

**Design, Synthese und biochemische/biologische Evaluierung  
bioisosterer Oligopyrrolcarboxamide mit aliphatisch-amidisch  
verknüpften DNA-Interkalatoren**

Dissertation zur Erlangung des Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

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

vorgelegt von  
Kerstin Benzschawel  
geboren in Trier

Mainz, 2007



***In tiefster Dankbarkeit  
meinen Eltern gewidmet***

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht in:

David-Cordonnier, M.-H.; Hildebrand, M.-P.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Keuser, C.; Benzschawel, K.; Lemster, T.; Pindur, U.; Design, synthesis and biological evaluation of new oligopyrrole carboxamides linked with tricyclic DNA-intercalators as potential DNA-ligands or topoisomerase inhibitors; *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, 42, 752-771

Benzschawel, K.; Pindur, U.; Buckert, D.; David-Cordonnier, M.-H.; Design, synthesis and DNA binding properties of a novel class of combilexins related to the natural antitumoral antibiotic netropsin; Posterpräsentation bei der Jahrestagung-Joint Meeting der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft (DPhG) 4.-7. Oktober, **2006** in Marburg

## Abkürzungen

A	Adenin
Ac <sub>2</sub> O	Acetanhydrid
ADEPT	Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy
AM1	Austin Model 1 (quantenchemischer Parametersatz)
Boc	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonyl
BTEAC	Benzyltriethylammoniumchlorid
C	Cytosin
CD	Circulardichroismus
CDI	<i>N,N'</i> -Carbonyldiimidazol
COSY	Correlated Spectroscopy
CT	Cholera Toxin
CT-DNA	Kalbsthymus-DNA
CT-Komplex	Charge-Transfer-Komplex
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DKFZ	Deutsches Krebsforschungszentrum (Heidelberg)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ds	double strand
EDA-Komplex	Elektronen-Donator-Akzeptor-Komplex
EDCI	1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid·HCl
EE	Ethylacetat
EI-MS	Electron Impact Mass Spectrometry
EPR	Enhanced Permeability and Retention (gesteigerte Durchlässigkeit für Makromoleküle)
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
FD-MS	Field Desorption Mass Spectrometry
G	Guanin
GI <sub>50</sub>	molare Konzentration einer Verbindung, die zu einer 50%igen Zellwachstumshemmung führt

HAc	Essigsäure
HATU	O-7-Azabenzotriazol-1-yl- <i>N,N,N,N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HBTU	O-Benzotriazol-1-yl- <i>N,N,N,N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
$\Delta H_{f0}$	Standardbildungsenthalpie
HMPA	( <i>N</i> -(2-Hydroxypropyl)methacrylamid
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
Hp	Hydroxypyrrrol
Hünig's Base	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
Im	Imidazol
INSERM	Institut de Recherches sur le Cancer (Lille, Frankreich)
IR	Infrarot (Spektroskopie)
$K_b$	Bindekonstante [ $M^{-1}$ ]
[18]Krone-6	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecan
LM	Lösungsmittel
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
MD	Molecular Dynamics
MDR	Multi-Drug-Resistance
MeOH	Methanol
MEP	Molekulares elektrostatisches Potential
MG_MID	Mean Graph Midpoint
$M_r$	Molekulargewicht
MTS	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2 <i>H</i> -tetrazolium (Inneres Salz)
NCI	National Cancer Institute (Bethesda, MD, USA)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Spectroscopy)
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement (Effect) Spectroscopy
PDB	Protein Datenbank
PE	Petrolether (40 - 60 °C)
Pgp	P-Glykoprotein
PNA	Peptide Nucleic Acid

PSA	Prostata spezifisches Antigen
Py	Pyrrol
PyBOP	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
RMS	Root-Mean-Square
ROESY	Rotating frame Overhauser Enhancement (Effect) Spectroscopy
ROS	Reaktive Sauerstoff-Spezies
RT	Raumtemperatur
SAR	Structure Activity Relationship
SC	Säulenchromatographie
SDS	Sodium Dodecylsulfat
STD-NMR	Sättigungstransfer-Differenz-NMR
T	Thymin
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TCP	Toxin coregulated pilus
THF	Tetrahydrofuran
$T_m$	Schmelztemperatur der DNA
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
TOPO	Topoisomerase
UV/Vis	Ultraviolet/Visible (Spectroscopy)

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	1
1.1 Aufbau der DNA und Bindungsmodi antitumoraktiver DNA-Liganden	2
1.2 Alkylanzien	5
1.3 Interkalatoren	7
1.3.1 Anthrachinone	11
1.3.2 Ellipticine	15
1.3.3 Naphthalimide	17
1.3.4 Acridone	18
1.4 Minor Groove Binder	21
1.4.1 Lexitropsine/Polyamide (Hairpins)	26
1.5 Hybridmoleküle	33
1.5.1 Alkylierende Lexitropsin-Konjugate („DNA-targeted alkylators“)	33
1.5.2 Combilexine	34
1.6 Peptide Nucleic Acids (PNAs)	38
1.7 Zielsetzung	41
<b>2. Auswahlkriterien für die Substituenten bei der Syntheseplanung der Hybridmoleküle</b>	45
2.1 Nucleobasen- <i>N</i> -terminal gekoppelte Oligopyrrolcarboxamide	45
2.2 Auswahlkriterien für die Strukturelemente der Combilexine	47
2.2.1 C-terminale Seitenfunktion	47
2.2.2 Fünfringhetarene	49
2.2.2.1 Thiophen	49
2.2.2.2 Imidazol	50
2.2.2.3 Thiazol	50
2.2.3 Interkalatoren	53
2.2.4 Linker	56



<b>3.</b>	<b>Synthetischer Teil</b>	<b>58</b>
3.1	Synthese und Strukturaufklärung der Pyrrolcarboxamide	58
3.1.1	Synthese des Pyrrolcarboxamids mit C-terminaler N,N-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion	58
3.1.2	Strukturaufklärung des Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüsts	60
3.2	Synthese der Pyrrolcarboxamide mit N-terminaler Thyminalkanoyl-Funktion	61
3.2.1	Synthese der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure	61
3.2.2	Strukturaufklärung der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure	62
3.2.3	Amidkupplung der Thyminessigsäure mittels Chlorameisensäureethylester-Methode	66
3.2.4	Amidkupplung der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure mittels Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)	67
3.3	Synthese und Strukturaufklärung des Thiophenpyrrolcarboxamids	73
3.3.1	Synthese und Strukturaufklärung der 5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure	73
3.3.2	Testung und Auswahl eines geeigneten Kupplungsverfahrens zur Darstellung des Thiophenpyrrolcarboxamids	75
3.3.2.1	Chlorameisensäureethylester-Methode	76
3.3.2.2	O-Benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorophosphat-Methode (HBTU)	76
3.3.2.3	1-Methyl-2-chlorpyridiniumiodid-Methode nach Mukaiyama	78
3.3.2.4	Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)- / 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)-Methode	79
3.3.3	Synthese des Thiophenpyrrolcarboxamids	80
3.3.4	Strukturaufklärung des Thiophenpyrrolcarboxamids	81
3.4	Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimid-, Acridon-, Anthrachinon- und Pyridocarbazol-N-terminal gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide	86
3.4.1	(5-Nitro-)Naphthalimid	86
3.4.1.1	Synthese des 5-Nitronaphthalimids	86
3.4.1.2	Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäuren	87
3.4.2	Acridon	89

3.4.2.1	Synthese der Acridonpropion- und buttersäure	89
3.4.3	Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridon-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide	91
3.4.4	Anthrachinon	93
3.4.5	Pyridocarbazol	93
3.4.6	Synthese der Anthrachinon- und Pyridocarbazol-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide mit $\beta$ -Alanin als Linker	94
3.5	Synthese der Naphthalimid- <i>N</i> -terminal gekoppelten Bispyrrol- und Thiophenpyrrolcarboxamide mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion	98
3.5.1	Synthese des Bispyrrolcarboxamids mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion	98
3.5.2	Synthese des Thiophenpyrrolcarboxamids mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion	99
3.5.3	Synthese der Naphthalimid-gekoppelten Bispyrrol- und Thiophenpyrrolcarboxamide mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion	100
3.6	Synthese und Strukturaufklärung des Methylthiazolpyrrolcarboxamids	101
3.6.1	Synthese des Methylthiazolpyrrolcarboxamids	101
3.6.2	Strukturaufklärung des Methylthiazolpyrrolcarboxamids	104
3.7	Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridon- <i>N</i> -terminal gekoppelten Methylthiazolpyrrolcarboxamide	104
3.8	Synthese des Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids	106
3.9	Syntheseversuche zur Darstellung eines Naphthalimid- <i>N</i> -terminal gekoppelten Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids	109
3.9.1	<i>N,N'</i> -Carbonyldiimidazol (CDI) - Methode	109
3.9.2	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP)-Methode	110
3.9.3	O-7-Azabenzotriazol-1-yl- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU)-Methode	111
3.9.4	Theoretische Betrachtung der Reaktivität des Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids anhand von MO-Berechnungen	112

3.10	Synthese und Strukturaufklärung des Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamids	115
3.10.1	Synthese des Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamids	115
3.10.2	Strukturaufklärung der Imidazolcarboxamide	118
3.11	Synthese der Naphthalimid- und Acridon- <i>N</i> -terminal gekoppelten Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamide	123
3.12	Strukturaufklärung am Beispiel eines ausgewählten Combilexins	124
<b>4.</b>	<b>Biophysikalische und biochemische Untersuchungen an der DNA sowie zellbiologische Zytotoxizitäts-Studien an Tumorzelllinien</b>	<b>127</b>
4.1	Beschreibung der verwendeten biophysikalischen und biochemischen Verfahren	128
4.1.1	Thermische Denaturierung/Bestimmung der Schmelztemperatur der DNA ( $\Delta T_m$ -Wert)	128
4.1.2	UV-Absorptionsspektroskopie	129
4.1.3	Circulardichroismus	130
4.1.4	Topoisomerase-Hemmtest (Topoisomerase-Relaxations- und -Cleavage-Assay)	131
4.1.4.1	Topoisomerase-I-Relaxations-Assay	134
4.1.4.2	Topoisomerase-I-Cleavage-Assay	136
4.1.4.3	Topoisomerase-II-Cleavage-Assay	137
4.2	Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Pyrrolcarboxamide mit <i>N</i> -terminaler Thyminalkanoyl-Funktion	138
4.2.1	Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen	138
4.2.2	Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien	140
4.2.3	Interpretation der Ergebnisse	140
4.3	Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundstruktur	143

4.3.1	Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen	143
4.3.2	Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien	149
4.3.3	Interpretation der Ergebnisse	150
4.4	Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion	155
4.4.1	Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen	155
4.4.2	Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien	157
4.4.3	Interpretation der Ergebnisse	158
4.5	Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit Methylthiazolpyrrol-carboxamid-Grundstruktur	160
4.5.1	Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen	160
4.5.2	Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien	163
4.5.3	Interpretation der Ergebnisse	165
4.6	Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamid-Grundstruktur	167
4.6.1	Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen	167
4.6.2	Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien	170
4.6.3	Interpretation der Ergebnisse	170
4.7	Bilanz der Ergebnisse der Combilexine	171
<b>5.</b>	<b>Kristallographie/Röntgenstrukturanalyse</b>	<b>174</b>
5.1	Zielsetzung	174
5.2	Methodischer Ablauf einer Röntgenkristallstrukturanalyse	174
5.2.1	Verdunstungsmethode	176
5.2.2	„Hanging-Drop Vapour Diffusion“-Methode	177

5.3	Beschreibung der ermittelten Röntgenkristallstrukturen	179
5.3.1	Kristallstruktur des Bispyrrolcarboxamids ( <b>60</b> )	179
5.3.2	Kristallstruktur des Thiophenpyrrolcarboxamids ( <b>69</b> )	183
5.3.3	Kristallstruktur des Methylthiazolpyrrolcarboxamids ( <b>117</b> )	188
5.3.4	Kristallstruktur des Imidazolpyrrolcarboxamids ( <b>143</b> )	193
5.3.5	Kristallstruktur des Bisimidazolcarboxamids ( <b>144</b> )	197
5.4	Bilanz	201
<b>6.</b>	<b>Molecular Modelling-Studien auf der Basis semiempirischer Berechnungen; Vergleich der Datensätze ausgewählter Verbindungen mit den experimentellen Ergebnissen</b>	<b>204</b>
6.1	Zielsetzung	204
6.2	Validierung des Berechnungsverfahrens	206
6.3	Vergleich der berechneten lokalen Minimumskonformationen und molekularen elektrostatischen Potentiale (MEPs) der rinnenbindenden Grundgerüste mit den Ergebnissen der DNA-Bindestudien ( $\Delta T_m$ -Werte)	212
6.4	Vergleich der berechneten elektronischen Moleküleigenschaften (MEPs und LUMO-Energien) der Interkalatorcarbonsäuren mit den Ergebnissen der DNA-Bindestudien ( $\Delta T_m$ -Werte)	218
6.5	Vergleich der berechneten lokalen Minimumskonformationen und elektronischen Moleküleigenschaften (MEPs und LUMO-Energien) ausgewählter Combilexine mit den Ergebnissen der DNA-Binde- und Zytotoxizitäts-Studien	224
6.6	Bilanz der SPARTAN-Berechnungen	237
<b>7.</b>	<b><math>^1\text{H-NMR}</math>-spektroskopische Titration eines DNA-Oligonucleotids mit einer ausgewählten Combilexin-Testverbindung</b>	<b>240</b>
7.1	Zielsetzung	240
7.2	Auswahl des Combilexins und eines geeigneten DNA-Oligonucleotids	241
7.3	Probenvorbereitung/Versuchsdurchführung	242

7.4	Ergebnis des $^1\text{H}$ -NMR-Titrationsexperimentes	244
7.5	Bilanz des $^1\text{H}$ -NMR-Titrationsexperimentes	247
<b>8.</b>	<b>Docking-Experiment einer ausgewählten Testverbindung</b>	249
8.1	Zielsetzung	249
8.2	Durchführung des Docking-Experimentes	249
8.3	Ergebnis des Docking-Experimentes	251
8.4	Bilanz des Docking-Experimentes	256
<b>9.</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	258
<b>10.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	268
10.1	Allgemeine Angaben	268
10.2	Röntgenkristallographische Daten	271
10.2.1	Röntgenkristallographische Daten von Verbindung <b>60</b>	272
10.2.1.1	Kristalldaten für Verbindung <b>60</b>	272
10.2.1.2	Datensammlung	273
10.2.1.3	Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung	273
10.2.1.4	Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter	274
10.2.1.5	Anisotrope Auslenkungsparameter	274
10.2.1.6	Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome	275
10.2.1.7	Wasserstoffbrückenbindungen	276
10.2.1.8	Bindungslängen	276
10.2.1.9	Bindungswinkel	277
10.2.1.10	Torsionswinkel	278
10.2.2	Röntgenkristallographische Daten von Verbindung <b>69</b>	279
10.2.2.1	Kristalldaten für Verbindung <b>69</b>	279
10.2.2.2	Datensammlung	280
10.2.2.3	Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung	280
10.2.2.4	Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter	281
10.2.2.5	Anisotrope Auslenkungsparameter	281

10.2.2.6	Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome	282
10.2.2.7	Wasserstoffbrückenbindungen	283
10.2.2.8	Bindungslängen	283
10.2.2.9	Bindungswinkel	284
10.2.2.10	Torsionswinkel	284
10.2.3	Röntgenkristallographische Daten von Verbindung <b>117</b>	285
10.2.3.1	Kristalldaten für Verbindung <b>117</b>	286
10.2.3.2	Datensammlung	286
10.2.3.3	Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung	286
10.2.3.4	Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter	287
10.2.3.5	Anisotrope Auslenkungsparameter	288
10.2.3.6	Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome	289
10.2.3.7	Wasserstoffbrückenbindungen	290
10.2.3.8	Bindungslängen	290
10.2.3.9	Bindungswinkel	291
10.2.3.10	Torsionswinkel	291
10.2.4	Röntgenkristallographische Daten von Verbindung <b>143</b>	293
10.2.4.1	Kristalldaten für Verbindung <b>143</b>	294
10.2.4.2	Datensammlung	294
10.2.4.3	Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung	294
10.2.4.4	Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter	295
10.2.4.5	Anisotrope Auslenkungsparameter	297
10.2.4.6	Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome	298
10.2.4.7	Wasserstoffbrückenbindungen	300
10.2.4.8	Bindungslängen	300
10.2.4.9	Bindungswinkel	302
10.2.4.10	Torsionswinkel	303
10.2.5	Röntgenkristallographische Daten von Verbindung <b>144</b>	305
10.2.5.1	Kristalldaten für Verbindung <b>144</b>	305

10.2.5.2	Datensammlung	306
10.2.5.3	Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung	306
10.2.5.4	Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter	307
10.2.5.5	Anisotrope Auslenkungsparameter	307
10.2.5.6	Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome	308
10.2.5.7	Wasserstoffbrückenbindungen	309
10.2.5.8	Bindungslängen	310
10.2.5.9	Bindungswinkel	311
10.2.5.10	Torsionswinkel	311
10.3	Synthesevorschriften	313
10.3.1	2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)ethanon ( <b>56</b> )	313
10.3.2	2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolyl)ethanon ( <b>57</b> )	314
10.3.3	<i>N</i> -[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>58</b> )	314
10.3.4	<i>N</i> -[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>60</b> )	315
10.3.5	<i>N</i> -[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-[[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino]-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>64</b> )	316
10.3.6	<i>N</i> -[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-[[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino]-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>65</b> )	318
10.3.7	6-(5-Methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexansäureethylester ( <b>62</b> )	319
10.3.8	6-(5-Methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexansäure ( <b>63</b> )	320
10.3.9	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Amidkupplung mittels der Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)- / 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)-Methode	321
10.3.10	<i>N</i> -[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-[[6-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexanoyl]amino]-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>66</b> )	322
10.3.11	5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure ( <b>68</b> )	323



10.3.12	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid ( <b>69</b> )	324
10.3.13	2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)essigsäureethylester ( <b>73</b> )	325
10.3.14	3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)propionsäureethylester ( <b>75</b> )	327
10.3.15	4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)buttersäureethylester ( <b>77</b> )	328
10.3.16	5-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)pentansäureethylester ( <b>79</b> )	329
10.3.17	6-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)hexansäureethylester ( <b>81</b> )	330
10.3.18	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Naphthalimidalkansäuren durch Hydrolyse ihrer Ester	331
10.3.18.1	2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)essigsäure ( <b>74</b> )	331
10.3.18.2	3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)propionsäure ( <b>76</b> )	332
10.3.18.3	4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)buttersäure ( <b>78</b> )	333
10.3.18.4	5-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)pentansäure ( <b>80</b> )	334
10.3.18.5	6-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)hexansäure ( <b>82</b> )	335
10.3.19	5-Nitro-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-1,3-dion ( <b>72</b> )	336
10.3.20	4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)-buttersäureethylester ( <b>83</b> )	337
10.3.21	4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)-buttersäure ( <b>84</b> )	338
10.3.22	3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propionsäureethylester ( <b>86</b> )	339
10.3.23	4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäureethylester ( <b>88</b> )	340
10.3.24	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridonalkansäuren durch Hydrolyse ihrer Ester	341

10.3.24.1	3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propionsäure ( <b>87</b> )	342
10.3.24.2	4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäure ( <b>89</b> )	342
10.3.25	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und (Nitro-)Naphthalimid-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide	343
10.3.25.1	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[2-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)acetyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>91</b> )	343
10.3.25.2	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[3-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)propanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>92</b> )	345
10.3.25.3	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>93</b> )	346
10.3.25.4	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[5-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)pentanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>94</b> )	348
10.3.25.5	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[6-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)hexanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>95</b> )	349
10.3.25.6	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[4-(5-nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>96</b> )	351
10.3.25.7	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[3-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>97</b> )	352
10.3.25.8	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid ( <b>98</b> )	353
10.3.26	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Amidkupplung mittels der 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid (EDCI)- / 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)-Methode	355

10.3.27	<i>tert.</i> -Butyl(3-([5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]amino)carbonyl)-2-methyl-3-thienyl]amino)-3-oxopropyl)carbammat ( <b>102</b> )	355
10.3.28	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe	357
10.3.29	<i>N</i> -[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-[(3-aminopropanoyl)amino]-5-methyl-2-thiophencarboxamid ( <b>103</b> )	357
10.3.30	<i>N</i> -[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-[(3-[(9,10-dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)-carbonyl]amino)propanoyl]amino]-2-thiophencarboxamid ( <b>104</b> )	358
10.3.31	<i>N</i> -[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-[(3-[(1 <i>H</i> -pyrido[2,3- <i>a</i> ]-5-carbazolyl)carbonyl]amino)propanoyl]amino]-2-thiophencarboxamid ( <b>105</b> )	360
10.3.32	<i>N</i> -[2-(Dimethylamino)ethyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>106</b> )	361
10.3.33	<i>N</i> -[5-([2-(Dimethylamino)ethyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>108</b> )	362
10.3.34	<i>N</i> -[5-([2-(Dimethylamino)ethyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-[[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino]-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid ( <b>110</b> )	363
10.3.35	<i>N</i> -[5-([2-(Dimethylamino)ethyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid ( <b>109</b> )	365
10.3.36	<i>N</i> -[5-([2-(Dimethylamino)ethyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-[[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino]-2-thiophencarboxamid ( <b>111</b> )	366
10.3.37	2-Amino-4-methylthiazol-5-carbonsäureethylester ( <b>114</b> )	367
10.3.38	2-( <i>tert.</i> -Butyloxycarbonylamino)-4-methylthiazol-5-carbonsäureethylester <sup>[157]</sup> ( <b>115</b> )	368
10.3.39	2-( <i>tert.</i> -Butyloxycarbonylamino)-4-methylthiazol-5-carbonsäure ( <b>116</b> )	369
10.3.40	<i>tert.</i> -Butyl (5-([5-([3-(dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]amino)carbonyl)-4-methyl-2-thiazolyl)-carbammat ( <b>117</b> )	370

10.3.41	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid ( <b>118</b> )	371
10.3.42	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und Naphthalimid-gekoppelten Methylthiazolpyrrolcarboxamide	372
10.3.42.1	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[3-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)propanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid ( <b>119</b> )	372
10.3.42.2	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid ( <b>120</b> )	374
10.3.42.3	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[4-(5-nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid ( <b>121</b> )	375
10.3.42.4	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[3-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid ( <b>122</b> )	377
10.3.42.5	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid ( <b>123</b> )	378
10.3.43	2-Amino-5-isopropylthiazol-4-carbonsäuremethylester ( <b>130</b> )	379
10.3.44	2-( <i>tert.</i> -Butyloxycarbonylamino)-5-isopropylthiazol-4-carbonsäuremethylester ( <b>131</b> )	381
10.3.45	2-( <i>tert.</i> -Butyloxycarbonylamino)-5-isopropylthiazol-4-carbonsäure ( <b>132</b> )	382
10.3.46	<i>tert.</i> -Butyl 4-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-5-isopropyl-2-thiazoly)-carbammat ( <b>133</b> )	383
10.3.47	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-2-amino-5-isopropyl-4-thiazolcarboxamid ( <b>134</b> )	384
10.3.48	1-Methyl-1 <i>H</i> -imidazol-2-carbonsäureethylester ( <b>138</b> )	385
10.3.49	1-Methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-2-carbonsäureethylester ( <b>139</b> )	386
10.3.50	1-Methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-2-carbonsäure ( <b>140</b> )	387

10.3.51	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>143</b> )	388
10.3.52	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und Naphthalimid-gekoppelten Imidazolpyrrolcarboxamide	389
10.3.52.1	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[3-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)propanoyl]amino}-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>145</b> )	389
10.3.52.2	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>146</b> )	390
10.3.52.3	<i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>148</b> )	392
10.3.53	<i>N</i> -[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>141</b> )	393
10.3.54	<i>N</i> -[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -4-imidazolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>144</b> )	394
10.3.55	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und Naphthalimid-gekoppelten Bisimidazolcarboxamide	395
10.3.55.1	<i>N</i> -[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -4-imidazolyl]-1-methyl-4-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>147</b> )	395
10.3.55.2	<i>N</i> -[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -4-imidazolyl]-1-methyl-4-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid ( <b>149</b> )	397
	<b>Literaturverzeichnis</b>	399
	<b>Formeltafel</b>	405

# 1. Einleitung

Krebs stellt mittlerweile weltweit die zweithäufigste Todesursache in den Industrieländern dar <sup>[1]</sup>, wobei die Zahl an Neuerkrankungen stetig zunimmt. So ist inzwischen auch in Deutschland nahezu jeder vierte Sterbefall auf eine maligne Neoplasie zurückzuführen <sup>[2]</sup>. Der Ursprung dieser Erkrankungen liegt in der Veränderung der genetischen Information, dem Erbgut einer Zelle. Genetische Disposition und/oder Karzinogene (ionisierende Strahlung, UV-Strahlung, Chemikalien, onkogene Viren (z.B. Papillomaviren)) führen über die Umwandlung von Protoonkogenen in die entsprechenden Onkogene sowie einen Funktionsverlust von Tumorsuppressorgenen zu einer malignen Transformation von Zellen. In der Zelle ablaufende Prozesse wie Genexpression, Wachstum, Differenzierung und Apoptose geraten somit aus ihrem sensiblen Gleichgewicht mit der Folge einer unkontrollierten Zellproliferation.

Das zunehmende Verständnis über die zugrunde liegenden genetischen Veränderungen, den Ablauf zellulärer Vorgänge auf molekularer Ebene - insbesondere bei Signal- und Regulationsmechanismen - sowie die Identifizierung molekularer Zielstrukturen führte zu völlig neuen, gezielten Therapieansätzen. Während ältere Chemotherapeutika vorwiegend auf die beschleunigte Zellteilung von Tumorzellen abzielen, sollen die neuen „targeted therapies“ selektiv karzinogenes Gewebe erkennen, in gestörte Signalkaskaden eingreifen, Angiogenese unterbinden und neben der Einleitung des programmierten Zelltodes möglichst Resistenzen überwinden <sup>[3]</sup>. Mit dem Einzug monoklonaler Antikörper in die Pharmakotherapie von Tumorerkrankungen ist man diesem Ziel näher gerückt. Diese Biologicals inhibieren gezielt die in Tumorzellen unkontrolliert ablaufenden Signaltransduktionswege, indem sie entweder selbst an einen Wachstumsfaktorrezeptor auf der Zelloberfläche binden (Cetuximab (Erbix<sup>®</sup>), Trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>)), oder die Wachstumsfaktoren bereits vor ihrer Rezeptorbindung abfangen (Bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>)) <sup>[4]</sup>. Darüber hinaus stehen derzeit Rezeptor-Tyrosinkinase aufgrund ihrer entscheidenden Schlüsselrolle bei der intrazellulären Signalübertragung von Wachstumsfaktoren im Mittelpunkt der Krebsforschung. Durch deren selektive Blockade können wesentliche Impulse für Tumorwachstum und -angiogenese unterbunden werden. Bereits 2001 kam mit Imatinib (Glivec<sup>®</sup>) der erste Tyrosinkinaseinhibitor zur Behandlung der chronisch-myeloischen Leukämie auf den deutschen Markt.

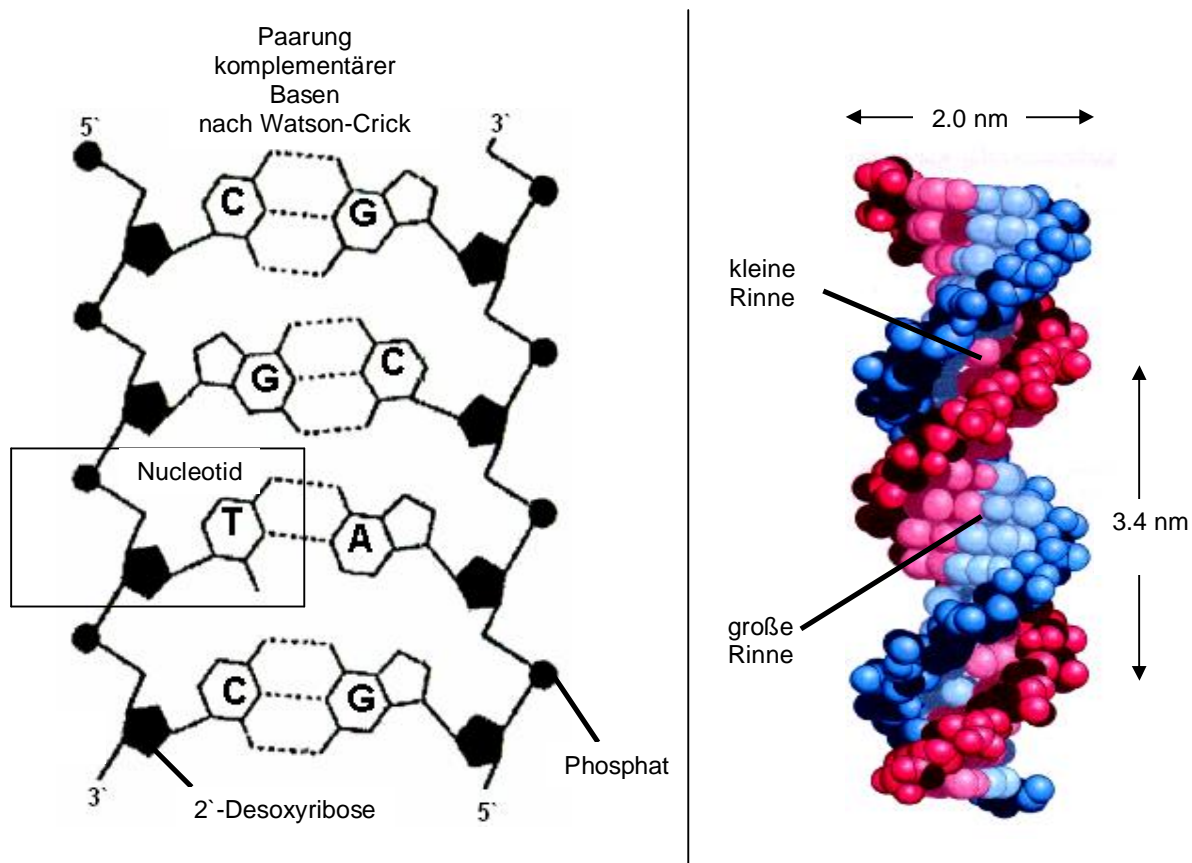
Die hierbei anfallenden hohen Therapiekosten gegenüber den begrenzten finanziellen Ressourcen im Gesundheitswesen führen jedoch dazu, dass diese innovativen Arzneimittel nur selten - meist erst in der Second-line-Therapie - angewendet werden <sup>[5]</sup>. Folglich kommen immer noch häufig klassische Zytostatika zum Einsatz, deren Hauptangriffsziel oftmals die DNA selbst ist. Da der Angriff und die damit verbundene Hemmung der DNA-Replikation und Transkription zumeist relativ unspezifisch erfolgen, besitzen Tumorzellen lediglich aufgrund der im Vergleich zu gesunden Zellen gesteigerten DNA-Synthese-Rate und vermehrten Expression der dazu notwendigen Enzyme eine erhöhte Sensitivität. Eine Schädigung von gesundem Gewebe, die mit starken Nebenwirkungen einhergeht, lässt sich somit nicht vermeiden. Auch führt die zunehmende Resistenzentwicklung häufig zu Problemen bei der Anwendung klassischer DNA-Liganden.

Daher ist es nach wie vor interessant, neue DNA-bindende Arzneistoffe zu entwickeln, welche selektiv am „Ursprung“ der Tumorgenese angreifen, zumal die DNA das strukturell wohl bestcharakterisierte Biopolymer ist. Hierbei stellt die Entwicklung niedermolekularer „gene-sequence-targeted-drugs“ zur gezielten Ausschaltung defekter Gene durch sequenzspezifischen Angriff an der DNA die größte Herausforderung dar <sup>[6-8]</sup>.

## **1.1 Aufbau der DNA und Bindungsmodi antitumoraktiver DNA-Liganden**

Die DNA ist, wie schon erwähnt, aufgrund der im Gegensatz zu den meisten Makromolekülen gut aufgeklärten Struktur und der genetischen Krankheitsursache für das Design neuer Zytostatika ein sehr attraktives Target <sup>[9]</sup>. Die Existenz von drei verschiedenen Formen (A-DNA, B-DNA, Z-DNA) zeigt, dass es sich bei der DNA um ein flexibles, dynamisches Molekül handelt. Für den Angriff von Zytostatika ist jedoch in erster Linie die unter physiologischen Bedingungen vorliegende B-DNA von Bedeutung. Diese besteht aus zwei komplementären Polynucleotidketten, die sich in entgegengesetzte Richtungen so um eine gemeinsame Achse winden, dass sie eine rechtsgängige, über Watson-Crick-Basenpaarung zusammengehaltene Doppelhelix bilden (s. Abb. 1.1, S. 3). Der äußere Mantel, das Rückgrat der DNA, ist aus D-2`-

Desoxyribosen, die am 3'- und 5'-Ende über Phosphodiesterbindungen miteinander verknüpft sind, aufgebaut. Aufgrund der negativ geladenen Phosphatgruppen besitzt die Doppelhelix eine polare Oberfläche, die dem umgebenden Wasser zugewandt ist. Die nahezu senkrecht zur Helixachse angeordneten und mit dem Zucker *N*-glykosidisch verknüpften, hydrophoberen Purin- (Adenin, Guanin) und Pyrimidin- (Thymin, Cytosin) Basen hingegen befinden sich im Inneren der Helix. Dieser hydrophobe Effekt trägt neben den Wasserstoffbrücken zwischen den gegenüberliegenden komplementären Basenpaaren (Adenin-Thymin: 2 H-Brücken, Guanin-Cytosin: 3 H-Brücken) sowie den durch die Basenstapelung (base stacking) hervorgerufenen  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen im Wesentlichen zur Stabilisierung der Helixstruktur bei [8, 10].



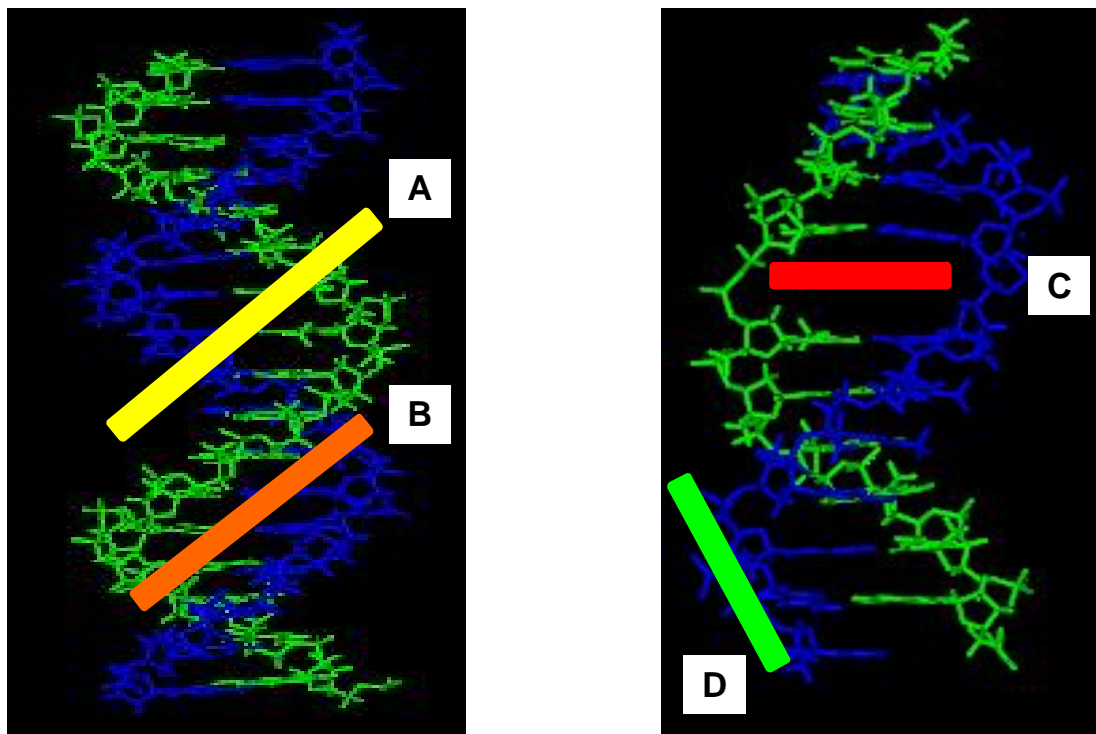
**Abb. 1.1:** Molekularer Aufbau (schematisch) der B-DNA (links) und Kalottenmodell der Doppelhelix (rechts)

Da sich die glykosidischen Bindungen eines Basenpaares nicht diametral gegenüberstehen, ergeben sich durch die Drehung des Doppelstranges um die Helixachse



zwei unterschiedlich große Vertiefungen: die große Furche/Rinne (Major Groove) mit einer Breite von ca. 24 Å und die kleine Furche/Rinne (Minor Groove) mit einer Breite von nur 10 Å (s. Abb. 1.1, S. 3). Die Major Groove enthält mehrere Donor- und Akzeptorfunktionen zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen sowie Strukturelemente für van der Waals-Interaktionen und somit auch mehrere Merkmale zur Unterscheidung der einzelnen Basenpaare als die kleine Rinne. An der großen Rinne greifen hauptsächlich größere Moleküle sowie sequenzerkennende Proteine (Transkriptionsfaktoren, Regulationsproteine) an, während niedermolekulare Substanzen (sog. *small molecules*) die wesentlich engere Minor Groove bevorzugen <sup>[11]</sup>.

Neben der genannten Rinnenbindung sind bei einer nicht-kovalenten Komplexbildung antitumoraktiver DNA-Liganden zwei weitere Grundorientierungen möglich (s. Abb. 1.2): die Interkalation (s. Kap. 1.3, S. 7) und die unspezifische Bindung am Rückgrat der DNA („Outside“-Komplex nach Hamilton <sup>[18]</sup>). Demgegenüber steht als vierter DNA-Bindungstyp die Alkylierung (s. Kap. 1.2, S. 5), bei der die Moleküle kovalent an ihr Target binden <sup>[6, 8, 12]</sup>. In diesem Zusammenhang sind auch alkylierende Interkalatoren <sup>[28]</sup> und Rinnenbinder (s. Kap. 1.5.1, S. 33) bekannt.

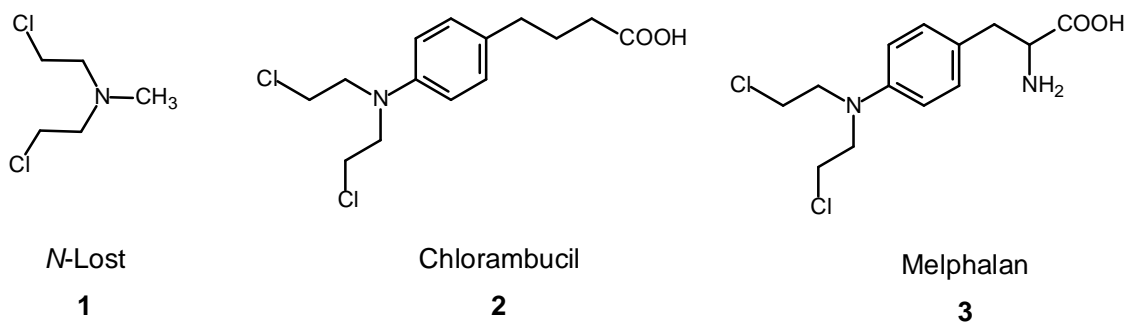


**Abb. 1.2:** Bindungsmodi antitumoraktiver DNA-Liganden:  
**A:** Major Groove Binding      **B:** Minor Groove Binding      **C:** Interkalation  
**D:** unspezifische Bindung am Rückgrat der B-DNA

Aus sämtlichen Studien der letzten Jahre geht hervor, dass die Antitumoraktivität DNA-bindender Zytostatika nicht alleine auf deren Interaktion mit der DNA beruht, sondern vielmehr auf eine zusätzliche Wechselwirkung mit DNA-relevanten und in Tumorzellen häufig vermehrt exprimierten Proteinen (z. B. Topoisomerase I und II, Telomerase, Transkriptionsfaktoren) zurückzuführen ist <sup>[6, 9, 13-17]</sup>.

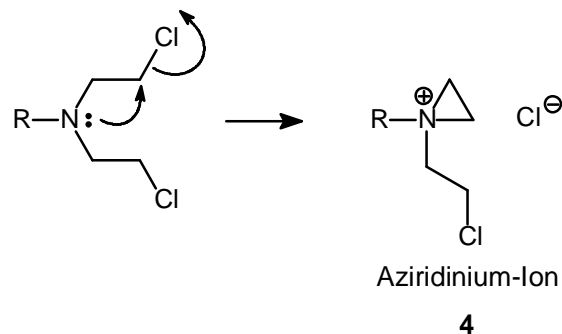
## 1.2 Alkylanzien

Die zufällige Entdeckung der antitumoralen Wirkung des im ersten Weltkrieg als Kampfgas eingesetzten Lost (Senfgas, Dichlordiethylsulfid) führte zur systematischen Suche nach weniger toxischen und therapeutisch einsetzbaren *N*-Lost-Derivaten. Der Prototyp aller *N*-Lost-Derivate ist das Stickstoff-Lost **1** (*N*-Lost), von dem sich die beiden bekannten Vertreter Chlorambucil **2** und Melphalan **3** ableiten (s. Abb. 1.3).



**Abb. 1.3:** In der Krebstherapie eingesetzte *N*-Lost-Derivate

Als bifunktionelle Alkylanzien reagieren die *N*-Lost-Derivate in mehreren Reaktionsschritten unter Ausbildung einer kovalenten Bindung mit Nucleophilen, wobei in allen Fällen das intermediär durch intramolekulare Alkylierung gebildete Aziridinium-Ion **4** (s. Abb. 1.4, S. 6) als eigentlich alkylierendes Agens aufzufassen ist <sup>[19]</sup>. Der Angriff erfolgt hierbei zumeist relativ unspezifisch an den reaktivsten, nucleophilen Zentren der DNA (Guanin-N7 > Adenin-N3 > Adenin-N1 > Cytosin-N1) <sup>[20]</sup>.

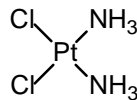


**Abb. 1.4:** Bildung des Aziridinium-Ions **4** durch intramolekulare *N*-Alkylierung

Aufgrund der bifunktionellen *N*-Lost-Reaktivität kommt es unter günstigen Voraussetzungen zu einer kovalenten Vernetzung der beiden komplementären DNA-Stränge (interstrand cross-linking). Die bei Replikation und Transkription ablaufende Singularisierung des Doppelstranges wird auf diese Weise verhindert. Darüber hinaus führen Alkylierungen an Guanin-N7 häufig zu Codierungsfehlern während der Replikation und begünstigen die hydrolytische Öffnung des alkylierten Imidazolrings [20, 21]. Hieraus lassen sich sowohl die mutagenen als auch zytotoxischen Effekte dieser Substanzklasse erklären.

Ein großer Nachteil der alkylierenden Zytostatika ist ihre Eigenschaft, neben der DNA sämtliche nucleophilen Gruppen (Hydroxy-, Amino-, Mercapto-, Carboxylgruppen) und somit auch wichtige funktionelle Gruppen körpereigener Proteine anzugreifen. Sie entfalten ihre zytotoxische Wirkung daher sehr unselektiv; zudem ist ihre Bioaktivität nur sehr schwer steuerbar.

Fälschlicherweise wird oftmals auch der Cisplatin-Komplex **5** (s. Abb. 1.5) - obwohl er über keine Alkylgruppen verfügt - zur Gruppe der alkylierenden Substanzen gezählt, da er ähnlich wie bifunktionelle Alkylantien Quervernetzungen, in erster Linie jedoch innerhalb des gleichen Stranges (intrastrand cross-linking), erzeugt [7, 21].



**5**

**Abb. 1.5:** Struktur des Cisplatin-Komplexes **5**

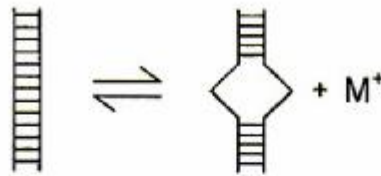
## 1.3 Interkalatoren

Unter einer Interkalation versteht man das Einschieben (intercalare = dazwischenschieben) eines planaren, polycyclischen, aromatischen Chromophors zwischen zwei übereinander gestapelte DNA-Basenpaare. Hierbei werden die Wirkstoffmoleküle über nicht-kovalente Wechselwirkungen senkrecht zur Helixachse der B-DNA fixiert<sup>[20]</sup>. Der Begriff der Interkalation wurde durch Lerman<sup>[22-24]</sup> geprägt, der als Erster am Beispiel einiger Acridin-Derivate experimentelle Beweise für eine Interkalation in die humane B-DNA lieferte.

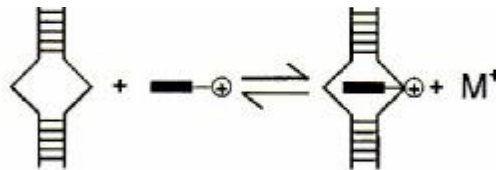
Nach Chaires<sup>[25]</sup> verläuft die Bildung des Interkalationskomplexes über drei Schritte (s. Abb. 1.6, S. 8):

im ersten Schritt bildet sich die Interkalationshöhle zur Einlagerung des Liganden, indem sich der mittlere Abstand zwischen zwei gestapelten Basenpaaren von 3.4 Å auf ca. 7-8 Å vergrößert<sup>[26]</sup>. Da sich die Phosphatgruppen im Rückgrat der DNA aufgrund dieser Konformationsänderung voneinander entfernen, kommt es zu einer Reduktion der lokalen Ladungsdichte und folglich zur Freisetzung von Gegenionen. Ein Großteil der Bindungsenergie resultiert aus dem sich anschließenden hydrophoben Transfer des Interkalators aus der Lösung in die zuvor geformte Kavität<sup>[20]</sup>. Im nachfolgenden Schritt bilden sich zwischen Chromophor und DNA nicht-kovalente Bindungskräfte wie Wasserstoffbrückenbindungen, van der Waals-Kräfte, elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen aus. Den größten Beitrag zur Stabilisierung des Charge-Transfer-Komplexes liefert jedoch das sogenannte  $\pi$ - $\pi$ -Stacking zwischen den  $\pi$ -Elektronen des Interkalators und der Basen<sup>[25]</sup>.

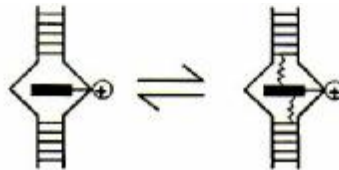
1. Konformationsänderung der DNA ( $\Delta G > 0 \hat{=}$  endergonisch)



2. Hydrophober Transfer ( $\Delta G < 0 \hat{=}$  exergonisch)

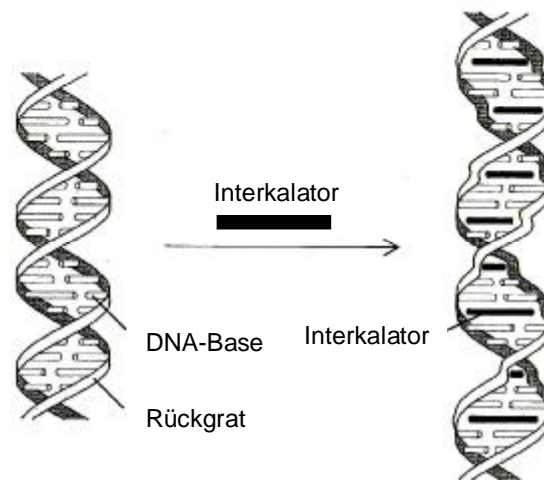


3. Molekulare Wechselwirkungen ( $\Delta G < 0 \hat{=}$  exergonisch)



**Abb. 1.6:** Modell für den Bindungsmechanismus der Interkalation nach Chaires <sup>[25]</sup>; bei kationischen Interkalatoren kommt es in Schritt 2 zusätzlich zur Freisetzung von Gegenionen.

Die bereits erwähnte, durch eine Interkalation hervorgerufene vertikale Separierung der Basenpaare führt im Bereich der Bindungsstelle zu einer signifikanten Veränderung der Torsionswinkel des Zuckerphosphatgerüsts. Dies hat zur Folge, dass sich die DNA-Tertiärstruktur (Helix) partiell verlängert und dabei im Vergleich zur ursprünglichen Form etwas aufgewunden wird <sup>[20, 26, 27]</sup> (s. Abb. 1.7, S. 9). In Analogie zu Enzym-Substrat-Komplexen ist somit auch bei einer Interkalation ein „induced-fit“-ähnlicher Mechanismus zu beobachten <sup>[25]</sup>.



**Abb. 1.7:** Schematische Darstellung der Konformationsänderung der DNA durch Einlagerung eines Interkalators <sup>[20]</sup>

Auf biochemischer Ebene führt die beschriebene Veränderung der Topologie zu einer gestörten Funktion DNA-bindender Enzyme (RNA- und DNA-Polymerasen, Topoisomerasen). Durch diese enzymatischen Blockaden während der Replikation und Transkription verliert die DNA ihre Matrizenfunktion, so dass die gesamte Zellproliferation zum Erliegen kommt <sup>[8, 20, 26, 27]</sup>. Die Interkalation eines Wirkstoffes ist folglich nur der erste Schritt einer Folge von Ereignissen, die letztlich zur Schädigung der DNA über andere Mechanismen führen <sup>[20]</sup>. So ist die Zytotoxizität dieser Verbindungen in erster Linie auf eine Stabilisierung des spaltbaren Komplexes (sog. „Cleavable-Komplex“) aus DNA und Topoisomerase (meist Topoisomerase II) sowie die hierdurch induzierten, letalen Doppelstrangbrüche zurückzuführen <sup>[27, 28]</sup> (sog. *TOPO-Poisons*, s. Kap. 4.1.4, S. 132). Nach neueren Erkenntnissen trägt möglicherweise auch eine Hemmung von Transkriptionsfaktoren und DNA-Reparaturmechanismen zu deren pharmakologischer Wirkung bei <sup>[27]</sup>.

Für eine optimale Interkalation gelten die folgenden strukturellen Voraussetzungen:

- 1) Ein planares, elektronenarmes,  $\pi$ -konjugiertes System (Chromophor) mit einer Mindestfläche von  $28 \text{ \AA}^2$  (Optimum bei 3-4 anellierten Ringen) <sup>[26, 27]</sup>.

- 2) Elektronenziehende Substituenten (z. B. quartäre *N*-Atome), die den Elektronenmangel des Chromophors und somit das  $\pi$ - $\pi$ -Stacking mit den Basen verstärken <sup>[26]</sup>.
- 3) Seitenkettenfunktionalitäten (z. B. Zuckerreste, Peptid-ähnliche oder andere H-Brücken ausbildende Strukturen), welche die DNA-Affinität durch zusätzliche Interaktionen mit dem Rückgrat oder der kleinen/großen Rinne erhöhen <sup>[8]</sup>.

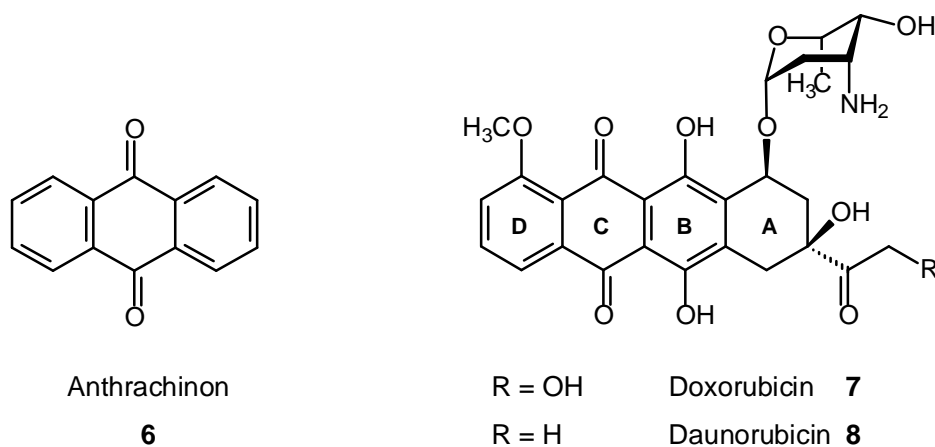
Aufgrund der Vermutung, dass die zytotoxische Wirkung DNA-interagierender Wirkstoffe mit deren Bindungsstärke und der DNA-Ligand-Komplexstabilität korreliert <sup>[9, 28-32]</sup> wurden Bisinterkalatoren - bestehend aus zwei separaten chromophoren Strukturen, die über einen flexiblen Linker miteinander verbunden sind - synthetisiert. Im Allgemeinen besitzen diese Verbindungen eine höhere DNA-Affinität ( $K_b$ :  $10^{10}$ - $10^{12}$   $M^{-1}$ ) als die entsprechenden monointerkalierenden Substanzen ( $K_b$ :  $10^6$ - $10^8$   $M^{-1}$ ) und darüber hinaus geringere Dissoziationsgeschwindigkeiten <sup>[20, 26, 33-35]</sup>. In manchen Fällen werden sogar Affinitätsbereiche von natürlich vorkommenden Repressorproteinen erreicht <sup>[20]</sup>.

