), 6219-6226.
- [31] S. E. Swalley, E. E. Baird, P. B. Dervan; *J. Am. Chem. Soc.*, **121** No. 6, (1999), 1115.
- [32] D. H. Nguyen, J. W. Szewczyk, E. E. Baird, P. B. Dervan; *Bioorg. & Med. Chem.*, **43**, (2001), 7-17.
- [33] J. W. Trauger, E. E. Baird, P. B. Dervan; *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, (1998), 3534-3535.
- [34] A. Hawkins, R. Pelaez de Clairac, R. N. Dominey, E. E. Baird, S. White, P. B. Dervan, D. E. Wemmer; *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, No. 22, (2000), 5235-5243.
- [35] R. Pelaez Lamamie de Clairac, C. J. Seel, B. H. Geierstanger, M. Mrksich, E. E. Baird, P. B. Dervan, D. E. Wemmer; *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, (1999), 2956-2964.
- [36] M. Mrksich, M. E. Parks, P. B. Dervan; *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1994), 7983-7988.
- [37] C. Bailly, in *Advances in DNA-Sequence-Specific Agents*, JAI Press Inc., USA, **3**, (1998), 97-156.
- [38] E. Ragg, S. Mazzini, R. Bortolini, N. Mongelli, R. D' Alessio; *J. Am. Chem. Soc.*, *Perkin Trans.*, **2**, (1998), 149-158.



- [39] F. M. Arcamone, F. Quanimati, B. Barbieri, E. Configliacchi, R. D' Alessio, C. Geroni, F. C. Ginliani, E. Lazzari, M. Memozzi, N. Monzello, S. Penco, M. A. Verini; *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, (1989), 2700.
- [40] W. A. Denny; *Curr. Med. Chem.*, **8**, (2001), 533-544.
- [41] G. Jia, H. Iida, J. W. Lown; *Synlett*, **5**, (2000), 603-606.
- [42] G. Xie, J. Zimmermann, T. Meyer, J. W. Lown, *Bioorg. & Med. Chem. Letters*, **5**, (1995), 497-500.
- [43] C. Bailly, J. P. Henichart, *Bioconjugate Chem.*, **2**, 6 (1991), 379.
- [44] Z. Zhang, P. Herdewijn, *Curr. Med. Chem.*, **8**, (2000), 517-531.
- [45] S. M. Sondhi, B. S. Praveen Reddy, J. W. Lown, **4**, No.5, (1997), 313-358.
- [46] J. A. Hartley, J. Webber, M. D. Wyatt, N. Brodenick, M. Lee, *Bioorg. Med. Chem.*, **3**, (1995), 623.
- [47] J. F. Riou, L. Grondard, A. Naudin, C. Bailly, *Biochem Pharmacol.*, **50**, (1995), 424.
- [48] J. E. Hearst, S. T. Isaacs, D. Kanne, M. Rapoport, K. Straub, *Quarterly Review of Biophysics*, **17** (1984), 1.
- [49] B. Rene, P. Fosse, T. Khalifa, A. Jaquemin-Sablon, C. Bailly, *Molecular Pharmacology*, **49**, (1996), 617-620
- [50] C. Bourdouxhe-Houssiaux, P. Colson, C. Houssier, M. J. Waring, C. Bailly, *Biochem.*, **35**, No. 14, (1996), 4251-4263.
- [51] R. J. Fiel, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **6**, (1989), 1259.
- [52] W. J. Hehre, J. Yu, P. E. Klunzinger, L. Lou; *SPARTAN: A Brief Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations*, Wavefunction, Inc. (1998).
- [53] W. J. Hehre, J. Yu, P. E. Klunzinger, L. Lou; *SPARTAN: A Brief Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations*, Wavefunction, Inc. (1998).
- [54] M. Hesse; *Indolalkaloide*, VCH-Verlag, Weinheim, (1974).
- [55] R. J. Sundberg; *The Chemistry of Indoles*; Academic Press, New York, (1970).
- [56] W. A. Remers, in *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, ed. W. J. Houlihan, Wiley-Interscience, New York, (1973).
- [57] R. A. Katritzky, C. W. Reese; *Pergamon*, New York, Vol.4, (1984), 201.
- [58] P. Bhattacharyya, D. P. Chakraborty in *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, Vol52, (1987).
- [59] U. Pindur; *Chimica*, **44**, (1990), 44.
- [60] H. Sato, M. Tsuda, K. Watanabe, J. Kobayashi; *Tetrahedron*, **54**, (1998), 8687-8690.
- [61] J. Bergman, T. Janosik, A.-L. Johnsson; *J. Synth. Org. Chem.*, (1998).
- [62] D. E. Zembower, H. Zhang, J. P. Lineswala, M. J. Kuffel, S. A. Aytes, M. M. Ames; *Bioorg. & Med. Chem. Letters*, **9**, (1999), 145-150.
- [63] *Bioorg. & Med. Chem. Letters*, **9**, (1999), 119.
- [64] P. E. Nielsen, *Curr. Med. Chem.*, **8**, (2001), 545- 550.
- [65] A. H. Krotz, S. Larsen, O. Burchardt, M. Erikson, P. Nielsen, *Bioorg. & Med. Chem.*, **6**, (1998), 1983-1992.
- [66] J.W. Lown, K. Krowicki, , *J. Org. Chem.* **50** (1985) 3774-3779.
- [67] M. Bialer, B. Yagen, R. Mechoulam, *Tetrahedron* **34** (1978) 2389-2391.
- [68] W.J.Hale, W.V. Hoyt, *J. Am. Chem. Soc.* **37** (1915) 2538-2555.
- [69] W. Beyer, W. Francke, *Beyer-Walter Lehrbuch der organischen Chemie*, Hirzel Verlag, Stuttgart, (1988), 708-709.
- [70] T.L.V. Ulbricht, C.C. Price, *J. Org. Chem.* **22** (1957), 235-237.
- [71] F. Dudout, J.-F. Goosens, R. Houssin, J-P. Henichart, P. Colson, C. Houssier, N. Gelus, C. Bailly, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **10** (2000), 553-557
- [72] *Organicum*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin (1986), S.342
- [73] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1995)
- [74] G. Rücker, M. Neugebauer, G. G. Willems, *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, 3. Völlig neu bearbeitete Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (2001), 262.
- [75] K. U. Meyer, *Synthese und Charakterisierung neuer funktionalisierter Mono- und Bis-tetrahydropyrrolo-[3,4-b]carbazole als potentielle DNA-Liganden*, Univ. Mainz (2000), 10-11.
- [76] O. Ottoni, R. Cruz u. R. Alves, *Tetrahedron* **54** (1998) 13915-13928.
- [77] J. G. Rodriguez, A. Urrutia. *J. Heterocyclic Chem.*, **36** (1999) 129-135.
- [78] H. Erdtman, A. Jönsson, *Acta Chem. Scand.* **8** (1954) 119-126.
- [79] V.D. Filimonov, M.M. Sukhoroslova, V.T. Novikov, *Chem. Heterocycl. Compd.* (Engl. Transl.) **17**, **12** (1981) 1213-1216.
- [80] W. Reppe, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **596** (1955) 1, 218.