Obwohl die meisten Interkalatoren eine ausgeprägte Guanin-Cytosin (GC)-Präferenz aufweisen (z. B. Ellipticin- und Acridin-Derivate), erfolgt die Interkalation aufgrund der kurzen Bindungssequenz von nur zwei Basenpaaren zumeist unspezifisch <sup>[8, 36]</sup>. Trotz der geringen Selektivität und der damit einhergehenden Toxizität zählen sie derzeit immer noch zu den am häufigsten eingesetzten Chemotherapeutika <sup>[28]</sup>.

Mittlerweile steht ein sehr breites Spektrum interkalierender Substanzen mit den unterschiedlichsten Strukturen zur Verfügung. Genauere Informationen zu den einzelnen Verbindungen sind der zahlreichen Literatur zu entnehmen <sup>[8, 27, 28, 37-39]</sup>. Im Folgenden werden lediglich die für diese Arbeit als Bezugssubstanzen relevanten Interkalatoren genauer erläutert.

### 1.3.1 Anthrachinone

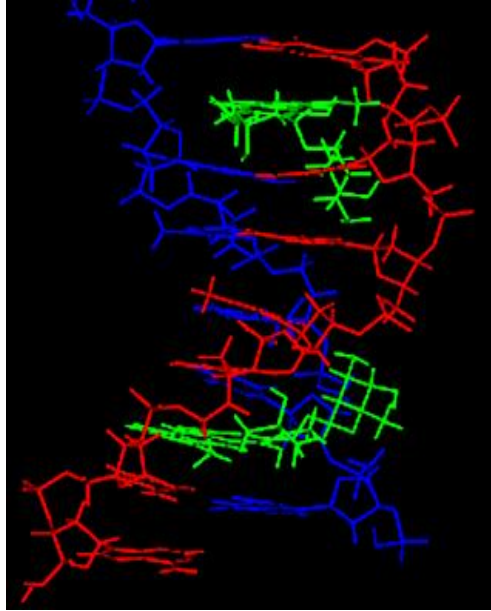
Eine besonders wichtige Gruppe der zurzeit zur Behandlung von Leukämien und soliden Tumoren klinisch eingesetzten Zytostatika stellen die aus *Streptomyces*-Arten isolierten Anthracyclin-Antibiotika, wie beispielsweise Doxo- und Daunorubicin **7** u. **8** dar (s. Abb. 1.8). Als charakteristische Strukturmerkmale weisen sie ein vom Anthrachinon **6** abgeleitetes Ringsystem sowie einen am gesättigten Ring A  $\alpha$ -glykosidisch verknüpften Aminozucker (Daunosamin) auf.



**Abb. 1.8:** Strukturformel des Anthrachinons und Beispiele hiervon abgeleiteter Anthracyclin-Derivate

Wie die Kristallstruktur von Daunorubicin mit dem Hexanucleotid  $d(\text{CGTACG})_2$  zeigt (s. Abb. 1.9, S. 12), ist der chromophore Molekülteil senkrecht zur Basenpaar-Trajektorie angeordnet, wobei die Interkalation bevorzugt in  $d(\text{GC})_2$ -Abschnitten der DNA erfolgt. Ring A des Tetracyclus besetzt zusammen mit dem  $\alpha$ -glykosidisch verknüpften Aminozucker die kleine Rinne, während Ring D in die große Rinne hinausragt<sup>[40]</sup>.

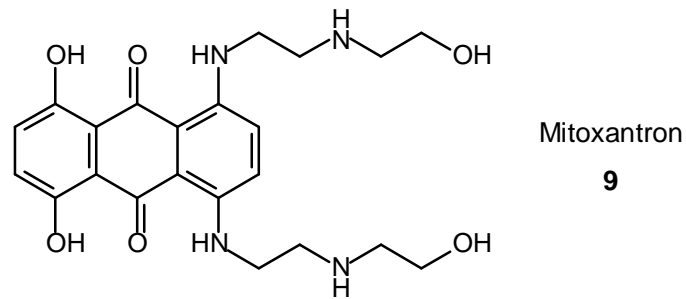




**Abb. 1.9:** Röntgenkristallstruktur des Cokristallisats von Daunorubicin (grün) mit einem Hexanucleotid  $d(CGTAACG)_2$  <sup>[40]</sup>

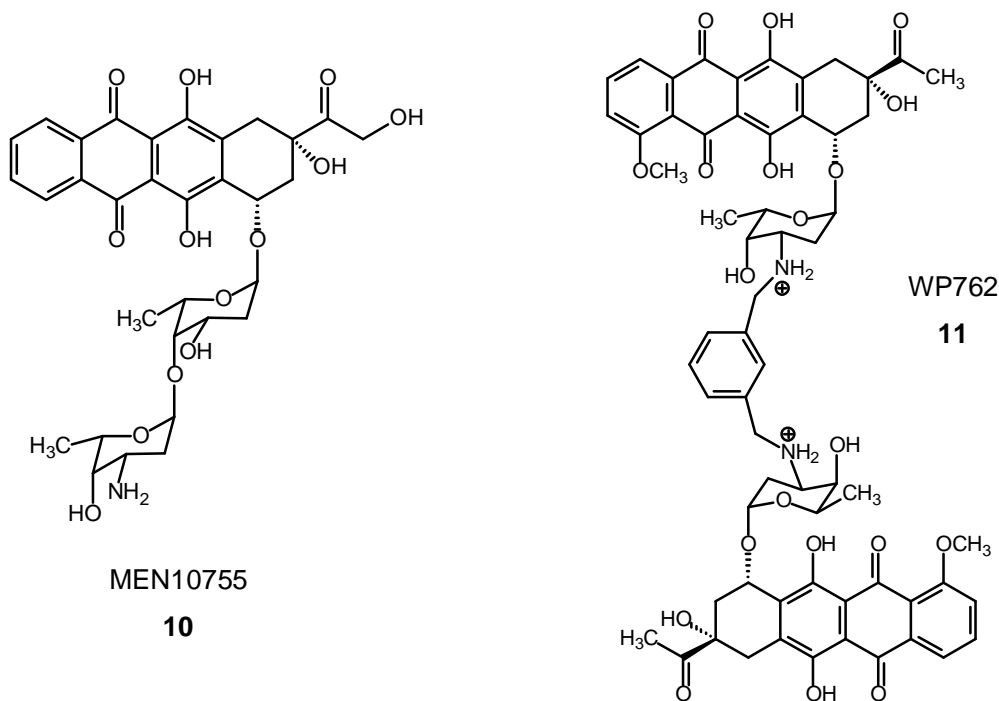
Neben den bereits beschriebenen, durch die Interkalation hervorgerufenen Effekten auf biochemischer Ebene (Hemmung von DNA- und RNA-Polymerasen, Doppelstrangbrüche durch Topoisomerase-II-Hemmung, s. Kap 1.3, S. 9) trägt auch eine Anlagerung der Anthracycline an Zellmembran-Lipide und damit die Erhöhung der Membranfluidität und -permeabilität zur deren pharmakologischer Wirkung bei <sup>[21, 41]</sup>. Aufgrund der Redoxeigenschaften der Anthrachinone kommt es außerdem UV-induziert sowie durch endogene Prozesse (z. B. Biotransformation) zur Bildung reaktiver Sauerstoff-Spezies (ROS), die ihrerseits ebenfalls Doppelstrangbrüche induzieren <sup>[21]</sup>. Die Bildung endogener Sauerstoff-Spezies (z. B. Superoxidradikal-Anionen) steht vermutlich auch mit der Kardiotoxizität dieser Verbindungen in engem Zusammenhang <sup>[21, 41]</sup>.

Das vollsynthetische, basisch funktionalisierte Anthrachinon-Derivat Mitoxantron **9** (s. Abb. 1.10, S. 13) besitzt eine geringer ausgeprägte Kardiotoxizität und wird vor allem zur Therapie des metastasierenden Mammakarzinoms eingesetzt.



**Abb. 1.10:** Mitoxantron **9**; die Interkalation des Chromophors erfolgt bevorzugt in GC-reichen Sequenzen, während die Seitenketten in die große Rinne ragen

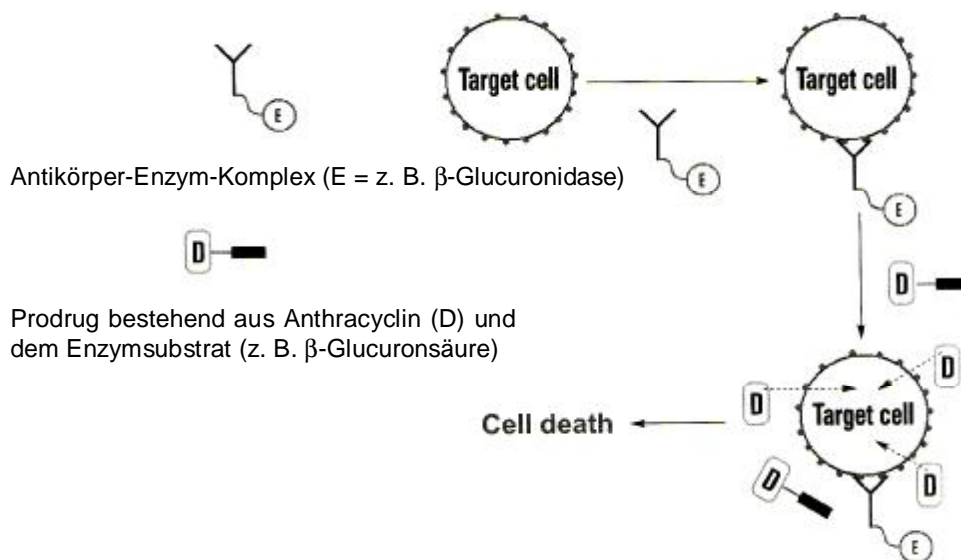
In den letzten Jahren wurden große Bemühungen zur Synthese wirksamerer Anthracycline mit günstigerem Nebenwirkungsprofil unternommen. So zeigen einige Disaccharid-analogen Dauno- bzw. Doxorubicine, wie z. B. MEN10755 **10** (s. Abb. 1.11) eine Aktivität gegen Anthracyclin-resistente Leukämie-Arten <sup>[42]</sup>. Vielversprechende Ergebnisse wurden auch mit „bisinterkalierenden“ Daunorubicin-Varianten erhalten. WP762 **11**, ein über einen m-Xylenyl-Linker verknüpftes Bisdaunorubicin, besitzt im Vergleich zu Daunorubicin ( $K_b$ :  $10^7 \text{ M}^{-1}$ ) eine wesentlich stärkere DNA-Affinität ( $K_b$ :  $10^{12} \text{ M}^{-1}$ ) sowie eine gesteigerte Zytotoxizität gegenüber Jurkat T Lymphozyten <sup>[43]</sup>.



**Abb. 1.11:** Einige ausgewählte Anthracyclin-Derivate <sup>[42, 43]</sup>

Die Intention, eine möglichst zielgerichtete und nebenwirkungsarme Behandlung maligner Tumore zu erreichen, führte zur Herstellung sogenannter „Anthracyclin-Prodrugs“. Aktuellen Studien zufolge führen Anthracycline mit Peptid-Linker, die selektiv durch Tumor-assoziierte Proteasen (Cathepsin B, Prostata spezifisches Antigen (PSA)) gespalten werden, zu einer lokalen Akkumulation der aktiven Form des Zytostatikums <sup>[44a]</sup>. Aufgrund des EPR-Effektes (gesteigerte Durchlässigkeit für Makromoleküle) der angiogenetisch zur Nährstoffversorgung der Krebszellen neu angelegten Gefäße, scheint auch die Verknüpfung der Anthracycline mit z. B. HMPA-Copolymeren (*N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid) zur selektiven Erkennung von tumorösem Gewebe ein sinnvoller Ansatzpunkt zu sein <sup>[3]</sup>.

Die Verwendung monoklonaler Antikörper als Shuttle ist jedoch die eleganteste Variante, um die Wirkstoffe gezielt zur Tumorzelle zu transportieren. Eine Weiterentwicklung der Antikörper-Tumorthherapie stellt die „antibody-directed enzyme prodrug therapy“ (= ADEPT, s. Abb. 1.12) dar <sup>[44a-c]</sup> (Arbeitskreis Tietze, Göttingen).

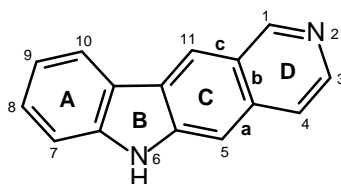


**Abb. 1.12:** Strategie der ADEPT: Der Antikörper-Enzym-Komplex bindet an Tumor-assoziierte Antigene. Das exogene Enzym (z. B. β-Glucuronidase) katalysiert im Anschluss daran die Freisetzung der aktiven Komponente (z. B. Daunorubicin) aus dem Prodrug <sup>[44]</sup>.

Derzeit befinden sich zahlreiche Verbindungen dieser Prodrugs in klinischer Prüfung. Weitere Einzelheiten hierzu sind der Literatur zu entnehmen <sup>[44a-c]</sup>.

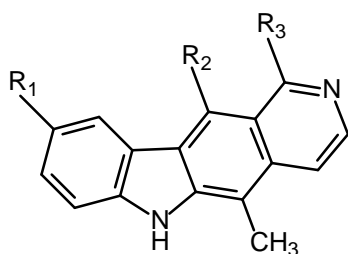
### 1.3.2 Ellipticine

Die erstmalig 1958/59 aus *Apocynaceen*-Arten isolierten Alkaloide Ellipticin **13**, 6-Methoxyellipticin **14** sowie das zum Ellipticin regioisomere Olivacin **15** sind aufgrund ihrer ausgeprägten antineoplastischen Aktivität zu attraktiven Leitsubstanzen für das Design interkalierender Zytostatika geworden. Sowohl in den Ellipticin-Alkaloiden natürlicher Herkunft, als auch den synthetisch abgewandelten Derivaten liegt als Basischromophor das 6*H*-Pyrido[4,3-*b*]carbazol **12** vor. Dieses völlig koplanare Grundgerüst erlaubt eine optimale Interkalation, was sich u.a. in den relativ hohen DNA-Affinitäten dieser Verbindungen widerspiegelt (z. B.:  $K_b$ : (Ellipticin)  $10^6 \text{ M}^{-1}$ ) [26, 45, 46] (s. Abb. 1.13).



6*H*-Pyrido[4,3-*b*]carbazol

**12**



$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{H}$	Ellipticin	<b>13</b>
$R_1 = \text{OCH}_3$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{H}$	9-Methoxyellipticin	<b>14</b>
$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{H}$	$R_3 = \text{CH}_3$	Olivacin	<b>15</b>

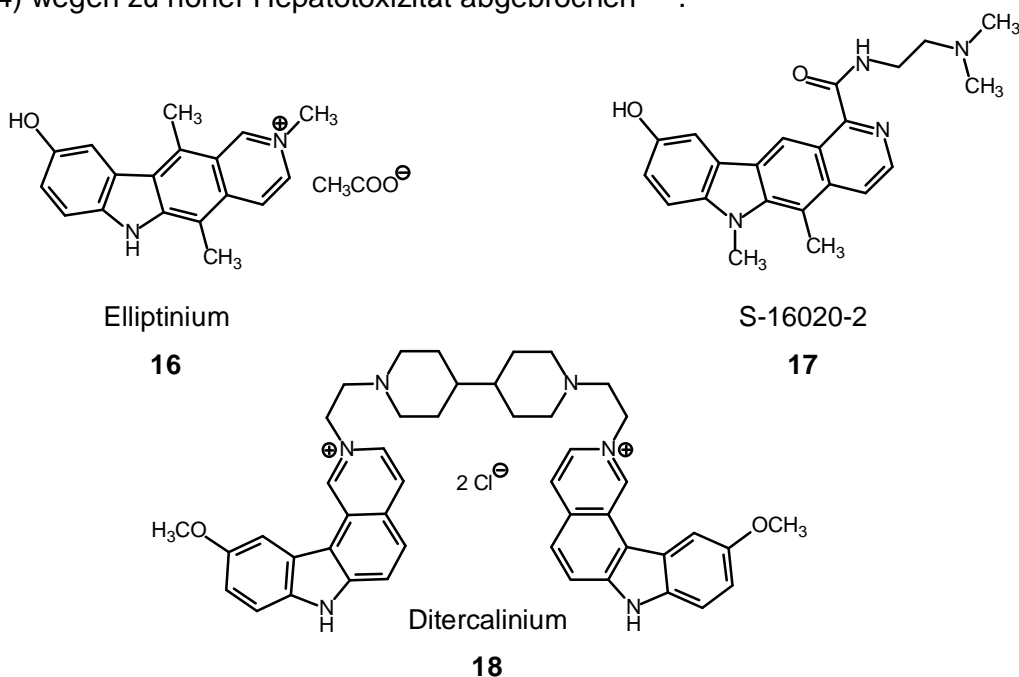
**Abb. 1.13:** Strukturen der Alkaloide Ellipticin **13**, 9-Methoxyellipticin **14** und Olivacin **15**

Die antitumorale Wirkung der Ellipticine beruht zum einen auf der Hemmung einer Reihe verschiedener Enzyme (DNA- und RNA-Polymerase, RNA-Methylase, Telomerase, Topoisomerase II). Unklar ist jedoch, ob diese Hemmung auf eine direkte Enzym-Ligand-Interaktion zurückzuführen ist, oder ob sich die infolge der Interkalation veränderte DNA-Topologie (s. Kap. 1.3, S. 8) nachteilig auf den Enzym-DNA-Erkennungsprozess auswirkt [46]. Zum anderen führt die metabolische Bioaktivierung durch eine Oxidation an Position 9 über die Zwischenstufe eines Phenoxyradikals zu einem elektrophilen Chinonimin-Derivat, welches in einer *Michael*-Typ-Addition irre-

versibel mit Bionucleophilen (Aminosäuren, Glutathion oder DNA) reagiert. Darüber hinaus induziert das Phenoxyradikal seinerseits ebenso wie die Bildung eines ternären Ellipticin-TOPO-II-DNA-Komplexes DNA-Strangbrüche (TOPO-*Poisons*, s. Kap. 4.1.4, S. 132) <sup>[26, 46-48]</sup>.

Mit dem Ziel, eine höhere DNA-Affinität und selektivere Zytotoxizität zu erreichen, wurden zahlreiche Derivate des Ellipticins synthetisiert. Die Einführung einer Hydroxylgruppe in Position 9 sowie Quarternisierung des Pyridinstickstoffes an Position 2 führte zu sehr gut wasserlöslichen Ellipticinen mit einer gesteigerten antitumoralen Aktivität <sup>[48]</sup>. Der bekannteste Vertreter, das Elliptinium **16** (s. Abb. 1.14), befindet sich zur Behandlung des metastasierenden Mammakarzinoms in Frankreich bereits in klinischer Anwendung <sup>[45, 47, 48]</sup>. Die basisch funktionalisierten Derivate, wie S-16020-2 **17** (s. Abb. 1.14), zeichnen sich durch ihre hervorragenden zellproliferationshemmenden Eigenschaften aus und weisen in Form ihrer Salze ebenfalls eine gute Wasserlöslichkeit für eine mögliche parenterale Applikation auf <sup>[26, 47]</sup>. Neben den verschiedenen Substituentenvariationen wurde das Ellipticin-Gerüst auch durch Synthese bioisosterer Derivate modifiziert <sup>[49]</sup>.

Aufgrund der starken Nebenwirkungen (z. B. hämolytische Reaktionen) ist der klinische Einsatz der Ellipticine jedoch sehr begrenzt geblieben. So wurde auch die klinische Prüfung des Bis(9-methoxyellipticin)-Derivates Ditercalinium **18** (s. Abb. 1.14) wegen zu hoher Hepatotoxizität abgebrochen <sup>[27]</sup>.

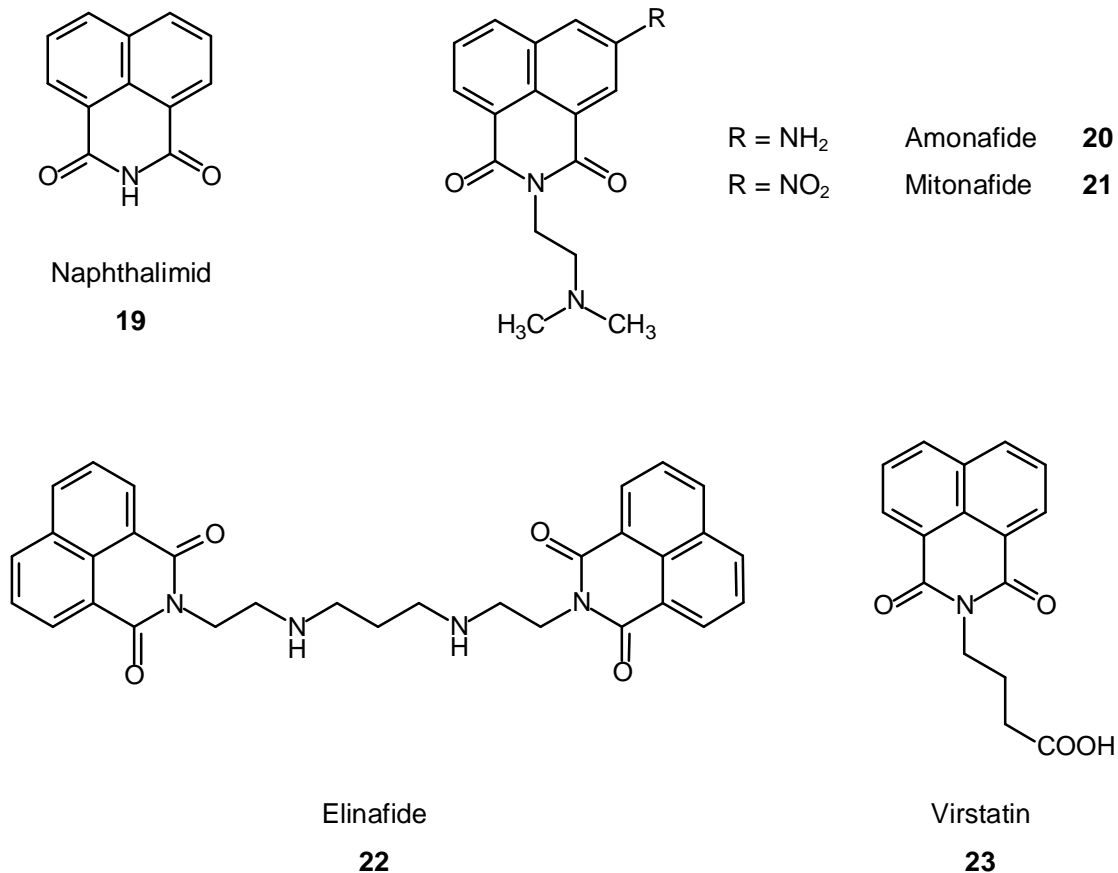


**Abb. 1.14:** Einige ausgewählte Ellipticin-Derivate

### 1.3.3 Naphthalimide

Basierend auf Braña's Publikation der ersten Serie von Naphthalimiden mit zytotoxischer Aktivität in den 70er Jahren wurden die Naphthalimide zunehmend als Leitsubstanzen zur Entwicklung neuer Zytostatika herangezogen <sup>[27, 50]</sup>. Für die beiden antitumoral wirksamen Derivate Amonafide **20** und Mitonafide **21** (s. Abb. 1.15, S. 18) wurde neben der Interkalation des planaren Heteroaromaten als Hauptwirkungsmechanismus die aus einer Topoisomerase-II-Hemmung resultierende Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen nachgewiesen <sup>[51]</sup>. Darüber hinaus besitzen sie antivirale (*Herpes simplex* und *Vaccinia*-Virus), antibiotische (*Bacillus subtilis*) und antiparasitäre (*Trypanosoma cruzii*) Aktivitäten <sup>[50]</sup>. Amonafide **20** befindet sich zurzeit noch in klinischer Prüfung, während dessen Prodrug Mitonafide **21** aufgrund zentraler Neurotoxizität über die Phase II nicht hinauskam <sup>[50]</sup>. SAR-Studien haben gezeigt, dass die basisch funktionalisierte Seitenkette für die zytotoxische Aktivität dieser Verbindungen essentiell ist. Da für die entsprechenden unsubstituierten Derivate keine TOPO-II-*Poison*-Aktivität (s. Kap. 4.1.4, S. 132) nachgewiesen werden konnte, liegt die Vermutung nahe, dass die basische Seitenkette im sog. „Cleavable-Komplex“ mit dem allosterischen Zentrum des Enzyms interagiert <sup>[27, 50]</sup>. Das derzeit in klinischer Phase befindliche Bisnaphthalimid-Derivat Elinafide **22** (s. Abb. 1.15, S. 18) zeichnete sich bereits in den vorklinischen Studien durch eine herausragende antitumorale Aktivität aus, die die der Mononaphthalimide bei weitem übertraf <sup>[27, 50]</sup>. Bailly *et al.* konnten anhand von viskosimetrischen Messungen und DNase I Footprinting Experimenten eine Bisinterkalation für Elinafide **22** nachweisen <sup>[52]</sup>. Diese erfolgt sequenzspezifisch zwischen alternierenden Purin- und Pyrimidin-Motiven (zwischen GpT (ApC) und TpG (CpA) Stufen), wobei der die beiden interkalierenden Heteroaromaten verknüpfende Propylendiamin-Linker in der Major Groove positioniert ist <sup>[52]</sup>. Elinafide **22** ist im Gegensatz zu Amonafide **20** und Mitonafide **21** kein TOPO II-*Poison* (s. Kap. 4.1.4, S. 132), vielmehr wird eine Hemmung von Transkriptionsfaktoren als Wirkungsmechanismus diskutiert <sup>[53]</sup>. Bei der Suche nach neuen Antibiotika wurde im Rahmen eines High-Throughput-Screenings die Naphthalimidbuttersäure, das Virstatin **23** (s. Abb. 1.15, S. 18), als Expressionsinhibitor zweier Virulenzfaktoren (des Cholera Toxins (CT) und Toxin-regulierten Pilus (TCP)) bei *Vibrio cholera* identifiziert. Hung und Mitarbeiter zeigten,

dass diese Expressionshemmung auf eine Blockierung des Transkriptionsregulators ToxT zurückzuführen ist <sup>[54, 55]</sup>. Auf diese Weise verhindert Virstatin **23** die typischerweise bei einer Infektion durch das Cholera-Toxin hervorgerufene Diarrhö sowie die durch TCP ausgelöste intestinale Kolonisierung des gram-negativen Bakteriums <sup>[54]</sup>.



**Abb. 1.15:** Einige ausgewählte Naphthalimid-Derivate

### 1.3.4 Acridone

Die antivirale Wirksamkeit von Acridonen (z. B. Acridoncarbonsäureamide) ist schon seit längerem bekannt <sup>[56]</sup>. Mit ihrer Verwendung zur Entwicklung interkalierender Zytostatika wurde jedoch trotz der idealen strukturellen Voraussetzungen für eine gute Interkalation (s. Kap. 1.3, S. 9 f.) erst in den letzten Jahren begonnen. Bei den von Cholody *et al.* <sup>[28, 57-60]</sup> synthetisierten (Bis)imidazo- und Bistriazoloacridonen

handelt es sich um die wohl aussichtsreichsten Vertreter mit einer selektiven antitumoralen und auch antiviralen Aktivität (gegen HIV-1) <sup>[57, 61]</sup>. Aufgrund der herausragenden zytostatischen Aktivität, die sowohl in *in vitro* (L1210 Leukämie-Zellen) als auch *in vivo* (P388 Leukämie-Zellen in Mäusen) nachgewiesen werden konnte, wurde das Imidazoacridon C-1311 **25** (s. Abb. 1.16, S. 20) für weitere klinische Studien ausgewählt <sup>[28]</sup>. Aus der Reihe der Bisimidazoacridon-Derivate stellt WMC-26 **26** (s. Abb. 1.16, S. 20) die potenteste Verbindung dar. Diese zeigte im NCI-Screening eine selektive antineoplastische Aktivität gegenüber Leukämie- und Kolonkarzinom-Zellen <sup>[57]</sup>. Wider Erwarten binden die Bisimidazoacridone nicht als Bisinterkalatoren an die DNA. Stattdessen konnte anhand spektroskopischer Untersuchungen nachgewiesen werden, dass lediglich eines der beiden Chromophore interkaliert, während der zweite planare Heterocyclus zusammen mit dem Linker in der kleinen Rinne positioniert ist <sup>[57]</sup>. Die biologische Aktivität dieser Verbindungen basiert vermutlich auf der Bildung von ternären Komplexen aus DNA, Bisimidazoacridon und DNA-bindenden Proteinen (z. B. Topoisomerasen), wobei der rinnenbindende Molekülteil eine wichtige Funktion für die Interaktion mit dem entsprechenden Protein übernehmen könnte <sup>[57]</sup>.

Sehr erfolgversprechende Ergebnisse im NCI-Screening wurden auch mit dem unsymmetrisch substituierten Piperazin-Derivat **27** (s. Abb. 1.16, S. 20) erhalten. Diese Substanz zeigte bereits im nanomolaren Konzentrationsbereich eine selektive Zellwachstumshemmung von Kolonkarzinom- und Leukämie-Zelllinien <sup>[57]</sup>. Außerdem besitzt diese Verbindung die Fähigkeit, über die Aktivierung der Caspase-3, einem Schlüsselenzym der Apoptose-Kaskade, den programmierten Zelltod einzuleiten <sup>[57]</sup>. Eines der größten Hindernisse, welches oftmals die Effektivität einer Chemotherapie von Tumorerkrankungen limitiert, ist die Multi-Drug-Resistance (MDR). Deshalb stellt die Suche nach Inhibitoren für Transportproteine, welche Zytostatika aus der Krebszelle ausschleusen (z. B. P-Glykoprotein (Pgp)), eine große Herausforderung dar. Für einige *N*-alkylierte Acridone wie z. B. **28** (s. Abb. 1.16, S. 20) konnte eine Hemmung der Pgp-vermittelten MDR nachgewiesen werden, die mit der von Verapamil vergleichbar ist <sup>[62]</sup>.



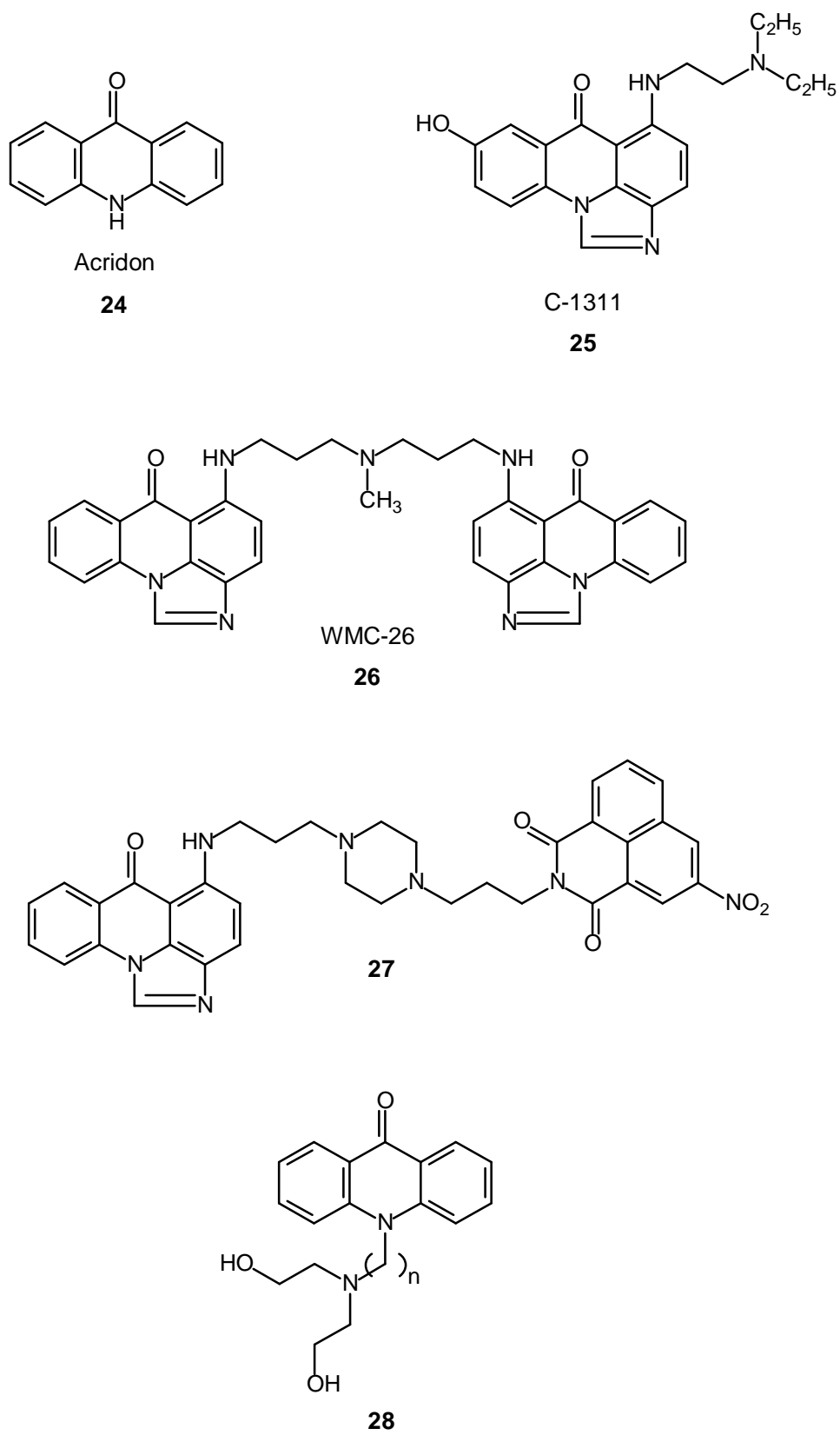
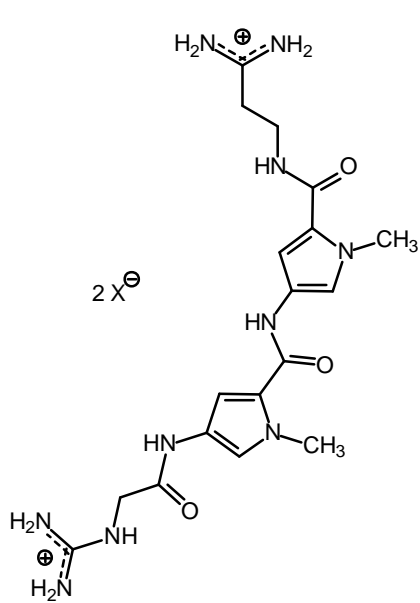


Abb. 1.16: Einige ausgewählte Acridon-Derivate

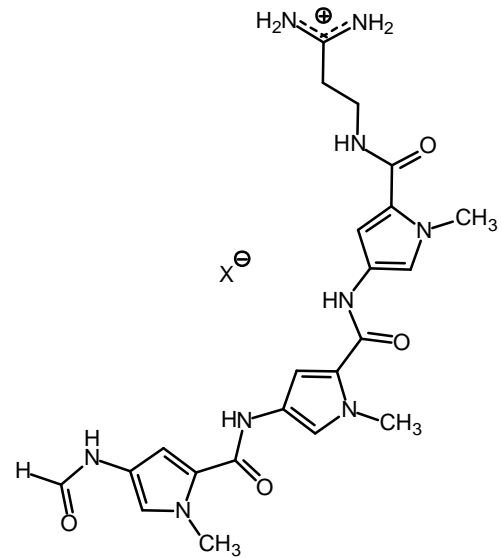
## 1.4 Minor Groove Binder

Als Minor Groove Binder bezeichnet man Substanzen, die sich reversibel und zumeist sequenzspezifisch in der kleinen Rinne der B-DNA anlagern. Die strukturell sehr unterschiedlichen Verbindungen (s. Abb. 1.17, S. 22) zeichnen sich oftmals durch eine ausgeprägte antitumorale, antivirale, antibakterielle sowie antiprotozoische Aktivität aus <sup>[12, 75]</sup>. Ihre Fähigkeit, eine isohelicale Konformation anzunehmen, erlaubt eine optimale sterische Anpassung an die Curvature der kleinen Rinne (induced-fit) <sup>[25, 63]</sup>. Eine Veränderung der DNA-Tertiärstruktur, die mit der Überwindung einer hohen Energiebarriere verbunden ist, tritt daher im Gegensatz zu einer Interkalation (s. Kap. 1.3, S. 8) nicht ein <sup>[13, 25]</sup>. Lediglich im Bereich der Bindungsstelle kommt es zu einer geringfügigen Aufweitung der kleinen Rinne (um ca. 0.5-2.0 Å) <sup>[64]</sup>.

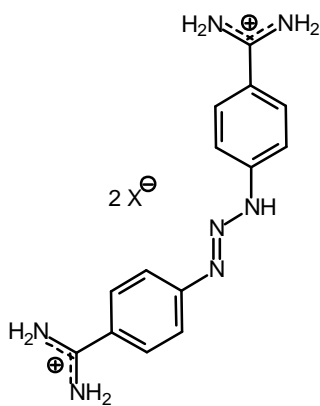
Im ersten Schritt des Bindungsprozesses erfolgt ein hydrophober Transfer des Liganden aus der Lösung in die Minor Groove der B-DNA. Dieser führt nach Breslauer <sup>[65]</sup> über die Freisetzung von Wassermolekülen und Gegenionen (bei kationischen Rinnenbindern) zu einem erheblichen Entropiegewinn und stellt somit die treibende Kraft für die Komplexbildung dar <sup>[25, 64]</sup>. Im Anschluss daran bilden sich zwischen dem Liganden und der kleinen Rinne nicht-kovalente molekulare Wechselwirkungen (H-Brücken, van der Waals-Kräfte, elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen) aus <sup>[11, 12, 64, 66]</sup>.



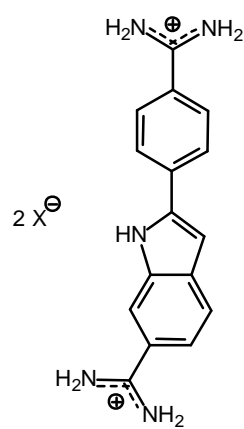
Netropsin

**29**

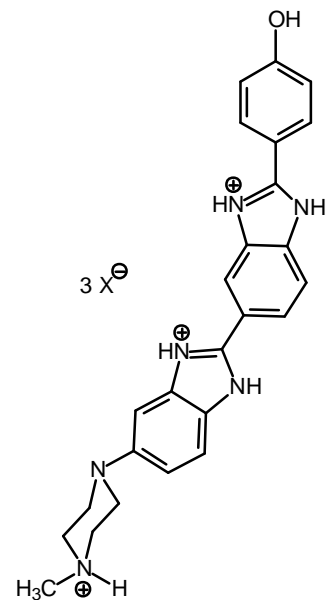
Distamycin A

**30**

Berenil

**31**

DAPI

**32**

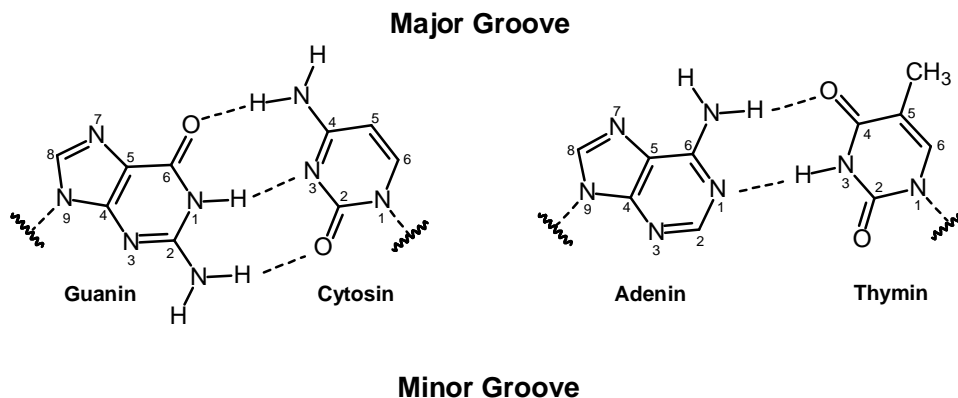
Hoechst 33258

**33**

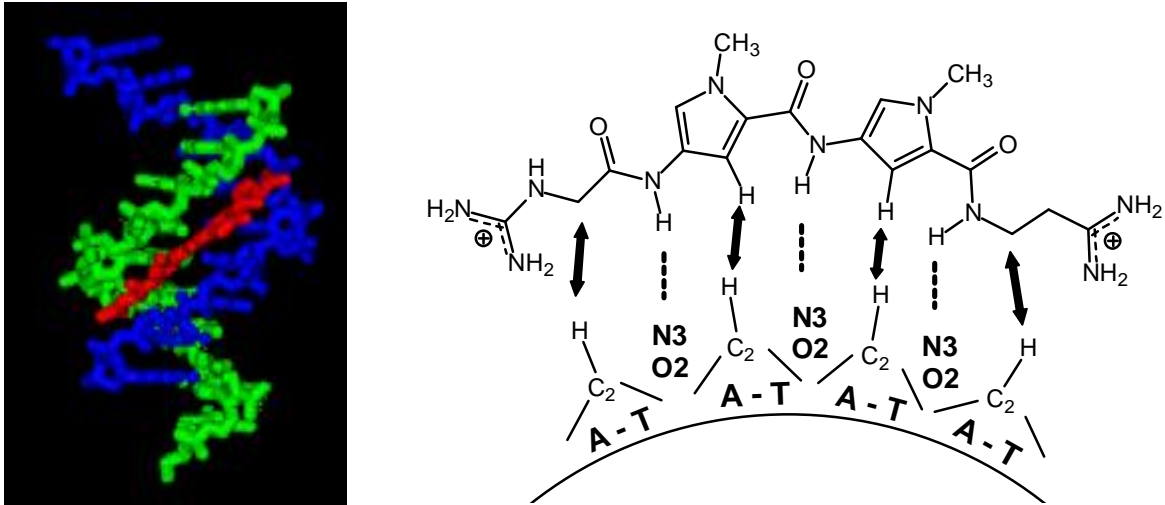
**Abb. 1.17:** Übersicht typischer Minor Groove Binder, die bevorzugt an AT-reiche Sequenzen der B-DNA binden. **29**, **31**, **32** und **33** binden an eine Sequenz von vier Basenpaaren (mit Präferenz für d(AATT)); **30** bindet an eine fünf AT-Basenpaare umfassende Sequenz.

Die aus *Streptomyces netropsis* (1951) bzw. *distallicus* (1964) isolierten Oligopyrrol-carboxamide Netropsin **29** und Distamycin A **30** (s. Abb. 1.17, S. 22) waren die ersten Vertreter, für die eine sequenzspezifische Bindung an Adenin-Thymin (AT)-reiche Regionen der kleinen Rinne nachgewiesen wurde [11, 67]. Beide Naturstoffe weisen sowohl antitumorale als auch antivirale Eigenschaften auf [11, 12, 64]. Neueren Studien einer japanischen Forschergruppe zufolge scheint Distamycin A **30** in Analogie zu körpereigenen Reparatur-Proteinen darüber hinaus in der Lage zu sein, photochemisch veränderte DNA-Basen (6-4-Pyrimidin-Photoaddukte) zu erkennen [68].

Wie Netropsin **29** und Distamycin A **30** binden die meisten Minor Groove Binder an AT-reiche Sequenzen der B-DNA [8, 12, 66]. Eine Begründung hierfür liefern die sequenzabhängigen Eigenschaften der DNA selbst [8, 12]: die aufgrund des größeren „propeller twist“ der DNA-Basen räumlich engere Minor Groove in AT-reichen Regionen gewährleistet - bedingt durch engere van der Waals-Kontakte - eine stärkere Fixierung des Liganden [66, 69]. Zusätzlich können die Moleküle durch die Abwesenheit der exocyclischen Aminogruppe an Guanin-C2, die in GC-reichen Regionen häufig zu sterischen Hinderungen führt und auf diese Weise die Ausbildung molekularer Interaktionen beeinträchtigt, tiefer in die Minor Groove eindringen und daher in engeren Kontakt mit den DNA-Basen treten (s. Abb. 1.18) [11, 12, 69]. Ferner weisen die AT-reichen Areale im Vergleich zu GC-reichen Abschnitten der kleinen Rinne ein negativeres elektrostatisches Potential mit Ladungsschwerpunkt an Adenin-N3 auf [8, 11, 12, 69], was die elektrostatischen Wechselwirkungen mit den zumeist kationischen (s. Abb. 1.17, S. 22) bzw. den an der konkaven Molekülseite elektronenarmen Rinnenbindern begünstigt.



**Abb. 1.18:** Darstellung der DNA-Basenpaare nach Watson-Crick sowie Zählweise der Basen



**Abb. 1.19:** Bindung von Netropsin **29** in der kleinen Rinne der B-DNA; die Bindungssequenz umfasst vier AT-Basenpaare

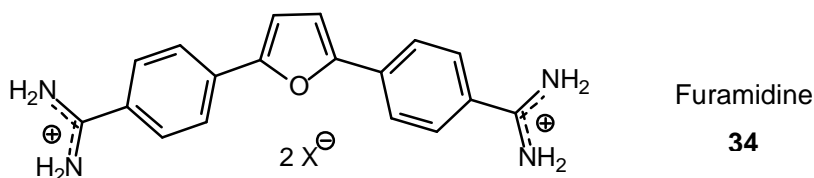
links: aus der Protein-Datenbank (PDB) importierte Röntgenkristallstruktur von Netropsin **29** (rot), gebunden an ein Oligonucleotid (blau-grün) mit der Sequenz d(GCCAATTGG) <sup>[70]</sup>

rechts: Schematische Darstellung der van der Waals-Interaktionen (Doppelpfeil) und Wasserstoffbrückenbindungen (gestrichelte Linie) zwischen Netropsin **29** und den Basenpaaren der Minor Groove

Wie anhand der zahlreichen Röntgenkristallstrukturen <sup>[64, 69, 70]</sup> und NMR-spektroskopischen Untersuchungen <sup>[71, 72]</sup> gezeigt werden konnte, bindet die dieser Arbeit zugrunde liegende Leitstruktur Netropsin **29** mit einer deutlichen Präferenz für d(AATT)-Sequenzen in der kleinen Rinne der B-DNA. Aufgrund der zur Curvature der Minor Groove komplementären sichelförmigen Konformation passt sich Netropsin **29** exakt den strukturellen Gegebenheiten des Rezeptors an <sup>[8, 25]</sup>. Zusätzlich wird infolge des induced-fit-Effektes der natürliche „Twist“ zwischen den beiden Pyrrolringen durch Drehung um die zentrale NH-Pyrrol-Bindung verstärkt <sup>[64]</sup>. Hierdurch nimmt der Ligand eine isohelicale Konformation an, sodass sich das gesamte Molekül nahezu parallel zu den Seitenwänden der relativ unebenen kleinen Rinne anordnet <sup>[11, 64, 70]</sup>. Es resultiert eine optimale Ausbildung nicht-kovalenter Bindungskräfte (s. Abb. 1.19): die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den amidischen NH-Gruppen des Netropsins **29** und Adenin-N3 bzw. Thymin-O2 dienen in erster Linie zur Positionierung des Moleküls in der Minor Groove, wohingegen die Sequenzspezifität der Bindung vorwiegend auf die engen van der Waals-Kontakte

zwischen den CH<sub>2</sub>- sowie Pyrrol-CH-Gruppen des Netropsins **29** und den Adenin-C2-Atomen zurückzuführen ist <sup>[64]</sup>. Darüber hinaus tragen elektrostatische sowie hydrophobe Interaktionen zur Stabilität des Komplexes bei <sup>[11, 12, 66]</sup>. Auch die beiden kationischen Enden des Netropsins **29** sind an der Ausbildung nicht-kovalenter Wechselwirkungen (H-Brücken) beteiligt: beide interagieren mit den negativ polarisierten N3-Atomen der äußeren Adenin-Basen der Bindungssequenz <sup>[64, 70]</sup>.

Neben Netropsin **29** und Distamycin A **30** werden häufig auch die antiprotozoisch aktiven biskationischen Diaryldiamidine Berenil **31** und DAPI **32** sowie das Bis-(Benzimidazol)-Derivat Hoechst 33258 **33** (s. Abb. 1.17, S. 22) als Leitstrukturen für das Design neuer Minor Groove Binder herangezogen <sup>[11, 12, 63]</sup>. Furamide **34** (s. Abb. 1.20), ein synthetisch abgewandeltes aromatisches Diamidin, befindet sich zurzeit in Form eines oral applizierbaren Prodrugs zur Behandlung von Malaria und der für AIDS-Patienten oftmals lebensbedrohlichen *Pneumocystis carinii* Infektion in klinischer Prüfung <sup>[63, 73, 74, 75]</sup>.



**Abb. 1.20:** Furamide **34** bindet wie alle bisher untersuchten biologisch aktiven Diarylamidine bevorzugt an AT-reiche Sequenzen der B-DNA <sup>[63]</sup>.

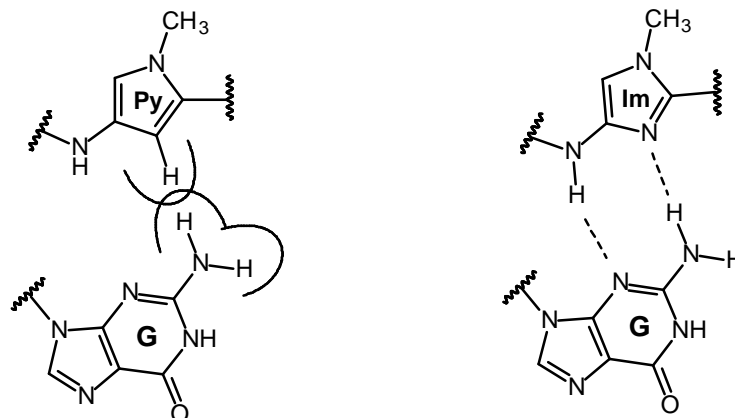
Durch den hohen Anteil AT-reicher Sequenzen im Genom zahlreicher Krankheitserreger (z. B. *Plasmodium falciparum*, *Pneumocystis carinii*) kann die antiprotozoische und antibakterielle Wirksamkeit dieser Verbindungen erklärt werden <sup>[76]</sup>.

Der genaue Wirkungsmechanismus der Minor Groove Binder ist jedoch nicht vollständig geklärt <sup>[75]</sup>. Einige Studien deuten darauf hin, dass Netropsin- und Distamycin-analoge Verbindungen durch aktiven Transport in die Zelle aufgenommen werden <sup>[75, 77]</sup> und nach Anlagerung an die kleine Rinne der DNA durch Hemmung der Aktivität verschiedener Regulationsproteine (z. B. Topoisomerase I und II, Helicasen, Transkriptionsfaktoren) zu einer Beeinflussung der Genexpression und Replikation führen <sup>[13, 75, 76]</sup>. Inzwischen ist auch eine Reihe genregulierender Proteine bekannt, deren Erkennungssequenz innerhalb der kleinen Rinne lokalisiert ist (z. B. der RNA-

Polymerase II Transkriptionsfaktor TFIID) [8, 17, 76]. Ein Augenmerk der aktuellen Forschung ist daher auf die Entwicklung sequenzspezifischer Minor Groove Binder gerichtet, die als sogenannte Peptidomimetika (ähnlich DNA-bindender Regulationsproteine) in der Lage sind, bestimmte Sequenzen zu erkennen und auf diese Weise gezielt in die gestörte Genexpression der Tumorzellen eingreifen [8, 78]. Hierbei eröffnet vor allem die Blockade von Promotorregionen der in Krebszellen häufig überexprimierten Transkriptionsfaktoren im Bereich der kleinen Rinne neue Perspektiven [17]. Im Folgenden sollen einige Ansätze hierzu aus der Literatur kurz erläutert werden.

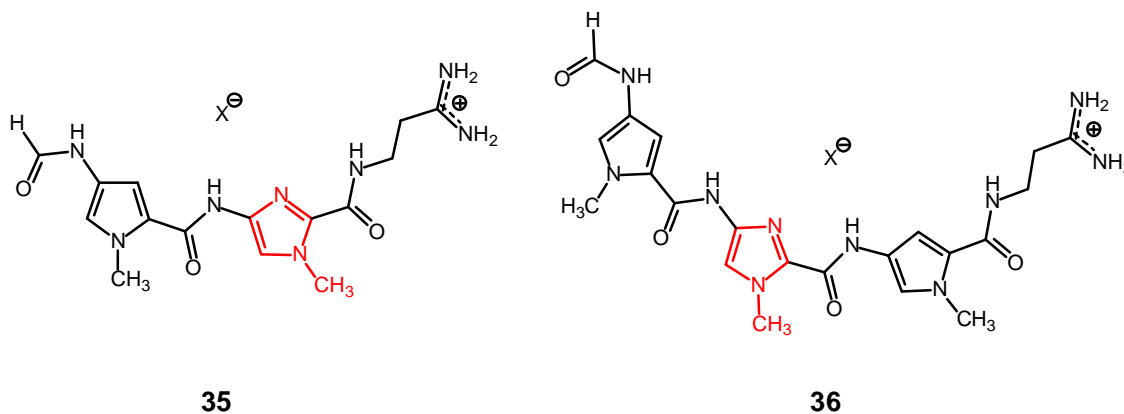
### 1.4.1 Lexitropsine/Polyamide (Hairpins)

Die Kristallstruktur des Netropsin-DNA-Komplexes sowie die daraus gewonnenen Erkenntnisse waren die Basis für das Design und die Synthese der sogenannten „Lexitropsine“ (lat. legere = lesen), Netropsin/Distamycin analoger Verbindungen, die zwischen allen vier Basenpaaren unterscheiden und somit bestimmte Sequenzen „lesen“ können [69, 78]. Dickerson und Lown postulierten unabhängig voneinander, dass die sterische Hinderung durch die Guanin-NH<sub>2</sub>-Gruppe in der kleinen Rinne durch bioisosteren Austausch eines Pyrrolrings gegen einen Heterocyclus mit zusätzlichem H-Brücken-Akzeptor (z. B. Imidazol, Thiazol) infolge der Ausbildung einer energetisch günstigen H-Brücke verhindert werden könne [36, 78-80] (s. Abb. 1.21).



**Abb. 1.21:** Der bioisostere Austausch von Pyrrol (Py) gegen z. B. Imidazol (Im) ermöglicht die Ausbildung einer zusätzlichen H-Brücke zu Guanin-NH<sub>2</sub> (rechts) und verhindert eine sterische Abstoßung (van der Waals-Repulsion (links)).

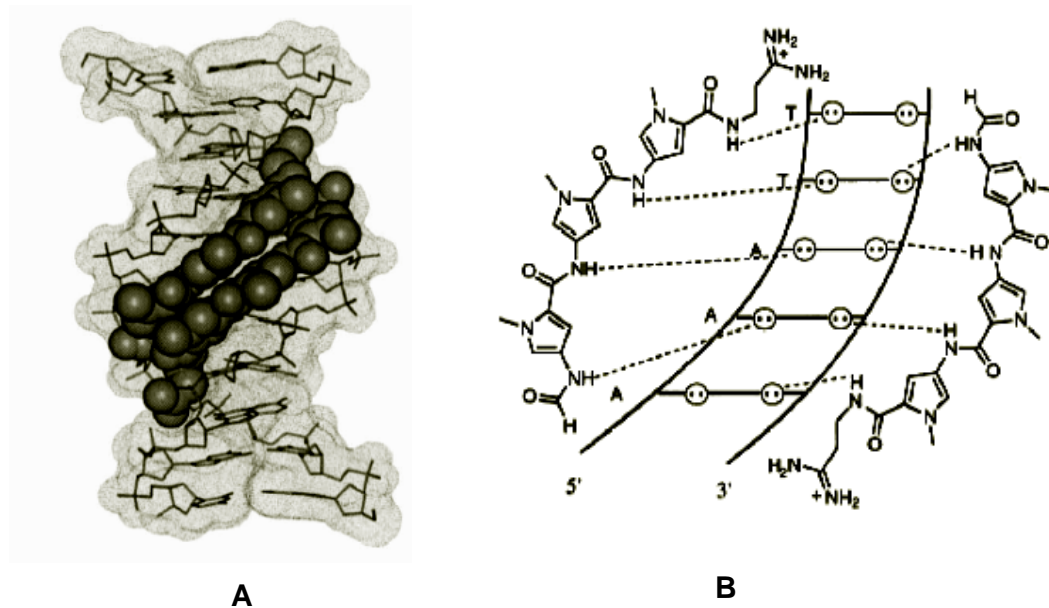
Tatsächlich gelang es Lown und Mitarbeitern, durch Synthese monokationischer Imidazol-, Thiazol- und Furan-haltiger Lexitropsine (s. Abb. 1.22) die Selektivität der Oligopyrrolcarboxamide in Richtung GC-reicher DNA zu verschieben, wobei dieser Effekt bei den Imidazol-substituierten Derivaten am stärksten ausgeprägt war [11, 36, 78-80]. NMR-spektroskopische Untersuchungen bestätigten, dass z. B. Verbindung **36** bevorzugt an eine AAGTT-Sequenz bindet, während Distamycin A **30** (s. Abb. 1.17, S. 22) eine deutliche Präferenz für AAATT-Basenabfolgen aufweist (s. Abb. 1.22) [66, 79].



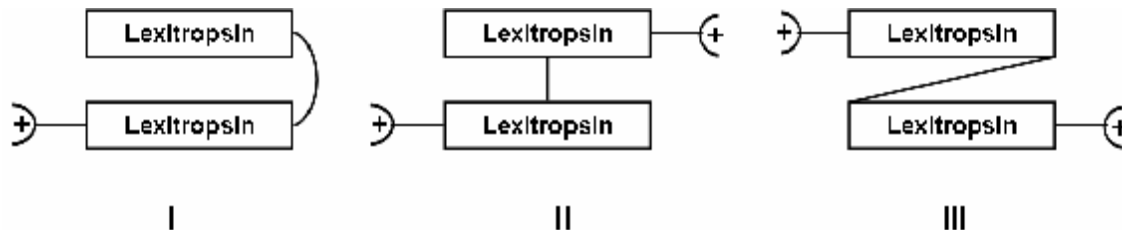
**Abb. 1.22:** Ausgewählte Beispiele monokationischer Lexitropsine. Verbindung **36** unterscheidet sich von Distamycin A **30** lediglich durch Austausch des zentralen Pyrrolrings gegen einen Imidazolring und bindet daher bevorzugt an AAGTT.

Ein weiterer Durchbruch, der die Entwicklung der Lexitropsine vorantrieb, war Pelton's und Wemmer's Entdeckung, dass sich zwei Moleküle Distamycin A **30** in antiparalleler Orientierung Seite an Seite in der kleinen Rinne anlagern können [78, 81-83] (s. Abb. 1.23, S. 28). Während bei einem 1:1 Bindungsmodus bisher lediglich eine Differenzierung zwischen AT- und GC-Basenpaaren möglich war, könnte bei einer Komplexbildung im Verhältnis 2:1 durch das gleichzeitige Ablesen der Sequenz beider DNA-Stränge eine Unterscheidung zwischen allen vier Basenpaaren (AT, TA, GC und CG) erreicht werden [80]. Dieser Hintergrund war Anlass zur Darstellung zahlreicher homo- und heterodimerer Lexitropsine (Polyamide) (s. Abb. 1.24, S. 28) [36, 78, 84, 85].



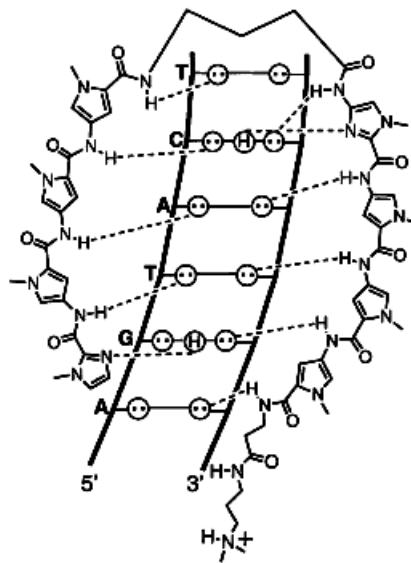


**Abb. 1.23:** **A:** Ermittelte NMR-Struktur des 2:1 Distamycin-DNA-Komplexes <sup>[86]</sup> (van der Waals-Modell des Oligonucleotids; Distamycins **30** als Kalottenmodell);  
**B:** Schematische Darstellung der im 2:1 Komplex ermittelten Interaktionspositionen



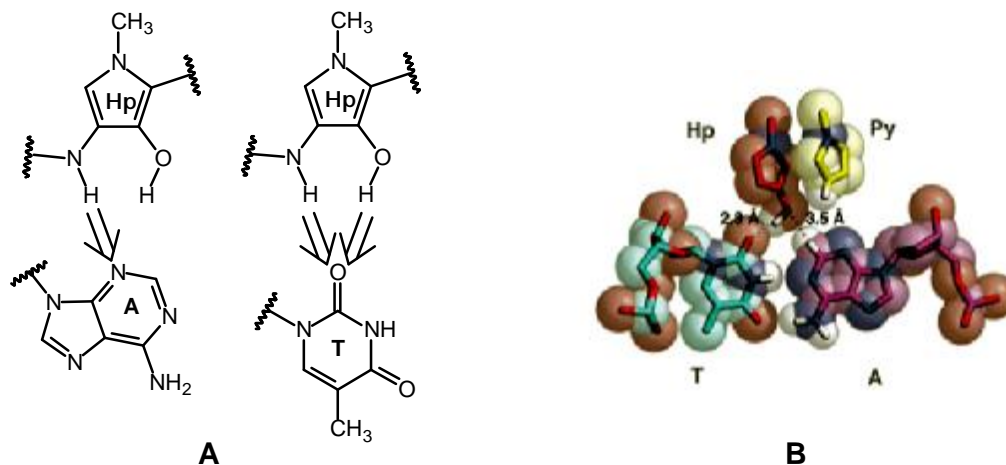
**Abb. 1.24:** Modelle dimerer Lexitropsine (Polyamide): Hairpin-Modell (I), Cross-linked-Modell (II), Extended-Modell (III) <sup>[85]</sup>

An dieser Stelle sind insbesondere die von Dervan synthetisierten Hairpin-(Haar-nadel) Moleküle zu erwähnen <sup>[36, 78, 80, 86-93]</sup>, bei denen zwei Oligoamidketten über einen flexiblen Linker antiparallel miteinander verknüpft sind (s. Abb. 1.24 (I) und Abb. 1.25, S. 29). Die höchste Bindungsaffinität und -spezifität dieser Polyamide, die durchaus mit der von Transkriptionsfaktoren und DNA-bindenden Regulationsproteinen vergleichbar ist, wurde unter Verwendung eines  $\gamma$ -Aminobuttersäurelinkers erreicht <sup>[78, 90, 91]</sup>.



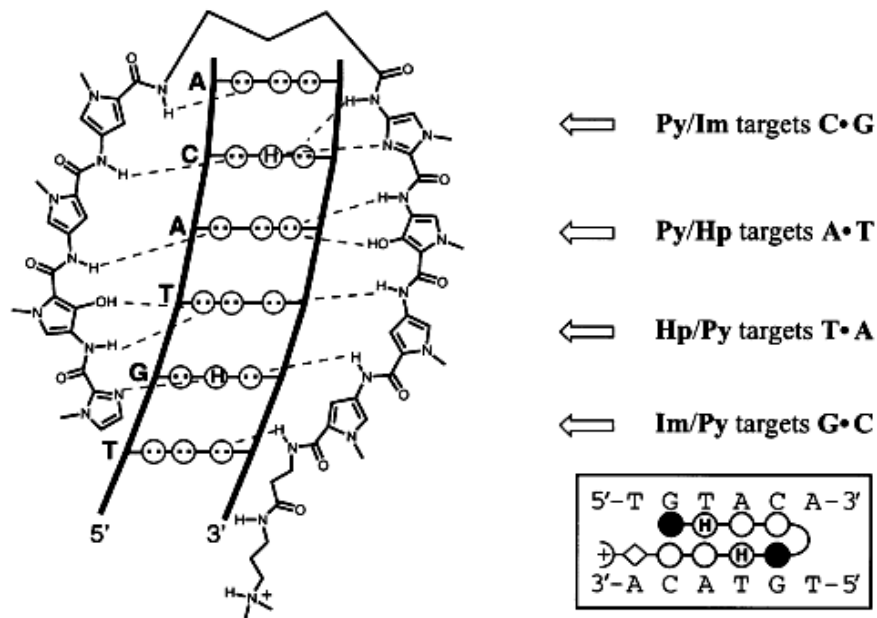
**Abb. 1.25:** Beispiel eines Hairpin-Bindemodells; Kreise mit zwei Punkten repräsentieren die freien Elektronenpaare der Purin-N3-Atome und Pyrimidin-O2-Atome; Kreise mit H repräsentieren die exocyclische Guanin-NH<sub>2</sub>-Gruppe

Nachdem Mitte der 90er Jahre entdeckt wurde, dass mithilfe von 3-Hydroxypyrrrol eine Differenzierung zwischen AT und TA Basenpaaren möglich ist<sup>[94]</sup> (s. Abb. 1.26), war der Erkennungscode zur Unterscheidung aller vier Basenpaare komplett<sup>[86]</sup>.



**Abb. 1.26:** **A:** Hydroxypyrrrol (Hp) bindet aufgrund der möglichen Ausbildung einer zusätzlichen H-Brücke bevorzugt an Thymin (Adenin-N3 hingegen besitzt nur ein freies Elektronenpaar); die Bindung an Cytosin wird durch die NH<sub>2</sub>-Gruppe des mit ihm gepaarten Guanins sterisch gehindert<sup>[86, 94]</sup>.  
**B:** Space-filling Modell des Hp/Py-Paars mit einem TA-Basenpaar<sup>[86]</sup>: die OH-Gruppe passt exakt in die von Adenin-C2 geformte Lücke<sup>[76, 86, 94]</sup>.

Somit kann durch die gezielte Kombination der bioisosteren Heterarene Imidazol, Pyrrol und Hydroxypyrrol praktisch jede gewünschte Sequenz erkannt werden <sup>[78, 80, 86, 90, 93]</sup> (s. Abb. 1.27).

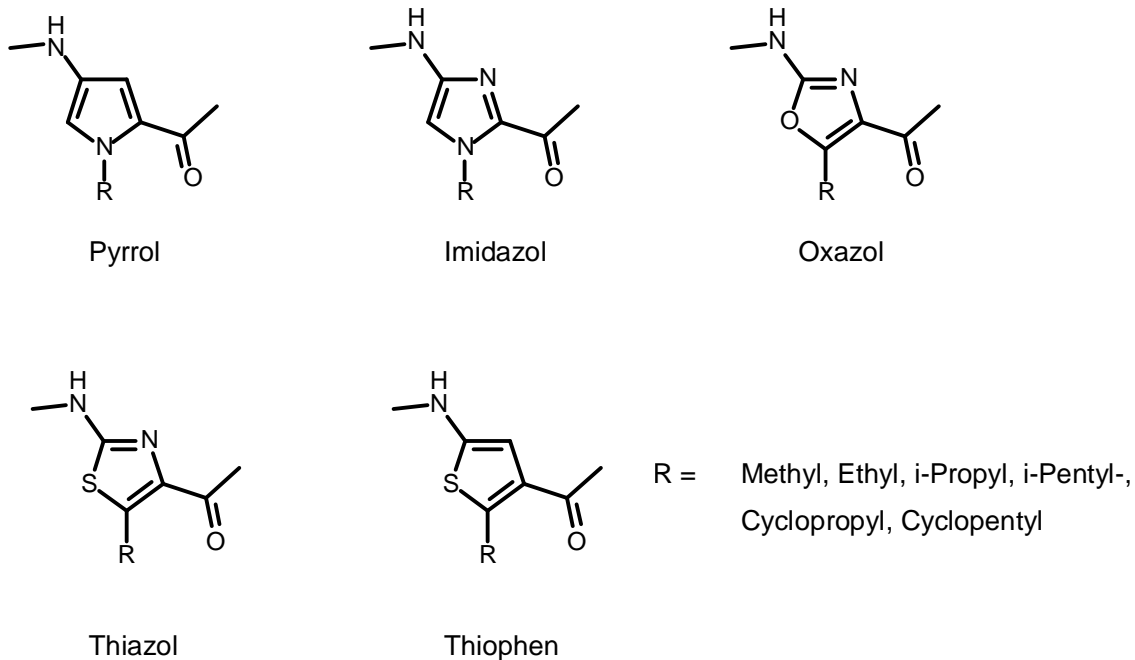


**Abb. 1.27:** Molekularer Erkennungscode zur Unterscheidung der vier Basenpaare in der Minor Groove <sup>[86]</sup>.

In der Tat konnte für einige der synthetisierten Pyrrol-Imidazol-Hairpin-Polyamide eine sehr gute *in vitro*-Hemmung verschiedener Transkriptionsfaktoren (z. B. TFIIIA, TBP (TATA Box Binding Protein), LEF-1) beobachtet werden <sup>[6, 83, 86, 90]</sup>. So blockiert z. B. das in Abbildung 1.25, S. 29 dargestellte Hairpinmolekül die Transkription der 5S RNA Gene durch die RNA-Polymerase III, indem es sich sequenzspezifisch innerhalb der Bindungsstelle des Transkriptionsfaktors TFIIIA anlagert <sup>[86, 90]</sup>.

Es sollte jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass diese Peptidomimetika aufgrund ihres hohen Molekulargewichtes und der großen Anzahl an H-Brücken-Donatoren die „Rule of Five“ in mindestens zwei Punkten verletzen <sup>[6, 95, 96]</sup>. Angesichts der hieraus resultierenden geringen Zellpenetration ist es bislang nicht gelungen, die vielversprechenden *in vitro*-Ergebnisse auch auf *in vivo*-Verhältnisse zu übertragen <sup>[83]</sup>. Nichts desto trotz sind diese akademisch sehr wertvollen, supramolekularen Verbindungen nach wie vor als wichtige Werkzeuge für die Molekularbiologie anzusehen <sup>[11, 87, 93, 97]</sup>.

In der heutigen Forschung ist demzufolge ein deutlicher Trend zur Entwicklung niedermolekularer, zellpenetrationsfähiger Lexitropsine zu beobachten <sup>[77, 95, 96, 98, 99]</sup>. Unter Verwendung verschiedener Fünfringhetarene (Pyrrol, Imidazol, Oxazol, Thiazol und Thiophen) wurden zahlreiche Distamycin A-analoge Verbindungen synthetisiert. Durch regioselektive Einführung aliphatischer Substituenten (z. B. Isopropyl-, Iso-pentyl- und Cycloalkyl-Reste) an den Heterocyclen sollte darüber hinaus eine Steigerung der Lipophilie und DNA-Affinität erreicht werden (s. Abb. 1.28) <sup>[6, 77, 95, 96]</sup>.



#### **N-Terminus:**

Acetyl, Cinnamoyl, Dimethylbutyl, Formyl, Methylphenyl,  
 3-Methoxybenzoyl, 4-Methoxyphenylacetyl

#### **C-Terminus:**

Dimethylaminopropyl, 3-N-Pyrrolidinylpropyl,  
 3-N-Morpholinopropyl, 3-(4-Methylpiperazinylpropyl)

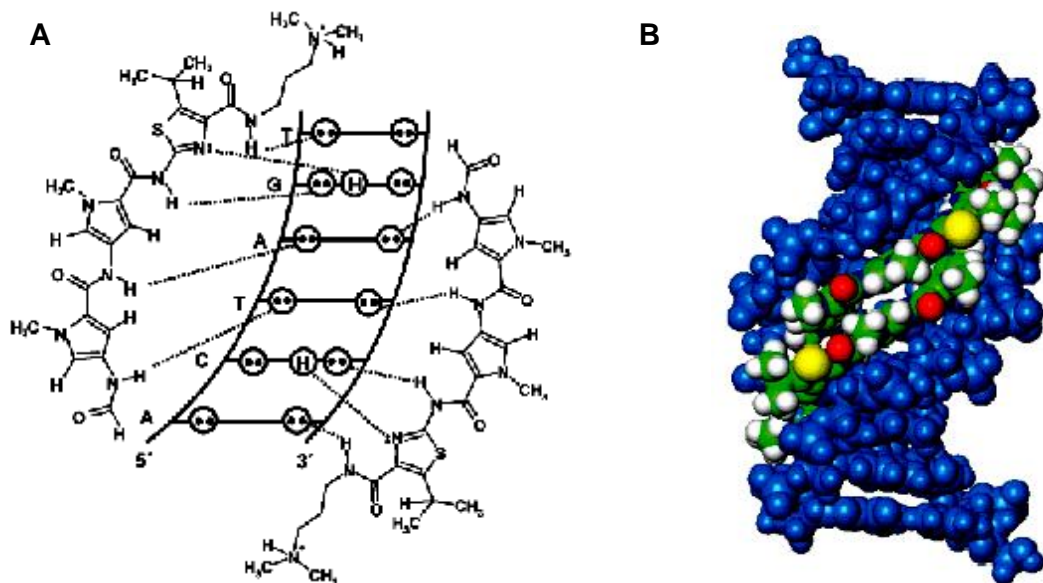
#### **Allgemeine Struktur:**

N-Terminus - Ring 1 - Ring 2 - Ring 3 - C-Terminus

**Abb. 1.28:** Aufbau einer neuen Serie Distamycin A-analoger Lexitropsine <sup>[77]</sup>

Einige dieser bioisosteren Lexitropsine - insbesondere diejenigen mit Thiazol als Strukturelement - zeigten eine signifikante antimikrobielle Wirksamkeit gegen MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) und *Candida albicans* [6, 77].

NMR-Studien und Footprinting-Experimente belegten am Beispiel eines Isopropylthiazol-haltigen Derivates (Thiazotropsin A) eine sequenzselektive Bindung in der kleinen Rinne, wobei die molekulare Erkennung des Guanins durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen Guanin-NH<sub>2</sub> und Thiazol-N3 gewährleistet wird (s. Abb. 1.29) [95, 96].



**Abb. 1.29:** Durch NMR-Spektroskopie ermittelte Struktur des 2:1 Thiazotropsin A-DNA-Komplexes. Zwei Moleküle binden Seite an Seite selektiv an eine 5'-ACTAGT-3'-Sequenz [95, 96]; **A:** schematische Darstellung der Interaktionspositionen; **B:** Kalottenmodell (berechnet)

Aufgrund der antiparallelen und zudem gestaffelten Anordnung zweier Moleküle umfasst die Bindungssequenz dieses kurzen Polyamids sechs Basenpaare (zum Vergleich: Distamycin A **30** bindet bei vergleichbarer Molekülgröße an eine Sequenz von nur fünf Basenpaaren) [95, 96].

Trotz intensiver Bemühungen konnten bisher keine klinisch einsetzbaren Lexitropsine gewonnen werden. Dennoch scheint die Entwicklung von niedermolekularen Substanzen der neueren Generation sehr aussichtsreich zu sein. Da GC-reiche Sequenzen häufig in zellproliferationsregulierenden Genen (darunter Onkogene) vor-

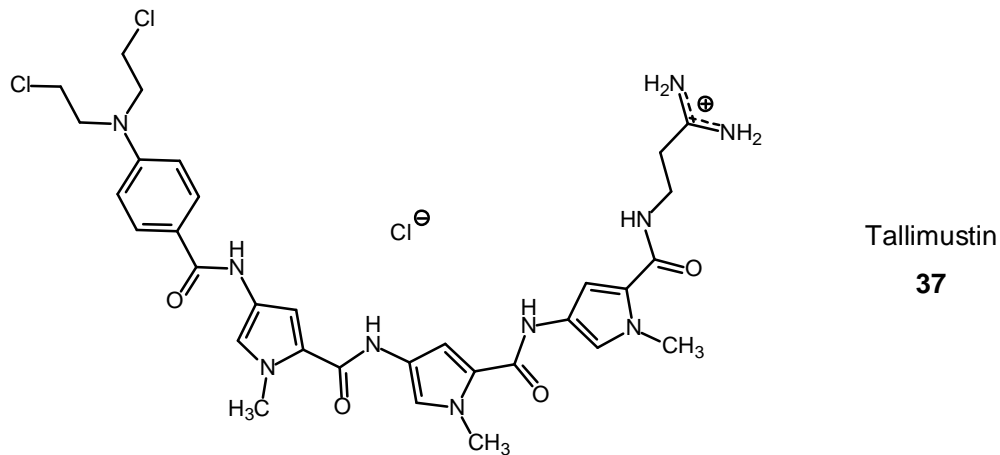
kommen, steht hierbei insbesondere die Darstellung GC-selektiver Strukturvarianten der Lexitropsine zur Blockade bestimmter Schlüsselsequenzen im Vordergrund [36, 100].

## 1.5 Hybridmoleküle

In den letzten Jahrzehnten wurden zahlreiche chemische Strategien zur Steigerung der Selektivität und antitumoralen Aktivität von DNA-Liganden entwickelt. Unter anderem wurde durch die Synthese sogenannter Hybridmoleküle versucht, die struktur- und wirkungsspezifischen Eigenschaften DNA-interagierender Wirkstoffe zu vereinen. In erster Linie handelt es sich dabei um Verbindungen, die aus einem sequenzselektiven Minor Groove Binder bestehen, der kovalent mit einem alkylierenden (z. B. *N*-Lost) oder interkalierenden Strukturelement (sog. Combilexine) verknüpft ist [78, 101].

### 1.5.1 Alkylierende Lexitropsin-Konjugate („DNA-targeted alkylators“)

Seit Einführung der *N*-Lost-Derivate vor mehr als 50 Jahren haben die alkylierenden Zytostatika einen festen Platz in der Chemotherapie von Krebserkrankungen eingenommen [102, 103]. Um die Regioselektivität dieser hochreaktiven Wirkstoffklasse (s. Kap. 1.2, S. 5) zu verbessern, wurden sie mit sequenzspezifischen Distamycin A bzw. Netropsin-analogen Lexitropsinen verknüpft [78, 102, 103]. Die meisten Derivate dieser relativ neuen Substanzklasse zeigen *in vitro* sowie in präklinischen *in vivo*-Studien eine gesteigerte Zytotoxizität und DNA-Affinität [104]. Tallimustin **37** (s. Abb. 1.30, S. 34), der wohl bekannteste Vertreter, dient auch heute noch als Leitstruktur für das Design der sogenannten „DNA-targeted alkylators“ [103].

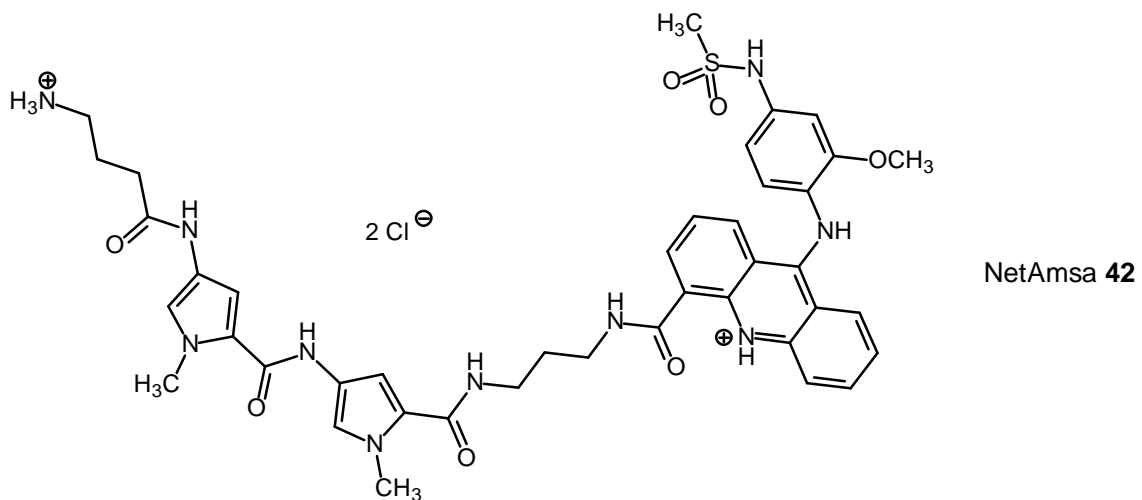
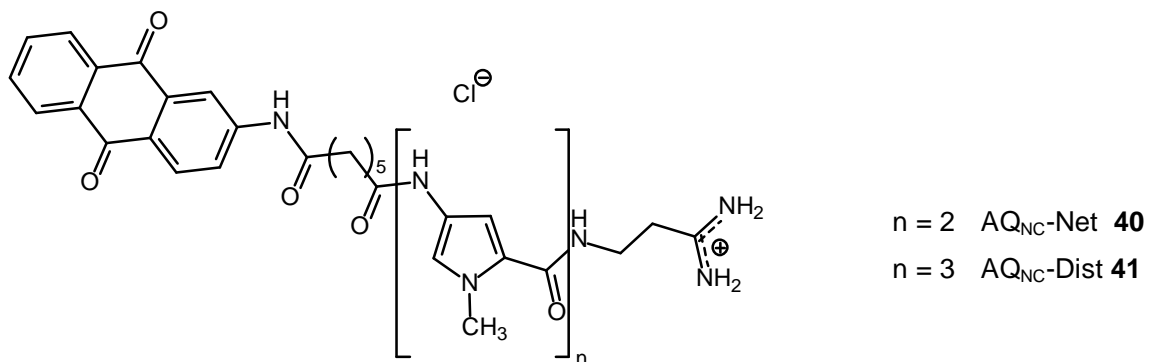
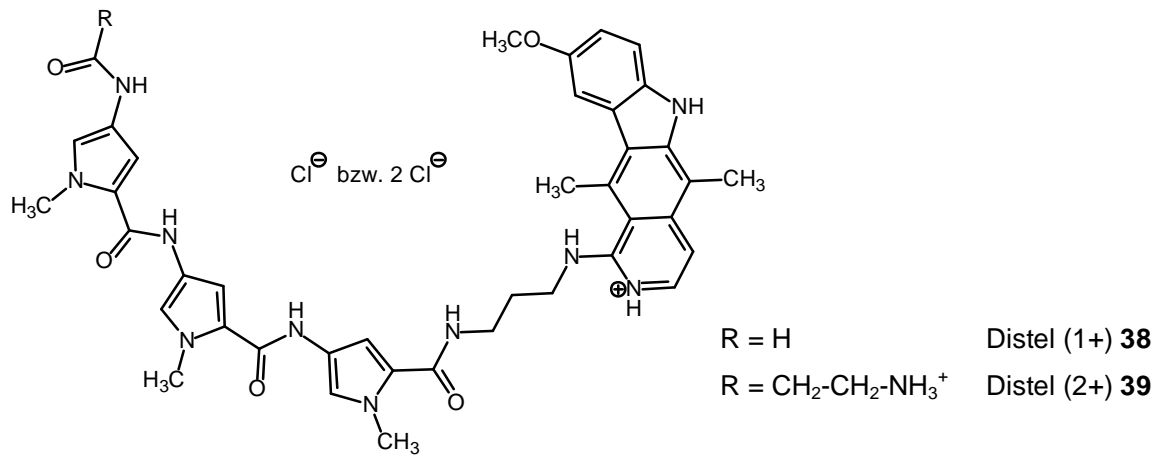


**Abb. 1.30:** Beispiel eines Hybridmoleküls aus Distamycin A und einem *N*-Lost-Benzoessäure-Derivat. Das sequenz- und regiospezifische Alkylanz Tallimustin **37** führt zu einer selektiven Monoalkylierung an N3 des 3'-Adenins der Sequenz 5'-TTTTGA-3' <sup>[78, 102]</sup>.

Bei den neueren alkylierenden Minor Groove Bindern handelt es sich primär um Uramustin- <sup>[105]</sup>, Pyrrolobenzodiazepin- <sup>[106, 107]</sup> und  $\alpha$ -Halogenacrylsäure-Lexitropsin-Konjugate <sup>[103, 108-110]</sup>. Detaillierte Informationen hierzu sind der angegebenen Literatur zu entnehmen. Ziel ist in allen Fällen die selektive Induktion irreparabler DNA-Schäden und Senkung der Toxizität <sup>[78]</sup>.

## 1.5.2 Combilexine

Als Combilexine (lat. legere = lesen) bezeichnet man DNA-Liganden, die aufgrund der kovalenten Verknüpfung eines sequenzspezifischen Minor Groove Binders mit einem interkalierenden Chromophor einen dualen Bindungsmodus an der DNA aufweisen <sup>[9]</sup>. Basierend auf Combilexinen natürlicher Herkunft (z. B. Actinomycin D, Anthracyclin-Antibiotika (s. Kap. 1.3.1, S. 11)) wurden zahlreiche Verbindungen dieser Substanzklasse synthetisiert <sup>[9, 36]</sup>. Typische Beispiele synthetischer Combilexine sind in Abbildung 1.31, S. 35 aufgeführt.

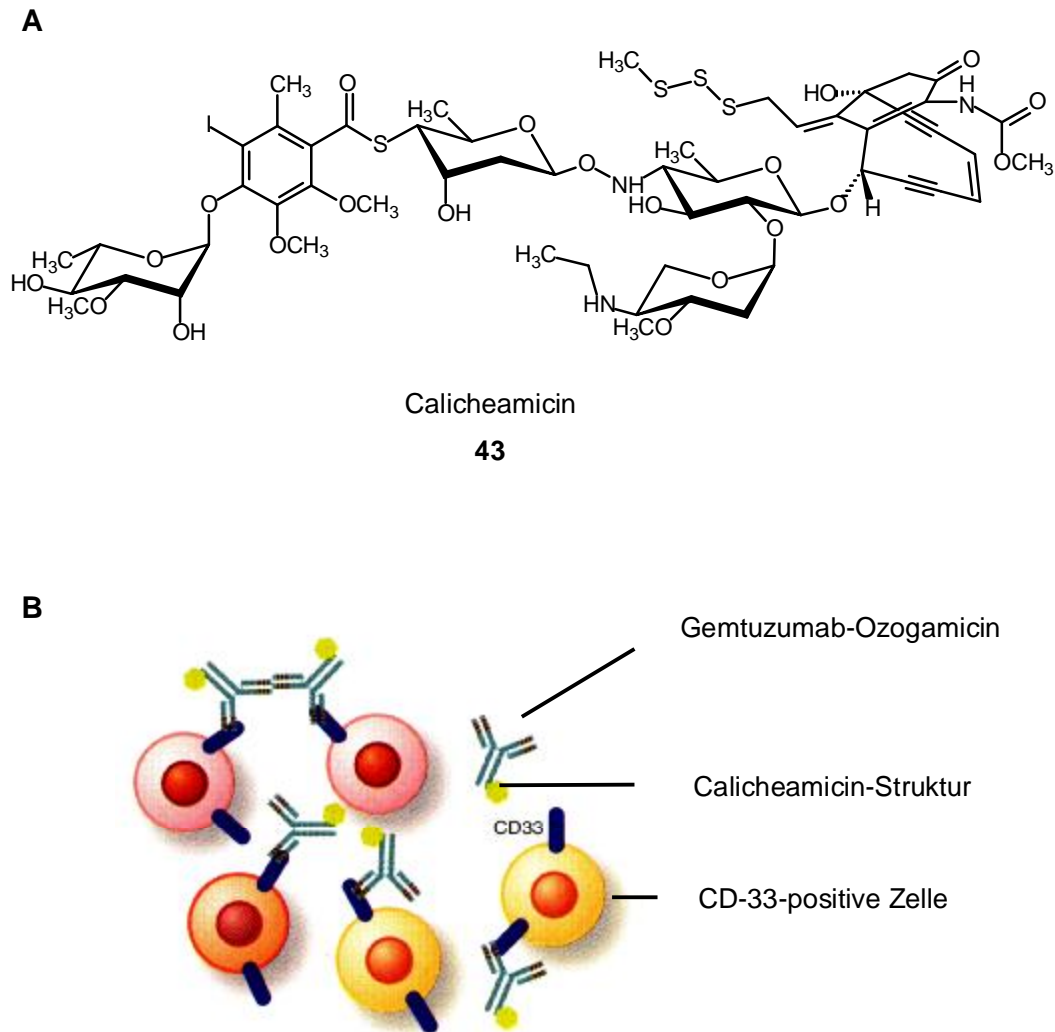


**Abb. 1.31:** Beispiele synthetischer Combilexine



Während der Interkalator den Ligand-DNA-Komplex stabilisiert, gewährleistet der rinnenbindende Molekülteil die Sequenzselektivität der Konjugate<sup>[9, 101]</sup>. Zudem sind die wirkungsspezifischen Eigenschaften der entsprechenden Interkalatoren (z. B. Induktion von DNA-Strangbrüchen durch Topoisomerase-Hemmung/Radikalbildung (s. Kap. 1.3, S. 7 ff.)) auch in einigen Hybridmolekülen wieder zu finden. So wurde inzwischen für die meisten Combilexine eine Topoisomerase-Hemmung nachgewiesen, die mit deren antitumoraler Aktivität korreliert<sup>[9]</sup>. Ein weiterer Vorteil, der für diese Substanzklasse spricht, ist deren relativ gute Fähigkeit zur Zellpenetration<sup>[36]</sup>. Zu den am besten untersuchten Combilexinen zählt NetAmsa **42** (s. Abb. 1.31, S. 35). Anhand kinetischer und struktureller Daten bestätigten Bailly *et al.*<sup>[9, 78]</sup> - bedingt durch die Netropsin-Struktureinheit - eine sequenzselektive Bindung an AT-reiche Regionen der DNA. Wie erwartet lagert sich hierbei die Netropsin-Einheit in der kleinen Rinne an, das Acridin-Chromophor interkaliert und die Methansulfoanilin-Gruppe ragt in die große Rinne hinein<sup>[9, 79]</sup>.

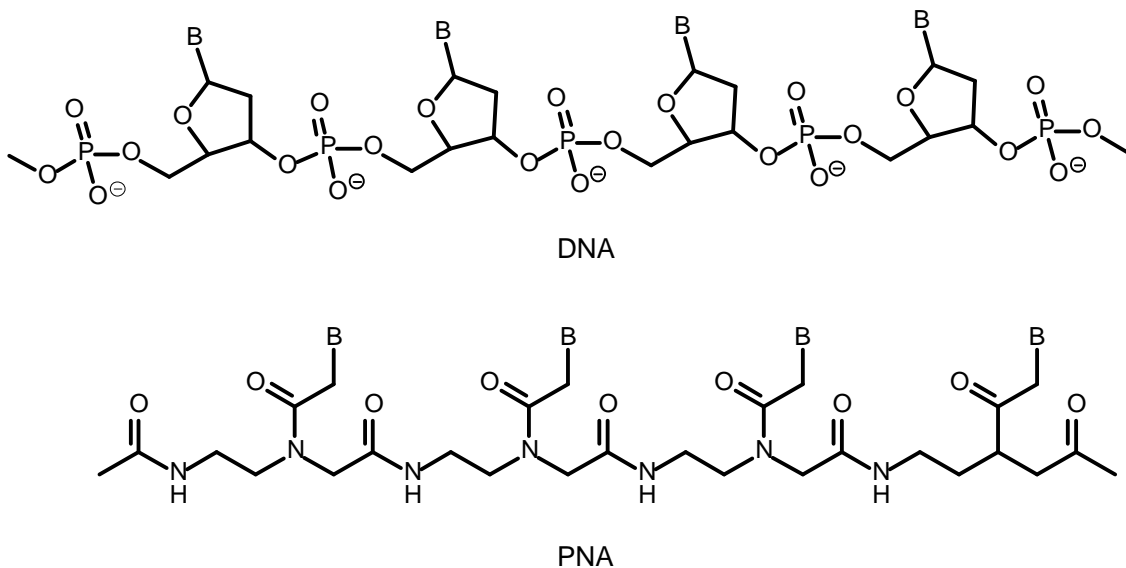
Abschließend sei an dieser Stelle erwähnt, dass mit Gemtuzumab-Ozogamicin (Mylotarg<sup>®</sup>) mittlerweile bereits der erste Minor Groove Binder Einzug in die Krebstherapie gehalten hat. Es handelt sich hierbei um ein Hybridmolekül aus Calicheamicin **43** - einem sehr potenten, antitumoralen kleinen Rinnenbinder aus der Familie der Endiin-Antibiotika - und einem humanisierten monoklonalen Antikörper. Der Antikörper richtet sich gegen das CD33-Antigen, ein Adhäsions-Glykoprotein, das von leukämischen Blasten auf der Zelloberfläche präsentiert wird<sup>[111]</sup>. Mylotarg<sup>®</sup> wurde daher von der FDA zur Behandlung von Rezidiven akuter myeloischer Leukämie (AML) zugelassen<sup>[111, 112]</sup> (s. Abb. 1.32, S. 37).



**Abb. 1.32:** **A:** Calicheamicin **43** wird durch bioreduktive Aktivierung und anschließende Bergman-Cyclisierung in ein Diradikal überführt. Dieses abstrahiert je ein H-Atom von der Zuckerphosphat-Kette beider DNA-Stränge und führt somit zu Doppelstrangbrüchen, die ihrerseits Apoptose induzieren <sup>[113]</sup>. Die Spaltung erfolgt selektiv an TCCT-, ACCT-, CTCT-, TCCC- und TTTT-Sequenzen <sup>[113]</sup>.  
**B:** Der monoklonale Antikörper-Komplex Gemtuzumab-Ozogamicin bindet an das CD33-Antigen auf der Oberfläche von AML-Blasten und wird anschließend in die Zelle aufgenommen. Bei niedrigem pH-Wert erfolgt in den AML-Blasten die Freisetzung des Zellgiftes Calicheamicin **43** aus dem Komplex <sup>[112]</sup>.

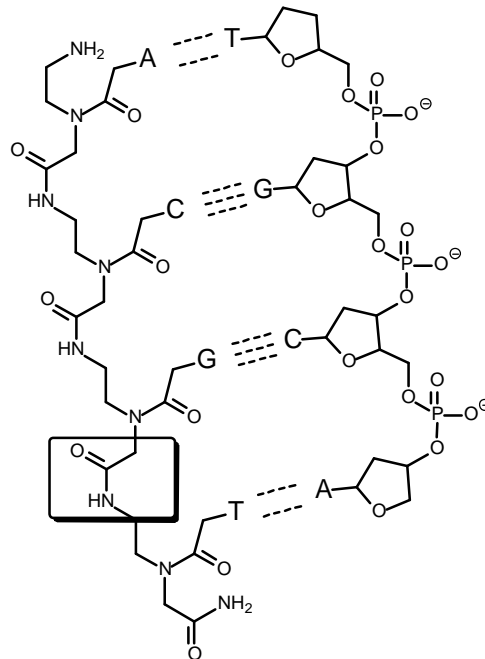
## 1.6 Peptide Nucleic Acids (PNAs)

Bei den erstmals von Nielsen <sup>[114-117]</sup> beschriebenen Peptide Nucleic Acids (PNAs) handelt es sich um sequenzselektive DNA-Mimetika, in denen das Zucker-Phosphat-Rückgrat durch eine *N*-(2-Aminoethyl)glycin-Polyamidkette substituiert wurde (s. Abb. 1.33).

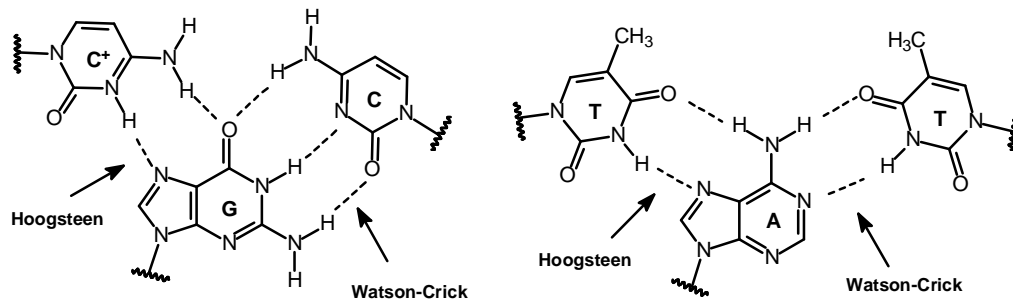


**Abb. 1.33:** Strukturvergleich zwischen DNA und PNA, B = Nucleobase

Diese gegenüber Proteasen, Peptidasen und Nucleasen völlig resistenten, säurestabilen Moleküle hybridisieren unter Ausbildung von Watson-Crick-Basenpaarungen mit komplementären DNA- und RNA-Abschnitten <sup>[6, 118, 119]</sup> (s. Abb. 1.34, S. 39). PNAs, die lediglich Pyrimidin-Basen enthalten, sogenannte PNA-Homopyrimide, bilden mit ds(double strand)DNA durch zusätzliche Hoogsteen-Basenpaarung jedoch tripelhelicale Strukturen aus. In den meisten Fällen kommt es hierbei unter „Stranginvasion“ des DNA-Homopyrimidinstranges zur Ausbildung einer extrem stabilen PNA-DNA-PNA-Triplex-Struktur ((PNA)<sub>2</sub>/DNA-Komplex) <sup>[114]</sup> (s. Abb. 1.35, S. 39).



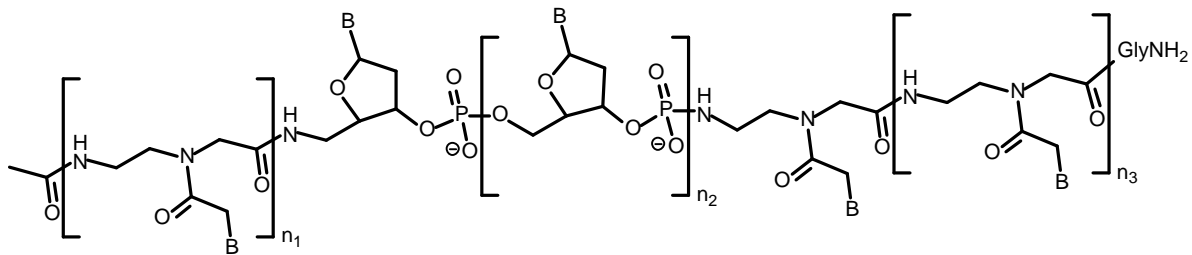
**Abb. 1.34:** PNA-Moleküle, die alle 4 Basenpaare enthalten, bilden mit komplementären DNA-Molekülen eine Watson-Crick-Doppelhelix aus. (A = Adenin, T = Thymin, C = Cytosin, G = Guanin)



**Abb. 1.35:** Schematische Darstellung der Watson-Crick-Hoogsteen-Triplex-Strukturen. Diese bilden sich nur mit PNA-Homopyrimidinen aus, weil lediglich die Purin-Basen der DNA zur Hoogsteen-Basenpaarung in der Lage sind.

Trotz der hohen (bio)chemischen Stabilität sowie der im Vergleich zu natürlichen Oligonucleotiden gesteigerten DNA-Affinität und -Selektivität ist die Anwendung der PNAs aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit und der Tendenz zur Selbstaggregation stark eingeschränkt <sup>[119]</sup>. Die in der Folge entwickelten DNA-PNA-Chimä-

re, die sowohl aus anionischen DNA- als auch neutralen PNA-Strukturelementen aufgebaut sind (s. Abb. 1.36), weisen diese Nachteile hingegen nicht auf.



PNA-DNA-PNA-Chimär

**Abb. 1.36:** Beispiel eines DNA-PNA-Chimären (B = DNA-Base); aufgrund der teilweise anionischen Struktur sind DNA-PNA-Chimäre besser wasserlöslich und neigen im Gegensatz zu den neutralen PNAs nicht zur Selbstaggregation<sup>[119]</sup>.

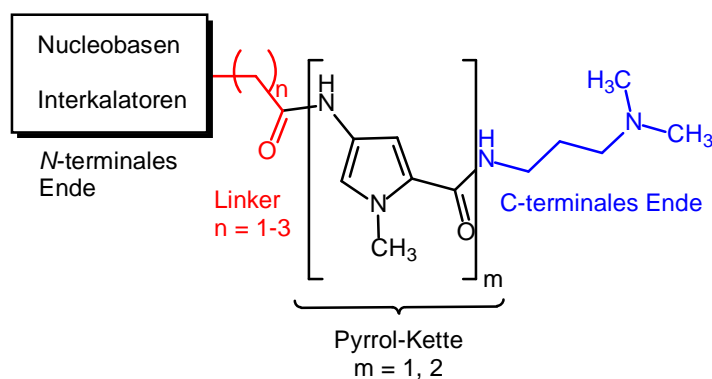
Neben den verbesserten physikalischen Eigenschaften sowie der mit PNAs vergleichbar hohen DNA-Affinität und enzymatischen Stabilität in Serum und zellulären Extrakten besitzen DNA-PNA-Chimäre durch den Anteil an DNA-Strukturelementen darüber hinaus in Analogie zu Antisense-DNA die Fähigkeit zur RNase H-Aktivierung<sup>[119, 120]</sup>.

Gestützt auf zahlreichen Studien scheint die Verwendung von PNAs und DNA-PNA-Chimären als Antisense- oder Antigen-Oligomere in der Gentherapie sehr vielversprechend zu sein<sup>[6, 118, 120]</sup>. Desweiteren hemmen insbesondere DNA-PNA-Chimäre die Transkription durch gezieltes „Abfangen“ von Transkriptionsfaktoren<sup>[6, 120]</sup>. Ebenso wichtig ist die Bedeutung dieser Antisense-Oligonucleotid-Analoga als molekularbiologische Werkzeuge zur Identifizierung neuer therapeutischer Angriffspunkte (z. B. Screening von Genmutationen), insbesondere im Hinblick auf die aus der funktionellen Humangenomforschung zu erwartenden Ergebnisse der nächsten Jahre<sup>[118, 121]</sup>.

Da sich die erfolgsversprechenden Ergebnisse aufgrund der schlechten Zellpenetration (vor allem der PNAs) ausschließlich auf zellfreie Systeme beschränken, wird derzeit versucht, die Zellaufnahme dieser DNA-Mimetika durch Komplexierung mit Liposomen und Microsphären zu verbessern<sup>[6, 120]</sup>.

## 1.7 Zielsetzung

Vor dem Hintergrund der in den Kapiteln 1.4 und 1.5, S. 21 ff. erläuterten Entwicklung sequenzspezifischer DNA-Liganden wurden in den vergangenen Jahren im Arbeitskreis Pindur zahlreiche Bemühungen unternommen, von den beiden Naturstoffen Netropsin und Distamycin A abgeleitete Hybridmoleküle der Oligopyrrolcarboxamid-Reihe als potentielle Zytostatika zu entwickeln. Hier sind insbesondere die im Rahmen der Dissertationen Hotzel <sup>[122]</sup> und Keuser <sup>[125]</sup> synthetisierten Pyrrolcarboxamid-Derivate mit *N*-terminaler Nucleobasen- bzw. interkalierender Aromaten-Funktion zu erwähnen (s. Abb. 1.37).