- 
- [81] H.A. Staab, *Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie IV. Synthesen mit heterocyclischen Amidinen (Azoliden)*. *Angew. Chemie* **74** (1962) 407-423.
- [82] M. Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis*, 2., überarbeitete Auflage, Springer Verlag (1993), 39-41.
- [83] <http://dtp.nci.nih.gov>
- [84] A. Marotto, (Dissertation) *Etablierung und Anwendung von biophysikalischen und molekularbiologischen Methoden zur Untersuchung von Wirkmechanismen neuer Indol-, Carbazol- und Oligopyrrolcarboxamid-Derivate als potentielle antitumoraktive Stoffe*, Mainz, (2002)
- [85] W. D. Wilson, F. A. Tanious, M. Fernandez-Saiz, C. T. Rigl, K. R. in Fox (Editor), *Drug-DNA Interaction Protocols*, (1997), Humana Press, Totowa, USA.
- [86] A. R. Morgan, J.S. Lee, D. E. Pulleyblank, N. L. Murray, D. H. Evans; *Nucleic Acids Res.*, **7**, (1979), 547-569.
- [87] S. E. Wellman; *Biopolymers*, **39**, (1996), 491-501.
- [88] D. Voet, J. D. Voet in *Biochemie*, (1994), VCH-Verlag, Weinheim, Deutschland.
- [89] M. D. Been, J. J. Champoux, *Nucleic Acids Res.*, **8**, (1980), 6129-6142.
- [90] J. J. Champoux, R. Aronoff; *J. Biol. Chem.*, **264**, (1989), 1010-1015.
- [91] P. Fiorani, C. L. Hann, P. Benedetti, M. A. Bjornsti, N. in Oserhoff, M. A. Bjornsti (editors) *DNA-Topoisomerase Protocols*, **Vol.2**, (2001) Humana Press, Totowa, USA
- [92] A. Haldane, D. M. Sullivan, N. in Oserhoff, M. A. Bjornsti (editors) *DNA-Topoisomerase Protocols*, **Vol.2**, (2001), Humana Press, Totowa, USA.
- [93] W. D. Wilson, R. L. Jones; *Intercalation Chem.*, (1982), Academic Press, New York, USA, 445-501.
- [94] E. C. Long, J. K. Barton; *Acct. Chem. Res.*, **23**, (1990), 271-273.
- [95] Y. Pommier, J. M. Covey, D. Keriigan, J. Markovits, R. Pham; *Nucleic Acids Res.*, **15**, (1987), 6713-6731.
- [96] D. J. Galas, A. Schmitz; *Nucleic Acids Res.*, **5**, (1978), 3157-3170.
- [97] E. Nishiwaki, S. Tanaka, H. Lee, M. Shibuya, *Hetrocycles* **27**, 8, (1988), 1945-1952.
- [98] B.-L. Wei, S.-H. Wu, M.-J. Chung, S.-J. Won, C.-N. Lin, *Eur. J. Med. Chem.*, **35**, (2000), 1089-1098
- [99] C. Bailly, J. Chaires, *Bioconjugate Chem.* Vol 9, **5**, (1998), 514-538
- [100] J. A. Hartley, K. Reszka, J. W. Lown, *Photochem. Photobiol.*, **48**, (1988), 19
- [101] G. Povis, B. A. Svigen, P. L. Apple, *MOL Pharmacol*, **20**, (1981), 387
- [102] U. Pindur, M. Haber, K. Sattler, *Pharmazie unserer Zeit*, 21. Jahrgang, Nr 1 (1992), 21-36
- [103] B. Armitage, C. Yu, C. Devados, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1996), 9847
- [104] P. Helissey, C. Bailly, J. N. Vishwakarana, C. Auclair, M. J. Waring, S. Giorgio-Renault, *Anti-Cancer-Drug-Design*, **11**, (1996), 527
- [105] A PC Spartan User's Guide, *Wavefunction Inc*, (1999).
- [106] R. W. Kunz, *Molecular Modelling für Anwender*, 2. Aufl., B. G. Teubner, Stuttgart (1997).
- [107] AM1: M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, J. J. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, (1985), 3902-3909.
- [108] I. Fleming, *Grenzorbitale und Reaktionen organischer Verbindungen*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1988)
- [109] Z. Timar, L. Kovacs, G. Kovacs, Z. Schmel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**, (2000), 19-26
- [110] <http://pdb.gmd.de>
- [111] S. Neidle, *Biopoly*, **44**, (1997), 105-127.
- [112] U. Pindur, G. Fischer, *Curr. Med. Chem.*, **3**, (1996), 379-406.