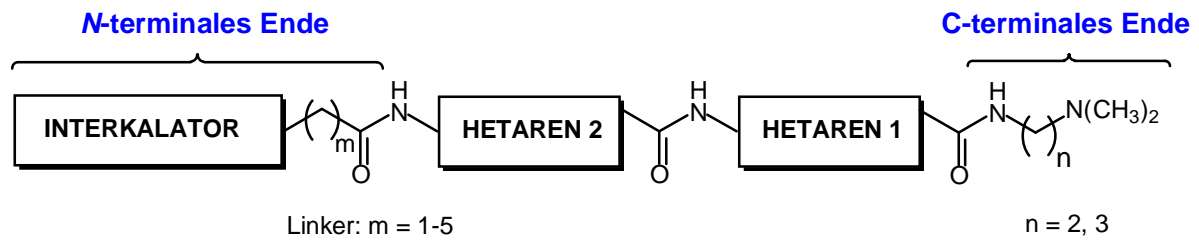
**Abb. 1.37:** Grundstruktur der von Hotzel <sup>[122]</sup> und Keuser <sup>[125]</sup> synthetisierten Hybridmoleküle mit 4-Amino-2-carbonyl-1-methylmono- bzw. bispyrrolcarboxamid-Grundgerüst und *N*-terminaler Nucleobasen- bzw. interkalierender Aromaten-Funktion

Aufbauend auf den dieser Arbeit zugrunde liegenden Studien von Hotzel <sup>[122-124]</sup> und Keuser <sup>[125-127]</sup> sollten im Einzelnen folgende Ziele verfolgt werden:

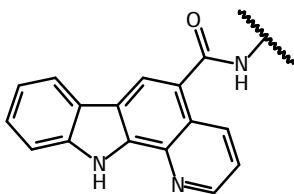
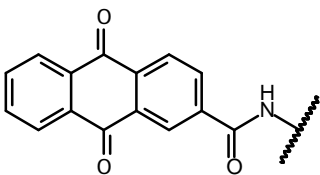
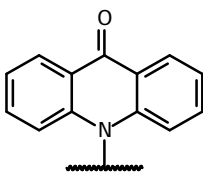
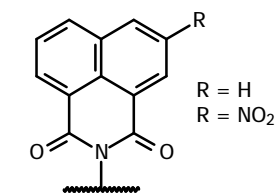
- 1) Im ersten Teil dieser Arbeit sollten durch Variation der Linkerlänge weitere von Netropsin/Distamycin A abgeleitete Hybridmoleküle der Oligopyrrolcarboxamid-Reihe mit *N*-terminaler Nucleobasen-Funktion dargestellt werden (s. Abb. 2.1, S. 46), da nach Keuser <sup>[125, 126]</sup> eine Korrelation zwischen der DNA-Bindungsaffinität und der verwendeten Linkerlänge in Betracht zu ziehen war. Da angenommen wurde, dass es neben der durch die Oligopyrrolcarboxamid-Partialstruktur bedingten Bindung in der kleinen Rinne zusätzlich zur Ausbildung von Hoogsteen-Basenpaarungen in der großen Rinne kommt, war hierbei vor allem interessant

zu erfahren, ob längere Linker aufgrund ihrer konformativen Flexibilität die dazu notwendige, optimale Passform an der DNA begünstigen.

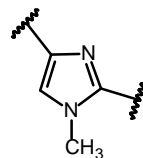
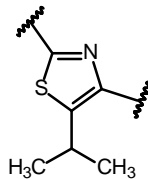
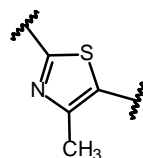
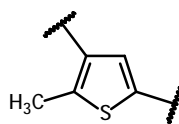
- 2) Des Weiteren sollten von Netropsin abgeleitete, bioisostere Oligopyrrolcarboxamide dargestellt werden, die am *N*-terminalen Ende über Linker variabler Kettenlänge mit einem Interkalator verknüpft sind (s. Abb. 1.38, S. 43).
- In Anlehnung an die Studien von Lown <sup>[11, 83-85, 128, 129]</sup> und Dervan <sup>[86-93]</sup> sollte durch den Austausch eines Pyrrolringes gegen einen bioisosteren Fünfringheterocyclus mit zusätzlichem H-Brücken-Akzeptor (Imidazol, Thiazol) sowie die Darstellung von Combilexinen mit Bisimidazol-Grundgerüst eine Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA erreicht werden.
  - Darüber hinaus sollte die Substitution durch schwefelhaltige Heteroaromaten (Thiophen, Thiazol) zu einer Steigerung der Lipophilie und einer damit einhergehenden verbesserten Zellpenetration führen.
  - Basierend auf Hotzels Arbeiten <sup>[122]</sup> erschien eine Beibehaltung der *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Seitenkette am C-terminalen Ende aufgrund der elektronischen wie auch sterischen Ähnlichkeit zur Amidinstruktur des Netropsins als sinnvoll. Desweiteren sollte überprüft werden, ob die DNA-Affinität der geplanten Verbindungen durch Verwendung der um ein C-Atom kürzeren *N,N*-Dimethyl-1,2-diaminoethan-Seitenkette gesteigert werden könnte.
  - Als chromophore Strukturelemente am *N*-Terminus sollten tricyclische Interkalator-Grundgerüste (Acridon, (5-Nitro-)Naphthalimid, Anthrachinon) <sup>[125, 127]</sup> sowie ein im Arbeitskreis Pindur synthetisiertes 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol eingesetzt werden. Die chromophoren Verbindungen sollten über aliphatische Linker variabler Kettenlänge mit den entsprechenden rinnenbindenden Bausteinen zu neuen Combilexinen aufgebaut werden. Hierbei sollte in Abhängigkeit des verwendeten Chromophors die jeweils zur optimalen Anpassung der entsprechenden Testverbindung an die DNA erforderliche Linkerlänge ermittelt werden.
  - Die Anzahl der Fünfringhetarene in der Carboxamidkette wurde auf maximal zwei begrenzt, da unter Berücksichtigung von Lipinskis „Rule of Five“ <sup>[130]</sup> das Molekulargewicht sowie die Anzahl an H-Brücken-Donatoren möglichst gering gehalten werden sollte.



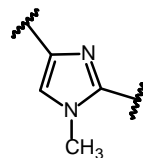
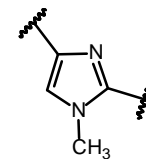
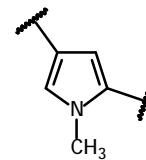
### Interkalator



### Hetaren 2



### Hetaren 1



**Abb. 1.38:** Struktur der geplanten Combiexine

- 3) Im Hinblick auf ein möglichst rationales Wirkstoffdesign sollte bereits synthesebegleitend anhand der im Arbeitskreis Pindur etablierten  $T_m$ -Wert-Bestimmung (s. Kap. 4.1.1, S. 128) die Stärke der DNA-Affinität der dargestellten Hybridmoleküle ermittelt werden. Die erhaltenen Ergebnisse sollten zur Planung weitergehender



Synthesen und somit zur Strukturoptimierung bzw. Molekülprofilierung beitragen sowie erste Erkenntnisse zur Aufstellung von Struktur-Wirkungsbeziehungen liefern.

- 4) Anschließend sollten die synthetisierten Testverbindungen - nach den jeweiligen Stoffklassen geordnet - zellbiologisch auf ihre Antitumoraktivität untersucht werden [National Cancer Institute (NCI), Bethesda, MD, USA; Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg; Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille, Frankreich]. Da auch bei den bioisosteren Oligopyrrolcarboxamid-Derivaten die DNA als relevantes Target der Cytotoxizität angesehen wird, sollten parallel hierzu spezielle biophysikalische sowie biochemische DNA-Binde- und Topoisomerase-Hemmungs-Studien (Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille, Frankreich) durchgeführt werden.
- 5) Zur Erklärung der experimentellen Befunde mit Bezug zur Molekülstruktur sollten auf der Basis semiempirischer AM1-Berechnungen vororientierende Molecular Modelling-Studien an den Testverbindungen durchgeführt werden. Die ermittelten Datensätze hinsichtlich Molekül- als auch Elektronenstruktur (z. B. LUMO) sollten anschließend mit den biophysikalischen/zellbiologischen Daten verglichen werden.

Darüber hinaus wurde die Züchtung geeigneter Einkristalle ausgewählter Testverbindungen zur Durchführung von Röntgenkristallstrukturanalysen angestrebt. Die erhaltenen Kristallstrukturen sollten weitere Informationen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen (u. a. zur Stärke der DNA-Bindung) liefern und zur Validierung der quantenmechanischen Rechenmethode genutzt werden.
- 6) Um weitere Informationen über die Interaktionsbereiche der synthetisierten Com-bilexine mit der DNA zu erhalten, bestand ein wesentlicher und vor allem neuer Aspekt dieser Arbeit in der Durchführung eines  $^1\text{H}$ -NMR-Titrationsexperimentes eines Oligonucleotids mit einer ausgewählten Verbindung.
- 7) Abschließend sollten die im Rahmen der geplanten Dissertation Buckert <sup>[131]</sup> erstmals durchgeführten Docking-Experimente mit den neuen Testverbindungen zur Visualisierung eines rationalen DNA-Bindungs-Modells auf molekularer Ebene herangezogen werden.

## 2. Auswahlkriterien für die Substituenten bei der Syntheseplanung der Hybridmoleküle

Im folgenden Abschnitt sollen die Eigenschaften der Strukturelemente der synthetisch geplanten Verbindungen (s. Abb. 1.38, S. 43, und Abb. 2.1, S. 46) sowie die Hintergründe für deren Auswahl bei der Syntheseplanung diskutiert werden.

Es sei an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen, dass die synthesebegleitend zur Ermittlung der Stärke der DNA-Bindung durchgeführten  $T_m$ -Wert-Bestimmungen (s. Kap. 4.1.1, S. 128) der dargestellten Hybridmoleküle ebenfalls zu einer möglichst rationalen Strukturoptimierung bei der weiterführenden Syntheseplanung beitragen sollten.

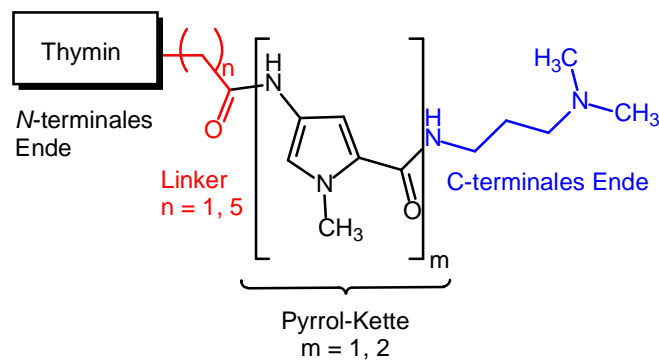
### 2.1 Nucleobasen-*N*-terminal gekoppelte Oligopyrrolcarboxamide

In Anlehnung an Nielsens PNA-Ansatz <sup>[114-117]</sup> (s. Kap. 1.6, S. 38) synthetisierte Keuser <sup>[6, 125, 126]</sup> von Netropsin abgeleitete Mono- und Bispyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler Nucleobasen-Funktion (s. Abb. 1.37, S. 41). Aufgrund der AT-Selektivität von Oligopyrrolcarboxamiden wurden hierbei die zueinander komplementären DNA-Basen Adenin und Thymin sowie die zu Adenin komplementäre RNA-Base Uracil eingesetzt <sup>[125]</sup>, da die Vermutung nahe lag, dass es bei dieser Art von Hybridmolekülen neben dem Minor Groove Binding zusätzlich zur Ausbildung von Hoogsten-Basenpaarungen in der großen Rinne kommen könnte (s. Abb. 1.35, S. 39). Hierdurch sollte die Sequenzselektivität der Bindung weiter erhöht und die durch den Oligopyrrolcarboxamidteil verursachte Störung des physiologischen DNA-Metabolismus und somit die Zytotoxizität gesteigert werden.

Lediglich für die Bispyrrol-Derivate mit  $C_3$ - und  $C_4$ -Linker am *N*-terminalen Ende konnte Keuser <sup>[125]</sup> mittels  $T_m$ -Wert-Bestimmungen eine schwache DNA-Bindung, vorzugsweise an polydAdT-DNA, nachweisen. Darüber hinaus waren sämtliche Testsubstanzen sowohl im Topoisomerase-I-Hemmungs-Assay als auch im Primary-Zytotoxizitätsscreening des NCI inaktiv. Eine Begründung für die überraschend

schwachen Interaktionen dieser Verbindungsklasse könnte die bisher möglicherweise ungenügende Linkerlänge zur Ausbildung eines dualen Bindungsmodus in der kleinen und großen Rinne sein <sup>[126]</sup>. Um Aufschluss über eine mögliche Korrelation zwischen der DNA-Bindungsstärke und der eingesetzten Linkerlänge zu gewinnen, sollte im Rahmen dieser Arbeit das Kollektiv der von Keuser <sup>[125, 126]</sup> untersuchten Substanzen unter Beibehaltung des von ihm verwendeten Pyrrolcarboxamid-Grundgerüsts durch weitere Variation der Linkerlänge ergänzt werden (s. Abb. 2.1). Hierbei sollte vor allem in Erfahrung gebracht werden, ob längere aliphatische Linker ( $n = 5$ , s. Abb. 2.1) aufgrund ihrer konformativen Flexibilität eine optimale Anpassungsgeometrie zur Ausbildung von Hoogsten-Basenpaarungen in der großen Rinne der DNA begünstigen.

Da Keuser <sup>[125, 126]</sup> bezüglich der Testergebnisse zwischen den Adenin-, Uracil- und Thymin-Derivaten keine signifikanten Unterschiede feststellte, sollte der systematische Aufbau der neuen Verbindungsserie zunächst am Beispiel nur einer DNA-Base erfolgen. Die Wahl fiel auf die DNA-Base Thymin, da die Hybridmoleküle mit *N*-terminaler Adeninalkanoyl-Funktion nur sehr schwer zugänglich waren <sup>[125]</sup>.



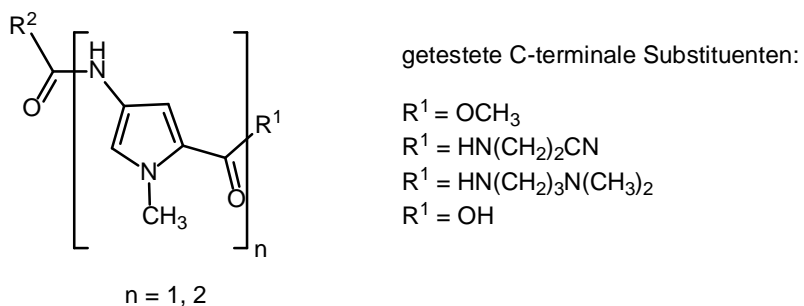
**Abb. 2.1:** Grundstruktur der geplanten Oligopyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler Nucleobasen-Funktion

## 2.2 Auswahlkriterien für die Strukturelemente der Combilexine

Wie zuvor schon erwähnt (s. Kap. 1.7, S. 42 ff.), sollten aufbauend auf den vororientierenden Struktur-Wirkungsbeziehungen von Hotzel <sup>[122-124]</sup> und Keuser <sup>[125, 127]</sup> im zweiten Teil dieser Arbeit von Netropsin abgeleitete bioisostere Oligopyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler Interkalator-Funktion (sog. Combilexine) synthetisiert werden (s. Abb. 1.38, S. 43). Die zum systematischen Aufbau dieser neuen Serie von Combilexinen gewählten Strukturelemente sollen im Folgenden etwas genauer erläutert werden.

### 2.2.1 C-terminale Seitenfunktion

Der Einfluss unterschiedlicher C-terminaler Seitenfunktionen im Hinblick auf die Antitumoraktivität und DNA-Bindung von Pyrrolcarboxamid-Derivaten wurde bereits von Hotzel <sup>[122]</sup> untersucht (s. Abb. 2.2).



**Abb. 2.2:** Übersicht der von Hotzel <sup>[122]</sup> synthetisierten C-terminalen Seitenfunktionen

Während weder für die Carbonsäure- noch die Propionitril-Derivate eine DNA-Bindung nachgewiesen werden konnte, zeigten demgegenüber die Verbindungen mit Dimethylaminopropyl-Seitenkette anhand von  $T_m$ -Wert-Bestimmungen eine signifikante Bindung an der DNA.

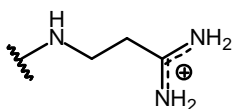
Da mit den geplanten bioisosteren Combilexinen ebenfalls eine möglichst hohe DNA-Affinität erreicht werden sollte, wurde dieses Strukturelement als C-terminale Funktionalität beibehalten. Auch zahlreiche aus der Literatur bekannte Lexitropsine

bzw. Combilexine tragen eine C-terminale *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion [77, 78, 83, 95, 96, 101, 129, 132, 133].

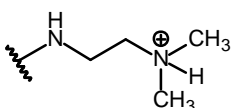
Ferner besitzen einige der in der Literatur aufgeführten Hybridmoleküle der Oligopyrrolcarboxamid-Reihe eine Dimethylaminoethyl-Seitenkette als C-terminale Funktion <sup>[101]</sup>; systematische Untersuchungen im Hinblick auf eventuelle Vorteile gegenüber der um ein C-Atom längeren *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Seitenkette wurden jedoch nicht gemacht. Daher sollte ebenfalls die analoge Ethyl-Seitenkette verwendet sowie deren Einfluss auf die DNA-Affinität untersucht werden.

Zudem weisen beide Funktionen sowohl sterische als auch elektronische Ähnlichkeit mit der basischen Amidin-Gruppe der Leitstruktur Netropsin **29** auf; bei physiologischem pH-Wert liegen sie wie diese protoniert vor (s. Abb. 2.3), was die Interaktionen mit der elektronenreichen kleinen Rinne zusätzlich verstärkt <sup>[125]</sup>. Darüber hinaus wird die DNA-Ligand-Komplexbildung initial durch die über weite Distanzen reichende Anziehung zwischen kationischen Liganden und dem negativ geladenen Rückgrat der DNA begünstigt <sup>[132]</sup>.

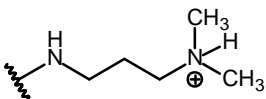
#### C-terminale Seitenfunktionen:



Amidiniumstruktur des Netropsins



*N,N*-Dimethyl-1,2-diaminoethan-Seitenkette



*N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Seitenkette

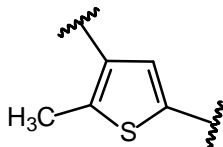
**Abb. 2.3:** Struktur der geplanten C-terminalen Seitenkettenfunktionen im Vergleich zur Amidinstruktur des Netropsins

Um strukturell so wenig wie möglich von der Leitsubstanz Netropsin abzuweichen, sollten keine weiteren Variationen am C-Terminus vorgenommen werden.

## 2.2.2 Fünfringhetarene

Die meisten der bisher bekannten Combilexine <sup>[78, 101, 122-125, 127]</sup> (s. Abb. 1.31, S. 35) besitzen in Analogie zu Netropsin **29** bzw. Distamycin A **30** (s. Abb. 1.17, S. 22) ein Oligopyrrolcarboxamid-Grundgerüst und binden demzufolge - wie bereits erwähnt - an AT-reiche Sequenzen der DNA. Daher bestand ein wesentlicher und zudem neuer Aspekt dieser Arbeit im systematischen Aufbau bioisosterer Combilexine (s. Abb. 1.38, S. 43). Anhand zellbiologischer und biochemischer/biophysikalischer Testungen sollten die unterschiedlichen Einflüsse der hierzu verwendeten Heterocyclen (Thiophen, Imidazol, Thiazol) auf die Antitumoraktivität sowie die DNA-Bindung untersucht werden.

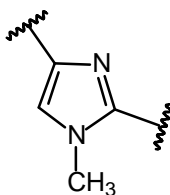
### 2.2.2.1 Thiophen



Mit dem Ziel, durch eine Steigerung der Lipophilie die Membranpermeation und damit verbunden die biologische Aktivität von Minor Groove Bindern in positivem Sinne zu beeinflussen, wurden in den vergangenen Jahren zahlreiche Thiophen-haltige Lexitropsine synthetisiert (s. Abb. 1.28, S. 31) <sup>[77, 98]</sup>. Khalaf *et al.* <sup>[77]</sup> zeigten, dass Distamycin A-analoge Verbindungen, in denen ein Pyrrolring durch das wesentlich lipophilere Thiophen ausgetauscht wurde, gegen ein breiteres Spektrum von Bakterien und Pilzen wirksam waren als die korrespondierenden Pyrrolcarboxamide. Auch bei den im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexinen sollte die Substitution eines *N*-Methylpyrrolringes durch 5-Methylthiophen zu lipophileren Verbindungen führen, die sich aufgrund einer gesteigerten Zellpenetration in höheren Konzentrationen in der Zelle anreichern und dadurch bedingt eine verbesserte antitumorale Aktivität aufweisen.

Nach Dervan <sup>[92, 93]</sup> war für die entsprechenden Thiophen-substituierten Derivate eine AT-Selektivität zu erwarten.

### 2.2.2.2 Imidazol

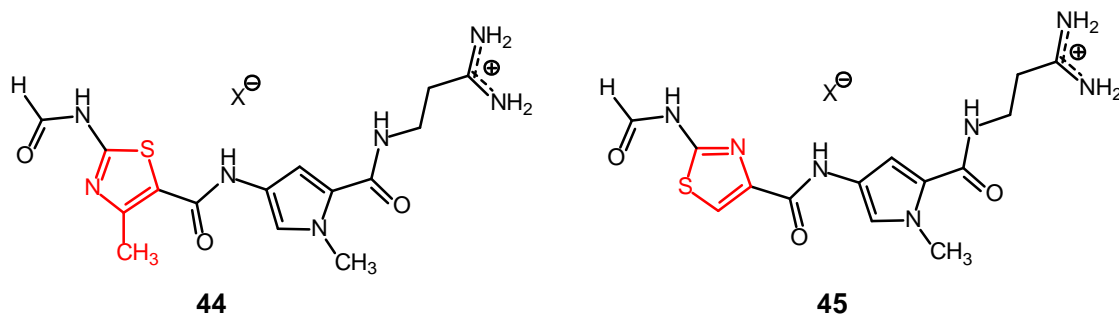


Basierend auf den Arbeiten von Lown<sup>[11, 79, 83-85, 129]</sup> und Dervan<sup>[86-93]</sup> (s. Kap. 1.4.1, S. 26 ff.) sollte durch Einführung eines *N*-Methylimidazolrings die GC-Selektivität der geplanten Hybridmoleküle gesteigert werden. Das Erreichen einer GC-Präferenz wäre von großer Bedeutung, da die zur Regulation der (Krebs-)Zellproliferation relevanten Gene (wie z. B. Onkogene) zumeist GC-reiche Sequenzen aufweisen<sup>[36, 100]</sup>. Die vor allem bei den Imidazol-haltigen Lexitropsinen zu beobachtende Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA nimmt mit steigender Anzahl der Imidazolringe zu<sup>[11, 78]</sup>. Daher sollte zusätzlich die Darstellung von Bisimidazol-Derivaten durch Substitution beider Pyrrolringe in dem von Netropsin abgeleiteten Grundgerüst erfolgen (s. Abb. 2.5, S. 52).

### 2.2.2.3 Thiazol



Auch Thiazole - die als lipophile Analoga des Imidazols aufzufassen sind<sup>[77]</sup> - wurden in der Vergangenheit häufig als Strukturelemente zum Aufbau zellpenetrationsfähiger, GC-selektiver Lexitropsine verwendet (s. Kap. 1.4.1, S. 31 u. 32)<sup>[11, 77, 95, 96, 128]</sup>. Anhand von Footprinting-Experimenten und Bindekonstanten wurde nachgewiesen, dass (Methyl-)Thiazol-haltige Lexitropsine - wie beispielsweise **44** und **45** (s. Abb. 2.4, S. 51) - eine höhere GC-Spezifität und DNA-Affinität aufweisen als Netropsin bzw. Distamycin A, wenngleich deren AT-Selektivität gegenüber den Leitstrukturen nicht signifikant reduziert werden konnte<sup>[11]</sup>.



**Abb. 2.4:** Beispiele Thiazol-haltiger Lexitropsine; bei Verbindung **44** ist der Schwefel des Thiazols zur konkaven Molekülseite und damit zur kleinen Rinne hin orientiert <sup>[11]</sup>

Demgegenüber zeigten Suckling *et al.* <sup>[95, 96]</sup> mittels detaillierter NMR-Studien am Beispiel des Thiazotropins A zum ersten Mal (s. Kap. 1.4.1 u. Abb. 1.29, S. 32), dass durch Verwendung eines Isopropylthiazol-Bausteins nicht nur die Lipophilie gesteigert, sondern auch ein hohes Maß an Sequenzselektivität und DNA-Affinität erreicht werden kann. Neben einer H-Brücke zwischen Guanin-NH<sub>2</sub> und dem zur konkaven Molekülseite orientierten Thiazol-N3 scheint hierbei auch die raumerfüllende Isopropylgruppe, die zusätzlich hydrophobe Kontakte mit dem Rückgrat der DNA erlaubt, eine Rolle zu spielen <sup>[77]</sup>.

Aufgrund dieser vielversprechenden Daten sollte zur Steigerung der GC-Selektivität und DNA-Affinität der Isopropylthiazolring als weiteres Strukturelement für die Synthesen verwendet werden.

Darüber hinaus war in Analogie zu Verbindung **44** (s. Abb. 2.4) geplant, Combilexine mit Methylthiazol-Einheit darzustellen. Hierbei war interessant zu erfahren, ob der relativ große und auch hydrophobe Schwefel unter Verwendung dieses Bausteins tatsächlich zur konkaven Molekülseite orientiert ist und welchen Einfluss dies auf die DNA-Bindeeigenschaften hätte.

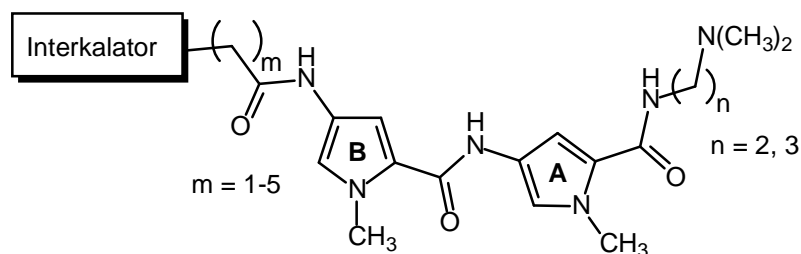
Bei der Wahl aller Fünfringhetarene wurde berücksichtigt, dass sie - in Analogie zum ausgetauschten *N*-Methylpyrrol-Baustein - eine zur konvexen Molekülseite orientierte Alkylgruppe (Methyl-, Isopropylgruppe) tragen. Es wurde vermutet, dass der aus dem hydrophoben Transfer resultierende Entropiegewinn (s. Kap. 1.4, S. 21), der sich thermodynamisch günstig auf die freie Bindungsenthalpie auswirkt, durch die hydrophoben Alkylgruppen (insbesondere die Isopropylgruppe) verstärkt würde <sup>[77, 95, 96]</sup>. Vor allem für Liganden mit lipophilen Gruppen liefern hydrophobe Wechsel-



wirkungen den wichtigsten Beitrag zur Bindungsaffinität <sup>[133]</sup>. Aus diesem Grund war speziell für die geplanten Thiophen- und Thiazol-Derivate eine gesteigerte DNA-Affinität zu erwarten.

Da sowohl Hotzel <sup>[122]</sup> als auch Keuser <sup>[125]</sup> gezeigt haben, dass zum einen mindestens zwei Pyrrolringe bzw. drei Carboxamid-Funktionen für eine gute DNA-Bindung Voraussetzung sind und zum anderen das Molekulargewicht der geplanten Zielstrukturen zur Gewährleistung einer guten Zellpenetration möglichst gering gehalten werden sollte (s. Kap. 1.7, S. 42), war die Synthese bioisosterer Combilexine mit lediglich zwei Fünfringhetarenen geplant (s. Abb. 2.5).

Trotz der Existenz zahlreicher Imidazol-, Thiophen- und Thiazol-haltiger Lexitropsine und intensiver Literaturrecherchen konnten keine Angaben darüber gefunden werden, ob die Positionierung der bioisosteren Hetarene einen Einfluss auf die DNA-Affinität bzw. Selektivität hat. Zur Aufstellung erster, vororientierender Struktur-Wirkungsbeziehungen bioisosterer Combilexine wurde daher beschlossen, zunächst systematisch Pyrrolring B (s. Abb. 2.5) in dem von Netropsin abgeleiteten Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüst auszutauschen.



Ring B:	Ring A:
Thiophen	Pyrrol
Thiazol	Pyrrol
Imidazol	Pyrrol
Imidazol	Imidazol

**Abb. 2.5:** Zum Aufbau der bioisosteren Combilexine sollte zunächst Pyrrolring B des Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüsts gegen Thiophen, Thiazol und Imidazol ausgetauscht werden. Zusätzlich sollten Bisimidazolcarboxamid-Derivate durch Substitution beider Pyrrolringe dargestellt werden.

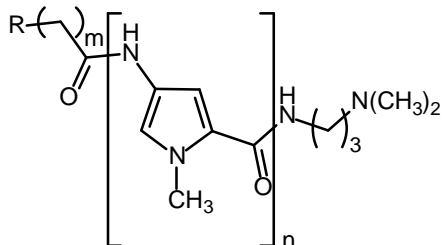
### 2.2.3 Interkalatoren

Als *N*-terminale Funktion sollten verschiedene Interkalatoren dienen (s. Abb. 1.38, S. 43), da die zytostatische Aktivität sequenzselektiver Lexitropsine durch die Verknüpfung mit einem interkalierenden Strukturelement erheblich gesteigert werden kann <sup>[134]</sup>. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass der Interkalator die kinetische Stabilität des Combilexin-DNA-Komplexes erhöht (s. Kap. 1.5.2, S. 36) <sup>[9]</sup>. Bedingt durch die folglich längere Verweilzeit des Liganden an der DNA kann eine effektivere Hemmung genregulierender Enzyme (z. B. Topoisomerasen) erfolgen <sup>[9]</sup>. Um neben der Bindung der Lexitropsine in der kleinen Rinne eine möglichst gute Interkalation zu ermöglichen, sollten planare,  $\pi$ -elektronenarme Chromophore aus mindestens drei anellierten Ringen als *N*-terminale Strukturelemente eingesetzt werden (s. S. 9 f.) <sup>[122, 125]</sup>.

Die Kriterien für die Auswahl der im Rahmen dieser Dissertation eingesetzten, tricyclischen Systeme (Anthrachinon, Naphthalimid und Acridon) wurden bereits in den Kapiteln 1.3.1, S. 11, 1.3.3, S. 17 und 1.3.4, S. 18 anhand literaturbekannter Beispiele antitumoraktiver Anthrachinon-, Naphthalimid- und Acridon-Derivate besprochen.

Da die Einführung einer Nitro-Gruppe an einem chromophoren System im Allgemeinen zu einer Steigerung der antineoplastischen Aktivität führt <sup>[52]</sup>, sollte in Analogie zu Mitonafide **21** (s. Abb. 1.15, S. 18) zusätzlich die Darstellung und Testung von Verbindungen mit *N*-terminaler 5-Nitronaphthalimid-Funktion erfolgen. Durch den elektronenziehenden Charakter der 5-Nitrogruppe sowie deren zum Heterocyclus koplanaren Anordnung könnte die Ausbildung eines Charge-Transfer-Komplexes mit den DNA-Basen begünstigt werden <sup>[50]</sup>. Desweiteren besitzen zahlreiche Arzneistoffe mit Nitrogruppe (z. B. Metronidazol) eine selektive Toxizität gegenüber hypoxischen Zellen. Unter anaeroben Zellwachstumsbedingungen - wie sie unter anderem in schnellproliferierenden Tumorzellen herrschen - erfolgt eine Reduktion der Nitrogruppe über hochreaktive Zwischenstufen (Nitroxide, Hydroxylamine), die ihrerseits interstrand cross linking sowie Strangbrüche der DNA induzieren <sup>[125]</sup>.

Von besonderem Interesse für diese Arbeit sind auch die bereits von Keuser<sup>[125, 127]</sup> synthetisierten und untersuchten Pyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler Acridon-, (5-Nitro-)Naphthalimid- und Anthrachinon-Funktion **46-51** (s. Abb. 2.6).



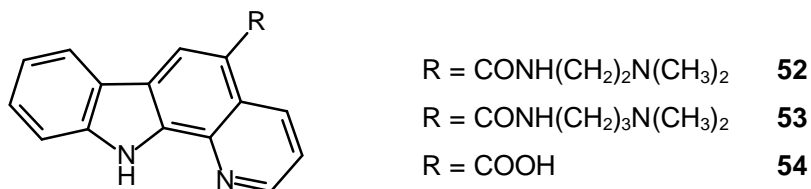
R	n	m	Verbindung
	2	3	KEU87 <b>46</b>
	2	3	KEU89 <b>47</b>
	2	1	KEU80 <b>48</b>
	2	3	KEU84 <b>49</b>
	1	2	KEU104 <b>50</b>
	1	3	KEU105 <b>51</b>

**Abb. 2.6:** Auswahl bereits synthetisierter Combilexine mit Acridon-, (5-Nitro)Naphthalimid und Anthrachinon als *N*-terminaler Funktion<sup>[125, 127]</sup>

DNA-Bindestudien zufolge binden die aufgeführten Verbindungen - insbesondere die Acridon-Derivate **48** u. **49** - sehr gut an AT-reiche Sequenzen der DNA. Für einige Combilexine konnte ein dualer Bindungsmodus - bestehend aus Minor Groove

Binding und Interkalation - gezeigt werden. Desweiteren wurde für sämtliche Verbindungen eine Topoisomerase-II-Hemmung nachgewiesen, die bei dem 5-Nitronaphthalimid-substituierten Derivat **47** stärker ausgeprägt war als bei der entsprechenden nicht-nitrierten Verbindung **46**. Eine signifikante Zellwachstumshemmung im Antitumorscreening des NCI konnte jedoch lediglich für einige Anthrachinone wie z. B. Verbindung **50** nachgewiesen werden. Darüber hinaus sind in der Literatur auch einige Anthrachinon-Netropsin- bzw. Distamycin-Konjugate bekannt, z. B. AQ<sub>NC</sub>-Net **40** und AQ<sub>NC</sub>-Dist **41** (s. Abb. 1.31, S. 35), die UV-induziert zu DNA-Strangbrüchen führen <sup>[78, 83, 101]</sup>.

Unter diesen Gesichtspunkten erschien es ebenfalls sinnvoll, Acridon, (5-Nitro)-Naphthalimid und Anthrachinon als chromophore Strukturelemente zum Aufbau der im Rahmen dieser Arbeit geplanten Hybridmoleküle zu verwenden. Zudem wurde durch die Verknüpfung der Interkalatoren mit den lipophileren Thiophen- bzw. Thiazolpyrrolcarboxamid-Grundstrukturen eine Verbesserung der zytostatischen Aktivität gegenüber den von Keuser <sup>[125, 126]</sup> synthetisierten Combilexinen angestrebt. Als weiteres chromophores Strukturelement am *N*-Terminus sollte das im Arbeitskreis Pindur in Anlehnung an die beiden Naturstoffe Ellipticin **13** und Olivacin **15** (s. Abb. 1.13, S. 15) aufgebaute 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol Verwendung finden (s. Abb. 1.38, S. 43). Die beiden dieses Grundgerüst enthaltenen Amide **52** und **53** (s. Abb. 2.7) besitzen DNA-Affinitäten, die mit der des Ellipticins **13** vergleichbar sind. Zudem zeigten sie *in vitro* eine zytostatische Aktivität gegen Leukämie- und Dickdarmkrebszelllinien. Auf die Leitstrukturen Ellipticin **13** und Olivacin **14** sowie die davon abgeleiteten, literaturbekannten Wirkstoffe wurde bereits in Kapitel 1.3.2, S. 15 eingegangen.



**Abb. 2.7:** Auswahl einiger im Arbeitskreis Pindur synthetisierter und untersuchter 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-Derivate

Von den zahlreichen bislang synthetisierten Ellipticin-Derivaten sind insbesondere die an Distamycin gekoppelten Verbindungen Distel (1+) **38** und Distel (2+) **39** von Bedeutung (s. Abb. 1.31, S. 35). Beide Combilexine weisen einen dualen Bindungsmodus (Interkalation und Minor Groove Binding) an der DNA auf <sup>[78, 101]</sup>. Während in Distel (1+) **38** die GC-Selektivität des Interkalators und die AT-Selektivität des Distamycins in einem Molekül vereinigt zu sein scheinen, bindet Distel (2+) **39** bevorzugt an AT-reiche Sequenzen der DNA <sup>[101]</sup>. Darüber hinaus hemmt Distel (1+) **38** die Topoisomerasen I und II in einer Weise, die mit der zytostatischen Wirksamkeit dieser Substanz gegen Leukämiezellen korreliert <sup>[101]</sup>.

Abschließend sei angemerkt, dass Interkalatoren in der Regel bevorzugt an GC-reiche Sequenzen der DNA binden, da die in GC-reichen Abschnitten weitere Minor Groove die Adaption eines interkalierenden Chromophors begünstigt <sup>[36]</sup>. Die mit der Synthese der Thiazol- und Imidazol-haltigen Verbindungen angestrebte GC-Selektivität (s. Kap. 2.2.2.2 und 2.2.2.3, S. 50 f.) könnte folglich durch Verknüpfung der rinnenbindenden „Vektoren“ mit den unterschiedlichen Interkalatoren gesteigert werden.

## 2.2.4 Linker

Die Wahl eines geeigneten Linkers, der den rinnenbindenden Molekülteil mit dem interkalierenden Strukturelement am *N*-terminalen Ende verbindet (s. Abb. 1.38, S. 43), ist vermutlich von großer Bedeutung für die DNA-Affinität und damit die biologische Aktivität der geplanten Combilexine. Sowohl die Länge als auch die Flexibilität des Linkers spielen wahrscheinlich eine entscheidende Rolle im Hinblick auf eine möglichst optimale, konformative Anpassung der Hybridmoleküle zur Gewährleistung eines dualen Bindungsmodus an der DNA <sup>[36]</sup>.

Erste Erkenntnisse bezüglich der Korrelation zwischen Linkerlänge und DNA-Affinität bzw. Antitumoraktivität lieferten die vororientierenden Struktur-Wirkungsbeziehungen von Keuser <sup>[125]</sup>, dessen Ergebnisse unter Verwendung von C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-Linkern (s. Abb. 2.6, S. 54) auf eine Zunahme der Bindungsaffinität mit steigender Kettenlänge hindeuten <sup>[125]</sup>. Für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit geplanten Verbindungen

mit *N*-terminaler Acridon- bzw. (5-Nitro-)Naphthalimid-Funktion sollten daher Linkerlängen von C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> eingesetzt werden. Unter Berücksichtigung des unterschiedlichen Anellierungsmusters der chromophoren, tricyclischen Heterocyclen sollte die jeweils zur optimalen Anpassung der entsprechenden Testverbindung an die DNA erforderliche Linkerlänge ermittelt werden. Die Verknüpfung mit den entsprechenden Aminohetarenpyrrol- bzw. Aminobisimidazolcarboxamid-Bausteinen sollte über eine amidische Bindung erfolgen. Die hierzu benötigten Acridon- und (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäuren sollten durch *N*-Alkylierung mit den entsprechenden  $\omega$ -Halogenalkancarbonsäureestern und anschließende Esterhydrolyse dargestellt werden.

Da die von Keuser<sup>[125]</sup> synthetisierten Anthrachinon-Derivate mit  $\beta$ -Alanin als Linker, wie z. B. Verbindung **50** (s. Abb. 2.6, S. 54), denen mit  $\gamma$ -Aminobuttersäurelinker, wie Verbindung **51**, bezüglich DNA-Bindungsstärke und antitumorale Aktivität weit überlegen waren und zudem eine sehr gute DNA-Affinität und Topoisomerase-II-Hemmung aufwiesen, sollte zur Darstellung der Anthrachinon- und 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-*N*-terminal gekoppelten Combilexine ebenfalls  $\beta$ -Alanin als Linker verwendet werden. Die Verknüpfung der als Baustein eingesetzten Anthrachinon-2-carbonsäure bzw. 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-5-carbonsäure **54** (s. Abb. 2.7, S. 55) mit dem zuvor hergestellten  $\beta$ -Alanin-substituierten Lexitropsin sollte ebenfalls über eine amidische Bindung erfolgen. Darüber hinaus sollte durch die Verwendung der  $\beta$ -Alanin-Aminosäure als Linkerbaustein in Erfahrung gebracht werden, inwiefern die DNA-Bindeaffinität durch die Einführung einer weiteren Amidbindung im *N*-terminalen Bereich - und somit einer zusätzlichen Möglichkeit zur Ausbildung von H-Brücken mit den DNA-Basen der Minor Groove - beeinflusst wird.

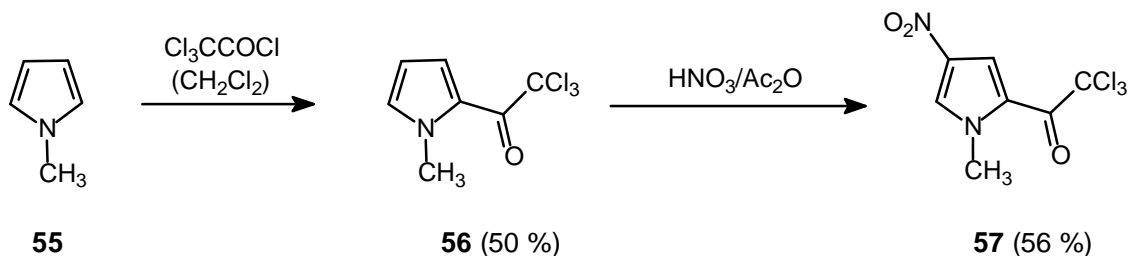
### 3. Synthetischer Teil

#### 3.1 Synthese und Strukturaufklärung der Pyrrolcarboxamide

Wie zuvor in Kapitel 2.1, S. 45 erläutert, sollte im ersten Teil dieser Arbeit der systematische Aufbau Thyminacetyl- sowie Thyminhexanoyl-*N*-terminal gekoppelter Mono- bzw. Bispyrrolcarboxamide erfolgen, um die bezüglich der Linkerhomologie noch unzureichende Strukturserie in Keuser`s Arbeiten <sup>[125, 126]</sup> zu komplettieren. Im Folgenden soll daher auf die Synthese der hierzu benötigten Pyrrolcarboxamide eingegangen werden.

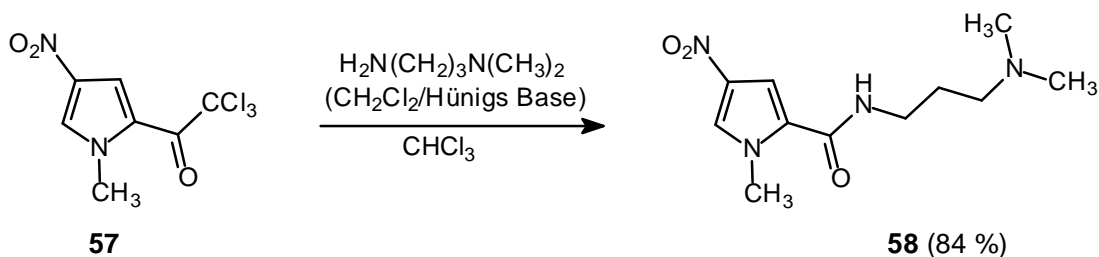
##### 3.1.1 Synthese des Pyrrolcarboxamids mit C-terminaler *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion

Zur Darstellung des Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüsts wurde die bereits von Hotzel <sup>[122, 135]</sup> verwendete Methode nach Nishiwaki und Shibuya <sup>[136]</sup> übernommen. Dazu wurde *N*-Methylpyrrol **55** mit Trichloressigsäurechlorid in Position 2 zum Trichloracetylpyrrol **56** umgesetzt. Anschließend erfolgte bei einer Temperatur von -40°C an Position 4 durch das *in situ* aus HNO<sub>3</sub> (65 %)/Acetanhydrid erzeugte Nitroniumacetat eine regioselektive Nitrierung <sup>[122, 136]</sup> zu **57** (s. Abb. 3.1).



**Abb. 3.1:** Darstellung von 2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)ethanon **57**

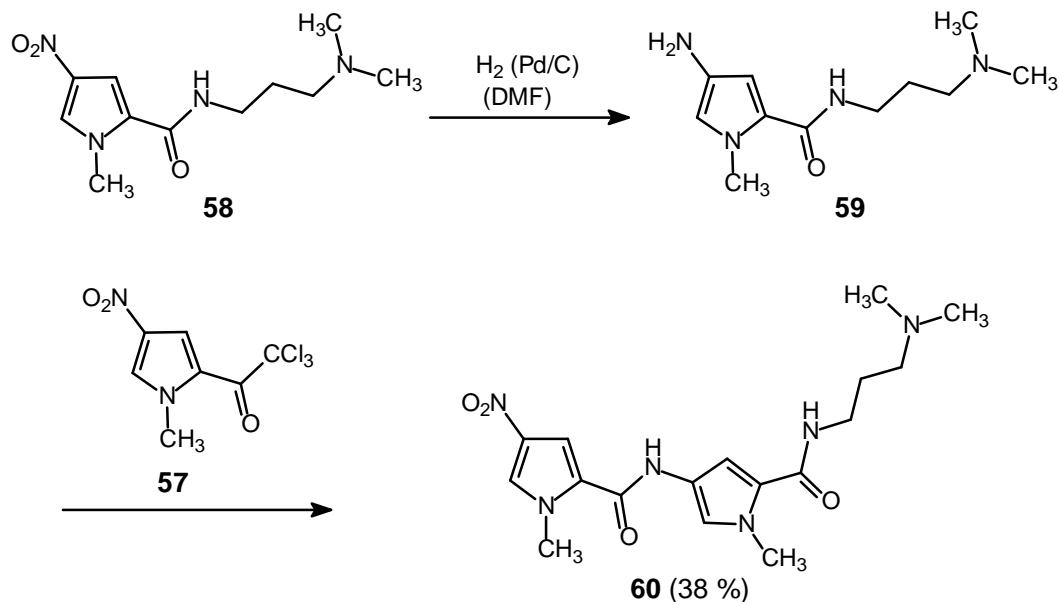
Durch Zugabe von *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan zu einer Lösung von **57** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  konnte in Gegenwart von Hünig's Base (*N,N*-Diisopropylethylamin) das gewünschte Pyrrolcarbonsäureamid **58** in einer Ausbeute von 84 % gewonnen werden (s. Abb. 3.2).



**Abb. 3.2:** Einführung der Dimethylaminopropylamin-Seitenkettenfunktion

Im nächsten Schritt erfolgte mit Hilfe von Palladium(10 %)/Aktivkohle in Wasserstoffatmosphäre eine Reduktion des Nitro-Derivates **58** zum entsprechenden heteroaromatischen Amin **59**. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde die auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlte Lösung des gebildetenamins zu einer ebenfalls gekühlten Lösung von **57** in DMF hinzuge tropft. 24 stündiges Rühren bei RT führte zur Bildung des Bispyrrolcarboxamids **60** (s. Abb. 3.3, S. 60). Die Ausbeute konnte gegenüber Hotzel<sup>[122]</sup> von 22 % auf 38 % gesteigert werden. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass das relativ oxidationsempfindliche Amin nach Abfiltrieren des Katalysators in Lösung direkt weiter verarbeitet wurde, ohne zuvor das Lösungsmittel - wie von Hotzel<sup>[122]</sup> durchgeführt - einzudampfen.





**Abb. 3.3:** Darstellung des Bispyrrolcarboxamids **60** mit C-terminaler Dimethylaminopropylamin-Funktion

### 3.1.2 Strukturaufklärung des Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüsts

Eine bedeutende Voraussetzung für eine gute DNA-Bindung an der kleinen Rinne ist die sogenannte „sichelförmige“ Geometrie der Lexitropsine (s. Kap. 1.4, S. 24), die unter anderem durch eine trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindung wie in der Peptid-Chemie zwischen den Fünfringheterocyclen begünstigt wird<sup>[122]</sup>. Nachdem die Konstitution des Bispyrrolcarboxamids **60** durch Hotzel<sup>[122]</sup> anhand verschiedener NMR-Experimente aufgeklärt war, nutzte Keuser<sup>[125]</sup> den Kern-Overhauser-Effekt mittels <sup>1</sup>H-NOE-Differenzanalyse an diagnostisch relevanten Kernpositionen (NOE: Nuclear Overhauser Effect) zum Beweis für die trans-(Z)-Konfiguration der die beiden Pyrrolringe verknüpfenden Amidbindung in Lösung. Er zeigte, dass Verbindung **60** im Zeitmittel des Amid-Rotationsgleichgewichtes in Lösung bevorzugt eine Konformation/Konfiguration annimmt, in der die Amidbindung zwischen den beiden Pyrrolringen in Analogie zu Netropsin **29** (s. Abb. 5.14, S. 202) trans-(Z)-konfiguriert ist. Anhand der im Rahmen dieser Arbeit durch Röntgenkristallographie

ermittelten 3D-Struktur von **60** (s. Kap. 5.3.1 S. 179) konnte dieses Ergebnis bestätigt werden.

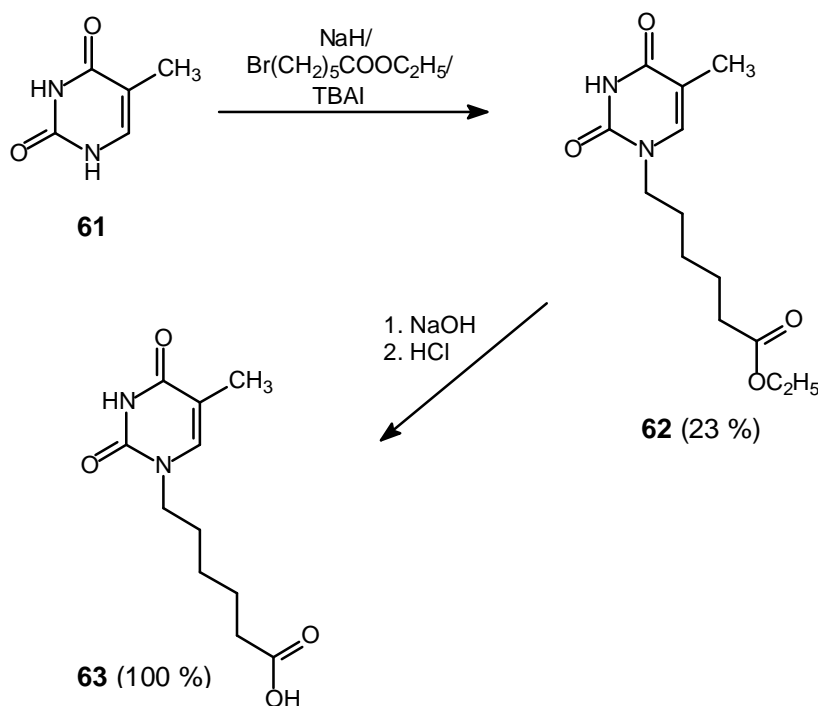
## 3.2 Synthese der Pyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler Thyminalkanoyl-Funktion

Die Darstellung der potentiellen Hybridmoleküle sollte durch eine amidische Verknüpfung der entsprechenden Thyminalkancarbonsäure mit dem zuvor durch Reduktion erhaltenen Aminopyrrolcarboxamid-Baustein erfolgen (s. Abb. 3.13, S. 70).

### 3.2.1 Synthese der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure

Während die zum Aufbau der Hybridmoleküle mit C<sub>2</sub>-Linker benötigte 2-(Thymin-1-yl)essigsäure kommerziell erhältlich war, musste die 6-(Thymin-1-yl)hexansäure in einem gesonderten Syntheseverfahren hergestellt werden. Die Synthese erfolgte analog zu dem bereits von Keuser<sup>[125]</sup> verwendeten Verfahren zur Darstellung der 4-(Thymin-1-yl)buttersäure. Thymin **61** wurde mit der äquimolaren Menge an Natriumhydrid in DMF deprotoniert und nach einer Stunde rühren bei RT mit 6-Bromhexansäureethylester sowie einer Spatelspitze Tetrabutylammoniumiodid (TBAI) versetzt (s. Abb. 3.4, S. 62). Hierbei fand zunächst im Sinne einer Finkelstein-Reaktion am 6-Bromhexansäureethylester eine Substitution des Broms durch Iod statt. Dies führte zu einer Erhöhung der Ausbeute an 6-(Thymin-1-yl)hexansäureester **62**, da es sich bei Iodid um die bessere Abgangsgruppe handelt. Hierdurch wird folglich die nucleophile Substitution am Halogenhexansäureester erleichtert. Das gewünschte Produkt wurde mittels Säulenchromatographie isoliert.

Durch alkalische Hydrolyse mit 2M wässriger NaOH und anschließender Neutralisation mit 1M HCl wurde die freie Carbonsäure **63** quantitativ erhalten.

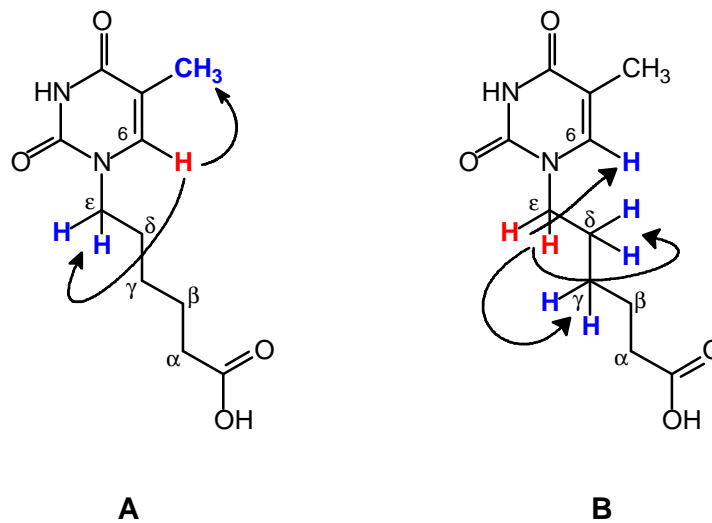


**Abb. 3.4:** Darstellung der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure **63**

### 3.2.2 Strukturaufklärung der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure

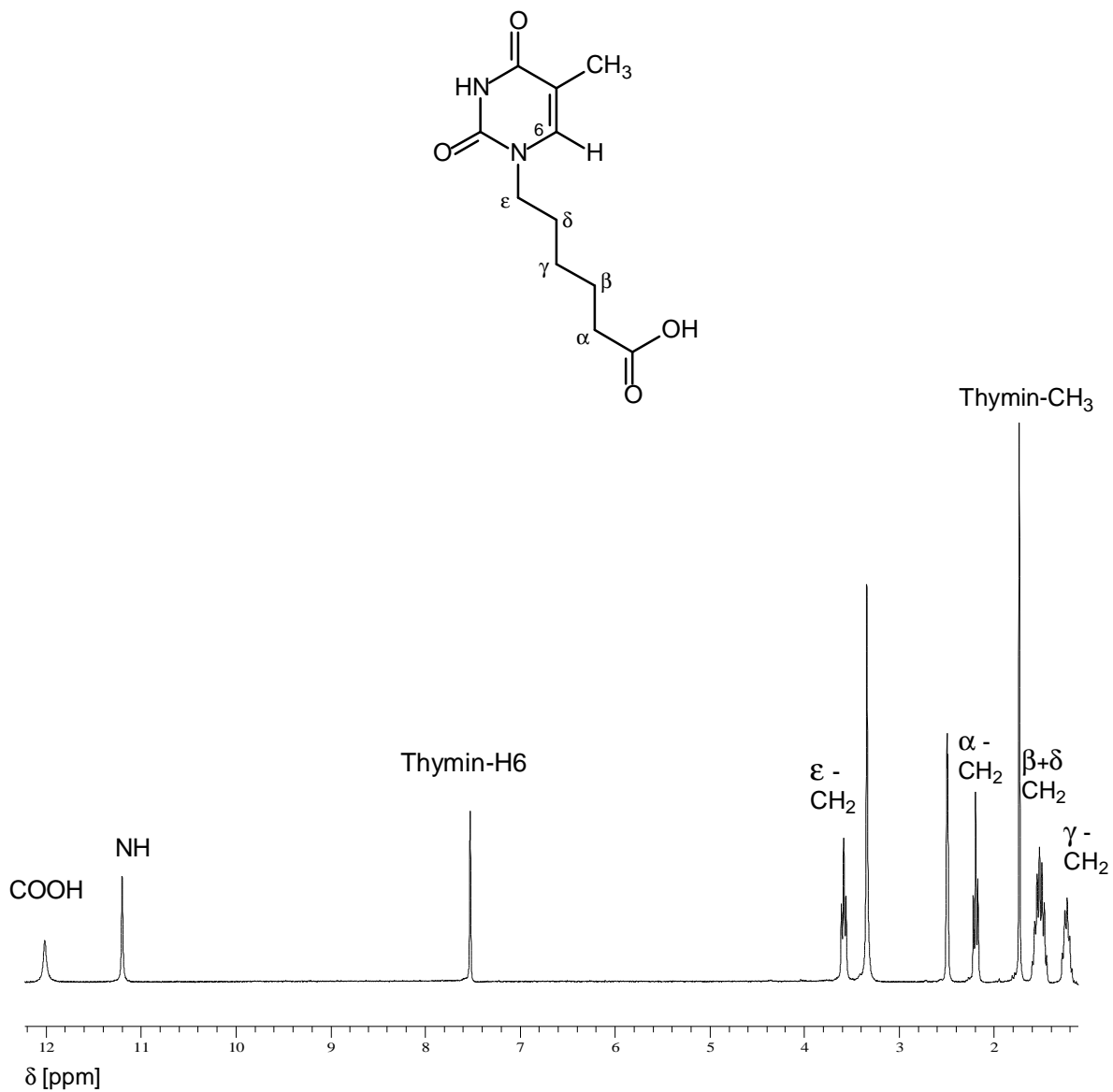
Da es sich bei Thymin **61** um ein ambidentes Nucleophil mit der zusätzlichen Problematik der Lactam-Lactim-Tautomerie handelt, stellte sich die Frage nach der Regiochemie der *N*-Alkylierung. Daher sollte mittels  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzanalyse die regioselektive *N*-1-Alkylierung bewiesen werden. Zunächst erfolgte die Aufnahme des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von Verbindung **63**, deren Signalzuordnung Abbildung 3.6, S. 64 zu entnehmen ist. In Abb. 3.7, S. 65 ist zu erkennen, dass durch Einstrahlen auf die Resonanzfrequenz von Thymin-H6 neben der zu erwartenden Signalintensivierung der Thymin- $\text{CH}_3$ -Gruppe auch ein NOE-Signal der  $\epsilon$ -Methylengruppe der Seitenkette auftritt. Konsequenterweise wurde auf die  $\epsilon$ -Methylengruppe eingestrahlt (s. Abb. 3.8, S. 65), wobei Thymin-H6 und die Protonen der  $\gamma$ - und  $\delta$ -Methylengruppe der Seitenkette eine Signalintensivierung zeigten. Somit konnte die *N*-1-Alkylierung eindeutig bewiesen werden, da es bei Vorliegen des *N*-3-alkylierten Regioisomeren

beim Einstrahlen auf Thymin-H6 lediglich zu einer Signalintensivierung der H-Atomkerne der Thymin-CH<sub>3</sub>-Gruppe hätte kommen dürfen, wohingegen ein Resonanzsignal der  $\epsilon$ -Methylengruppe aufgrund des zu großen räumlichen Abstandes der Seitenkette ( $> 3 \text{ \AA}$ ) nicht hätte auftreten dürfen.

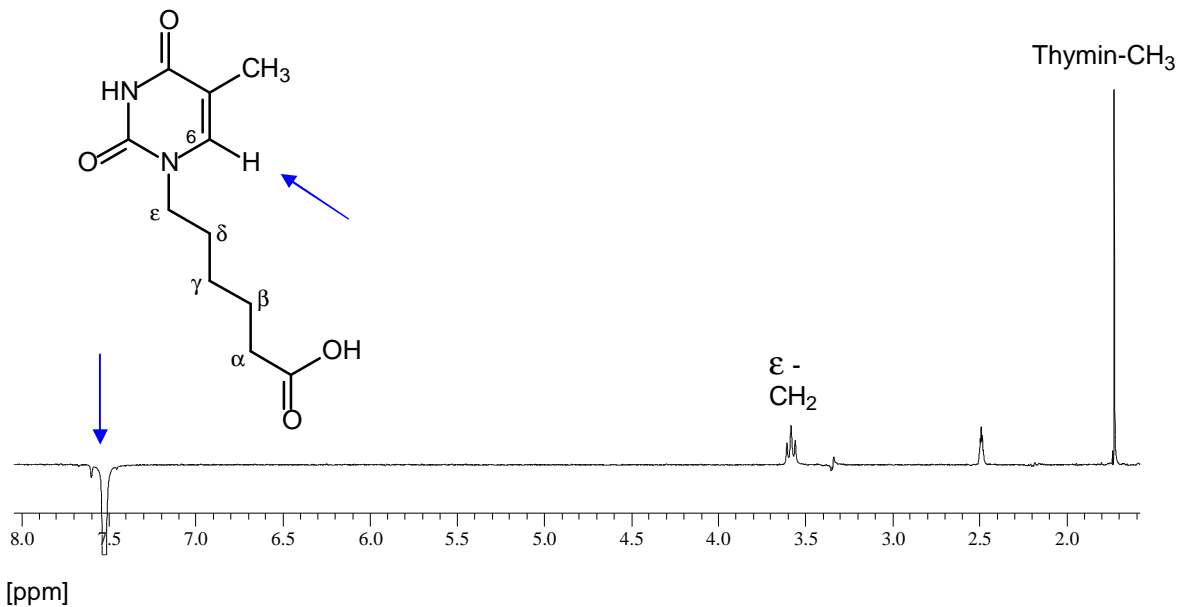


63

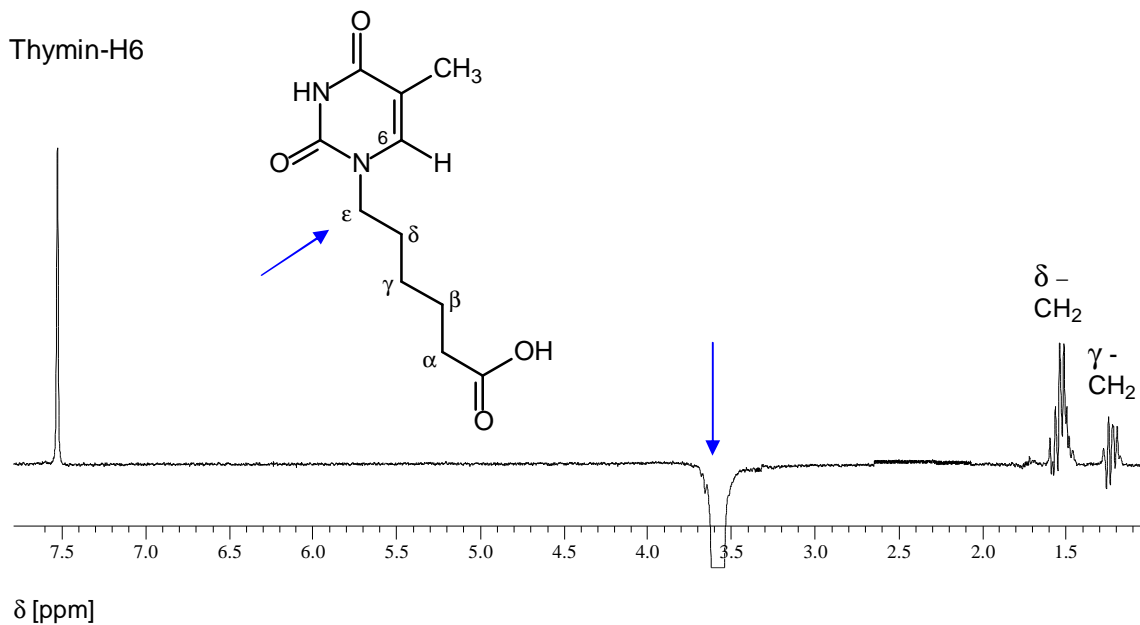
**Abb. 3.5:** **A:** resultierende NOE-Signale bei Einstrahlen auf Thymin-H6;  
**B:** resultierende NOE-Signale bei Einstrahlen auf die  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub>-Gruppe der Seitenkette



**Abb. 3.6:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 6-(Thymin-1-yl)hexansäure **63** (300 MHz); Lösungsmittel: DMSO- $d^6$



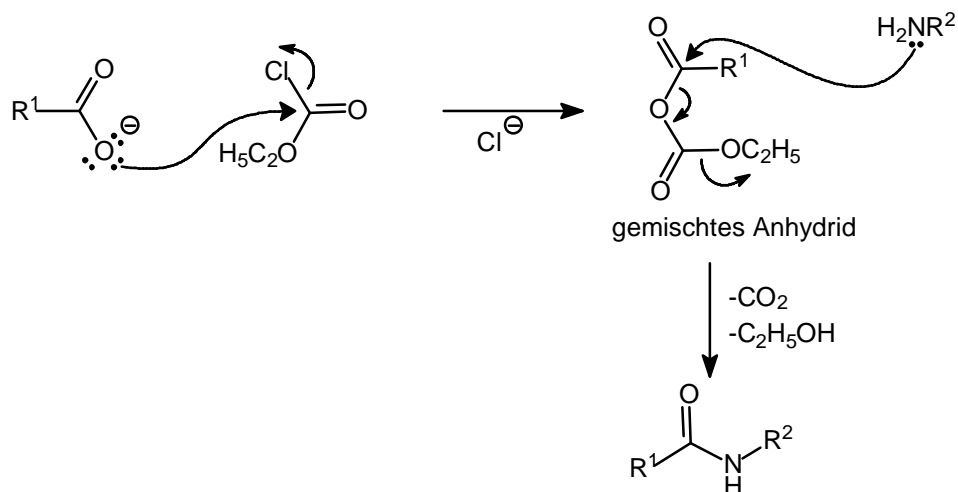
**Abb. 3.7:** <sup>1</sup>H-NOE-Differenzspektrum bei Einstrahlung auf Thymin-H6; es resultiert eine Signalintensivierung der Thymin-CH<sub>3</sub>- und ε-CH<sub>2</sub>-Gruppe der Seitenkette; Lösungsmittel: DMSO-d<sup>6</sup>



**Abb. 3.8:** <sup>1</sup>H-NOE-Differenzspektrum bei Einstrahlung auf die ε-CH<sub>2</sub>-Gruppe; es resultiert eine Signalintensivierung des Thymin-H6, sowie der γ- und δ-CH<sub>2</sub>-Gruppe der Seitenkette; Lösungsmittel: DMSO-d<sup>6</sup>

### 3.2.3 Amidkupplung der Thyminessigsäure mittels der Chlorameisensäureethylester-Methode <sup>[125, 137]</sup>

Zur Kupplung der 2-(Thymin-1-yl)essigsäure an das Mono- bzw. Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüst wurde die von Keuser <sup>[125]</sup> optimierte Chlorameisensäureethylester-Methode <sup>[137]</sup> verwendet (s. Abb. 3.13, S. 70).



**Abb. 3.9:** Reaktionsmechanismus der Amidkupplung mit Chlorameisensäureethylester über die reaktive Zwischenstufe eines gemischten Anhydrids

Bei dieser klassischen Methode sind separate Aktivierungs- und Aminolyseschritte erforderlich. Als Aktivierungsreagenz dient Chlorameisensäureethylester, der mit der Carbonsäure zu einem gemischten Carbonsäure-Kohlensäureanhydrid reagiert (s. Abb. 3.9). Die gemischten Kohlensäureanhydride sind durch ihre Kurzlebigkeit bei RT ausgezeichnet, weshalb die Aktivierungsreaktion bei einer Temperatur < -20°C durchgeführt werden muss. Im folgenden Schritt erfolgt die Aminolyse der aktivierten Zwischenstufe, bei der das Amin selektiv an der Carbonylgruppe der ursprünglichen Carbonsäurekomponente angreift (s. Abb. 3.9). Die Regioselektivität dieses Angriffs kann zum einen durch die energetisch bevorzugte Abspaltung von thermodynamisch stabilem CO<sub>2</sub> als guter Abgangsgruppe und Ethanol u. a. durch die positive Entropiebilanz begründet werden, zum anderen wird die C-Carbonylreaktivität des Kohlensäureester-Strukturelementes durch den positiven mesomeren Effekt der Ethoxygruppe reduziert. Diese Überlegungen bestätigen die Tatsache, dass die ebenfalls

denkbare, alternative Bildung eines Urethans durch Angriff an der Kohlensäureester-Carbonylgruppe (unter diesen Bedingungen) nicht beobachtet wird <sup>[138]</sup>.

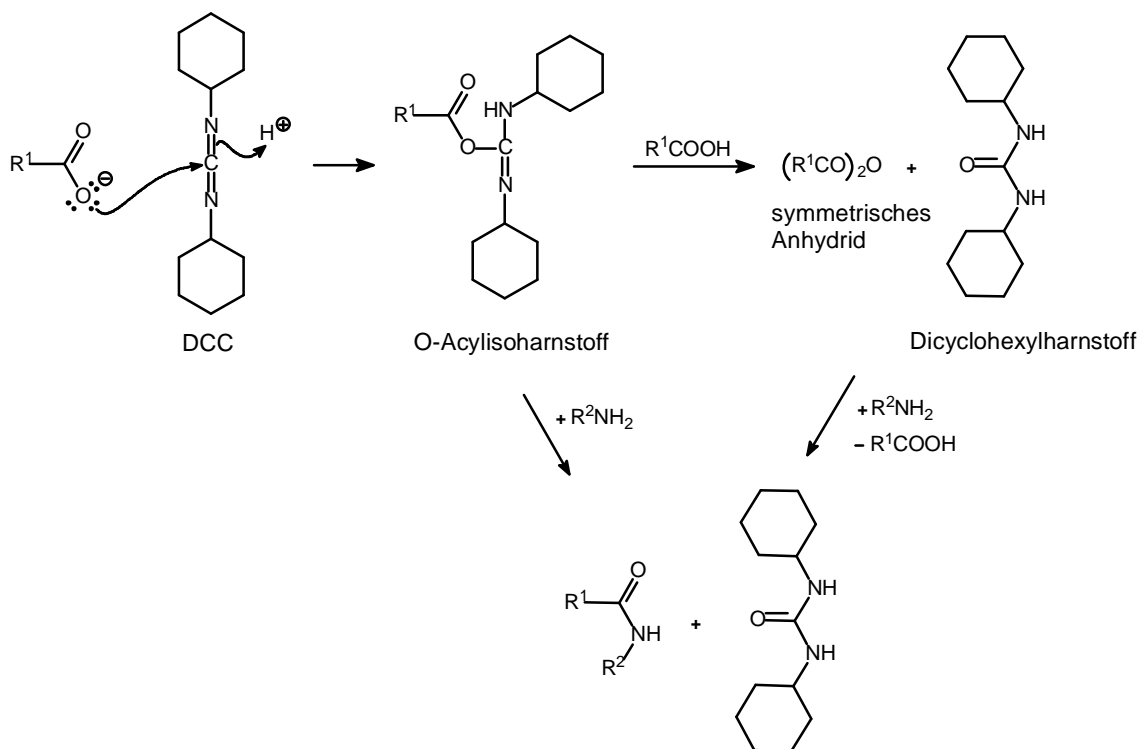
Zur Kupplung der 2-(Thymin-1-yl)essigsäure (Fa. Aldrich) wurde diese in DMF gelöst und mit Chlorameisensäureethylester bei -20°C zum aktivierten Anhydrid umgesetzt. Anschließende Aminolyse mit dem entsprechenden Amin, das zuvor durch Reduktion des zugehörigen Nitropyrrolcarboxamid-Derivates mit Palladium(10 %)/Aktivkohle unter Wasserstoffatmosphäre *in situ* erzeugt wurde, führte zu den gewünschten Thyminacetylpyrrolcarboxamiden **64** u. **65** (s. Abb. 3.13, S. 70 u. Tab. 3.1, S. 71), welche durch säulenchromatographische Aufreinigung über Kieselgel in Ausbeuten bis zu 41 % isoliert wurden <sup>[125, 137]</sup>.

### **3.2.4 Amidkupplung der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure mittels Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) <sup>[139]</sup>**

Die unter 3.2.3, S. 66 beschriebene Chlorameisensäureethylester-Methode führte bei der Darstellung des Thyminhexanoylbispyrrolcarboxamids **66** (s. Tab. 3.1, S. 71) nur zu einer sehr geringen Ausbeute (< 10 %). Demzufolge wurde auf die bereits 1955 von Sheehan und Hees eingeführte und seither sehr häufig verwendete DCC-Peptidkupplungsmethode zurückgegriffen <sup>[138]</sup>.

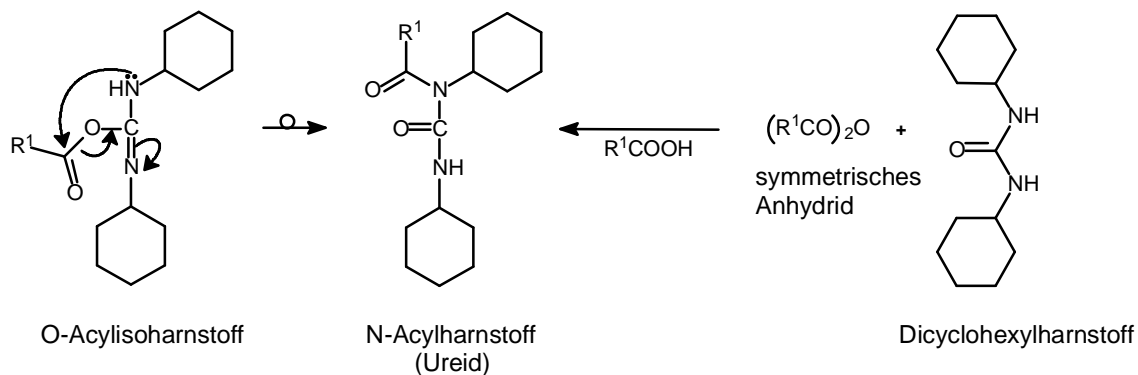
Bei diesem bewährten Verfahren bildet sich mechanistisch betrachtet im primären Aktivierungsschritt durch nucleophile Addition des vorliegenden Carboxylat-Anions an die Carbodiimidfunktion ein O-Acylisoharnstoff-Derivat, welches als effizientes Acylierungsmittel anzusehen ist. Durch rasche Aminolyse oder über die Zwischenstufe eines symmetrischen Anhydrids kommt es zur Bildung des entsprechenden Carbonsäureamids. Als Nebenprodukt entsteht gleichzeitig Dicyclohexylharnstoff, dessen Abtrennung sich aufgrund seiner geringen Löslichkeit in den meisten Lösungsmitteln relativ einfach gestaltet (s. Abb. 3.10, S. 68) <sup>[138]</sup>.





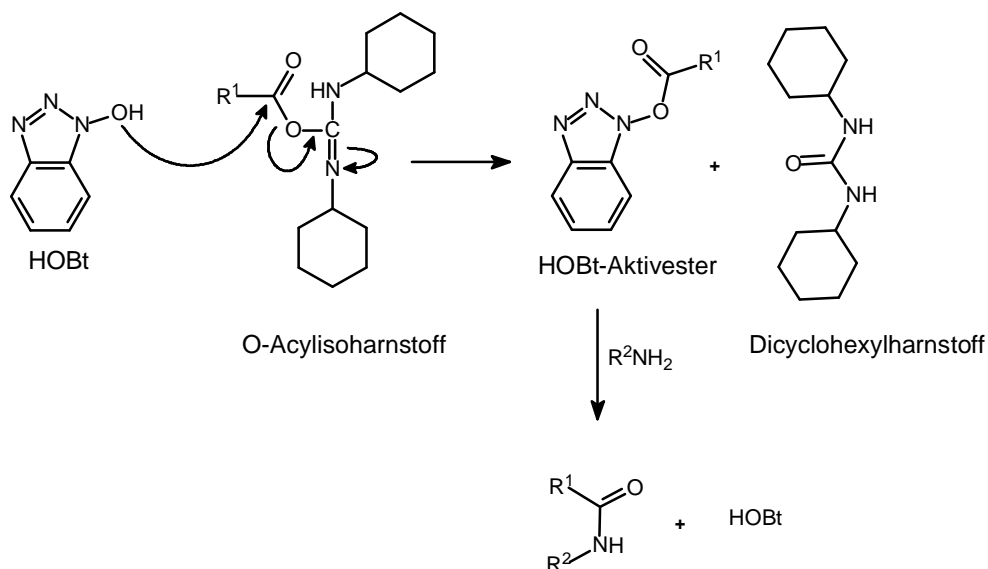
**Abb. 3.10:** Reaktionsmechanismus der Amidkupplung mit DCC durch direkte Aminolyse des O-Acylisourea-Derivates sowie über die intermediäre Bildung eines symmetrischen Anhydrids

Die in Abbildung 3.10 dargestellten Zwischenstufen führen aufgrund ihrer hohen Reaktivität zu einer störenden Nebenreaktion. Sowohl durch intramolekularen Acyltransfer innerhalb des O-Acylisourea-Derivates als auch durch eine intermolekulare Reaktion zwischen Dicyclohexylharnstoff und einem symmetrischen Anhydrid erfolgt die Bildung des wenig reaktiven *N*-Acylharnstoffs (Ureid) (s. Abb. 3.11, S. 69), was neben einem Ausbeuteverlust zu Schwierigkeiten bei der weiteren Aufarbeitung führt [138].



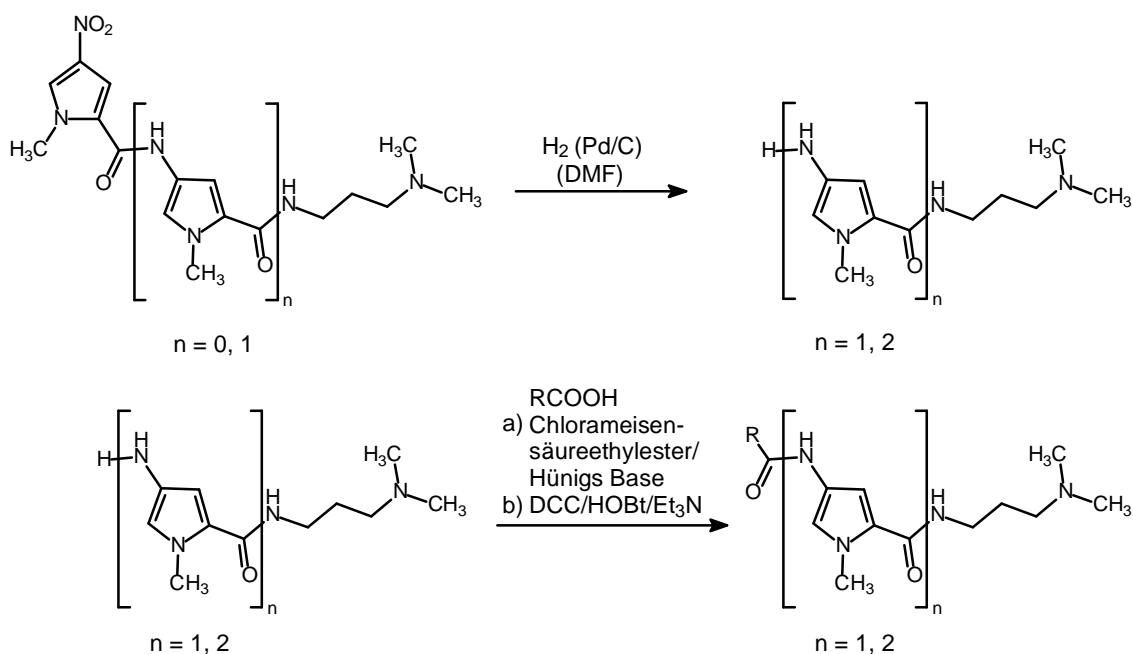
**Abb. 3.11:** Bildung des *N*-Acylharnstoffs durch intra- und intermolekulare Reaktion

Die Ureid-Bildung kann durch Zusatz einer äquimolaren Menge an 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) weitestgehend vermieden werden. HOBt reagiert als  $\alpha$ -Nucleophil bereits vor dem Auftreten von unerwünschten Nebenreaktionen mit O-Acylisoharnstoff zu einem Hydroxybenzotriazol-Aktivester, bei dem es sich zwar um ein schwächeres Acylierungsmittel handelt, der jedoch eine hinreichende Reaktivität für die aminolytische Umsetzung aufweist (s. Abb. 3.12) <sup>[138]</sup>.

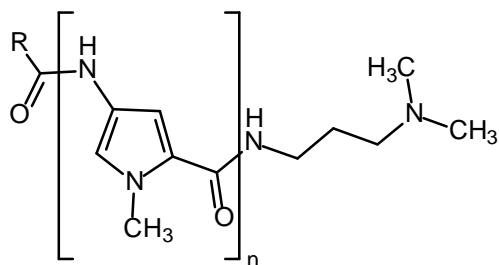


**Abb. 3.12:** Bildung des HOBt-Aktivesters und anschließende Aminolyse zum gewünschten Carbonsäureamid

Dieses Verfahren konnte nach Durchführung einiger Modifizierungen bezüglich Lösungsmittelart und -menge sowie Reaktionszeit und -temperatur erfolgreich für die Darstellung des Thyminhexanoylbispyrrolcarboxamids **66** (s. Tab. 3.1, S. 71) eingesetzt werden. Zur Aktivierung der 6-(Thymin-1-yl)hexansäure **63** wurde diese zunächst mit DCC und der äquimolaren Menge an HOBT in Methylchlorid suspendiert und 1 h bei 0°C gerührt. Das entsprechende Amin wurde wie zuvor schon beschrieben durch Reduktion des Nitrobispyrrolcarboxamids mittels Palladium(10 %)/Aktivkohle unter Wasserstoffatmosphäre *in situ* hergestellt und nach Ergänzen von Triethylamin mit der aktivierten Carbonsäure zum gewünschten Thyminhexanoylcarboxamid **66** umgesetzt (s. Abb. 3.13) <sup>[139]</sup>. Der während der Reaktion ausgefallene Dicyclohexylharnstoff konnte durch Filtration weitestgehend abgetrennt werden. Das reine Endprodukt wurde durch Säulenchromatographie isoliert.



**Abb. 3.13:** Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung der Thyminalkanoylpyrrolcarboxamide; a) R = Thyminmethylen-Rest, b) R = Thyminpentamethylen-Rest



R	n	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
	1	37	<b>64</b>
	2	41	<b>65</b>
	2	46	<b>66</b>

**Tabelle 3.1:** Übersicht der synthetisierten Thyminalkanoylpyrrolcarboxamide

Nachdem die von Keuser <sup>[125]</sup> erstmals synthetisierten Nucleobasen-gekoppelten Pyrrolcarboxamide weder bei den biochemischen/biophysikalischen Assays noch im NCI-Zytotoxizitäts-Screening eine ausreichende Aktivität aufwiesen (s. Kap. 2.1, S. 45), konnte den ersten Zwischenergebnissen zufolge (s. Kap. 4.2, S. 138) auch mit den im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Thymin-gekoppelten Derivaten **64**, **65** und **66** (s. Tab. 3.1, S. 71) keine Verbesserung durch die Kettenlängen-Variation im *N*-terminalen Bereich erzielt werden. Diesbezüglich erschien es wenig sinnvoll, die Synthese der Nucleobasen-gekoppelten Pyrrolcarboxamide fortzusetzen bzw. weitere Varianten zu produzieren.

Daher sollte im weiteren Verlauf dieser Arbeit - wie eingangs beschrieben (s. Kap. 1.7, S. 42 u. Kap. 2.2, S. 47) - unter Verwendung von Thiophen, Thiazol und Imidazol als heteroaromatische Strukturkomponenten im rinnenbindenden Molekülteil der Aufbau einer neuen Serie von Combilexinen nach dem Bioisoterie-Konzept erfolgen. Als *N*-terminale Funktion wurden die bereits von Keuser <sup>[125]</sup> zur Darstellung von Comilexinen mit Pyrrolcarboxamidgrundgerüst verwendeten tricyclischen Aromaten ((5-Nitro)-Naphthalimid, Acridon, Anthrachinon) sowie das im Arbeitskreis Pindur synthetisierte Pyrido[2,3-*a*]carbazol ausgewählt (s. Kap. 2.2.3, S. 53).

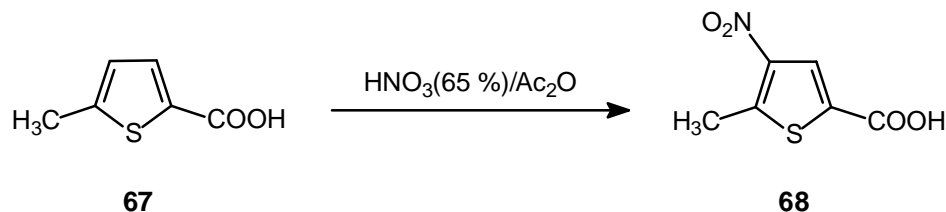
Im Folgenden soll insbesondere auf die Synthese der heterocyclischen Fünfring-Grundgerüste sowie den systematischen Aufbau der Combilexine eingegangen werden. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass die hierzu in der Literatur beschriebenen Analog-Verfahren oftmals sehr ungenau und nicht reproduzierbar waren, weshalb es in den meisten Fällen erforderlich war *de-novo*-Synthesen zu entwickeln. Hierbei stellte die Testung verschiedenster Kupplungsreagenzien aus der präparativen Peptidchemie zur Verknüpfung der einzelnen Bausteine einen wesentlichen Schwerpunkt dar.

### 3.3 Synthese und Strukturaufklärung des Thiophenpyrrolcarboxamids

#### 3.3.1 Synthese und Strukturaufklärung der 5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure

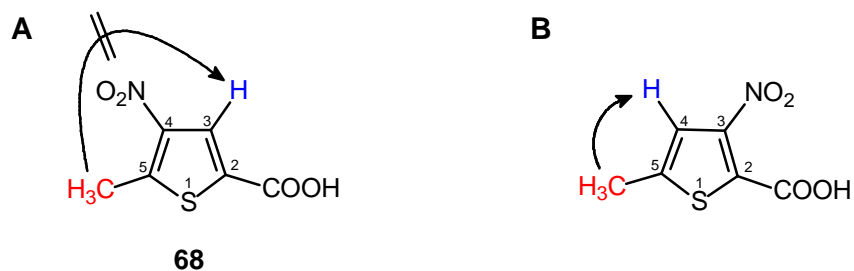
Die zum Aufbau des gewünschten Thiophenpyrrolcarboxamids **69** (S. 75) benötigte 5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure **68** sollte durch regioselektive Nitrierung der kommerziell erhältlichen 5-Methyl-2-thiophencarbonsäure **67** an 4-Position hergestellt werden (s. Abb. 3.14, S. 74). Die Suche nach einem geeigneten Nitrierungsreagenz gestaltete sich sehr schwierig, da die in der Literatur bereits bekannten Methoden aufgrund unpräziser Angaben nicht reproduzierbar und folglich auf die Darstellung von **68** nicht übertragbar waren. Aus diesem Grund wurde zunächst die milde und zudem hochselektive Nitroniumtetrafluoroborat-Methode<sup>[140]</sup> angewendet, bei der das als elektrophile Agens angreifende Nitroniumkation direkt in Lösung vorliegt. Mit diesem Verfahren konnte jedoch keine ausreichende Umsetzung erzielt werden, was vermutlich auf die geringe Löslichkeit der 5-Methyl-2-thiophencarbonsäure **67** in Sulfolan als verwendetem Lösungsmittel zurückzuführen ist.

Anschließend wurde basierend auf der patentierten Nitrierung der 5-Methyl-2-thiophencarbonsäure **67** nach Rinkes<sup>[141, 142]</sup> versucht die Nitrogruppe mittels *in situ* aus rauchender HNO<sub>3</sub> in Gegenwart von Acetanhydrid hergestelltem Nitroniumacetat einzuführen. Die Temperatur sollte dabei -5°C nicht überschreiten, da es ansonsten unter Decarboxylierung zur Bildung von 2-Methyl-5-nitro- sowie 2-Methyl-3,5-dinitrothiophen kommt<sup>[143]</sup>. Trotz Einhaltung der Reaktionsbedingungen gelang nicht, das gewünschte Produkt zu isolieren. Erfolgreicher war die bereits zur Nitrierung des Pyrrolbausteins (s. Kap. 3.1.1, S. 58) eingesetzte Methode mittels *in situ* aus HNO<sub>3</sub> (65 %)/Acetanhydrid erzeugtem Nitroniumacetat. Durch anschließende Flash-Chromatographie konnte die 5-Methyl-4-nitrothiophencarbonsäure **68** in einer Ausbeute von 60 % isoliert werden. Die erzielte Ausbeute unter Verwendung 65 %iger HNO<sub>3</sub> war somit wesentlich höher als die bei dem Verfahren nach Rinkes<sup>[143]</sup> angegebene Ausbeute (39 %) mit rauchender HNO<sub>3</sub>.



**Abb. 3.14:** Darstellung der 5-Methyl-4-nitro-2-thiophencarbonsäure **68**

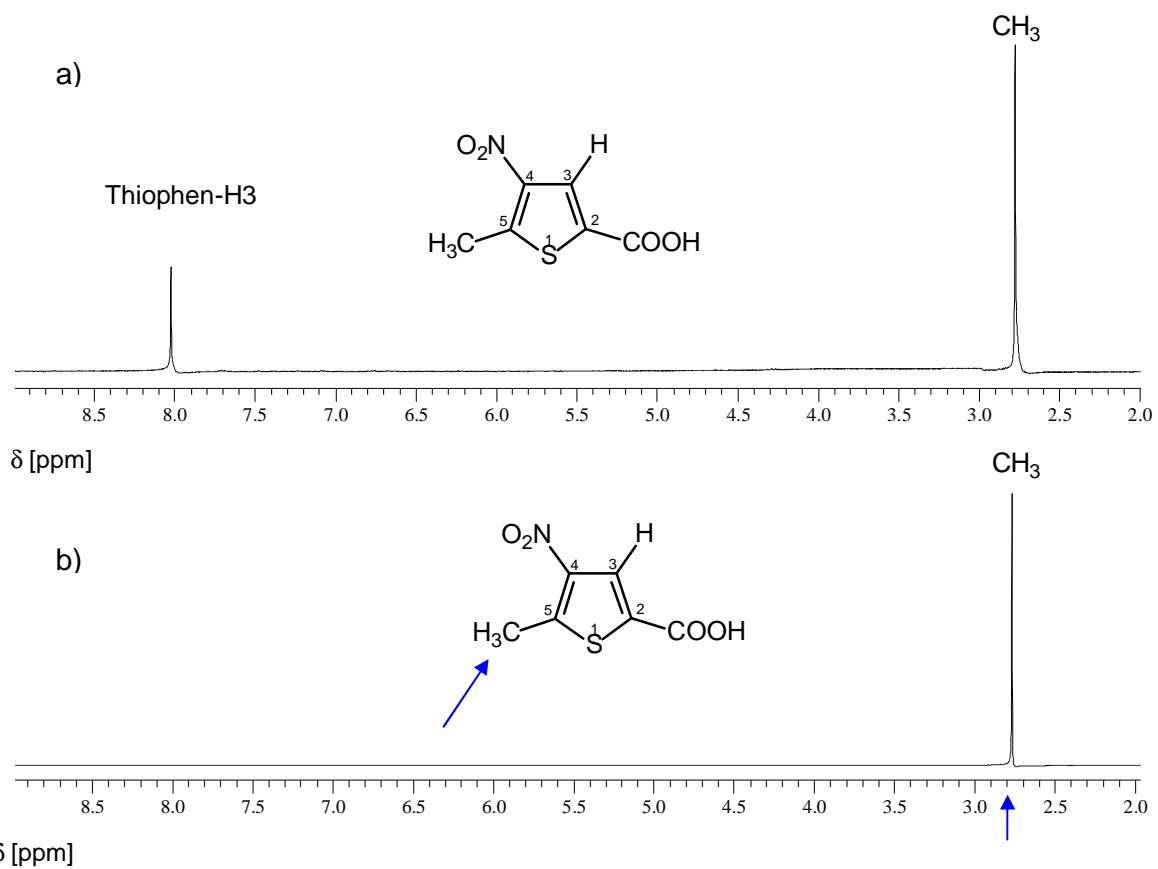
Die regioselektive Nitrierung an 4-Position des Thiophen-Bausteins sollte durch eine  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzanalyse im Sinne einer Negativanalyse bewiesen werden. Während beim Einstrahlen auf die Resonanzfrequenz der 5-Methylgruppe bei Vorliegen des 4-Nitro-Derivates **68** kein NOE-Signal zu erwarten sein dürfte, sollte es im Falle einer 3-Nitrierung zu einer Signalintensivierung für Thiophen-H4 kommen (s. Abb. 3.15).



**Abb. 3.15:** Zu erwartendes Ergebnis des  $^1\text{H}$ -NOE-Experimentes beim Einstrahlen auf die  $\text{CH}_3$ -Gruppe:

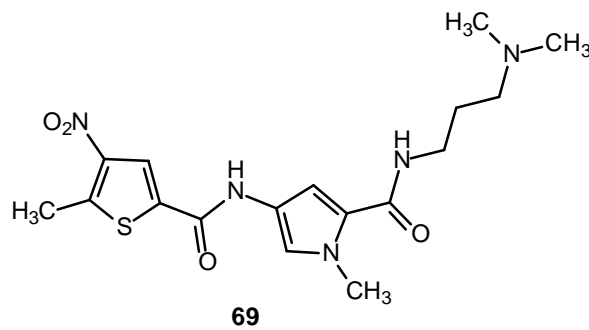
- A:** 4-Nitro-Derivat **68**: kein NOE-Signal zu erwarten,
- B:** 3-Nitro-Derivat: Signalintensivierung für Thiophen-H4 zu erwarten

Wie Abbildung 3.16, S. 75 zu entnehmen ist, trat bei Einstrahlung auf die Methylgruppe kein NOE-Signal auf, wodurch die regioselektive Nitrierung an 4-Position eindeutig bewiesen war. Hierbei sei angemerkt, dass eine Nitrierung an 3-Position aufgrund des vorliegenden Substitutionsmusters unwahrscheinlich ist, da Thiophen-C3 gegenüber Thiophen-C4 durch den von der benachbarten Carboxylgruppe hervorgerufenen negativen mesomeren Effekt eine geringere Elektronendichte aufweist und somit einem elektrophilen Angriff weniger leicht zugänglich ist. Die Methylgruppe an Thiophen-C5 hingegen übt einen positiven induktiven Effekt aus, wodurch die elektrophile Substitution an Position 4 zusätzlich erleichtert wird.



**Abb. 3.16:** a)  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **68** (300 MHz); Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}^6$   
 b)  $^1\text{H-NOE}$ -Differenzspektrum für Verbindung **68** bei Einstrahlen auf die  $\text{CH}_3$ -Gruppe; Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}^6$

### 3.3.2 Testung und Auswahl eines geeigneten Kupplungsverfahrens zur Darstellung des Thiophenpyrrolcarboxamids





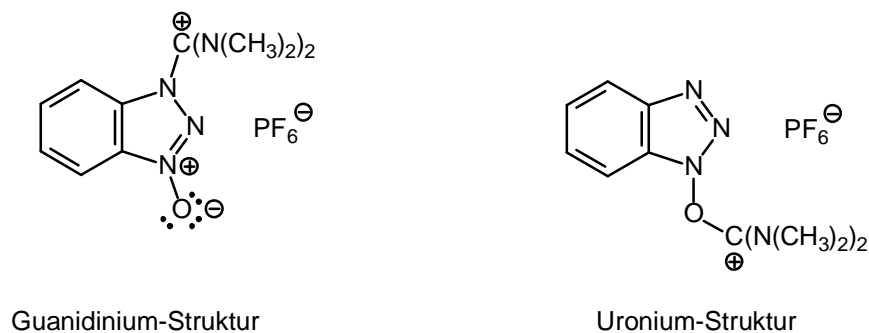
Da es sich bei dem auf Seite 75 abgebildeten Thiophenpyrrolcarboxamid **69** um eine in der Literatur unbekannte Verbindung handelt, war zum Aufbau dieses Grundgerüsts die Erarbeitung einer *de-novo*-Synthese erforderlich. Schwerpunkt dabei war die Suche nach einem geeigneten Kupplungsverfahren aus der Peptidchemie, um die beiden Heterocyclen (Thiophen und Pyrrol) amidisch miteinander zu verknüpfen. Im Folgenden sollen die getesteten Methoden näher erläutert werden.

### 3.3.2.1 Chlorameisensäureethylester-Methode <sup>[137, 138]</sup>

Mit dieser bereits in Kapitel 3.2.3, S. 66 besprochenen Methode konnte auch nach Durchführung verschiedener Modifizierungen in Bezug auf die eingesetzten Mengen an Kupplungsreagenz und Lösungsmittel nur eine unbefriedigende Ausbeute (15 %) erzielt werden.

### 3.3.2.2 O-Benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat-Methode (HBTU) <sup>[98]</sup>

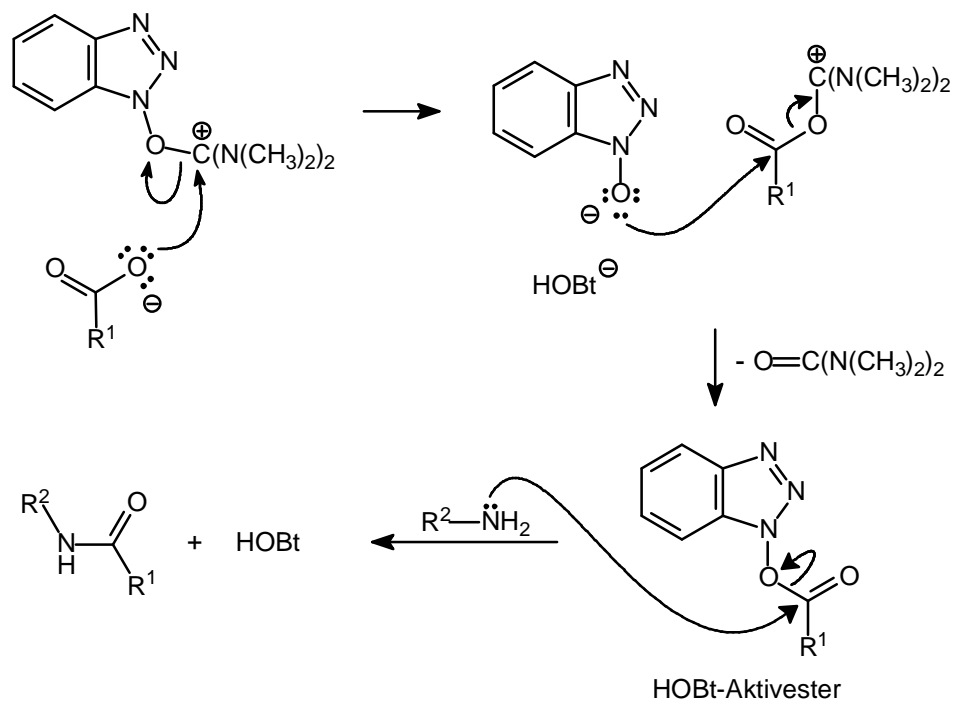
Dieses Kupplungsreagenz gehört zur Gruppe der sogenannten Uroniumreagenzien, die in den letzten Jahren in der Peptidchemie immer häufiger Verwendung finden. Ursprünglich wurde dieses Kupplungsreagenz ausschließlich als Uroniumverbindung formuliert <sup>[138]</sup>. Neuere Studien der Forschergruppe um Carpino (University of Massachusetts, USA) zeigten jedoch, dass es sich sowohl im kristallinen als auch im flüssigen Zustand um Guanidinium-Derivate handelt (s. Abb. 3.17) <sup>[144]</sup>.



**Abb. 3.17:** Guanidinium- und Uronium-Struktur von HBTU

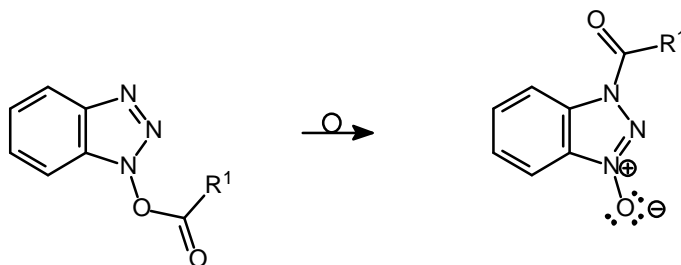
Der gleichen Arbeitsgruppe ist es jedoch gelungen, durch gezielte Synthese das Uronium-Isomere darzustellen. Dies ist insofern von großer Bedeutung, da es sich bei dem Uronium-Verbindung um das wesentlich effizientere Kupplungsreagenz handelt <sup>[144]</sup>.

Wie in Abbildung 3.18 zu erkennen ist, erfolgt im ersten Schritt durch nucleophilen Angriff eines Carboxylat-Sauerstoffs am Uronium-Kohlenstoff die Bildung des entsprechenden O-Acylisouronium-Kations, an dem das in basischer Lösung als Anion vorliegende HOBt nucleophil angreift. Dabei bildet sich ein Benzotriazol-1-ylester (HOBt-Aktivester), der gegenüber Nucleophilen hochreaktiv ist und durch rasche Aminolyse unter Abspaltung von HOBt zum gewünschten Carbonsäureamid reagiert <sup>[138]</sup>.



**Abb. 3.18:** Reaktionsmechanismus der Amidkupplung mittels HBTU

Zur Aktivierung der Carbonsäure wurde eine Lösung aus der Thiophencarbonsäure **68** (s. Abb. 3.14, S. 74), HBTU und Hünigs Base in DMF hergestellt und 10 min. bei RT gerührt. Eine längere Aktivierungszeit würde durch Umlagerung zur Bildung des gegenüber nucleophilen Angriffen weitgehend stabilen *N*-Acyl-Derivates <sup>[145]</sup> (s. Abb. 3.19) und somit zu einem erheblichen Ausbeuteverlust führen. Durch Zugabe einer Mischung des 4-Aminopyrrolbausteins **59** (s. Abb. 3.3, S. 60), der zuvor durch Reduktion des zugehörigen 4-Nitropyrrolcarboxamids **58** erhalten wurde (s. Abb. 3.3, S. 60), und Hünigs Base sollte nach 16 h rühren bei RT das gewünschte Thiophenpyrrolcarboxamid **69** (s. S. 75) erhalten werden. Weder die aufgeführte Reaktionsdurchführung noch Modifikationen des Verfahrens bezüglich der Menge der eingesetzten Komponenten und der Temperatur führten zum Zielmolekül.

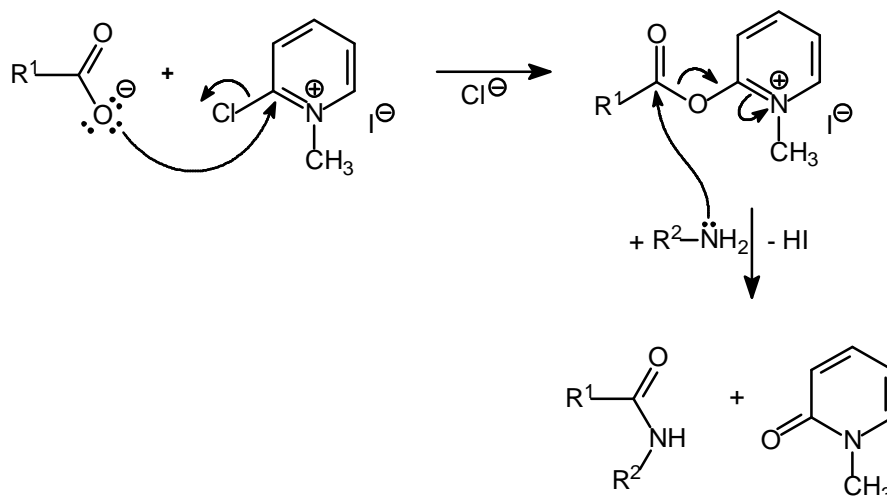


**Abb. 3.19:** Umlagerung des HOBT-Aktivesters zum wenig reaktiven *N*-Acylderivat

### 3.3.2.3 1-Methyl-2-chlorpyridiniumiodid-Methode nach Mukaiyama <sup>[146]</sup>

Bei der Methode nach Mukaiyama erfolgt zunächst eine nucleophile Substitution des Chloratoms am 1-Methyl-2-chlorpyridiniumiodid durch das in Lösung vorliegende Carboxylatanion der Carbonsäure. In dem auf diese Weise gebildeten O-acylierten 2-Hydroxypyridinium-Salz liegt die Carbonsäure in aktivierter Form vor und ist einem Angriff durch Nucleophile leicht zugänglich. Bei der anschließenden Aminolyse sollte neben dem 1-Methyl- $\alpha$ -pyridon das gewünschte Amid entstehen (s. Abb. 3.20, S. 79)

<sup>[146]</sup>



**Abb. 3.20:** Reaktionsmechanismus der Amidkupplung nach Mukaiyama

Eine Mischung aus Thiophencarbonsäure **68**, 1-Methyl-2-chlorpyridiniumiodid, Tri-*N*-Butylamin und 4-Aminopyrrolcarboxamid **59** in wasserfreiem Methylenechlorid wurde 1 h unter Rückfluss erhitzt <sup>[146]</sup>. Auch nach mehrstündigem Erhitzen konnte keine Umsetzung zum Thiophenpyrrolcarboxamid **69** (s. S. 75) beobachtet werden.