---

## Lebenslauf

Name: Hans-Christian Hotzel

geboren: am 24. Januar 1964 in Marburg (Lahn)

Familienstand: ledig

Staatsangehörigkeit: deutsch

Promotion:  
Seit 01.04.1998 Promotion im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. U. Pindur  
Am Institut für Pharmazie, Mainz  
Fachbereich: Organische Chemie Thematik: Design und  
Synthese von Oligopyrrolcarboxamiden als neue DNA-  
Liganden mit potentieller Antitumoraktivität.

Beruf: Von Juli 1993 bis März 1998 Tätigkeit als Apotheker  
in der Apotheke am Königsacker, 68519-Viernheim

Studium: WS 1985/86 Diplom-Chemie an der Ruprecht-Karls-  
Universität Heidelberg; Juni 1988 Vordiplom Chemie.  
SS 1988 bis WS 1989/90 Hauptstudium Diplom-Chemie.  
Ab WS 1989/90 Wechsel zum Pharmazie-Studium an die  
Universität des Saarlandes, Saarbrücken. Erstes  
Staatsexamen im April 1991, zweites Staatsexamen im  
April 1992, drittes Staatsexamen im Juni 1993.  
Approbation zum Apotheker im Juli 1993.

Schule: Von 1970 bis 1974 Grundschule in der Stadt Viernheim.

---

Von 1974 bis 1984 Besuch der Gymnasien Albertus-Magnus-Schule und der Alexander-von-Humboldt-Schule der Stadt Viernheim.

Am 19.06.1984 erreichen der Allgemeinen Hochschulreife.