### 3.3.2.4 Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)- / 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)-Methode <sup>[138, 139]</sup>

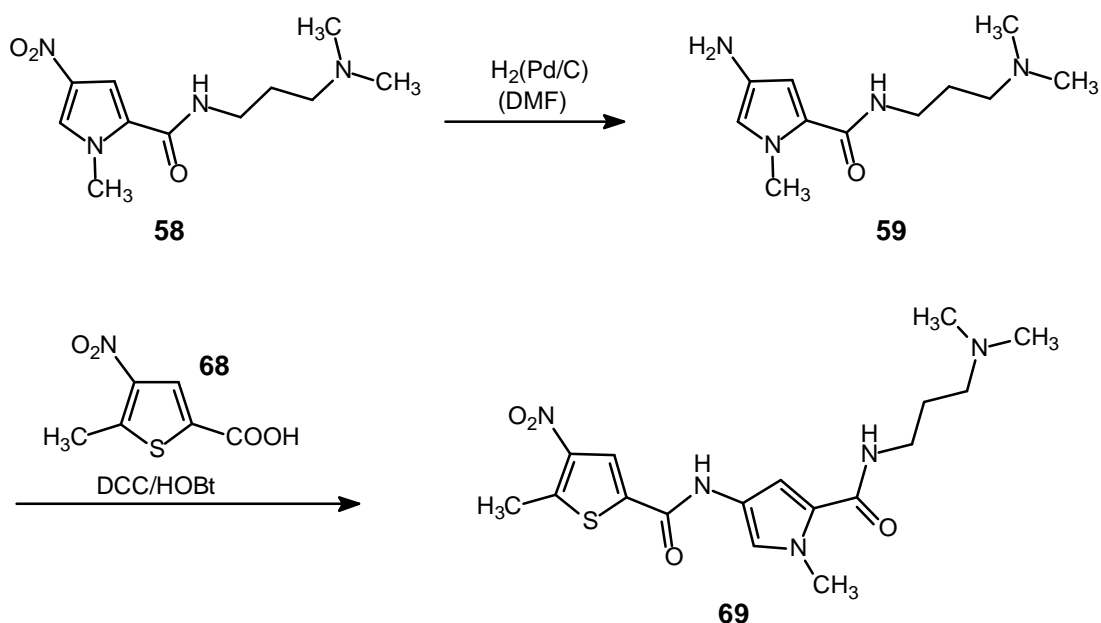
Nachdem keines der bisher zur Darstellung des Thiophenpyrrolcarboxamids **69** (s. S. 75) getesteten Kupplungsverfahren zu einer für die weiteren Arbeiten ausreichenden Umsetzung führte, wurde die bereits in Kapitel 3.2.4, S. 67 beschriebene und zur Synthese des Thyminhexanoylbispyrrolcarboxamids **66** erfolgreich eingesetzte DCC/HOBt-Methode <sup>[138]</sup> verwendet. Die mithilfe dieses Verfahrens erzielte Ausbeute war sehr zufrieden stellend und lag wesentlich höher als bei der Chlorameisensäure-ethylester-Methode (s. Kap. 3.3.2.1, S. 76), weshalb an dieser Stelle auf die Testung weiterer Kupplungsreagenzien verzichtet wurde. Des Weiteren sei darauf hingewiesen, dass auch die Ausbeute des nach Hotzel <sup>[122]</sup> hergestellten Bispyrrolcarboxamids **60** (s. Kap. 3.1.1, S. 58 ff.) übertroffen wurde (s. Tab. 3.2, S. 80).

Verbindung	Methode	Ausbeute [%]
<b>69</b>	DCC/HOBt	56
<b>69</b>	Chlorameisensäure-ethylester	15
<b>60</b>	Hotzel <sup>[122]</sup>	38

**Tabelle 3.2:** Vergleich der Ausbeute unterschiedlicher Kupplungsverfahren

### 3.3.3 Synthese des Thiophenpyrrolcarboxamids

Durch Aminolyse der mittels DCC/HOBt aktivierten Thiophencarbonsäure **68** mit dem Aminopyrrolcarboxamid **59**, welches zuvor durch Reduktion des Nitropyrrolcarboxamids **58** (s. Kap. 3.1.1, S. 58) mit Wasserstoff in Gegenwart von Palladium(10 %)/Aktivkohle hergestellt wurde, gelang es, das gewünschte Produkt durch anschließende Säulenchromatographie in einer Ausbeute von 56 % zu isolieren <sup>[138]</sup> (s. Abb. 3.21).

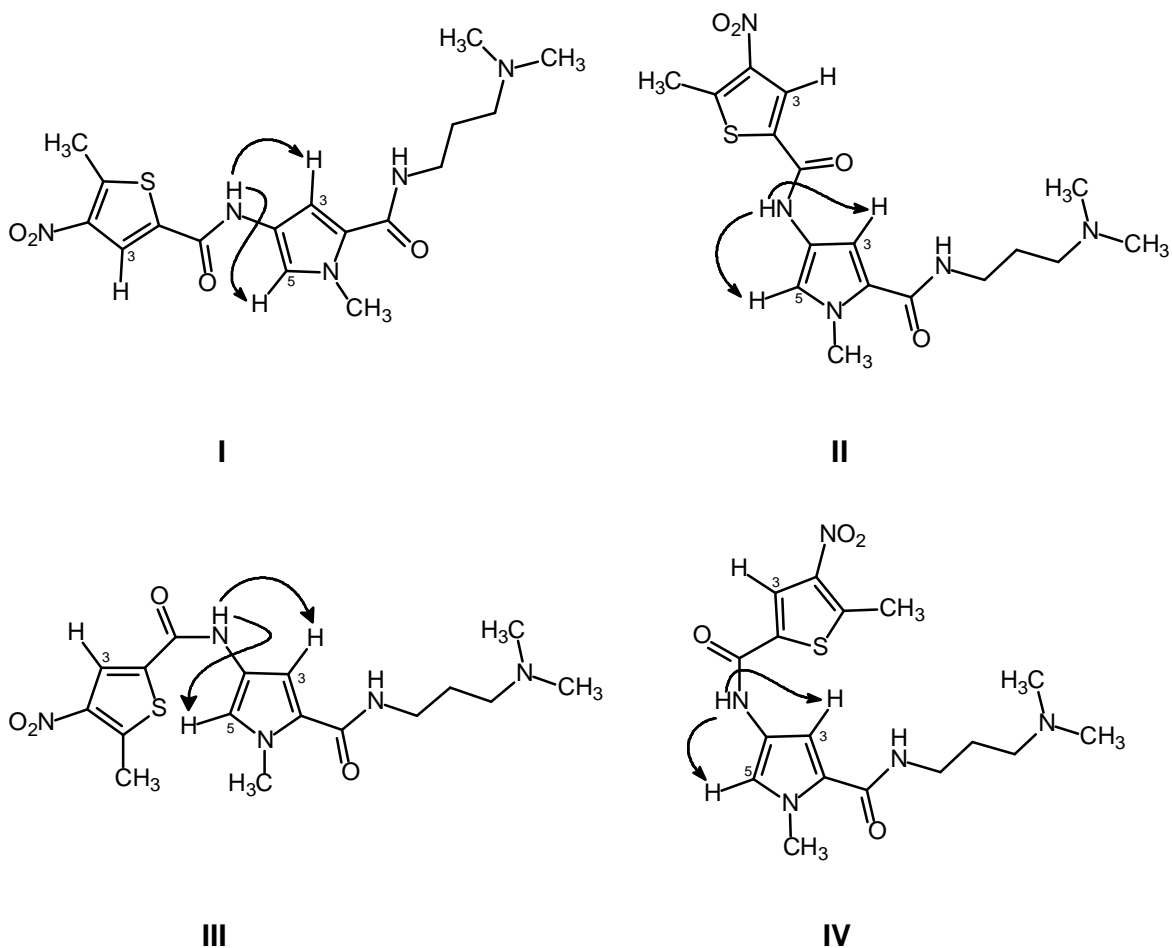


**Abb. 3.21:** Darstellung des Thiophenpyrrolcarboxamids **69** durch Amidkupplung von **59** und **68** mittels DCC/HOBt

### 3.3.4 Strukturaufklärung des Thiophenpyrrolcarboxamids

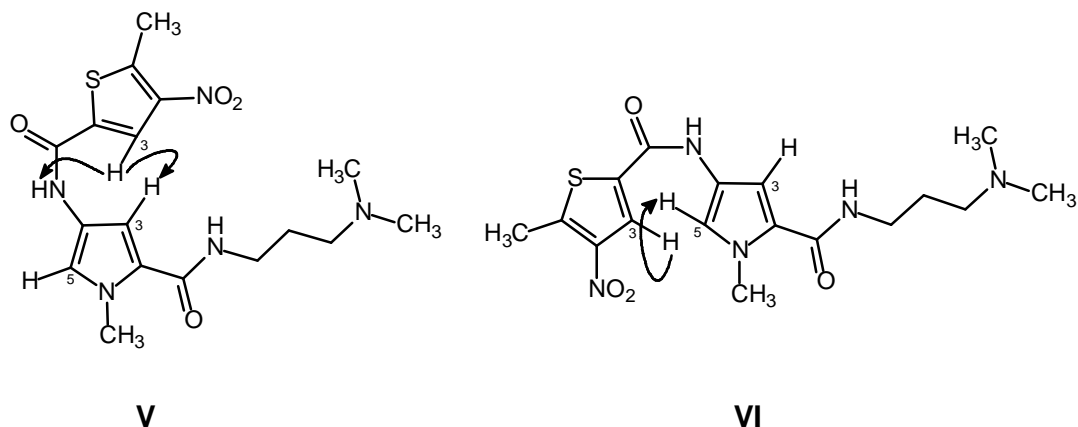
Um eine Aussage über die Lage des in Lösung vorliegenden Konformationsgleichgewichtes (u. a. „Stellung“ der beiden Fünfringhetarene) von Verbindung **69** machen zu können, wurde erneut die  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzanalyse herangezogen. Abbildung 3.25, S. 84 zeigt die Signalzuordnung des ermittelten  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums des Thiophenpyrrolcarboxamids **69**. Die Zuordnung der Protonen des *N*-Methylpyrrols sowie der C-terminalen *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Seitenkette von Verbindung **69** erfolgte analog zu den von Hotzel <sup>[122]</sup> bereits durchgeführten, vororientierenden  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopischen Untersuchungen an Pyrrolcarboxamiden mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion, die eine nahezu identische chemische Verschiebung zeigten. Demzufolge musste es sich bei den Signalen mit einer chemischen Verschiebung von  $\delta[\text{ppm}] = 2.77$  und  $\delta[\text{ppm}] = 8.48$  zwangsläufig um die Resonanzen von Thiophen- $\text{CH}_3$  bzw. Thiophen-H3 handeln.

Zunächst wurde auf die Resonanzfrequenz des diagnostisch relevanten Amid-Protons zwischen den beiden Hetarenen eingestrahlt, wobei neben Pyrrol-H3 und Pyrrol-H5 auch bei Thiophen-H3 eine Signalintensivierung zu beobachten war (s. Abb. 3.26, S. 85). Aufgrund dieser Ergebnislage konnten die in Abbildung 3.22, S. 82 dargestellten Konformationen I-IV im Rahmen der NMR-Nachweisgrenze ausgeschlossen werden, da bei einer im Sinne der NMR-Zeitskala ausreichenden Population der vier Strukturen kein NOE-Signal für Thiophen-H3 hätte auftreten dürfen.



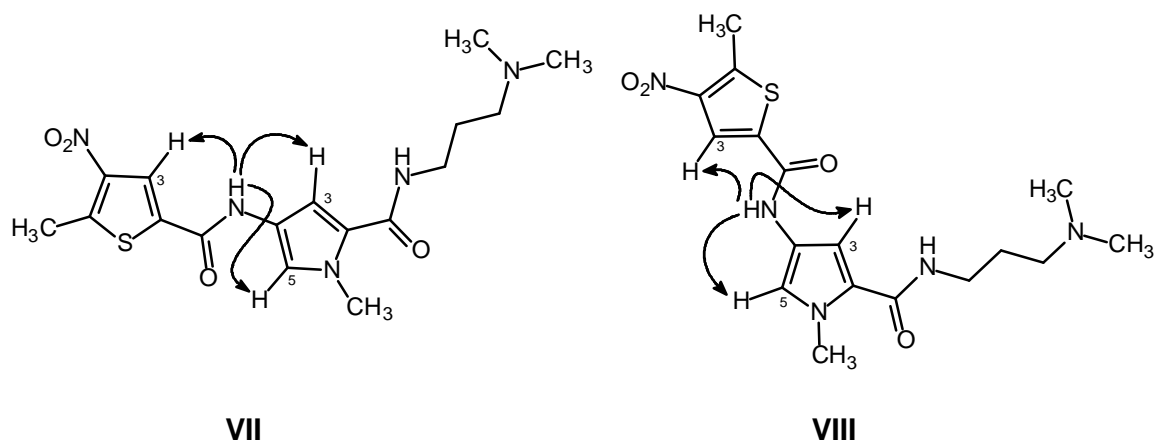
**Abb. 3.22:** Die Konformationen I-IV können im Rahmen der mittels NMR erfassbaren Nachweisgrenze ausgeschlossen werden, da bei Einstrahlen auf das zentrale Amid-NH neben Pyrrol-H3 und -H5 auch für Thiophen-H3 ein NOE-Signal auftritt. Wie durch die Pfeile angedeutet, sollte bei den hier dargestellten Konformationen nur ein NOE-Signal für Pyrrol-H3 und -H5 zu erwarten sein.

Beim anschließenden Einstrahlen auf Thiophen-H3 zeigte lediglich das Amid-NH zwischen den beiden Heteroaromaten eine Signalintensivierung (s. Abb. 3.27, S. 85), weshalb die beiden in Abbildung 3.23, S. 83 dargestellten cisoiden Konformationen V und VI ebenfalls ausgeschlossen werden konnten, da bei Population V mit einem zusätzlichen NOE-Signal für Pyrrol-H3 zu rechnen gewesen wäre, während bei Vorliegen von Konformation VI nur Pyrrol-H5 eine Signalintensivierung hätte zeigen dürfen. Die beiden Populationen V und VI dürften daher - wie auch die Konformationen I-IV - im Rahmen der mittels NMR erfassbaren Nachweisgrenze unterrepräsentiert sein.



**Abb. 3.23:** Die beiden cisoiden Konformationen V und VI können im Rahmen der NMR-Nachweisgrenze durch Einstrahlen in Thiophen-H3 ausgeschlossen werden.

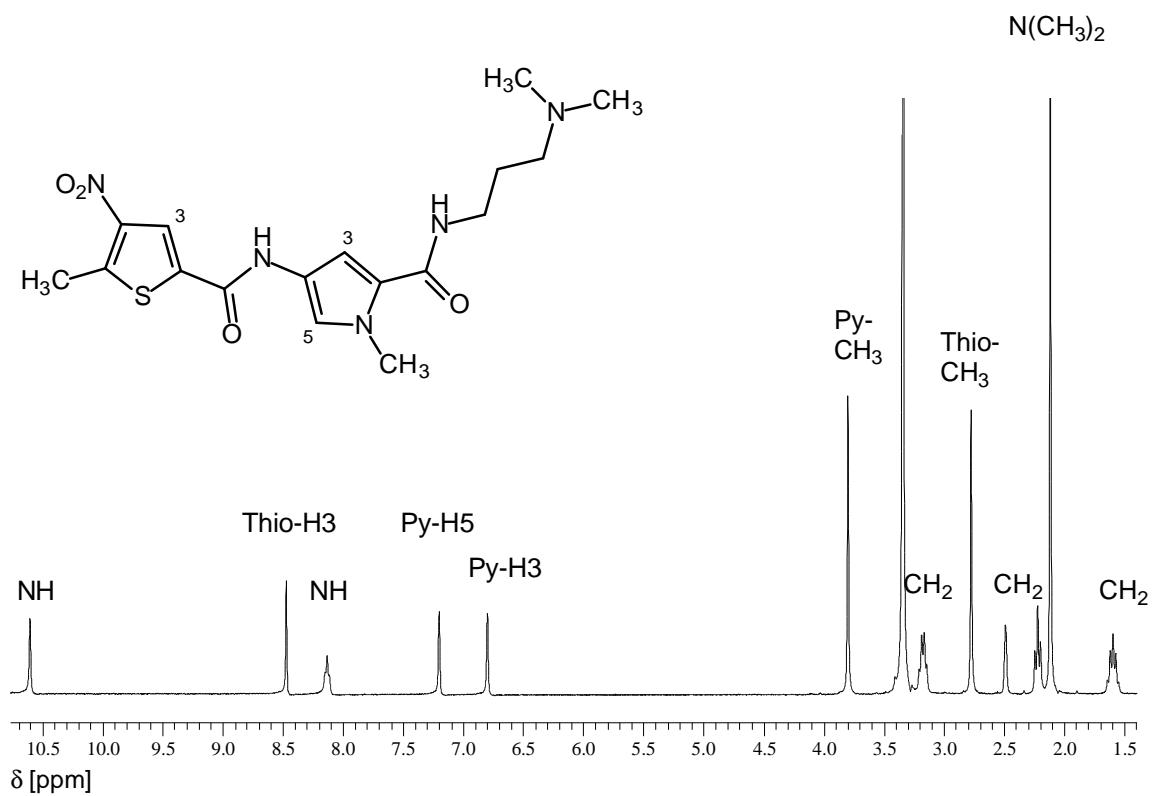
Lediglich bei Vorliegen der beiden transoiden Konformationen VII und VIII (s. Abb. 3.24) wäre bei Einstrahlen auf das Amid-NH eine Signalintensivierung von Pyrrol-H3, Pyrrol-H5 und Thiophen-H3 sowie bei Einstrahlen auf Thiophen-H3 ein NOE-Signal für das zentrale Amid-NH zu erwarten, was den experimentell ermittelten Ergebnissen entspricht. Diesbezüglich ist davon auszugehen, dass im Rahmen der NMR-Nachweisgrenze in Lösung bevorzugt eine dieser beiden Konformationen bzw. beide in einem Gleichgewicht nebeneinander vorliegen.



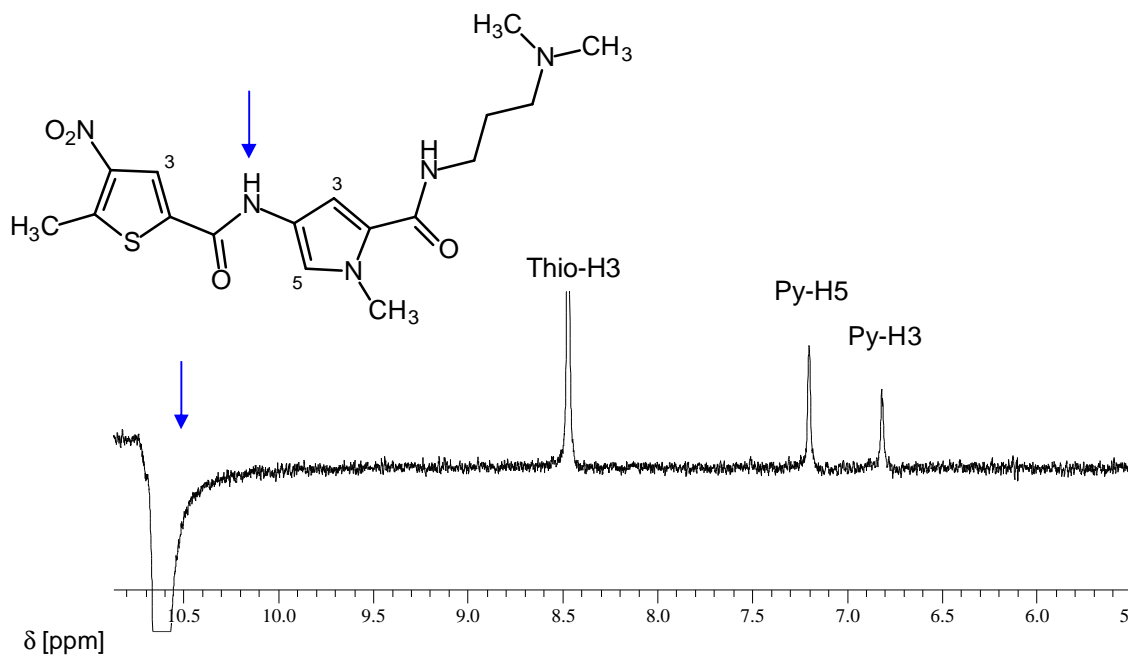
**Abb. 3.24:** Vermutlich liegt im Rahmen der NMR-Nachweisgrenze in Lösung eine der beiden transoiden Konformationen (VII und VIII) oder beide nebeneinander vor, da die zu erwartenden NOE-Signale bei beiden Strukturen den experimentellen Ergebnissen entsprechen.



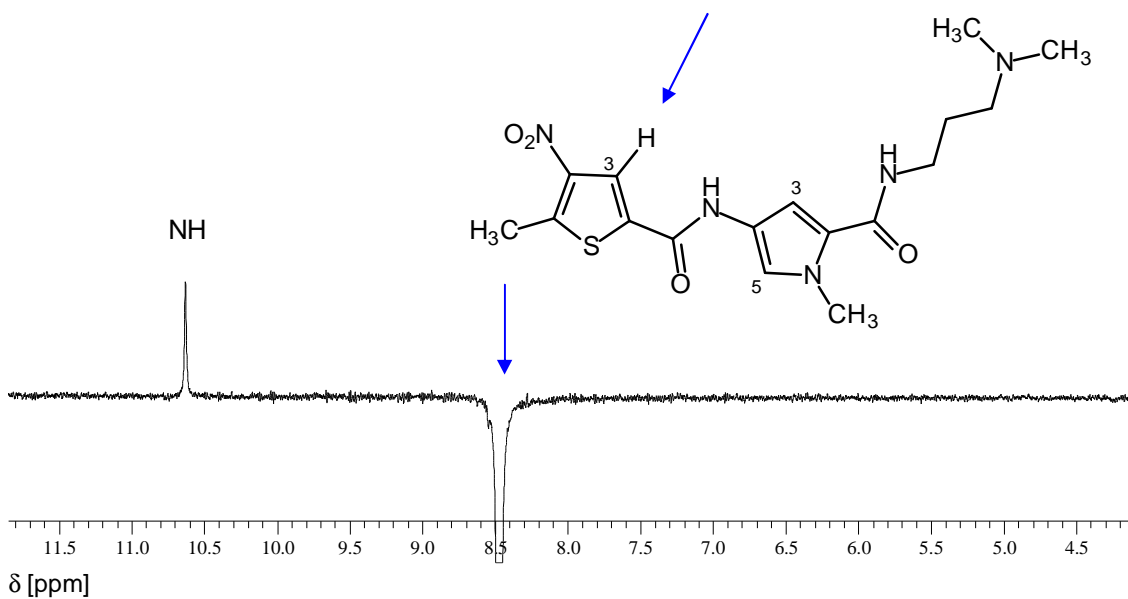
Wie zu einem späteren Zeitpunkt durch die Ermittlung der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **69** aufgeklärt werden konnte (s. Kap. 5.3.2, S. 183), liegt das Thiophenpyrrolcarboxamid **69** auch im Festzustand in einer sichelförmigen Konformation analog zu Struktur VII (s. Abb. 3.24, S. 83) mit trans-(Z)-Konfiguration beider Amidbindungen vor.



**Abb. 3.25:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Thiophenpyrrolcarboxamids **69** (300 MHz); Lösungsmittel DMSO-d<sup>6</sup>; Thio = Thiophen, Py = Pyrrol



**Abb. 3.26:**  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzspektrum bei Einstrahlung auf das Amid-NH zwischen den beiden Heterenen; es resultiert eine Signalintensivierung bei Pyrrol-H3, Pyrrol-H5 und Thiophen-H3; Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}^6$ ; Thio = Thiophen, Py = Pyrrol



**Abb. 3.27:**  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzspektrum bei Einstrahlung auf Thiophen-H3; lediglich für das Amid-NH zwischen den beiden Heterenen tritt eine Signalintensivierung auf; Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}^6$

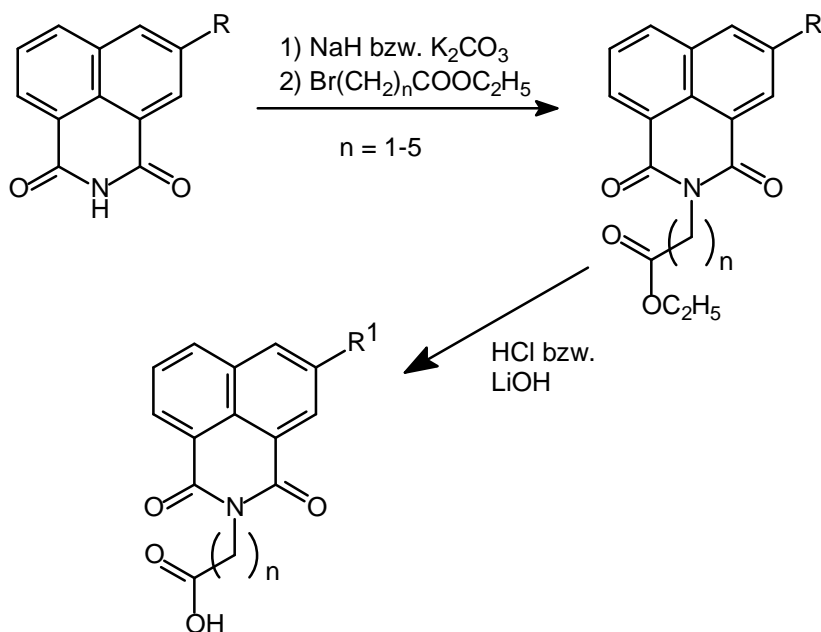


### 3.4.1.2 Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäuren

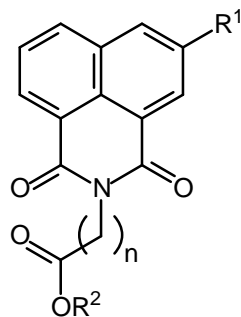
Wie schon in Kapitel 2.2.4, S. 56 erläutert sollte das Naphthalimid über Linker variabler Länge ( $C_2$  bis  $C_6$ ) mit dem Aminothiophenpyrrolcarboxamid **90** (s. Abb. 3.31, S. 91) verknüpft werden. Da Keuser <sup>[125]</sup> für das 5-Nitronaphthalimidbutanoylgekoppelte Bispyrrolcarboxamid **47** (s. Abb. 2.6, S. 54) einen dualen Bindungsmodus und eine Topoisomerase-II-Hemmung nachweisen konnte (s. Kap. 2.2.3, S. 54 f.), wurde bezüglich des 5-Nitronaphthalimids zunächst nur das entsprechende Buttersäure-Derivat hergestellt.

Die für die spätere Kupplung erforderlichen (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäuren waren durch Hydrolyse der zuvor hergestellten Ester sehr leicht zugänglich. Im ersten Schritt erfolgte hierbei die Deprotonierung des (5-Nitro-)Naphthalimids mittels Natriumhydrid bzw. zur Darstellung des Propionsäureester-Derivates mittels  $K_2CO_3$  in DMF. Die anschließende Zugabe der entsprechenden  $\omega$ -Bromalkancarbonsäureethylester lieferte im Sinne einer  $S_N2$ -Reaktion die gewünschten Ester, die mittels Säulenchromatographie in Ausbeuten bis zu 84 % isoliert wurden <sup>[148]</sup>.

Die unsubstituierten Naphthalimidalkansäureester konnten im Gegensatz zum 5-Nitro-Derivat durch Erhitzen mit 15 % wässriger HCl-Lösung quantitativ hydrolysiert werden <sup>[148]</sup>. Um die 5-Nitronaphthalimidbuttersäure zu gewinnen war, es erforderlich auf die relativ milde LiOH-Methode <sup>[125, 149]</sup> zurückzugreifen (s. Abb. 3.29).



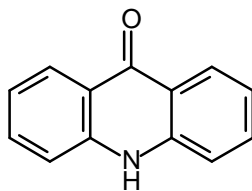
**Abb. 3.29:** Darstellung der (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäuren



R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1	31	<b>73</b>
H	H	1	95	<b>74</b>
H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2	66	<b>75</b>
H	H	2	100	<b>76</b>
H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	3	57	<b>77</b>
H	H	3	90	<b>78</b>
H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4	37	<b>79</b>
H	H	4	96	<b>80</b>
H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	5	58	<b>81</b>
H	H	5	92	<b>82</b>
NO <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	3	84	<b>83</b>
NO <sub>2</sub>	H	3	100	<b>84</b>

**Tab. 3.3:** Übersicht der synthetisierten (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäure(ester)

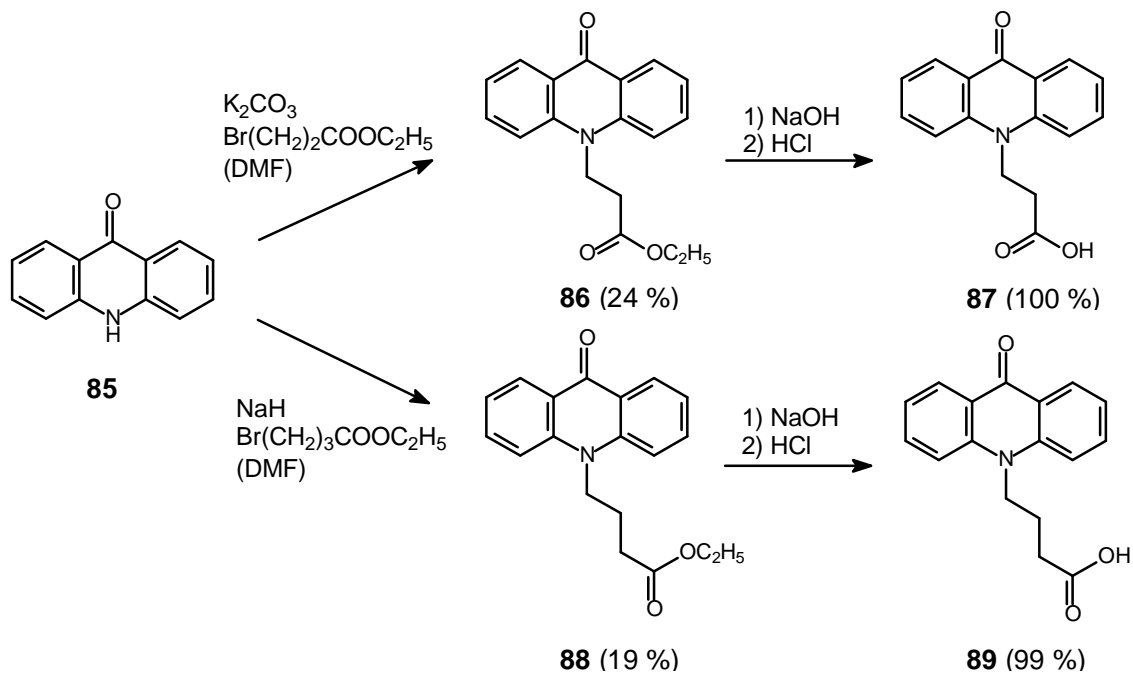
### 3.4.2 Acridon

**85**

Die Kriterien für die Auswahl des Acridons **85** als *N*-terminale Funktion der Combilexine wurden anhand bereits literaturbekannter Beispiele antitumoraktiver Acridon-Derivate in Kapitel 1.3.4, S. 18 erläutert. Basierend auf den vororientierenden Struktur-Wirkungsbeziehungen von Keuser <sup>[125]</sup> wurden ausschließlich die Acridonpropionyl- und -butanoyl-gekoppelten Derivate synthetisiert.

#### 3.4.2.1 Synthese der Acridonpropion- und -buttersäure

Die Darstellung der Acridonpropion- und -buttersäure erfolgte, wie zuvor von Keuser <sup>[125]</sup> beschrieben, durch *N*-Alkylierung des Interkalators mit dem entsprechenden  $\omega$ -Bromalkancarbonsäureester und anschließende alkalische Hydrolyse, wobei die Deprotonierung des Heterocyclus im ersten Syntheseschritt, wie bereits unter 3.4.1.2, S. 87 erwähnt, mit NaH bzw. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> durchgeführt wurde (s. Abb. 3.30, S. 90).



**Abb. 3.30:** Darstellung der Acridonpropion- und -buttersäure durch Alkylierung des Acridons **85** und anschließende Hydrolyse

Durch vorherige Trocknung des eingesetzten, pulverisierten  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (8 h bei  $200^\circ\text{C}$ ) gelang es, die Ausbeute des Acridonpropionsäureesters **86** gegenüber Keuser<sup>[125]</sup> von 17 auf 24 % zu steigern. Im Vergleich zu den hergestellten Naphthalimidalkancarbonsäureestern waren die erzielten Ausbeuten der Acridonalkancarbonsäureester jedoch relativ gering und konnten auch durch vermehrte Zugabe an  $\omega$ -Bromalkancarbonsäureester und eine Erhöhung der Reaktionszeit nicht verbessert werden.

Aus diesem Grund sollte nach intensiver Literaturrecherche zur Optimierung der Ausbeute die Kronenethermethode als alternatives Syntheseverfahren Verwendung finden. Hierzu wurde eine Suspension aus Acridon, wasserfreiem  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , KOH und [18]Krone-6 als Katalysator in wasserfreiem Toluol 2 h unter Stickstoffatmosphäre bei RT gerührt. Zutropfen einer Lösung des jeweiligen  $\omega$ -Bromalkancarbonsäureesters in Toluol und anschließendes Erhitzen unter Rückfluss sollte zum gewünschten Produkt führen<sup>[150]</sup>. Da nach 18 h immer noch keine Umsetzung zu beobachten war, wurde der Versuch abgebrochen.

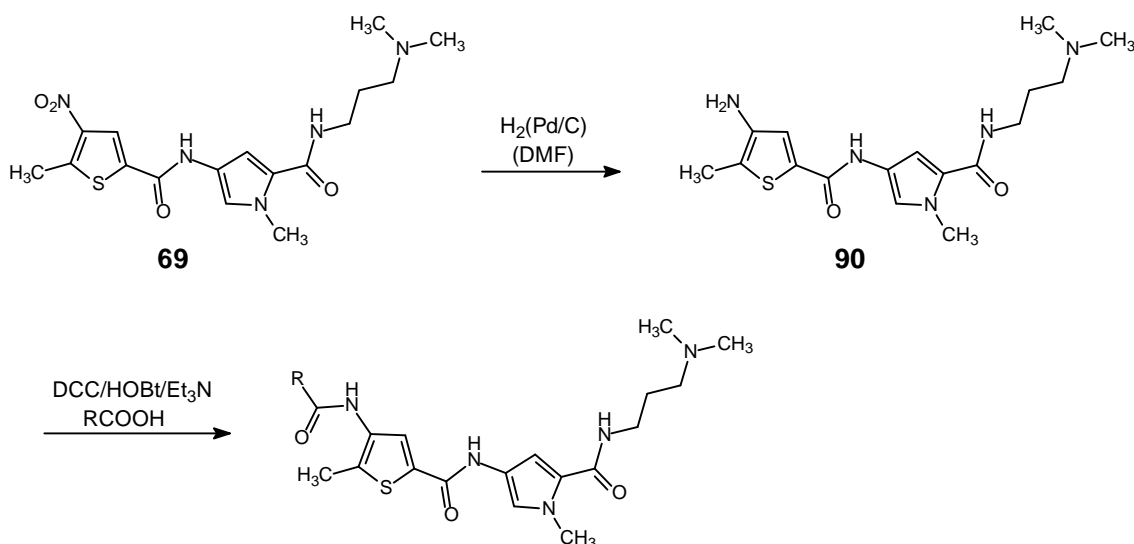
Auch die von Nishi, Kohno und Kano<sup>[151]</sup> zur *N*-Alkylierung des Acridons verwendete Methode mit Benzyltriethylammoniumchlorid (BTEAC) als Phasentransferkatalysator

erwies sich als ungeeignet. Daher musste auf die eingangs erwähnten NaH- bzw.  $K_2CO_3$ -Methoden (s. Abb. 3.30, S. 90), deren Ausbeuten zwar unbefriedigend aber für die weitere Umsetzung ausreichend waren, zurückgegriffen werden.

Eine Ursache für die geringen Ausbeuten dürfte in der hohen Stabilität und der damit verbundenen verminderten Nucleophilie des Acridonanions begründet liegen <sup>[125]</sup>.

### 3.4.3 Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridon-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide

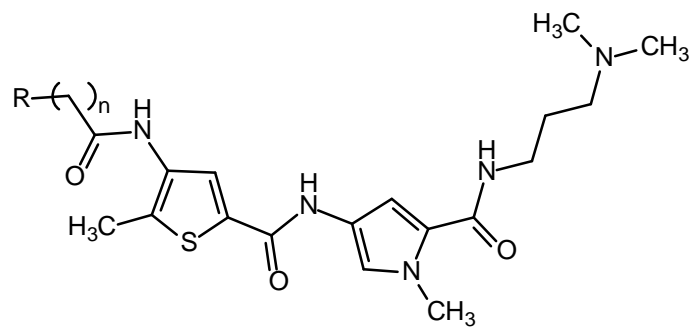
Auch bei der Suche nach einem geeigneten Kupplungsreagenz zur Darstellung der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridon-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide erwies sich die DCC/HOBt-Methode gegenüber den bisher getesteten Verfahren als besonders vorteilhaft (s. Abb. 3.31). Die Durchführung erfolgte dabei analog zur Herstellung des Thyminhexanoylbispyrrolcarboxamids **66** (s. Kap. 3.2.4, S. 67).



**Abb. 3.31:** Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridon- gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide; R = (5-Nitro-)Naphthalimid- bzw. Acridonalkylrest

Eine Übersicht der synthetisierten Verbindungen zeigt Tabelle 3.4, S. 92.

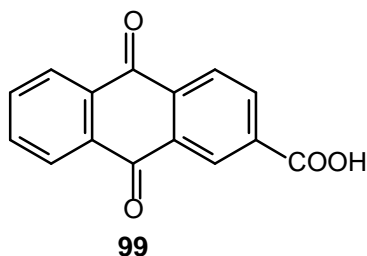




R	n	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
	1	38	<b>91</b>
	2	32	<b>92</b>
	3	33	<b>93</b>
	4	27	<b>94</b>
	5	28	<b>95</b>
	3	25	<b>96</b>
	2	26	<b>97</b>
	3	19	<b>98</b>

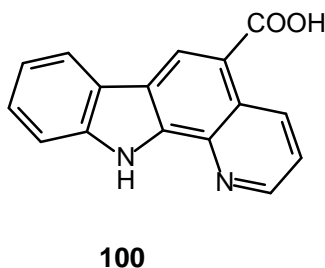
**Tabelle 3.4:** Übersicht der synthetisierten Thiophenpyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridonalkanoyl-Funktion

### 3.4.4 Anthrachinon



Als Baustein wurde die kommerziell erhältliche Anthrachinon-2-carbonsäure **99** eingesetzt, die über einen  $\beta$ -Alanin-Linker mit dem Aminothiophenpyrrolcarboxamid **90** verknüpft werden sollte. Auf die Verwendung des Anthrachinons als *N*-terminale Funktion der Combilexine und die Wahl von  $\beta$ -Alanin als Linker wurde bereits in den Kapiteln 2.2.3, S. 53 ff. und 2.2.4, S. 57 ausführlich eingegangen.

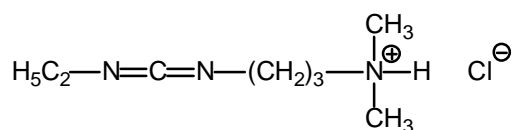
### 3.4.5 Pyridocarbazol



Zum Aufbau eines weiteren Hybridmoleküls sollte die in Anlehnung an die beiden Naturstoffe Ellipticin und Olivacin im Arbeitskreis Pindur mittels photochemisch induzierter Elektrozyklisierung synthetisierte 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-5-carbonsäure **100** über einen  $\beta$ -Alanin-Linker (s. Kap. 2.2.3, S. 55 und Kap. 2.2.4, S. 57) an das Aminothiophenpyrrolcarboxamid **90** geknüpft werden. Genauere Angaben zu den beiden Leitstrukturen und den davon abgeleiteten literaturbekannten Wirkstoffen sowie deren Wirkmechanismen wurden bereits in Kapitel 1.3.2, S. 15 aufgeführt.

### 3.4.6 Synthese der Anthrachinon- und Pyridocarbazolgekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide mit $\beta$ -Alanin als Linker

Die Darstellung der Combilexine unter Verwendung von  $\beta$ -Alanin als Linker erfolgte nach einer ähnlichen wie der von Keuser <sup>[125]</sup> verwendeten Synthesestrategie. Boc- $\beta$ -Alanin **101** sollte zunächst mit einer geeigneten Kupplungsmethode an das zuvor durch Reduktion mit  $\text{H}_2/(\text{Pd}(10\ \%) / \text{C})$  erhaltene Aminothiophenpyrrol-Derivat **90** geknüpft werden (s. Abb. 3.33, S. 95). Mit dem von Keuser <sup>[125]</sup> als Kupplungsreagenz eingesetzten Chlorameisensäureethylester und auch der bisher sehr erfolgreich verwendeten DCC/HOBt-Methode konnten jedoch keine für die weiteren Arbeiten ausreichenden Mengen des gewünschten Zwischenproduktes gewonnen werden. Nach intensiven Studien im Rahmen der präparativen Peptidkupplungschemie wurde zum Aufbau von **102** (s. Abb. 3.33, S. 95) die 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-HCl (EDCI)-Methode <sup>[152]</sup> gewählt.



EDCI

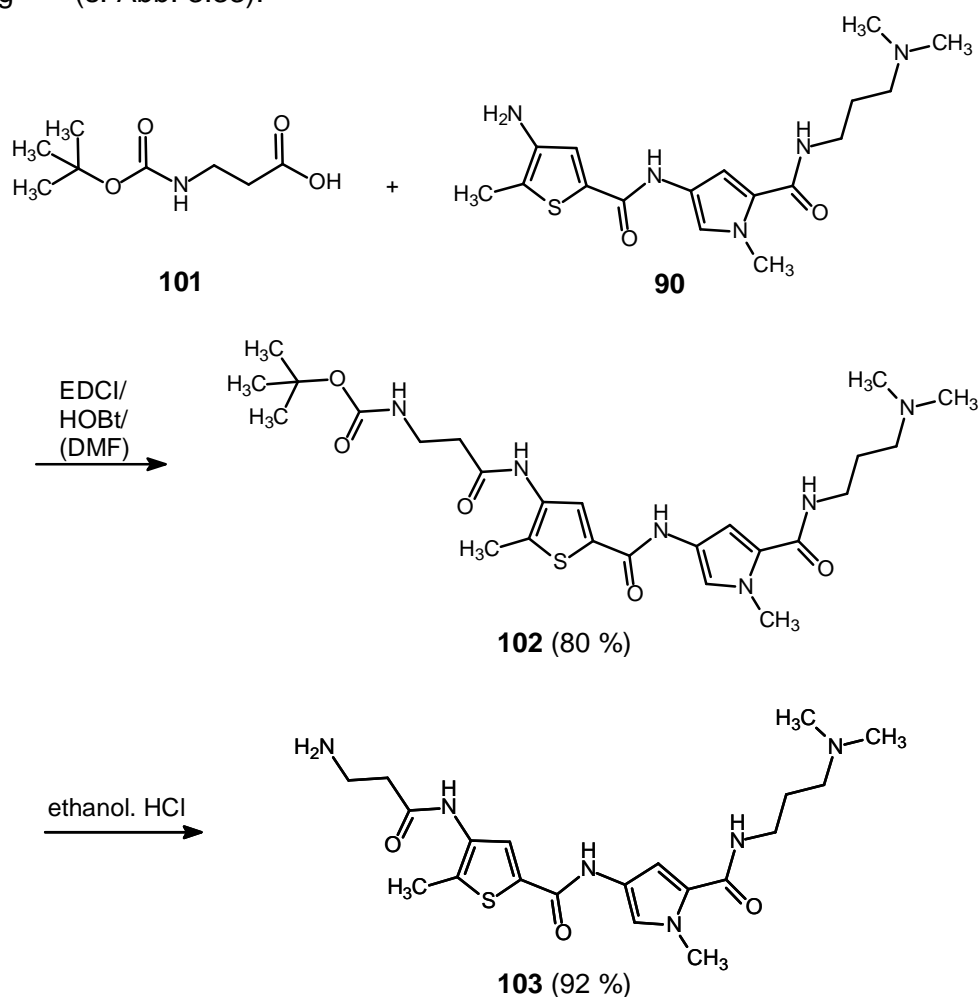
**Abb. 3.32:** Strukturformel von 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-HCl (EDCI)

Die Aminolyse des mittels EDCI/HOBt in DMF aktivierten Boc-geschützten  $\beta$ -Alanins **101** mit dem zuvor durch Reduktion gewonnenen Aminothiophenpyrrolcarboxamid **90** führte zum gewünschten Produkt **102**, welches durch anschließende Säulenchromatographie in einer sehr hohen Ausbeute isoliert werden konnte (80 %).

Der Reaktionsmechanismus verläuft dabei analog zur DCC/HOBt-Methode (s. Kap. 3.2.4, S. 67). Wegen der geringen Löslichkeit des als Hydrochlorid vorliegenden Carbodiimid-Derivates im verwendeten Lösungsmittel DMF war der Einsatz eines 2.5 fachen molaren Überschusses an Kupplungsreagenz unumgänglich. Auch auf die Zugabe von HOBt durfte aufgrund der bereits in Kapitel 3.2.4, S. 67 ff. aufgeführten

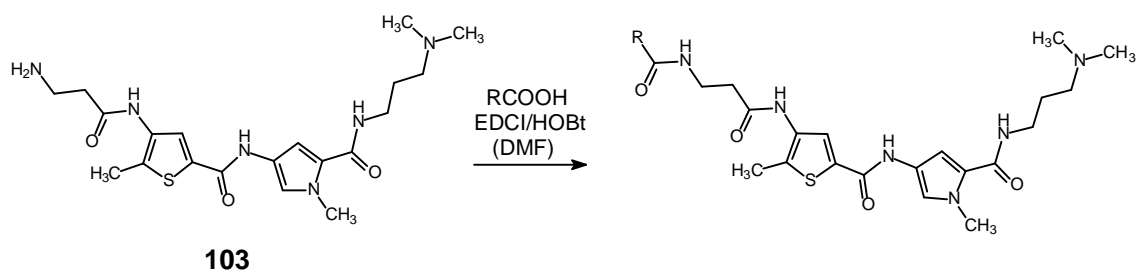
Gefahr der *N*-Acylharnstoffbildung nicht verzichtet werden. Der Vorteil dieses Verfahrens besteht vor allem darin, dass der als Nebenprodukt entstehende Harnstoff bedingt durch seine bessere Löslichkeit einfacher abzutrennen ist als der beim DCC-Verfahren anfallende Dicyclohexylharnstoff. Die relativ hohe Ausbeute unter Anwendung der EDCI- gegenüber der DCC-Methode ist vermutlich auf die Substitution der raumerfüllenden Dicyclohexylreste des DCC's gegen kleinere aliphatische Reste im EDCI und die daher wesentlich geringere sterische Hinderung während der Kupplungsreaktion zurückzuführen. Die hier erzielte Ausbeute und die einfache Handhabung rechtfertigte den routinemäßigen Einsatz der EDCI-Methode für alle weiteren Amidkupplungen.

Im Anschluss folgte die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit ethanolischer HCl-Lösung<sup>[153]</sup> (s. Abb. 3.33).

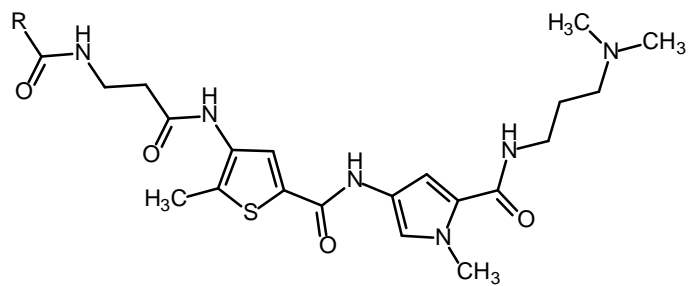


**Abb. 3.33:** Verknüpfung des Boc-β-Alanins **101** mit dem Aminothiophenpyrrolcarboxamid **90** und nachfolgende Abspaltung der Schutzgruppe

Keuser <sup>[125]</sup> setzte das mit  $\beta$ -Alanin gekoppelte Pyrrolcarboxamid nach Schutzgruppenabspaltung mit dem Anthrachinoncarbonsäurechlorid, welches zuvor durch Erhitzen der Anthrachinoncarbonsäure mit Thionylchlorid gewonnen wurde, zum Endprodukt um. Die mit dieser Methode erzielten Ausbeuten waren allerdings unbefriedigend (14 und 25 %) <sup>[125]</sup>. Infolgedessen wurde zur Optimierung der Ausbeute die Synthesestrategie variiert, indem die Anthrachinon-2- bzw. Pyridocarbazol-5-carbonsäure **99** bzw. **100** direkt mithilfe der beschriebenen EDCI/HOBt-Methode <sup>[152]</sup> an das erhaltene Amin-Derivat **103** geknüpft wurden (s. Abb. 3.34). Die somit erzielten Ausbeuten lagen mit 30 und 34 % wesentlich höher; ferner konnte durch Einsatz dieses Verfahrens ein Syntheseschritt, nämlich die Herstellung des Carbonsäurechlorids umgangen werden.



**Abb. 3.34:** Allgemeines Reaktionsschema zur direkten Darstellung der mit Anthrachinon und Pyridocarbazol gekoppelten Combilexine;  
 R = Anthrachinon-2-yl bzw. 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-5-yl



R	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
	34	<b>104</b>
	30	<b>105</b>

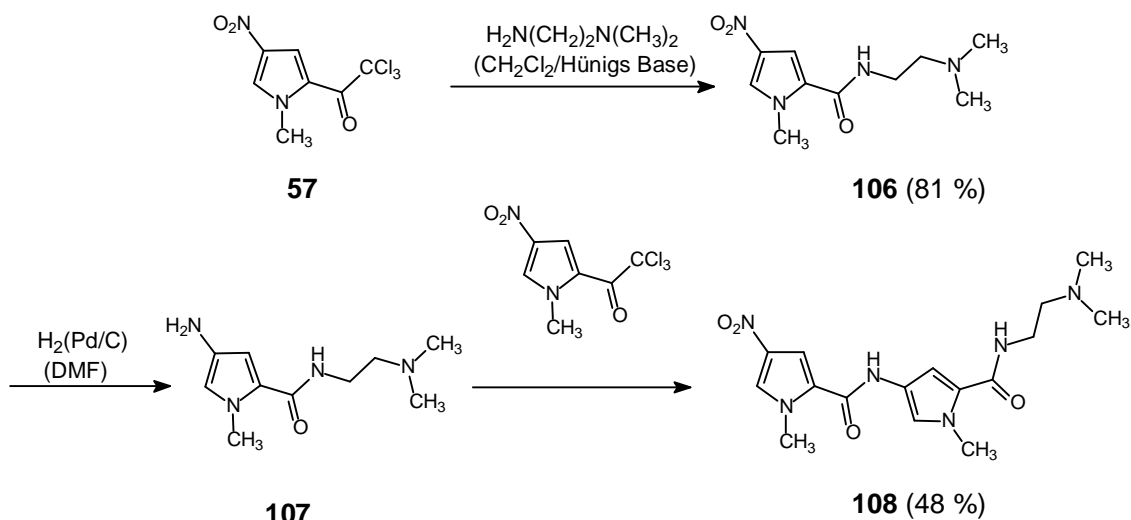
**Tabelle 3.5:** Übersicht der beiden dargestellten Combilexine mit *N*-terminaler Anthrachinon- bzw. 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-Funktion und  $\beta$ -Alanin als Linker

### **3.5        Synthese der Naphthalimid-*N*-terminal gekoppelten Bispyrrol- und Thiophenpyrrolcarboxamide mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion**

Der Einfluss einer C-terminalen Ethylendiamin-Funktion auf die DNA-Affinität (s. Kap. 2.2.1, S. 47) sollte zunächst am Beispiel von Combilexinen mit Bispyrrol- bzw. Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundgerüst untersucht werden, da mit den von Keuser<sup>[125]</sup> untersuchten Bispyrrolcarboxamiden sowie den bislang im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexinen mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundstruktur ein relativ breites Spektrum an Hybridmolekülen mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion als Vergleich zur Verfügung stand.

#### **3.5.1        Synthese des Bispyrrolcarboxamids mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion**

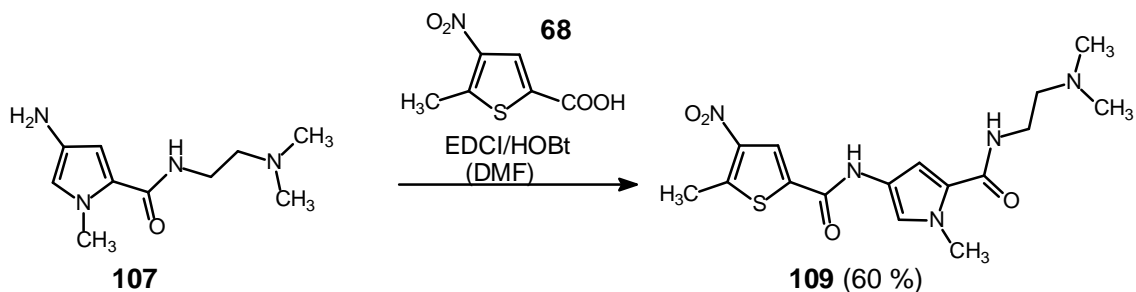
Der Aufbau des Bispyrrolcarboxamids **108** (s. Abb. 3.35, S. 99) unter Verwendung von *N,N*-Dimethylethylendiamin erfolgte analog zur Darstellung des Pyrrol-Derivates mit C-terminaler Dimethylaminopropylamin-Funktion **60** (s. Kap. 3.1.1, S. 58 ff.). Die Ausbeute an **108** betrug 48 %.



**Abb. 3.35:** Reaktionsschema zur Darstellung des Bispyrrolcarboxamids mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion **108**

### 3.5.2 Synthese des Thiophenpyrrolcarboxamids mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion

Zunächst wurde Verbindung **106** nach der bewährten Methode mit  $\text{H}_2/(\text{Pd}(10\%)/\text{C})$  (s. Kap. 3.1.1, S. 59) zum Amin-Derivat **107** reduziert. Nachfolgende Amidkupplung mit der Thiophencarbonsäure **68** in Gegenwart von EDCI/HOBt<sup>[152]</sup> führte zum gewünschten Produkt **109**, welches mittels Säulenchromatographie in guter Ausbeute (60 %) isoliert werden konnte (s. Abb. 3.36).

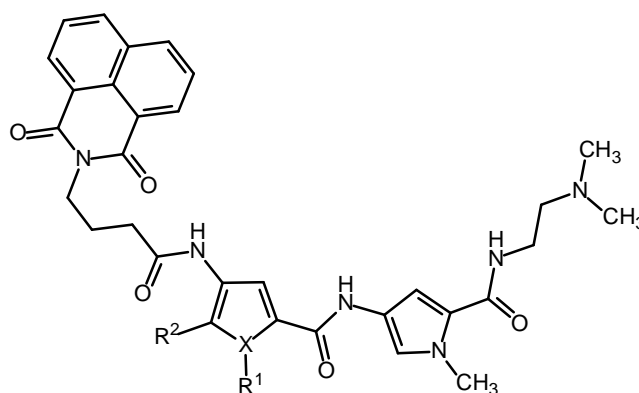


**Abb. 3.36:** Darstellung des Thiophenpyrrolcarboxamids mit Ethylendiamin-Seitenkette am C-terminalen Ende **109**



### 3.5.3 Synthese der Naphthalimid-gekoppelten Bispyrrol- und Thiophenpyrrolcarboxamide mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion

Zur konvergenten Synthese der Combilexine mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion wurde ebenfalls die bisher sehr zuverlässige EDCI/HOBt-Methode herangezogen. Nach Reduktion des Nitro-Derivates **108** bzw. **109** (s. S. 99) mit  $H_2/(Pd (10 \%) / C)$  erfolgte die Aminolyse der mittels EDCI/HOBt aktivierten Naphthalimidbuttersäure **78** (s. Kap. 3.4.1.2, S. 87 f.). Es gelang die gewünschten Produkte **110** und **111** in Bezug zur Komplexität dieser Verbindungen säulenchromatographisch in einer guten bis sehr guten Ausbeute zu isolieren (s. Tab. 3.6).



X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
N	CH <sub>3</sub>	H	51	<b>110</b>
S	-	CH <sub>3</sub>	84	<b>111</b>

**Tabelle 3.6:** Strukturformeln der synthetisierten Combilexine mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion

## 3.6 Synthese und Strukturaufklärung des Methylthiazolpyrrolcarboxamids

### 3.6.1 Synthese des Methylthiazolpyrrolcarboxamids

Wie vorangehend in Kapitel 2.2.2.3, S. 50 f. erläutert, sollten auch bioisostere Combilexine mit Methylthiazolpyrrolcarboxamid-Struktur hergestellt werden. Der Aufbau dieses Grundgerüsts begann mit der Darstellung des 2-Amino-4-methylthiazol-5-carbonsäureesters **114** nach einer Hantzschschen Thiazolsynthese<sup>[154]</sup>. Hierzu wurde eine auf 0°C gekühlte Suspension aus Ethylacetoacetat **112** und Harnstoff in DMF mit Brom versetzt. Nach vollständiger Entfärbung des Broms wurde Thioharnstoff ergänzt und 24 h bei RT gerührt. Die anschließende Neutralisation mit gesättigter K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung führte zur Ausfällung des Aminothiazols **114**<sup>[154]</sup>.

Aus mechanistischer Sicht (s. Abb. 3.37) findet zunächst in Gegenwart von Harnstoff eine  $\alpha$ -Bromierung des Ethylacetoacetats zu **113** statt. Der Harnstoff verhindert dabei die unerwünschte Zweifachbromierung, da er als Carbonsäureamid in der Lage ist, mit Brom Komplexe zu bilden<sup>[151, 155]</sup>. In einer nachfolgenden Tandemreaktion<sup>[156]</sup> erfolgt über eine startende S<sub>N</sub>-Reaktion die Cyclokondensation zum gewünschten Thiazolderivat **114**.

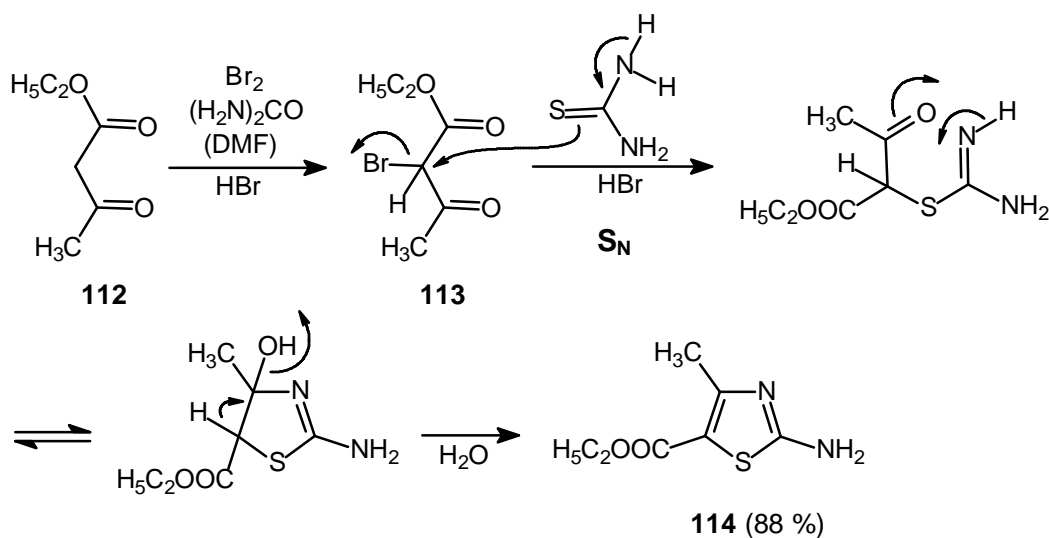
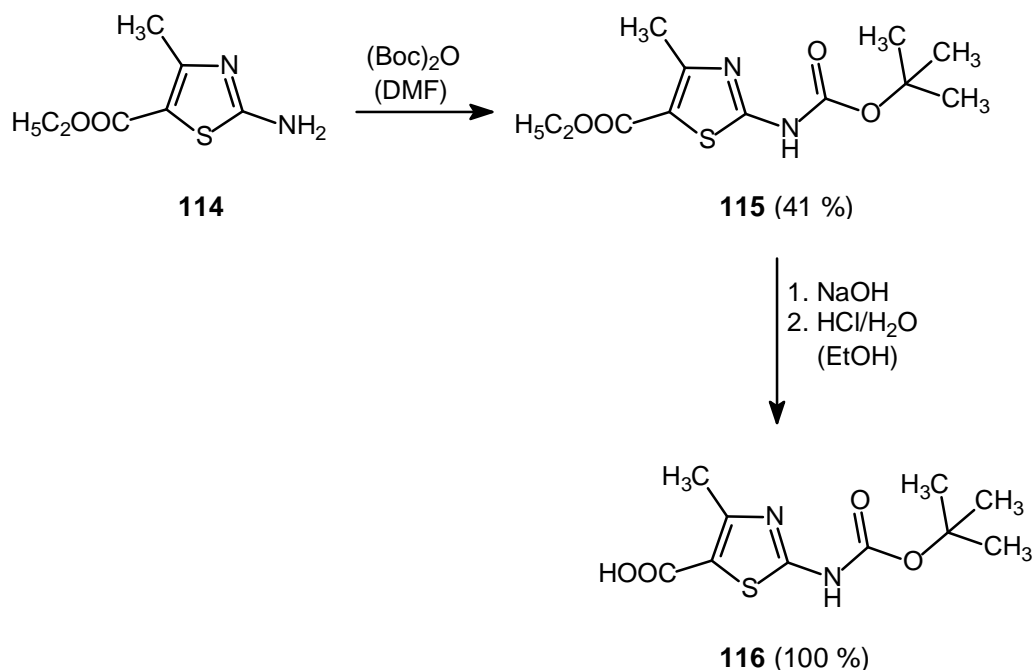


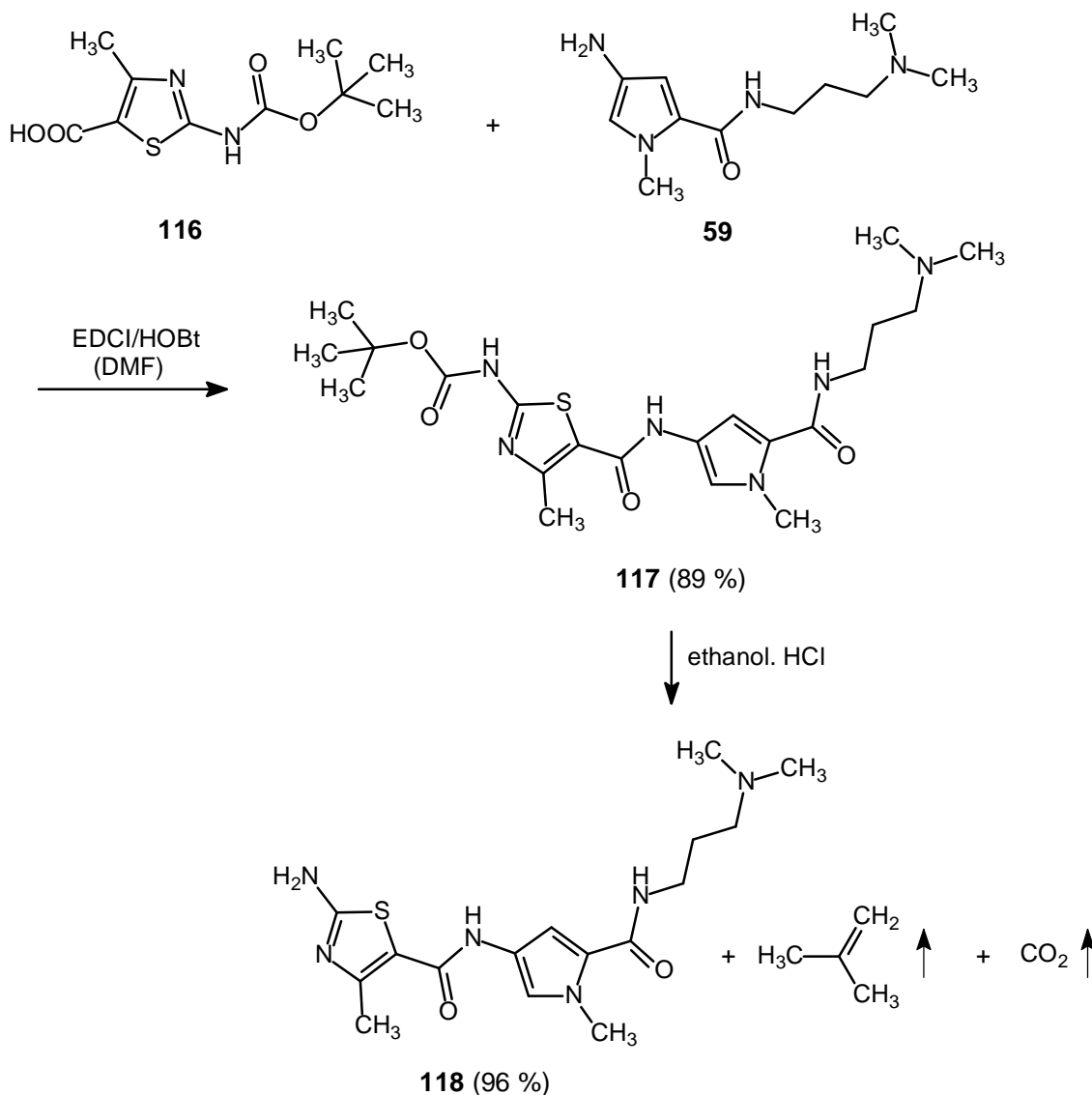
Abb. 3.37: Reaktionsmechanismus der Cyclokondensation zum Aminothiazol **114**

Da das Aminothiazol-Derivat **114** nach Hydrolyse der Carbonsäureester-Funktion eine Aminosäure mit zwei funktionellen Gruppen (Carboxyl- und Aminogruppe) liefert, die nicht unmittelbar einer Amidkupplung mit dem Aminopyrrol-Baustein **59** (s. Abb. 3.39, S. 103) unterzogen werden kann, war - wie häufig in der Peptid-Chemie - die regioselektive Einführung einer Schutzgruppe erforderlich. Als Schutzgruppe für die nucleophile Amino-Funktion an Position 2 des Thiazolrings wurde der bewährte und zumeist verwendete *tert.*-Butyloxycarbonyl-Rest (Boc-Rest) gewählt, der durch zweistündiges Erhitzen einer Lösung des Thiazolbausteins **114** mit Di-*tert.*-Butyldicarbonat (Boc-Anhydrid) in DMF eingeführt wurde <sup>[157]</sup> (s. Abb. 3.38). Die Boc-geschützte Verbindung **115** wurde nach Extraktion mit Ethylacetat durch Säulenchromatographie isoliert. Die quantitative Hydrolyse der Esterfunktion mit 2M wässriger NaOH und anschließendes Neutralisieren mit 1M wässriger HCl lieferte die freie Carbonsäure **116**.



**Abb. 3.38:** Einführung der Schutzgruppe und nachfolgende Esterhydrolyse

Die Darstellung des Boc-geschützten Thiazolpyrrolcarboxamids **117** erfolgte durch Aminolyse der nach der üblichen EDCI/HOBt-Methode (s. Kap. 3.4.6, S. 94 f.) aktivierten Carbonsäure **116** mit dem zuvor durch Reduktion erhaltenen Aminopyrrol-Derivat **59** (s. Abb. 3.3, S. 60). Die resultierende Ausbeute war mit 89 % sehr zufrieden stellend. Nach der nahezu quantitativen Schutzgruppenabspaltung mit ethanolischer HCl <sup>[153]</sup> wurde das freie Amin **118** säulenchromatographisch isoliert (s. Abb. 3.39).



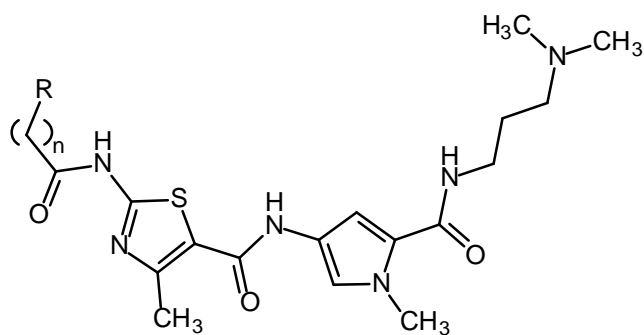
**Abb. 3.39:** Darstellung des Thiazolpyrrolcarboxamids **117** und nachfolgende Boc-Fragmentierung

### **3.6.2      Strukturaufklärung des Methylthiazolpyrrolcarboxamids**

Die exakte dreidimensionale Struktur von Verbindung **117** im Festkörper wurde durch Bestimmung der Röntgenkristallstruktur, auf die in Kapitel 5.3.3, S. 188 genauer eingegangen wird, aufgeklärt.

### **3.7          Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridon-*N*-terminal gekoppelten Methylthiazolpyrrolcarboxamide**

Zur Darstellung der Combilexine mit Methylthiazolpyrrolcarboxamid-Grundgerüst wurde das Amin-Derivat **118** in DMF gelöst und mit den entsprechenden tricyclischen Interkalatorcarbonsäuren nach der bewährten EDCI/HOBt-Methode (s. Kap. 3.4.6, S. 94 f.) verknüpft. Wie in Tabelle 3.7, S. 105 ersichtlich, wurden hierbei lediglich Hybridmoleküle mit C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Linker aufgebaut, da von den in dieser Arbeit bisher dargestellten Combilexinen aus der Thiophenpyrrolcarboxamid-Reihe die Propion- und Buttersäure-Derivate bezüglich der synthesebegleitend gemessenen T<sub>m</sub>-Werte die höchste DNA-Bindeaffinität aufwiesen und somit für die weiteren Arbeiten richtungsweisend waren (s. Kap. 4.3.1 S. 143). Die Synthese der (5-Nitro-)Naphthalimid- und Acridonalkancarbonsäuren wurde bereits in Kapitel 3.4.1.2, S. 87 und Kapitel 3.4.2.1, S. 89 ff. beschrieben.



R	n	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
	2	34	<b>119</b>
	3	39	<b>120</b>
	3	28	<b>121</b>
	2	20	<b>122</b>
	3	34	<b>123</b>

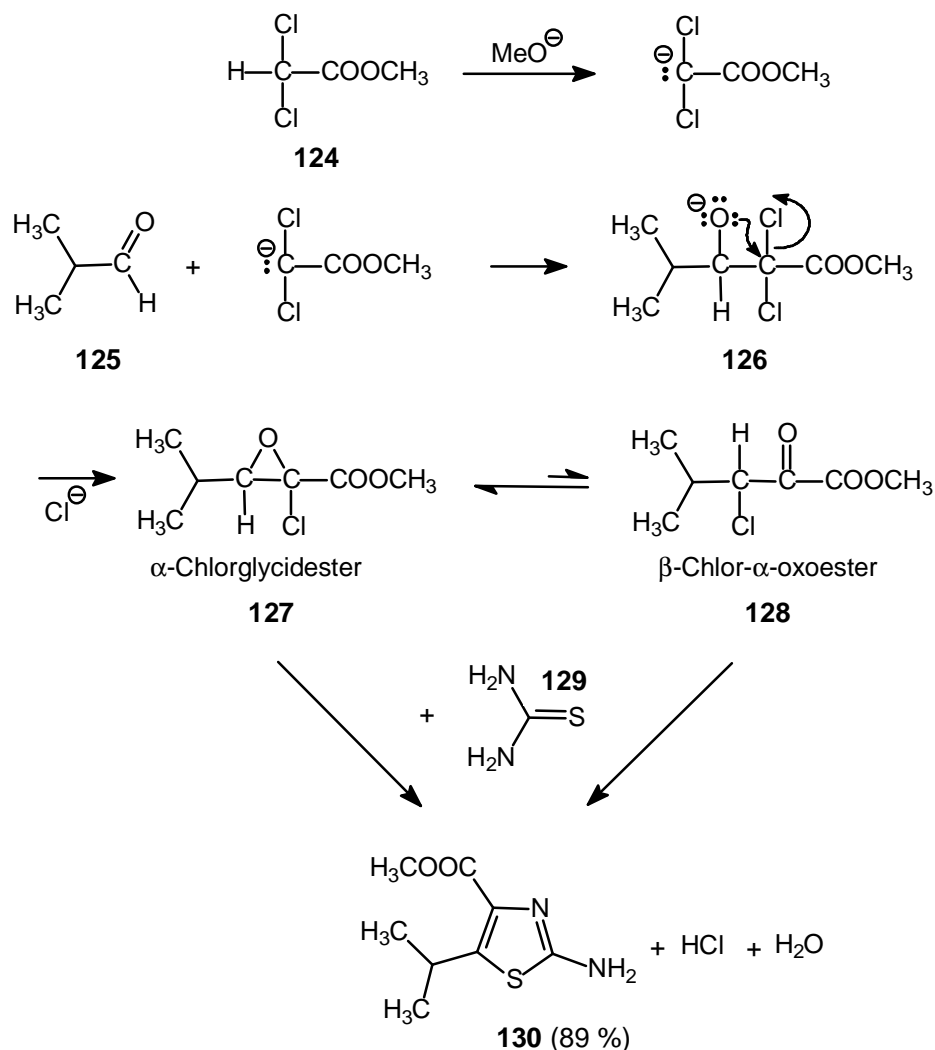
**Tabelle 3.7:** Übersicht der dargestellten Combilexine der Methylthiazolpyrrolcarboxamid-Reihe

### 3.8 Synthese des Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids

Durch die Einführung des Isopropylthiazols als Baustein neuer Hybridmoleküle sollte neben der Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA zusätzlich sowohl eine Steigerung der Lipophilie und als auch der hydrophoben Interaktionen mit der kleinen Rinne erreicht werden (begründende Details dazu s. Kap. 2.2.2.3, S. 50 ff.).

Im ersten Syntheseschritt erfolgte wiederum der Aufbau des Thiazolrings. Zunächst wurde durch eine Darzens-Reaktion aus Isobutyraldehyd **125** und Dichloressigsäuremethylester **124** in Anwesenheit von Na-Methanolat ein Gemisch aus  $\alpha$ -Chlorglycidester **127** und  $\beta$ -Chlor- $\alpha$ -oxoester **128** hergestellt. Beide Produkte wurden durch Zugabe von Thioharnstoff **129** und anschließendes Erhitzen unter Rückfluss zum 2-Amino-5-isopropylthiazol-4-carbonsäureester **130** umgesetzt <sup>[158]</sup>. Mechanistisch gesehen kommt es durch eine Knoevenagel-artige Kondensation des Aldehyds **125** mit dem  $\alpha$ -Halogenester **124** intermediär zur Bildung eines Halogenalkoxids **126**, welches durch eine intramolekulare S<sub>N</sub>2-Reaktion zum Epoxid **127** weiterreagiert (s. Abb. 3.40, S. 107) <sup>[159]</sup>.

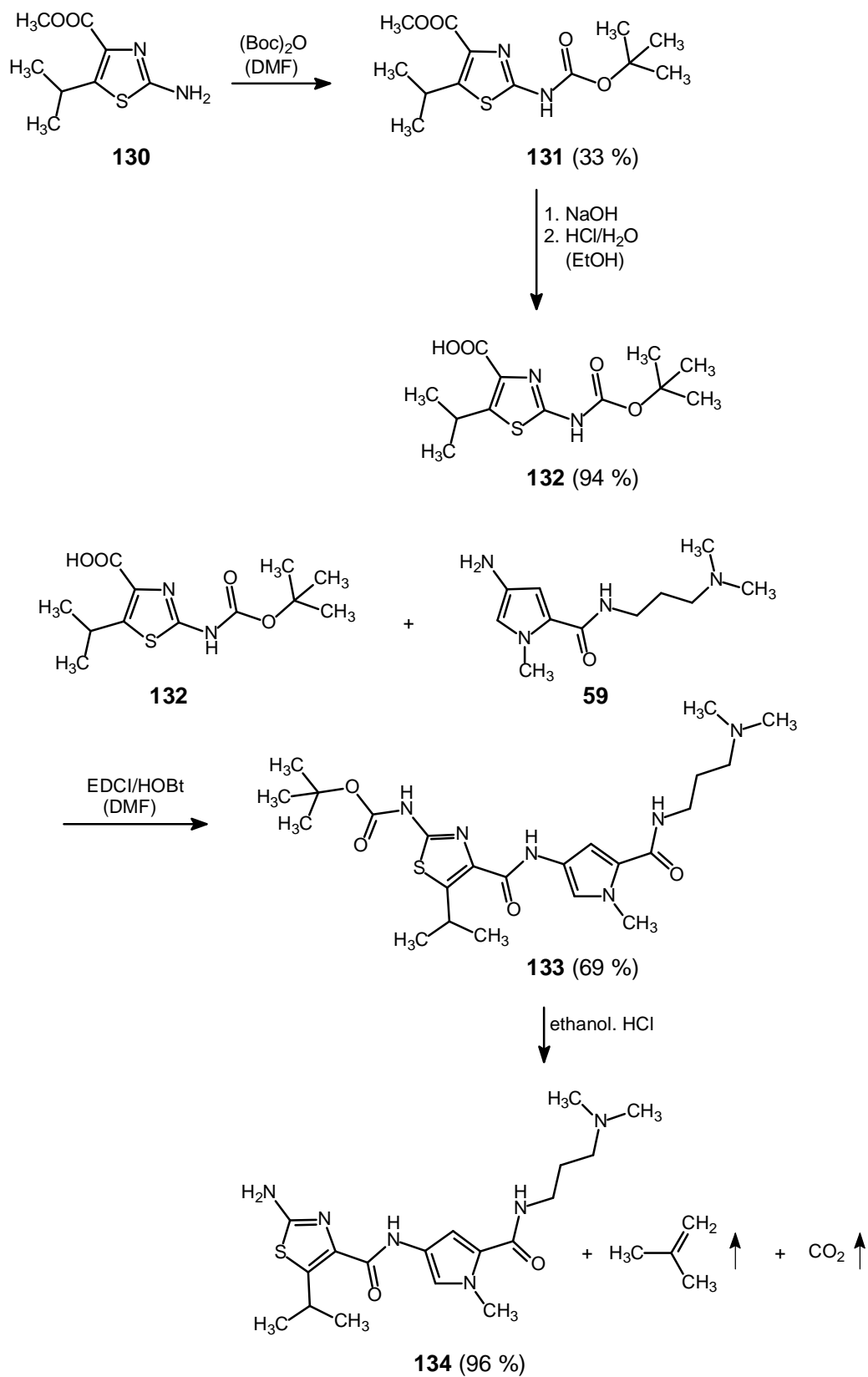
Kennedy, Khalaf, Suckling und Waigh <sup>[160]</sup> konnten durch Röntgenstrukturanalyse des erhaltenen Produktes die Konstitution von Verbindung **130** nachweisen und damit eine mögliche Bildung des Regioisomeren 2-Amino-4-isopropylthiazol-5-carbonsäureesters ausschließen.



**Abb. 3.40:** Darstellung des Isopropylthiazols **130** über eine Darzens-Glycidester-Kondensation

Der weitere Aufbau zum Isopropylthiazolpyrrolcarboxamid **134** folgte der gleichen Synthesestrategie, wie zuvor zur Darstellung des analogen Methyl-Derivates **118** verwendet wurde (s. Kap. 3.6.1, S. 102 f.). Nach Einführung der Boc-Schutzgruppe mittels Boc-Anhydrid<sup>[157]</sup> wurde die Methylsterfunktion an Position 4 hydrolysiert. Es schloss sich die Amidkupplung mit dem Aminopyrrol-Baustein **59** nach der bewährten EDCI/HOBt-Methode (s. Kap. 3.4.6, S. 94 f.) an. Durch anschließende Schutzgruppenabspaltung mit ethanolischer HCl-Lösung<sup>[153]</sup> und säulenchromatographische Aufreinigung konnte das Amin-Derivat **134** mit sehr guter Ausbeute isoliert werden (s. Abb. 3.41, S. 108).





**Abb. 3.41:** Reaktionsschema zur Darstellung des Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids **134**

Bislang konnten keine Kristalle des Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids **133** bzw. **134** für die Durchführung einer Röntgenkristallstrukturanalyse gewonnen werden. Auch auf die detaillierte Strukturaufklärung anhand einer  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzanalyse musste wegen des Fehlens eines diagnostisch relevanten Protons durch das zusätzliche N-Atom im Thiazolring verzichtet werden.

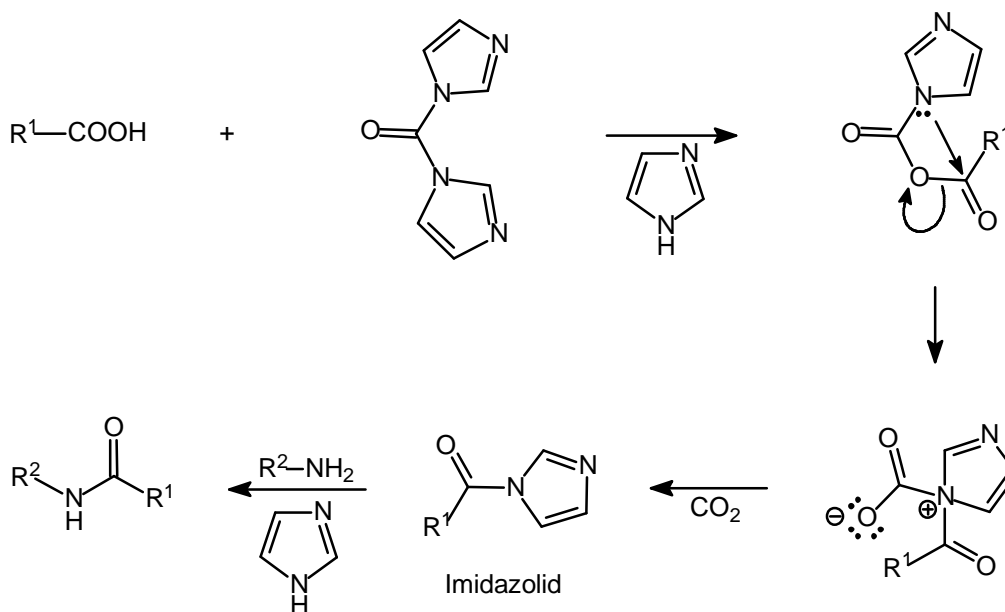
### **3.9 Syntheseveruche zur Darstellung eines Naphthalimid-*N*-terminal gekoppelten Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids**

Da die beiden mit Naphthalimid über einen  $\text{C}_3$ -Linker verknüpften Thiophen- und Methylthiazolpyrrolcarboxamide **92** (s. S. 92) und **119** (s. S. 105) vielversprechende  $\Delta T_m$ -Werte aufwiesen (s. Kap. 4.3.1, S. 145 und Kap. 4.5.1, S. 162), sollte zunächst versucht werden, durch Kupplung der Naphthalimidpropionsäure **76** (s. Tab. 3.3, S. 88) an das Aminderivat **134** (s. Abb. 3.41, S. 108) eine analoges Combilexin mit Isopropylthiazolpyrrolcarboxamid-Grundstruktur aufzubauen. Allerdings führten weder die bisher erfolgreich eingesetzte EDCI- noch die DCC- oder Chlorameisensäure-ethylester-Methode zur gewünschten Umsetzung. Aus diesem Grund fanden weitere Reagenzien der präparativen Peptidkupplungschemie Verwendung.

#### **3.9.1 *N,N'*-Carbonyldiimidazol (CDI) - Methode**

Die Umsetzung einer Carbonsäure mit der äquimolaren Menge *N,N'*-Carbonyldiimidazol (CDI) bei RT in THF <sup>[161]</sup> führt über eine intramolekulare nucleophile Substitution an der Acyl-Carbonylgruppe und anschließender Decarboxylierung unter Entropiegewinn zu einem energiereichen Imidazolid <sup>[162]</sup> (s. Abb. 3.42, S. 110). Durch die nachfolgende Aminolyse der in Form des Imidazolids aktivierten Naphthalimidcarbonsäure mit dem Amin-Derivat **134** (s. Abb. 3.41, S. 108) sollte das gewünschte Combilexin entstehen. Auch nach mehreren Versuchen unter Variation verschie-

dener Reaktionsbedingungen (Reaktionszeit und -temperatur) führte diese Methode nicht zum gewünschten Produkt.



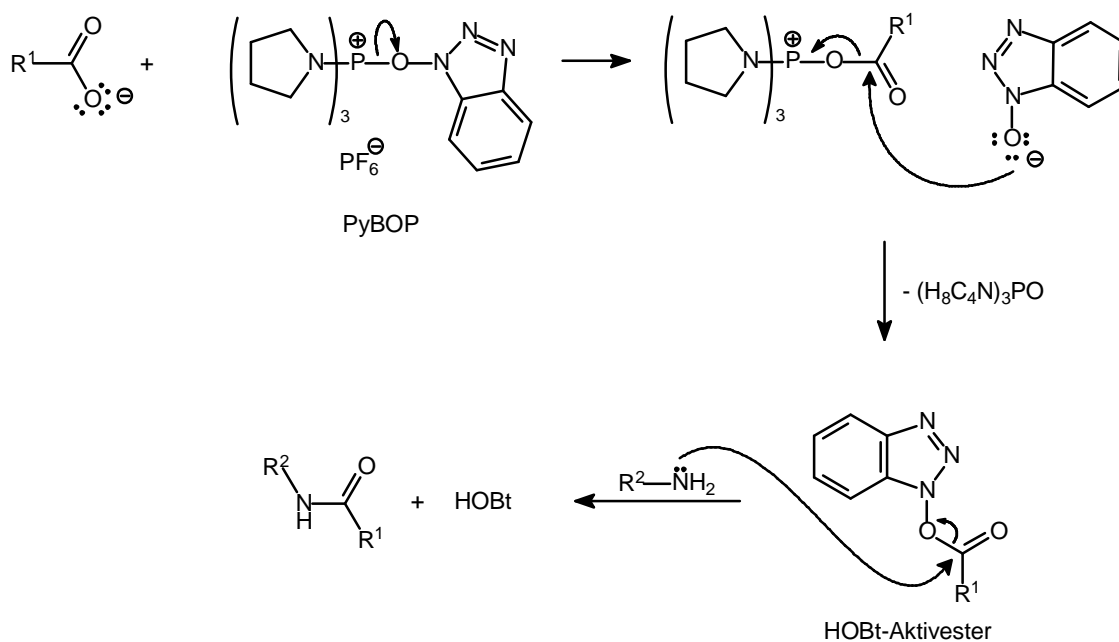
**Abb. 3.42:** Reaktionsmechanismus der Amidkupplung mittels CDI

### 3.9.2 (Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) - Methode

(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) gehört zur Gruppe der sogenannten Phosphoniumreagenzien, die in vielen Fällen eine höhere Effektivität als Kupplungsreagenz aufweisen als die Carbodiimide in Gegenwart von HOBt<sup>[163]</sup>, obwohl der Reaktionsmechanismus, wie aus Abbildung 3.43, S. 111 hervorgeht, ebenfalls über die Zwischenstufe eines HOBt-Aktivesters verläuft<sup>[138]</sup> (vgl. HBTU-Methode, Kap. 3.3.2.2, S. 77).

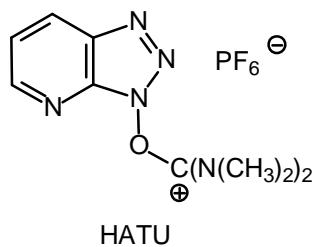
Zur Aktivierung wurde die Naphthalimidpropionsäure mit der äquimolaren Menge PyBOP 1 h bei RT gerührt. Als Lösungsmittel diente DMF. Nach Zugabe einer Lösung aus 1.1 Äquivalenten Aminoisopropylthiazolpyrrolcarboxamid **134** (s. Abb. 3.41, S. 108) und 2.75 Äquivalenten Hünig's Base in DMF wurde weitere 24 h bei RT gerührt<sup>[164, 165]</sup>. Eine Umsetzung zum gewünschten Produkt konnte jedoch auch

durch zusätzliches Erwärmen des Ansatzes bei dieser Methode nicht beobachtet werden.



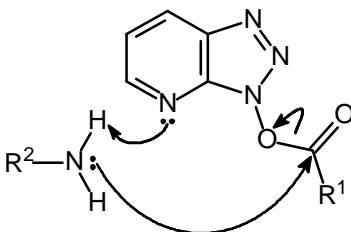
**Abb. 3.43:** Reaktionsmechanismus der Amidkupplung mittels PyBOP

### 3.9.3 O-7-Azabenzotriazol-1-yl-*N, N, N', N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) - Methode



Die O-7-Azabenzotriazol-1-yl-*N, N, N', N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU)-Methode wurde für einen weiteren Syntheserversuch ausgewählt, da es sich hierbei um ein breit anwendbares Reagenz aus der Uronium-Klasse handelt, mit dem selbst schwierige, sterisch gehinderte Kupplungen gelingen <sup>[138]</sup>. Der Reaktionsmechanismus bei diesem Verfahren verläuft analog zur HBTU-Methode (s. Kap.

3.3.2.2, S. 77). Der Zusatz einer tertiären Base ist im Gegensatz zur HBTU-Methode nicht erforderlich, da bei Verwendung von HATU als 7-Aza-analoge Verbindung zu HBTU im Aminolyseschritt eine intramolekulare Basenkatalyse stattfindet<sup>[138]</sup> (s. Abb. 3.44). Für den Kupplungsversuch wurde einem 1:1-Gemisch der Amino- und Carboxykomponente in Acetonitril ein Äquivalent HATU zugesetzt und anschließend 24 h bei RT gerührt<sup>[166]</sup>.



**Abb. 3.44:** Intramolekulare Basenkatalyse während der Aminolyse

Bedauerlicherweise war selbst der Einsatz dieser zur präparativen Kupplung bei Peptidsynthesen sehr häufig angewendeten Methode erfolglos.

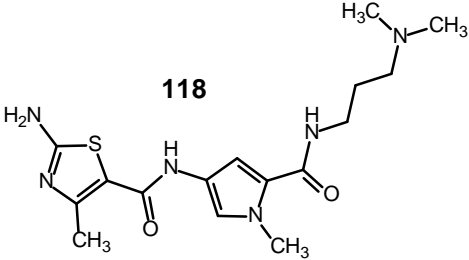
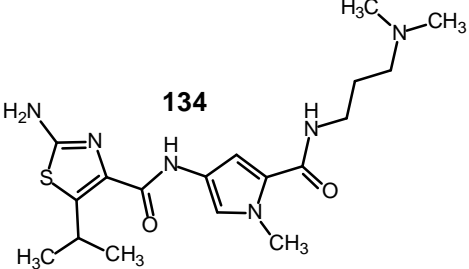
### 3.9.4 Theoretische Betrachtung der Reaktivität des Isopropylthiazolpyrrolcarboxamids anhand von MO-Berechnungen

Da das Isopropylthiazol-Derivat **134** (s. Abb. 3.41, S. 108) im Gegensatz zur Methylthiazol-analogen Verbindung **118** (s. Abb. 3.39, S. 103) mit der Naphthalimidpropionsäure **76** (s. Tab. 3.3, S. 88) nicht zum gewünschten Combilexin umgesetzt werden konnte, wurden semiempirisch-quantenmechanische AM1 Berechnungen<sup>[167-170]</sup> mit dem Programm SPARTAN<sup>[171]</sup> durchgeführt. Diese sollten zur Aufklärung einer eventuell unterschiedlichen nucleophilen Reaktivität der beiden Bausteine herangezogen werden.

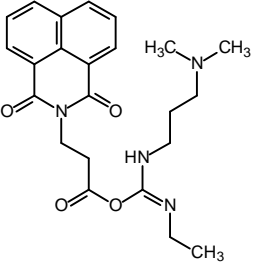
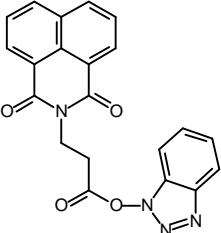
Bei den relativ aufwendigen quantenmechanischen MO-Berechnungen wird die elektronische Struktur von Molekülen näherungsweise mithilfe von Wellenfunktionen berechnet, die aus der Schrödinger-Gleichung abgeleitet sind. Semiempirische Verfahren berechnen nur Wellenfunktionen für die Valenzelektronen unter gleichzeitiger Anwendung von bestimmten empirischen Parametersätzen, wobei gewisse Integrale durch einfach auszurechnende Näherungen ersetzt werden. Im SPARTAN-Pro-

grammpaket <sup>[171]</sup> sind dazu die Austin Model 1 (AM1) Parametersätze (nach Dewar <sup>[167, 168]</sup> und Stewart <sup>[208]</sup>) implementiert. Durch die Kombination der beiden Verfahren kann daher die Rechenzeit erheblich verkürzt werden <sup>[133]</sup>.

Zur Beurteilung der Nucleophilie wurde von beiden Amin-Derivaten (**118** u. **134**) der HOMO-Energiewert sowie der HOMO-Koeffizient und die Atomladung im Grundzustand des bei der Kupplung nucleophil angreifenden Aminstickstoffs berechnet (s. Tab. 3.8). Aufgrund der erfolgreich durchgeführten Kupplung des Methylthiazolpyrrolcarboxamids **118** zum Combilexin **119** (s. Tab. 3.7, S. 105) mittels EDCI/HOBt wurde zusätzlich von der durch EDCI aktivierten Zwischenstufe und dem entsprechenden, bei der Reaktion intermediär auftretenden HOBt-Aktivester der Carbonsäure die LUMO-Energie sowie der LUMO-Koeffizient und die Atomladung am Carbonylkohlenstoff berechnet. Die ermittelten Werte sind in Tabelle 3.9, S. 114 aufgeführt. Bei kleinen HOMO-LUMO-Energiedifferenzen wäre nach dem Grenzorbitalkonzept <sup>[170]</sup> eine schnell ablaufende Reaktion zu erwarten.

Berechnete Struktur	Atomladung am primären Amin-N [e]	HOMO [eV]	HOMO-Koeffizient am primären Amin-N
 <p><b>118</b></p>	-0.923	-8.29	+0.0503
 <p><b>134</b></p>	-0.932	-8.28	-0.0034

**Tabelle 3.8:** Atomladungen und HOMO-Koeffizienten an den primären Aminstickstoff-Atomen sowie HOMO-Energiewerte der beiden Thiazolpyrrolcarboxamide **118** und **134**. Die Angaben beziehen sich auf eine semiempirisch-quantenmechanisch ermittelte lokale Minimumskonformation (SPARTAN <sup>[171]</sup>).

Berechnete Struktur	Atomladung am aktivierten Carbonyl-C [e]	LUMO [eV]	LUMO-Koeffizient am aktivierten Carbonyl-C
	+0.835	-1.55	-0.0003
	+0.870	-1.58	-0.0002

**Tabelle 3.9:** Atomladungen und LUMO-Koeffizienten am jeweiligen Carbonylkohlenstoff sowie LUMO-Energiewerte der aktivierten Naphthalimidpropionsäure-Zwischenstufen bei der Kupplung mit EDCI/HOBt. Die Angaben beziehen sich auf eine semiempirisch-quantenmechanisch ermittelte lokale Minimumskonformation (SPARTAN<sup>[171]</sup>).

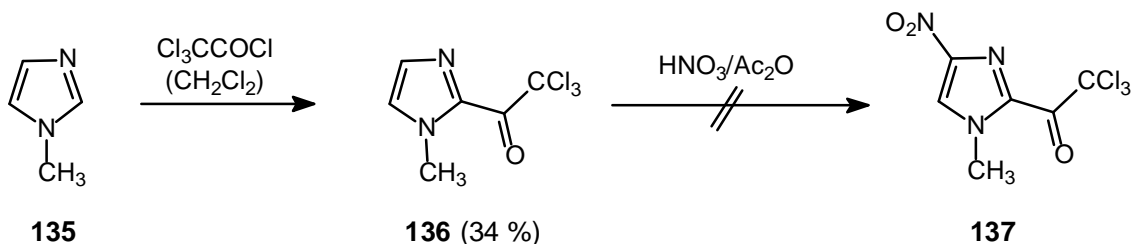
Für beide Thiazol-Derivate wurden fast identische Werte für die Atomladung am Amin-Stickstoff und die HOMO-Energien berechnet (s. Tab. 3.8, S. 113). In Bezug auf die ermittelten LUMO-Energiewerte der aktivierten Naphthalimidpropionsäuren (s. Tab. 3.9) resultieren daher ebenfalls sehr ähnliche HOMO-LUMO-Energiedifferenzen. Eine mögliche Erklärung für die experimentell gefundene unterschiedliche Reaktivität bzw. Nucleophilie der beiden Aminothiazol-Derivate liefern jedoch die berechneten HOMO-Koeffizienten an den primären Amin-N-Atomen der Verbindungen **118** und **134**. So weist das Methylthiazol-Derivat **118** gegenüber der Isopropylthiazol-analogen Verbindung **134** einen signifikant größeren HOMO-Koeffizienten (s. Tab. 3.8, S. 113) und folglich eine wesentlich höhere Elektronendichte im HOMO am nucleophil angreifenden Aminstickstoff auf. Demzufolge sollte der nucleophile Angriff am Carbonylkohlenstoff der aktivierten Carbonsäure durch das Methylthiazolpyrrolcarboxamid **118** unter kinetischer Betrachtungsweise nach der Grenzorbitaltheorie<sup>[170]</sup> im Vergleich zum Isopropylthiazol-Derivat **134** begünstigt sein.

Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass es sich bei diesen MO-Berechnungen nur um ein theoretisches Modell zur Erklärung experimenteller Befunde auf der Ebene von Molekülstrukturbetrachtungen handelt. Außerdem werden angesichts der Tatsache, dass sich die Berechnungen auf Systeme im Vakuum bei 0 K beziehen, die realen Reaktionsbedingungen (wie z. B. Solvensinteraktionen) nicht berücksichtigt. Auch der weitere Versuch, das Isopropylthiazol-Derivat **134** mit Acetylchlorid als sehr reaktivem Acylierungsmittel in Gegenwart von Hünig's Base zum *N*-Acyl-Derivat umzusetzen, blieb erfolglos<sup>[172]</sup>, woraufhin die Syntheseveruche zur Darstellung von Hybridmolekülen mit Isopropylthiazolcarboxamid-Grundgerüst eingestellt wurden.

### 3.10 Synthese und Strukturaufklärung des Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamids

#### 3.10.1 Synthese des Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamids

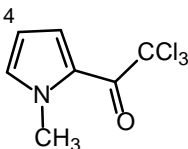
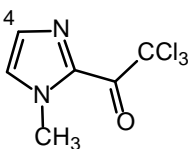
Durch die Synthese von Combilexinen mit Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamid-Struktur sollte das Ziel zum Aufbau einer neuen Serie GC-selektiver DNA-Liganden weiterverfolgt werden (s. Kap. 2.2.2.2, S. 50). Die zur Darstellung des Bispyrrolcarboxamids **60** verwendete Methode<sup>[122, 136]</sup> (s. Kap. 3.1.1, S. 58 ff.) konnte jedoch nicht auf die Imidazolcarboxamide übertragen werden, da auch nach mehreren Versuchen der Nitrierung des Trichloracetylimidazols **136** keine Umsetzung zum Nitro-Derivat **137** zu beobachten war (s. Abb. 3.45).



**Abb. 3.45:** Versuch zur Darstellung von 2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolyl)-ethanon **137**



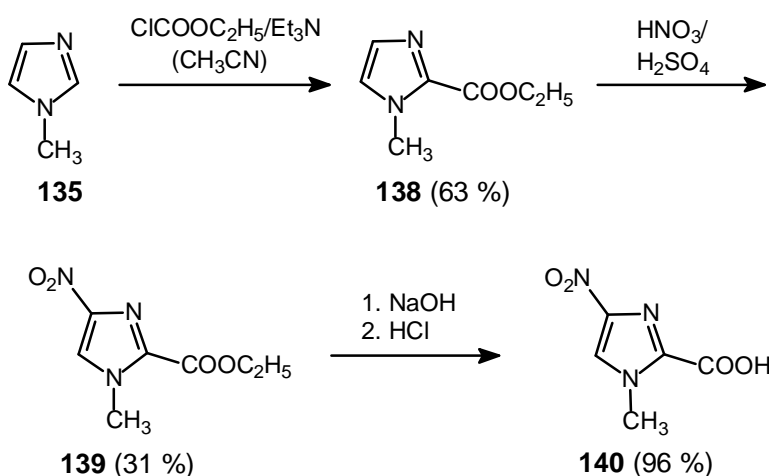
Vermutlich ist das Imidazol **136** durch den starken -I-Effekt der Trichloracetylgruppe und das zusätzliche Imin-N-Atom im Gegensatz zum entsprechenden Pyrrol-Derivat **56** einem Angriff durch Elektrophile unter den genannten Bedingungen nicht mehr zugänglich. Diese Vermutung wurde durch eine semiempirisch-quantenmechanische AM1-Berechnung (s. Kap. 3.9.4, S. 112) <sup>[167-170]</sup> des HOMO-Koeffizienten und der Atomladung an den C4-Atomen der beiden Verbindungen **136** und **56** untermauert (s. Tabelle 3.10).

Struktur der berechneten Verbindung	Atomladung an C4 [e]	HOMO-Koeffizient an C4
 <p><b>56</b></p>	-0.214	+0.1526
 <p><b>136</b></p>	+0.092	0.000

**Tabelle 3.10:** HOMO-Koeffizienten und Atomladungen an den C4-Atomen der Verbindungen **56** und **136**; Die Angaben beziehen sich auf eine semiempirisch-quantenmechanisch ermittelte lokale Minimumskonformation (SPARTAN <sup>[171]</sup>).

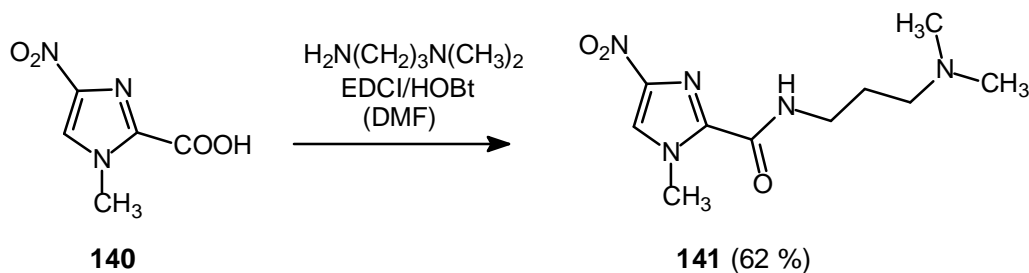
Sowohl die berechnete Ladungsdichte als auch die ermittelten HOMO-Koeffizienten an den C4-Atomen spiegeln die differierende Reaktivität der beiden Heterene gegenüber Elektrophilen wider. Das Pyrrol-Derivat **56** weist eine deutlich negativere Atomladung an C4 auf als das entsprechende Imidazol-Derivat **136** und sollte daher wesentlich leichter durch das *in situ* hergestellte Nitroniumacetat angegriffen werden. Auch nach der Grenzorbitaltheorie <sup>[170]</sup> dürfte - aufgrund des für Verbindung **56** ermittelten signifikant größeren HOMO-Koeffizienten an C4 - der elektrophile Angriff an C4 des Pyrrol-Derivates **56** im Vergleich zu Verbindung **136** kinetisch begünstigt sein.

Deshalb wurde zur Darstellung der Imidazolcarboxamide eine andere Synthesestrategie gewählt, indem zunächst mithilfe von Chlorameisensäureethylester eine weniger elektronenziehende Estergruppe an Position 2 des Imidazols **135** eingeführt wurde <sup>[173]</sup> (s. Abb. 3.46). Durch anschließendes Erhitzen mit Nitriersäure <sup>[174]</sup> gelang es, Verbindung **138** regioselektiv an Position 4 zu nitrieren. Die erzielte Ausbeute von **139** war mit 31 % für die weiteren Arbeiten ausreichend. Die freie Carbonsäure **140** war durch alkalische Esterverseifung und anschließendes Ansäuern mit 1M wässriger HCl leicht zugänglich <sup>[173]</sup>.



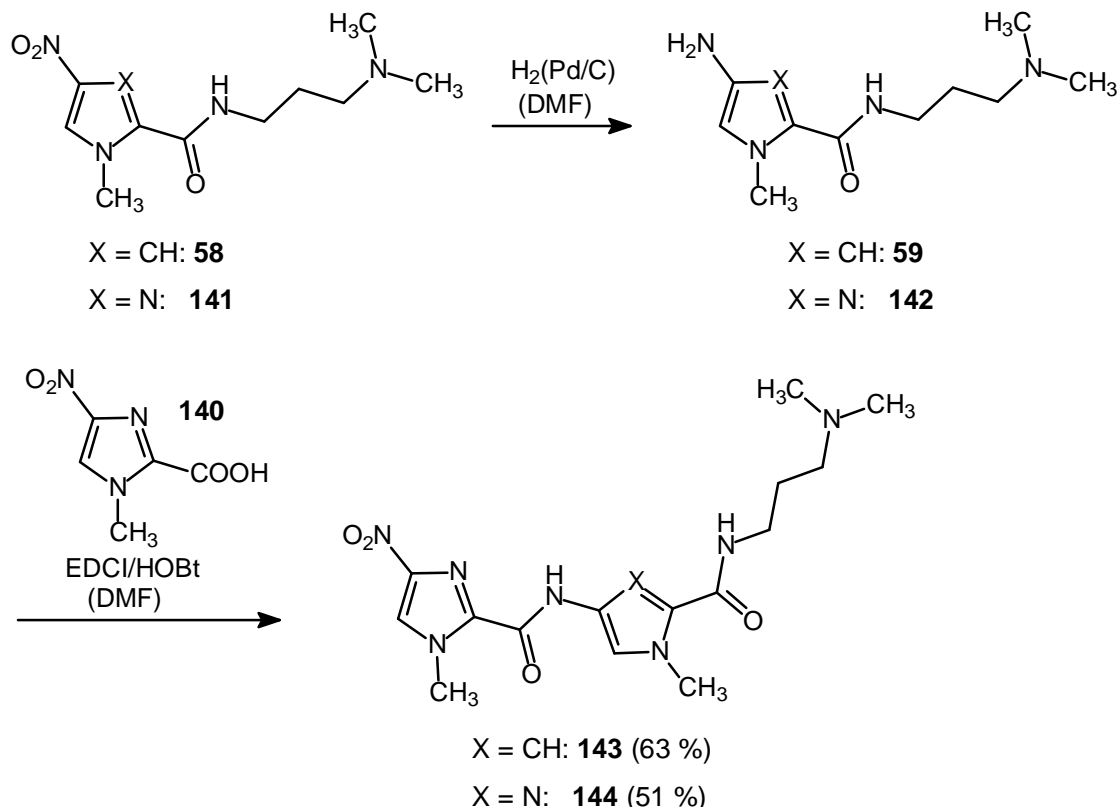
**Abb. 3.46:** Darstellung der 1-Methyl-4-nitroimidazol-2-carbonsäure **140**

Durch die Kupplung von 1-Methyl-4-nitroimidazol-2-carbonsäure **140** mit *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan mittels EDCI/HOBt <sup>[152]</sup> (s. Kap. 3.4.6, S. 94 f.) wurde das Imidazolcarbonsäureamid **141** in einer Ausbeute von 62 % erhalten (s. Abb. 3.47).



**Abb. 3.47:** Einführung der Dimethylaminopropylamin-Seitenkettenfunktion mittels EDCI/HOBt

Zur Darstellung des Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamids wurden die beiden durch vorherige Reduktion (s. Kap. 3.1.1, S. 59) der Nitroderivate **58** und **141** erhaltenen Amine mit **140** nach der bewährten EDCI/HOBt-Methode<sup>[152]</sup> verknüpft (s. Abb. 3.48).



**Abb. 3.48:** Darstellung des Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamids **143** bzw. **144** durch Amidkupplung mit EDCI/HOBt

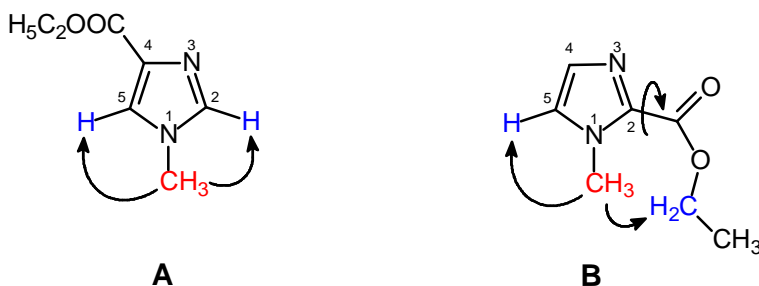
### 3.10.2 Strukturaufklärung der Imidazolcarboxamide

Als erstes sollte unter Nutzung der <sup>1</sup>H-NOE-Differenzanalyse die Konstitution von Verbindung **138** (s. Abb. 3.46, S. 117) und damit die regioselektive Einführung der Esterfunktion an Position 2 des 1-Methylimidazols **135** bewiesen werden. Hierzu wurde zunächst das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung **138** aufgenommen, dessen Signalzuordnung in Abbildung 3.50, S. 120 zu sehen ist. Durch Einstrahlen auf die Resonanzfrequenz der Imidazol-CH<sub>3</sub>-Gruppe war lediglich eine Intensivierung des tieffeldigeren Imidazol-H-Signals bei 7.44 ppm (s. Abb. 3.51, S. 120) zu beobachten.

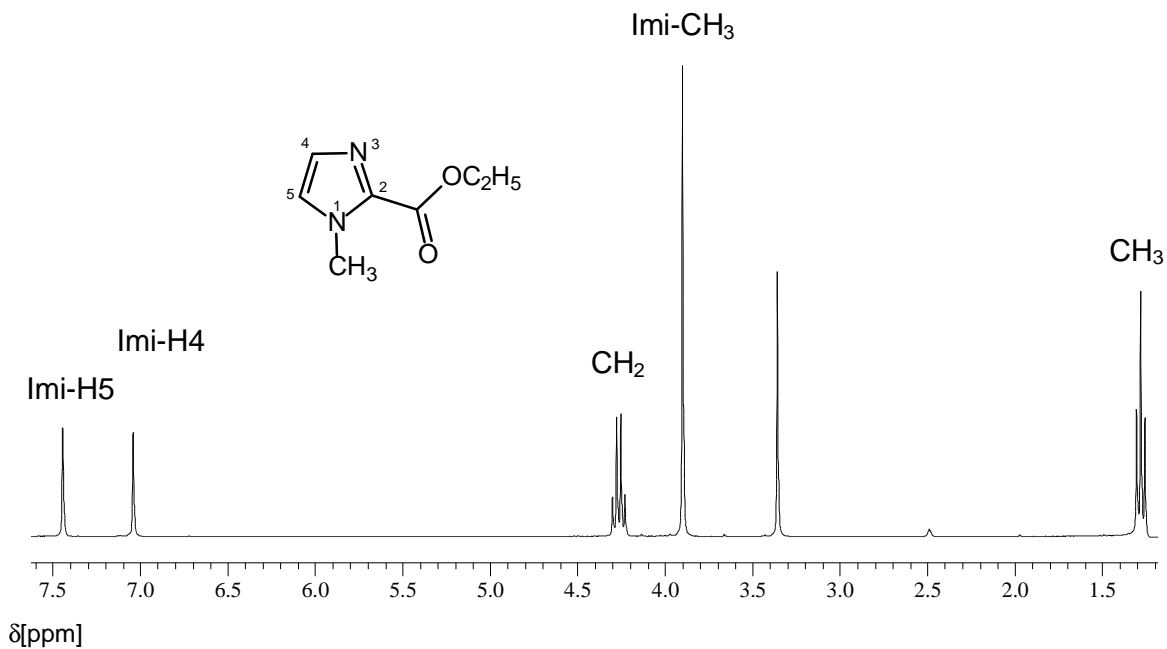
Eine denkbare Substitution an Position 4 konnte somit ausgeschlossen werden, weil bei einer 4-Substitution aufgrund des geringen räumlichen Abstandes ( $< 3 \text{ \AA}$ ) von Imidazol-H2 und -H5 zur Imidazol-CH<sub>3</sub>-Gruppe zwei Signalintensivierungen hätten auftreten müssen (s. Abb. 3.49 A). Bei dem Proton mit einer Verschiebung von  $\delta[\text{ppm}] = 7.44$  musste es sich zwangsläufig um Imidazol-H2 oder -H5 handeln. Ein wegen der möglichen Rotation um die Carbonyl-Imidazol-C2-Einfachbindung erwartetes NOE-Signal für die Protonen der CH<sub>2</sub>-Gruppe des Esters (s. Abb. 3.49 B) war bei diesem Einstrahlungsexperiment ebenfalls nicht zu beobachten. Dies lässt vermuten, dass in Lösung eine Konformation, bei der sich Imidazol-CH<sub>3</sub> und die Ester-CH<sub>2</sub>-Gruppe in einem räumlichen Abstand von  $< 3 \text{ \AA}$  befinden, im Zeitmittel des Rotationsgleichgewichtes nicht vorliegt.

Anschließend wurde auf das Imidazol-H bei  $\delta[\text{ppm}] = 7.44$  eingestrahlt. Da eine Signalintensivierung der Protonen der Imidazol-CH<sub>3</sub>-Gruppe und des aromatischen Protons bei 7.04 ppm auftrat (s. Abb. 3.52, S. 121), konnte das Signal bei  $\delta[\text{ppm}] = 7.44$  eindeutig Imidazol-H5 zugeordnet werden, während es sich bei dem Proton bei  $\delta[\text{ppm}] = 7.04$  um Imidazol-H4 handeln musste. Somit war die regioselektive Einführung der Esterfunktion an Position 2 des 1-Methylimidazols strukturell eindeutig bewiesen.

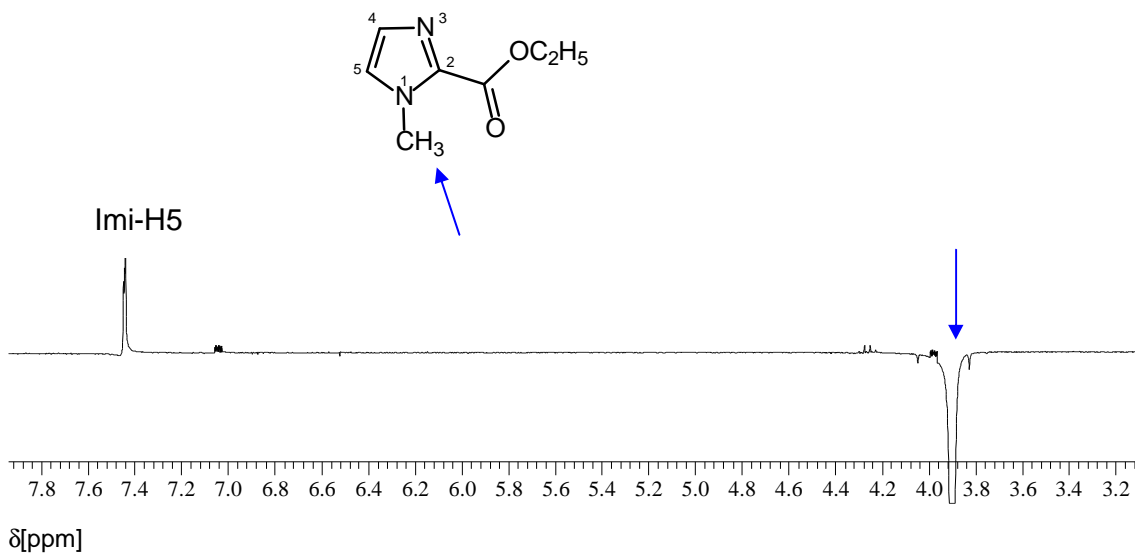
Die aufgrund des vorhandenen AB-Systems von Imidazol-H4 und -H5 zu erwartende Aufspaltung der Signale war infolge der zu geringen Betriebsfrequenz des Messgerätes nicht erkennbar. Es traten lediglich zwei scheinbare Singulets auf.



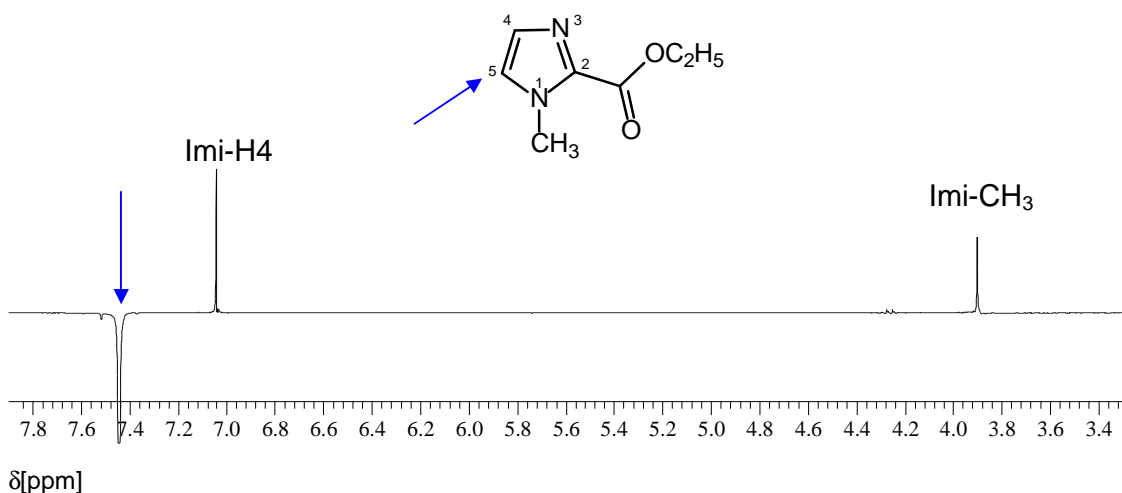
**Abb. 3.49:** Theoretisch zu erwartende NOE-Signale bei Einstrahlen auf Imidazol-CH<sub>3</sub>:  
**A:** bei 4-Substitution  
**B:** bei 2-Substitution



**Abb. 3.50:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 1-Methylimidazol-2-carbonsäureethylesters **138** (300 MHz); Lösungsmittel: DMSO- $d_6$ ; Imi = Imidazol

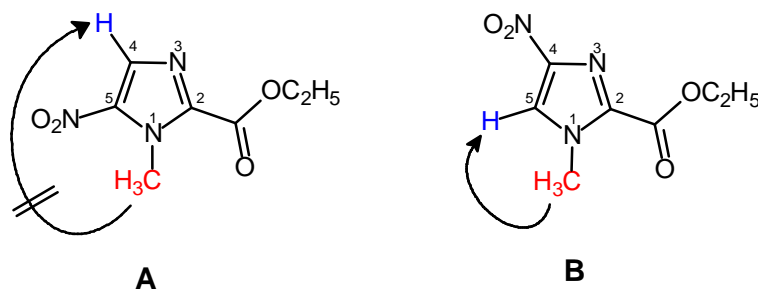


**Abb. 3.51:**  $^1\text{H-NOE}$ -Differenzspektrum bei Einstrahlung auf Imidazol- $\text{CH}_3$ ; es resultiert eine Signalintensivierung für Imidazol-H5 bei  $\delta$ [ppm] = 7.44; Lösungsmittel: DMSO- $d_6$ ; Imi = Imidazol

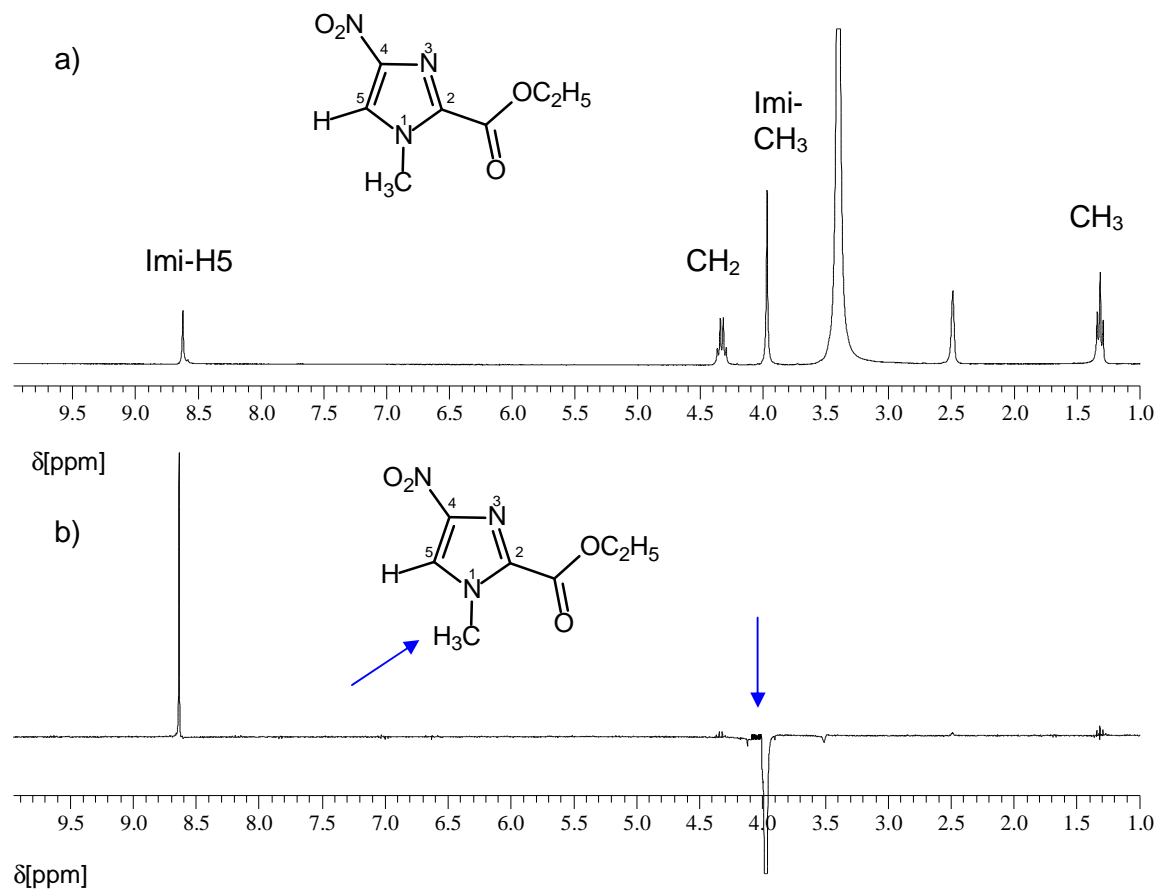


**Abb. 3.52:**  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzspektrum bei Einstrahlung auf Imidazol-H5 bei  $\delta[\text{ppm}] = 7.44$ ; es resultiert eine Signalintensivierung für Imidazol-H4 bei  $\delta[\text{ppm}] = 7.04$  und für Imidazol- $\text{CH}_3$ ; Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}_6$ ; Imi = Imidazol

Die regioselektive Nitrierung von **138** an Position 4 sollte ebenfalls anhand einer  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzanalyse nachgewiesen werden. Beim 4-Nitro-Konstitutionsisomeren **139** (s. Abb. 3.46, S. 117) sollte durch Einstrahlen auf die Resonanzfrequenz von Imidazol- $\text{CH}_3$  eine Signalintensivierung von Imidazol-H5 zu beobachten sein, wohingegen beim 5-Nitro-Derivat keine Signalintensivierung zu erwarten wäre (s. Abb. 3.53). Wie in Abbildung 3.54, S. 122 zu erkennen ist, trat bei Einstrahlung auf die Imidazol- $\text{CH}_3$ -Gruppe eine Signalintensivierung des Imidazol-H bei  $\delta[\text{ppm}] = 8.62$  auf, womit der Beweis für die regioselektive Nitrierung an Position 4 des Imidazolrings erbracht war.



**Abb. 3.53:** Zu erwartendes Ergebnis bei Einstrahlung auf die Imidazol- $\text{CH}_3$ -Gruppe:  
**A:** beim 5-Nitro-Derivat ist kein NOE-Signal zu erwarten  
**B:** beim 4-Nitro-Derivat ist eine Signalintensivierung für Imidazol-H5 zu erwarten

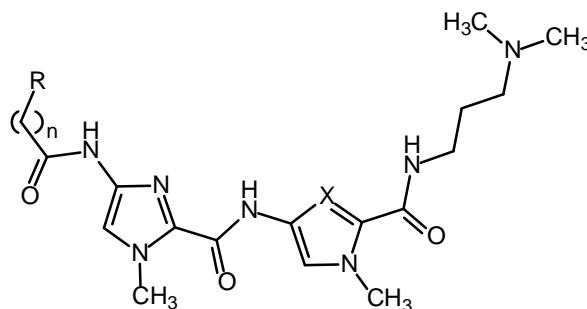


**Abb. 3.54:** a)  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **139** (300 MHz); Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}_6$   
 b)  $^1\text{H-NOE}$ -Differenzspektrum für Verbindung **139** bei Einstrahlen auf die Imidazol- $\text{CH}_3$ -Gruppe; es resultiert eine Signalintensivierung für Imidazol-H5; Lösungsmittel:  $\text{DMSO-d}_6$ ; Imi = Imidazol

Die Strukturaufklärung des Imidazolpyrrolcarboxamids **143** und des Bisimidazolcarboxamids **144** (s. Abb. 3.48, S.118) erfolgte durch Röntgenkristallstrukturanalyse (s. Kap. 5.3.4, S. 193 und Kap. 5.3.5, S. 197).

### 3.11 Synthese der Naphthalimid- und Acridon-N-terminal gekoppelten Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamide

Nach Reduktion der beiden Nitroimidazolcarboxamide **143** und **144** (s. Abb. 3.48, S.118) mit  $H_2/(Pd(10\%)/C)$  erfolgte der weitere Aufbau zu den entsprechenden Combilexinen ebenfalls nach der bisher sehr erfolgreich eingesetzten Kupplungsmethode mit EDCI/HOBt <sup>[152]</sup> (s. Kap. 3.4.6, S. 94 f.). Wie zuvor bei den Methylthiazol-Derivaten in Kapitel 3.7, S. 104 beschrieben, wurden auch von den Imidazolen nur Hybridmoleküle mit C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Linker synthetisiert. Die Darstellung der Naphthalimid- und Acridonalkancarbonsäuren wurde bereits in Kapitel 3.4.1.2, S. 87 und Kapitel 3.4.2.1, S. 89 ff. erläutert. Eine Übersicht über die dargestellten Combilexine gibt Tabelle 3.11.



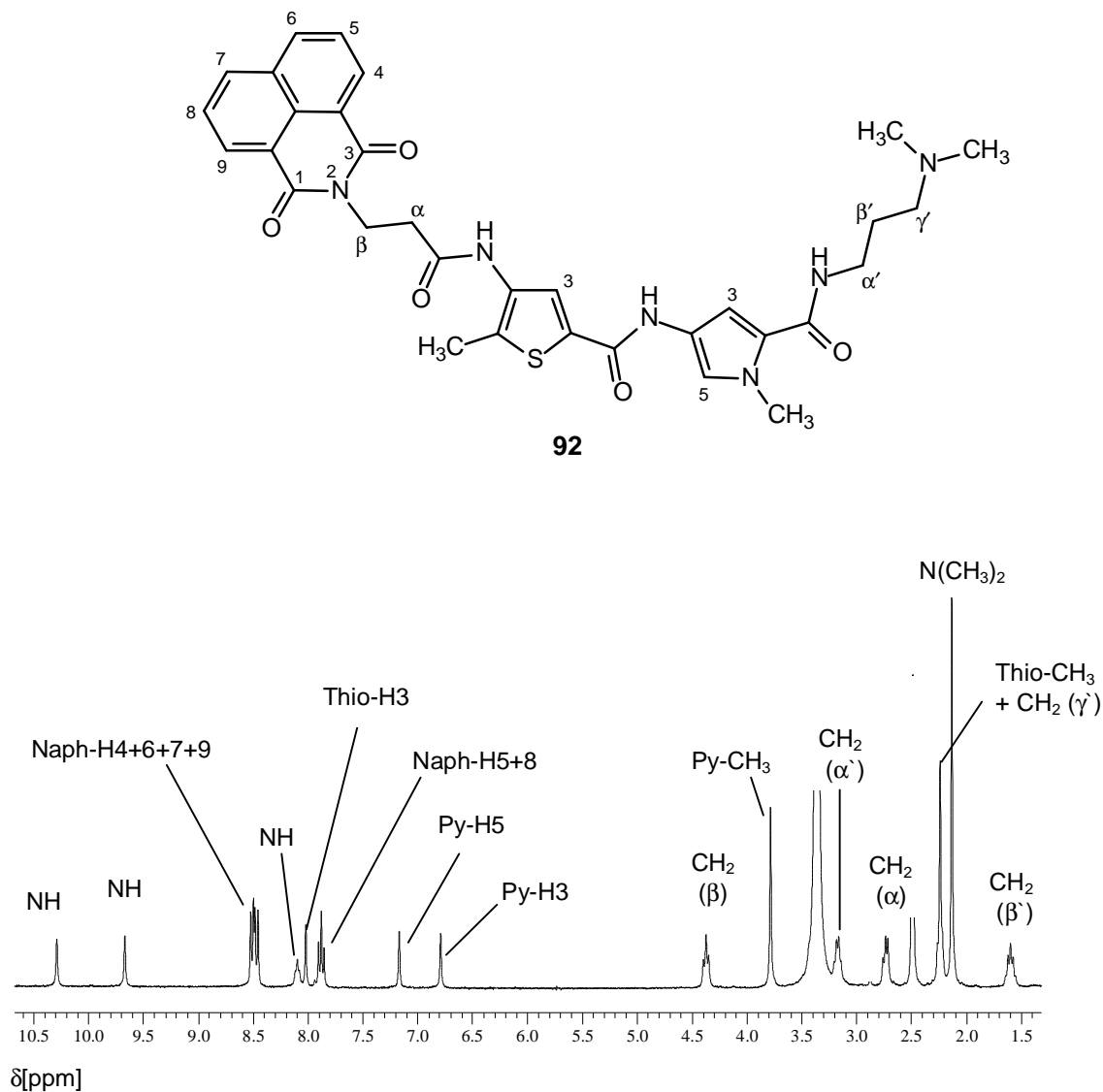
R	n	X	Ausbeute [%]	Verbindung Nr.
	2	CH	56	<b>145</b>
	3	CH	81	<b>146</b>
	3	N	50	<b>147</b>
	3	CH	25	<b>148</b>
	3	N	24	<b>149</b>

**Tabelle 3.11:** Übersicht der synthetisierten Combilexine mit Imidazolcarboxamid-Grundgerüst



### 3.12 Strukturaufklärung am Beispiel eines ausgewählten Combilexins

Abbildung 3.55 zeigt exemplarisch für die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexine das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **92** sowie deren Signalzuordnung.



**Abb. 3.55:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **92** (300 MHz); Lösungsmittel: DMSO- $d_6$ ; Naph = Naphthalimid, Thio = Thiophen, Py = Pyrrol

Die Signalzuordnung der Protonen der Thiophenpyrrolcarboxamid-Einheit von Verbindung **92** erfolgte analog zum Nitro-substituierten Derivat **69** (s. Kap. 3.3.4, S. 81 ff.). Auffallend hierbei war allerdings, dass Thiophen-H3 und die Protonen der Thiophen-CH<sub>3</sub>-Gruppe des Hybridmoleküls **92** gegenüber dem Nitrothiophenpyrrolcarboxamid **69** einen Hochfeldshift aufwiesen (s. Tab. 3.12). Hingegen war die chemische Verschiebung der Protonen des *N*-Methylpyrrols sowie der Protonen der C-terminalen Propylendiamin-Funktion bei beiden Verbindungen nahezu identisch.

	NO <sub>2</sub> -Thio-Py <b>69</b>	Naph-Thio-Py <b>92</b>
δ[ppm] Thiophen-H3	8.48	8.01
δ[ppm] Thiophen-CH <sub>3</sub>	2.77	2.24

**Tab. 3.12:** Chemische Verschiebung (Hochfeldshift) von Thiophen-H3 und Thiophen-CH<sub>3</sub> des Naphthalimidpropionsäure-*N*-terminal gekoppelten Hybridmoleküls **92** im Vergleich zum Nitrothiophenpyrrolcarboxamid **69**; Naph = Naphthalimid, Thio = Thiophen, Py = Pyrrol

Die im Vergleich zum Combilexin **92** tieffeldigere Lage des Thiophen-H3- und Thiophen-CH<sub>3</sub>-Signals beim Nitro-Derivat **69** lässt sich durch den starken -I- und -M-Effekt der Nitrogruppe erklären <sup>[185]</sup>.

Im aromatischen Bereich traten neben den Signalen für Pyrrol-H3 und -H5 sowie Thiophen-H3 zwei weitere Signalsätze auf, die sich den H-Atom-Kernen des Naphthalimids zuordnen ließen: ein Pseudotriplett bei δ[ppm] = 7.88 - verursacht durch Naphthalimid-H5+8 - und ein Multiplett bei δ[ppm] = 8.49 - hervorgerufen durch die Protonen an den Positionen 4, 6, 7 und 9 des Naphthalimids <sup>[125]</sup>.

Interessant sind auch die Methylengruppen der *N*-terminalen Propionsäure-Seitenkette, die zum Auftreten zweier Triplets (δ[ppm] (CH<sub>2</sub>(α)) = 2.73 und δ[ppm] (CH<sub>2</sub>(β)) = 4.37) führten, wobei das Resonanzsignal der β-Methylengruppe infolge des negativen induktiven Effektes durch die benachbarte Imidstruktur des Naphthalimids bei tieferem Feld erschien. Genau genommen handelt es sich aufgrund der unterschiedlichen flankierenden Gruppen (Amid-CO und Naphthalimid-N) um ein AA'XX'-System. Durch die ungehinderte Rotation der beiden

Methylengruppen in Lösung bei RT sind die jeweils geminalen Protonen im Zeitmittel chemisch äquivalent, weshalb man zur Vereinfachung auch von einem scheinbaren  $A_2X_2$ -System 1. Ordnung sprechen kann <sup>[185]</sup>.

Weitere Details zu Verbindung **92** sind im Experimentellen Teil (s. Kap. 10.3.25.2, S. 345) dokumentiert.

#### **4. Biophysikalische und biochemische Untersuchungen an der DNA sowie zellbiologische Zytotoxizitäts-Studien an Tumorzelllinien**

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierten variabel funktionalisierten Fünfringhetarencarboxamide wurden auf ihre DNA-Bindeeigenschaften, Topoisomerase I und II hemmende Aktivität sowie antitumorale Wirksamkeit getestet. Die erhaltenen Ergebnisse sollen im folgenden Kapitel aufgeführt und die Struktureinflüsse auf die einzelnen Effekte diskutiert werden.

Um Aussagen bezüglich der DNA-Affinität und Sequenzselektivität treffen zu können, wurden sämtliche Testverbindungen der im Arbeitskreis Pindur (D. Buckert <sup>[131]</sup>) etablierten  $T_m$ -Wert-Messung unterzogen. Zusätzlich wurden in einem externen Forschungslabor (Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille, Frankreich) an ausgewählten Verbindungen validierte biophysikalische (UV-Absorptionsspektroskopie, Circular dichroismus) sowie biochemische (Topoisomerase-I- und -II-Assays) Untersuchungen durchgeführt. Diese sollten Aufschluss über Wechselwirkungen mit der DNA und den Topoisomerasen sowie im Falle positiver Resultate Informationen über den zugrunde liegenden Bindungsmodus liefern. Darüber hinaus wurden einige Substanzen zellbiologisch auf ihre Zytotoxizität an verschiedenen Tumorzelllinien untersucht (National Cancer Institute (NCI), Bethesda, Maryland, USA; Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg; Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille, Frankreich).

Diese Evaluierungen sollten zur Aufstellung vororientierender Struktur-Wirkungsbeziehungen dienen und richtungweisend für weiterführende Entwicklungen sequenzselektiver DNA-Liganden mit Antitumoraktivität sein.

Zunächst sollen die eingesetzten biophysikalischen und biochemischen Verfahren kurz beschrieben werden. Die Ergebnisse werden anschließend - nach den jeweiligen Stoffklassen geordnet - in folgender Weise erläutert:

- 1) Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen Untersuchungen
- 2) Zellbiologische Testungen und deren Ergebnisse
- 3) Interpretation der Ergebnisse aus 1) und 2)

## 4.1 Beschreibung der verwendeten biophysikalischen und biochemischen Verfahren

### 4.1.1 Thermische Denaturierung/Bestimmung der Schmelztemperatur der DNA ( $T_m$ -Wert) <sup>[127, 175-178]</sup>

Eine etablierte Methode, die aufgrund ihrer guten Reproduzierbarkeit sowie schnellen und einfachen methodischen Handhabung häufig zur Ermittlung der Bindungsstärke von Substanzen an der DNA eingesetzt wird, stellt die  $T_m$ -Wert-Bestimmung dar <sup>[28, 121, 127, 175-177]</sup>.

Beim Erhitzen einer wässrigen, gepufferten DNA-Lösung über eine kritische Temperatur hinaus kollabiert die ursprüngliche doppelhelicale Struktur der DNA, indem sich die komplementären Stränge voneinander trennen und eine zufällige, ungeordnete Knäuelkonfiguration annehmen <sup>[178]</sup>. Dieser Prozess der *thermischen Denaturierung* („Schmelzen“) der DNA, der auch bei Proteinen bekannt ist, kann mithilfe UV-spektrophotometrischer Messungen (üblicherweise bei  $\lambda = 260$  nm, UV-Absorptionsmaximum für Nucleotide) anhand einer charakteristischen hyperchromen Absorptionsverschiebung in Abhängigkeit der Temperatur verfolgt werden. Dieses Phänomen kommt durch Aufhebung der elektronischen  $\pi$ - $\pi$ -Stacking-Interaktionen zwischen den gestapelten Basen zustande <sup>[178]</sup>. Die Temperatur im Wendepunkt der sogenannten Schmelzkurve - hier liegt die DNA zur Hälfte doppelsträngig bzw. einzelsträngig im Gleichgewicht vor - entspricht dem  $T_m$ -Wert (Schmelztemperatur) der DNA <sup>[121, 178]</sup>.

Substanzen, die mit der DNA in Wechselwirkung treten, stabilisieren die Doppelhelix. Infolgedessen kommt es zu einer Erhöhung der Denaturierungstemperatur der DNA, da mehr Energie benötigt wird, um die beiden Stränge voneinander zu trennen. Die Differenz zwischen dem  $T_m$ -Wert der DNA in Anwesenheit einer DNA-bindenden Substanz und dem  $T_m^0$ -Wert der reinen Nucleinsäure bezeichnet man als  $\Delta T_m$ -Wert. Dieser steht in Korrelation zur DNA-Bindungsaffinität eines Liganden <sup>[179]</sup>, wobei  $\Delta T_m$ -Werte  $> 10$  in der Regel auf eine gute DNA-Bindung hindeuten <sup>[127]</sup>. Aussagen

bezüglich des Bindungsmodus (z. B. Rinnenbindung, Interkalation) können anhand von  $\Delta T_m$ -Werten jedoch nicht getroffen werden.

Da sich die Sequenzselektivität rinnenbindender Substanzen in unterschiedlichen  $\Delta T_m$ -Werten mit GC- und AT-reicher DNA widerspiegeln kann <sup>[180]</sup>, wurde für die Testung der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Hybridmoleküle sowohl natürliche Kalbsthymus(CT)-DNA (~ 42 % GC-Anteil <sup>[74, 176]</sup>,  $T_m = 87^\circ\text{C}$ ) als auch das synthetische, aus alternierend angeordneten AT-Basenpaaren bestehende Polynucleotid poly(dAdT) ( $T_m = 47^\circ\text{C}$ ) verwendet.

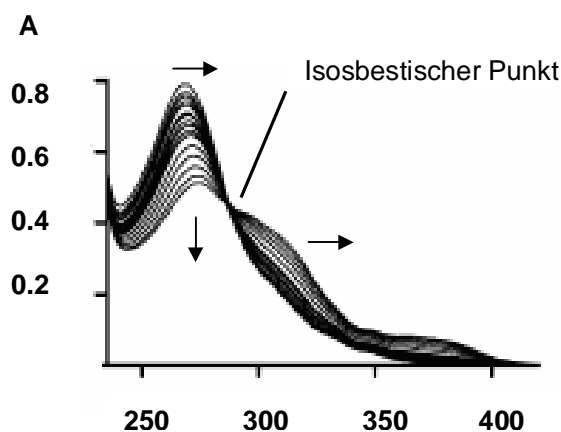
#### 4.1.2 UV-Absorptionsspektroskopie <sup>[74, 127, 176, 179, 181-185]</sup>

Ein weiteres Verfahren, mit dem sich die DNA-Bindung einer Testsubstanz nachweisen lässt, ist die UV-Absorptionsspektroskopie <sup>[179]</sup>.

Hierbei macht man sich zu Nutze, dass sich das UV-Spektrum einer DNA-interagierenden Substanz in Anwesenheit von DNA verändert. Beobachtet man die Veränderung des UV-Absorptionsspektrums einer gepufferten, wässrigen Lösung ( $\text{pH} = 7.1$ ) der zu untersuchenden Verbindung während der Titration mit einer DNA-Lösung (in der Regel wird Kalbsthymus-DNA (CT-DNA) verwendet), so kommt es im Falle einer DNA-Bindung zu einer hypochromen - oftmals assoziiert mit einer bathochromen - Verschiebung der Absorptionskurve <sup>[74, 176, 179, 181-184]</sup>.

Der bathochrome Effekt ist auf die aus den  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen den Elektronen des Liganden und der Nucleobasen resultierende Verminderung der Energiedifferenz zwischen HOMO und LUMO der Testsubstanz zurückzuführen <sup>[183, 185]</sup>. Die Ursache für das Auftreten des hypochromen Effektes hingegen liegt in einer Zunahme der Übergangswahrscheinlichkeit der  $\pi \rightarrow \pi^*$ - und  $n \rightarrow \pi^*$ -Übergänge begründet, was zu einer geringeren Strahlungslebensdauer des angeregten Zustandes und folglich zu einer Intensitätsabnahme der Absorptionsbande führt <sup>[185]</sup>.

Eine Differenzierung zwischen den verschiedenen Bindungsmodi ist jedoch auch mit dieser Methode nicht möglich <sup>[74, 179]</sup>. Allerdings lässt ein gut aufgelöster isosbestischer Punkt auf eine homogene Interaktion in einer Gleichgewichtsreaktion schließen <sup>[181, 184]</sup> (s. Abb. 4.1, S. 130).



**Abb. 4.1:** Modell-Abbildung für die Veränderung des UV-Absorptionsspektrums einer DNA-bindenden Substanz während der Titration mit CT-DNA (DNA/Substanz-Verhältnis von 0:1 bis 20:1) <sup>[181]</sup>. Erkennbar ist eine hypochrome (↓) sowie bathochrome (→) Verschiebung. Der gut aufgelöste isosbestische Punkt deutet zusätzlich auf eine homogene Interaktion hin.

Um erste Aussagen bezüglich der DNA-Bindung der im Rahmen der vorliegenden Arbeit dargestellten Hybridmoleküle treffen zu können, wurde zunächst das Absorptionsspektrum ( $\lambda = 240\text{-}450\text{ nm}$ ) der einzelnen Testverbindungen sowie anschließend in Anwesenheit der äquimolaren Menge an CT-DNA ( $20\text{ }\mu\text{M}$ ) gemessen <sup>[127]</sup>. Da bis zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit noch keine weiteren Titrations durchgeführt wurden, ist die Interpretation der zu kommentierenden UV-Ergebnisse vorerst auf mögliche hypo- und bathochrome Effekte beschränkt.

### 4.1.3 Circular dichroismus (CD) <sup>[9, 74, 127, 157, 185-187]</sup>

Bei der Messung des - zumeist zur Konformations- und Konfigurationsanalyse von chiralen Molekülen eingesetzten - Circular dichroismus (CD) wird die Lichtabsorption von zirkular polarisiertem Licht durch optisch aktive Substanzen in Abhängigkeit von der Wellenlänge beobachtet. Tritt links- und rechtszirkular polarisiertes Licht durch ein optisch aktives Medium (z. B. enantiomereine Substanz), so kommt es zu einer unterschiedlichen Wechselwirkung der beiden Strahlenarten mit der Substanz und folglich zu einer unterschiedlichen Lichtabsorption. Der Circular dichroismus ist definiert als die Differenz  $\Delta A$  der Absorption des links- und rechtszirkular polarisierten Lichtes. Trägt man  $\Delta A$  gegen die Wellenlänge  $\lambda$  auf, erhält man das sogenannte CD-

Spektrum <sup>[185, 186]</sup>. Hierbei befindet sich das Maximum bzw. Minimum des CD immer bei der Wellenlänge des UV/Vis-Absorptionsmaximums der entsprechenden Verbindung ( $\lambda_{\text{max}}$ ) <sup>[186]</sup>.

Die Bindung einer achiralen Substanz an die chirale DNA führt zu einer induzierten optischen Aktivität des DNA-gebundenen Liganden <sup>[9]</sup>. Hierdurch wird ermöglicht, mithilfe des Circular dichroismus Informationen über den Bindungsmodus der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten, optisch inaktiven Hybridmoleküle zu gewinnen. Tritt im CD-Spektrum eines DNA-bindenden Moleküls in Anwesenheit von DNA (in der Regel Kalbsthymus-DNA (CT-DNA)) neben einem durch die DNA verursachten positiven Signal zwischen  $\lambda = 250\text{-}280$  nm (UV-Absorptionsmaximum der Nucleobasen) ein weiteres positives Signal bei  $\lambda = 300\text{-}350$  nm in Erscheinung, so ist dies ein eindeutiger Hinweis auf Minor Groove Binding <sup>[74, 157, 187, 188]</sup>. Demgegenüber verursachen Interkalatoren - bei der Wellenlänge ihres Absorptionsmaximums (zumeist bei  $\lambda > 350$  nm) - schwach negative Signale, die aufgrund starker Intensitätsschwankungen oftmals nicht bzw. nur sehr schwer zu erkennen sind <sup>[74, 125, 127, 157, 188]</sup>. Zum Nachweis einer Interkalation wurde daher zusätzlich der Topoisomerase-I-Relaxations-Assay herangezogen (s. Kap. 4.1.4.1, S. 134).

#### 4.1.4 Topoisomerase-Hemmtest (Topoisomerase-Relaxations- und -Cleavage-Assay) <sup>[181, 184, 190]</sup>

Da zahlreiche Minor Groove Binder (z. B. Hoechst 33258 **33**, s. Abb. 1.17, S. 22) sowie Combilexine (z. B. Distel (1+) **38**, NetAmsa **42**, s. Kap. 1.5.2, S. 34 ff.) eine Topoisomerase I und/oder II hemmende Wirkung besitzen <sup>[6, 13, 76, 78, 101, 127, 189]</sup> und die in dieser Arbeit verwendeten Interkalator-Grundgerüste Anthrachinon, Pyridocarbazol, Naphthalimid und Acridon Strukturelemente bekannter Topoisomerase-II-Hemmer sind (s. Kap. 1.3, S. 7 ff.), wurden die im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierten Hybridmoleküle auf ihre Topoisomerase I und II hemmenden Eigenschaften untersucht. Im Folgenden sollen daher die Funktionen der Topoisomerasen, Topoisomerase-Hemmstoffe sowie die verwendeten Testsysteme kurz erläutert werden.



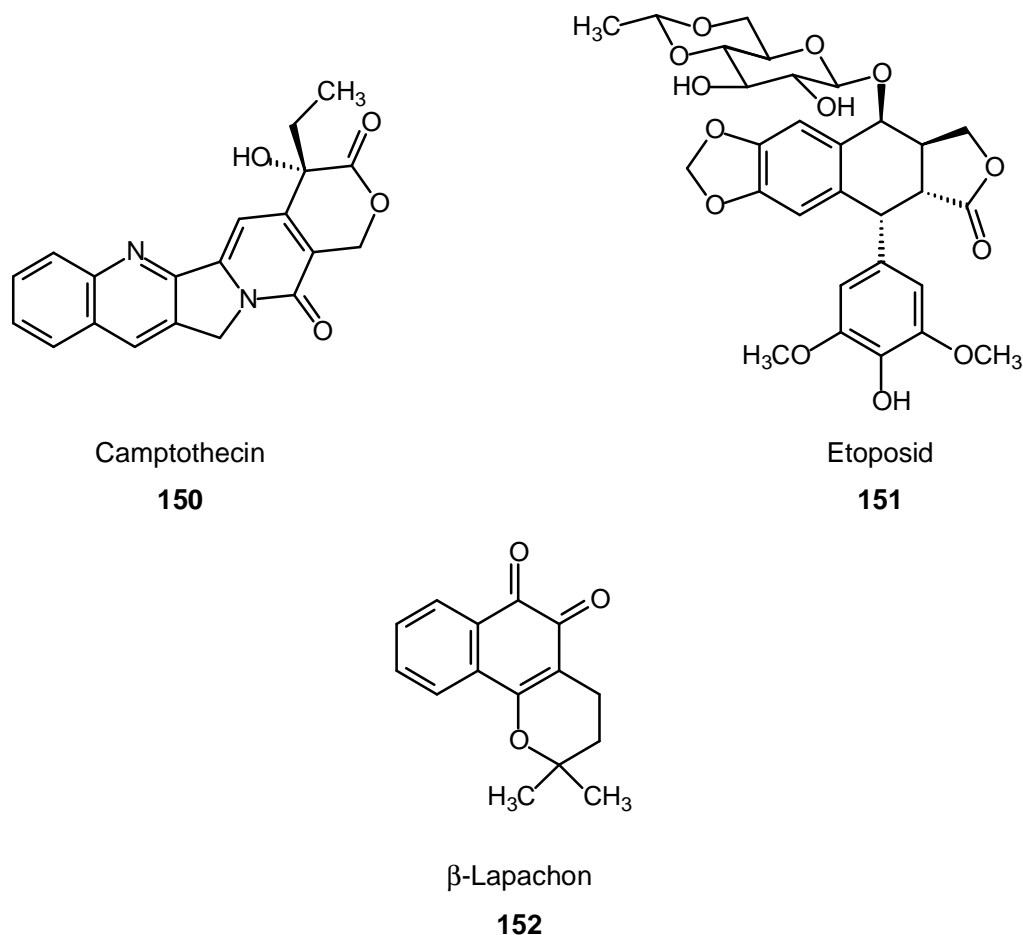
Die DNA kann ihre molekularbiologischen Funktionen nur ausüben, wenn sie sich in einem adäquaten topologischen Zustand befindet <sup>[178]</sup>. Die Kontrolle der DNA-Topologie während der Zellteilung erfolgt durch bestimmte Enzyme des Zellkerns, die Topoisomerasen I und II. Normalerweise liegen DNA-Doppelstränge in den Zellen als Chromatin in einer negativ superspiralisierten Form vor <sup>[20]</sup>. Für grundlegende biologische Vorgänge wie Transkription, Replikation und genetische Rekombination ist jedoch die lokale Trennung der beiden komplementären Polynucleotidstränge und folglich eine Entspiralisierung erforderlich <sup>[178]</sup>. Typ-I-Topoisomerasen katalysieren die Entspiralisierung negativ superspiralierter DNA, indem sie einen vorübergehenden Einzelstrangbruch herbeiführen und anschließend die Enden wieder verknüpfen; hierbei entsteht die relaxierte Form der DNA <sup>[10, 20, 41]</sup>. Bei den Typ-II-Topoisomerasen ist zwischen den prokaryotischen und eukaryotischen Enzymen zu unterscheiden: während die prokaryotische Topoisomerase II (sog. Gyrase) durch Spaltung und Wiederverknüpfung beider Stränge unter ATP-Verbrauch die Umwandlung von relaxierter DNA in die negativ superspiralisierte Form ermöglicht, führen die eukaryotischen Typ-II-Enzyme - ebenfalls durch Induktion von Doppelstrangbrüchen und anschließender Religation - zur Relaxation negativ superspiralierter DNA <sup>[66, 178]</sup>.

Die für Topoisomerasen codierenden Gene werden in einer ganzen Reihe schnellproliferierender Tumorzellen überexprimiert, was diese Enzyme zu einem geeigneten Target für Zytostatika macht <sup>[20, 41, 193]</sup>. Topoisomerase-Hemmstoffe können folglich mit einer gewissen Tumorzellselektivität für die Zelle lebensnotwendige, biologische Prozesse wie Replikation und Transkription unterbinden. Hierbei differenziert man zwischen den sogenannten *TOPO-Poisons* und *-Suppressors*.

*TOPO-Poisons* stabilisieren den spaltbaren Topoisomerase-DNA-Komplex („Cleavable-Komplex“) durch Ausbildung eines nichtproduktiven, ternären Komplexes aus Wirkstoff, DNA und Enzym und verhindern auf diese Weise die Religation der durchtrennten Stränge <sup>[20, 66, 190-192]</sup>. Die hieraus resultierenden DNA-Strangbrüche führen über verschiedene biochemische Abläufe - u. a. Aktivierung des Tumorsuppressor-Proteins p53 - zur Apoptose <sup>[28, 66, 193]</sup>. Beispiele bekannter *TOPO-I-Poisons* sind Camptothecin **150** und Hoechst 33258 **33**; zu den Topoisomerase-II-Giften zählt z. B. Etoposid **151** (s. Abb. 4.2, S. 133 u. Abb. 1.17, S. 22) <sup>[20, 191, 194]</sup>.

*TOPO-Suppressoren* hingegen unterdrücken die Aktivität der Topoisomerasen ohne mit dem „Cleavable-Komplex“ zu interagieren. Sie verhindern die Bindung des

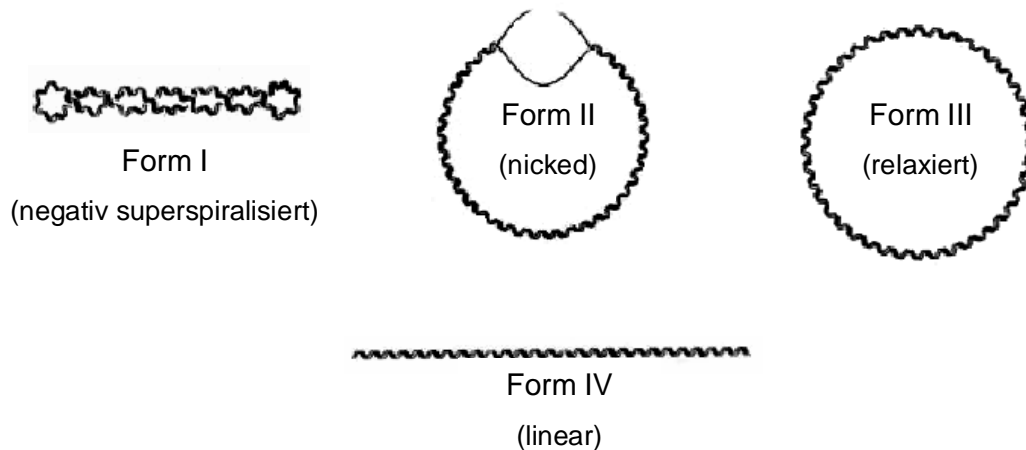
Enzyms an die DNA, indem sie entweder an das Enzym selbst (z. B.  $\beta$ -Lapachon **152** (Topoisomerase-I-Suppressor), s. Abb. 4.2) oder an die DNA binden (z. B. Netropsin **29**, Distamycin **30** (Topoisomerase-I-Suppressors), s. Abb. 1.17, S. 22) <sup>[66, 191]</sup>. Da solche Inhibitoren keine irreversiblen DNA-Schäden induzieren und somit lediglich eine zellwachstumshemmende Aktivität besitzen, ist deren antitumorale Wirksamkeit schwächer als die der Topoisomerase-Poisons <sup>[7, 66]</sup>.



**Abb. 4.2:** Beispiele bekannter TOPO-I- oder TOPO-II-Poisons und -Suppressors <sup>[20, 191, 194]</sup>

Die ringförmige Plasmid-DNA eignet sich besonders gut, um die Aktivität der Topoisomerasen sowie Topoisomerase-Inhibitoren zu untersuchen <sup>[190]</sup>. Sie kann in unterschiedlichen topologischen Konformationen vorliegen (s. Abb. 4.3, S. 134): als negativ superspiralisierte zirkuläre DNA (Form I), als zirkuläre DNA mit einem Einzelstrangbruch (*nicked DNA*, Form II), als relaxierte zirkuläre DNA (Form III) oder als lineare DNA mit einem Doppelstrangbruch (Form IV).

Diese verschiedenen Plasmid-Formen lassen sich experimentell mittels Gel-Elektrophorese auftrennen, was man sich bei den unterschiedlichen Assay-Verfahren zu Nutze macht <sup>[181, 184, 190]</sup>.



**Abb. 4.3:** Schematische Darstellung der verschiedenen Plasmid-Topologien <sup>[195]</sup>

#### 4.1.4.1 Topoisomerase-I-Relaxations-Assay <sup>[127, 190]</sup>

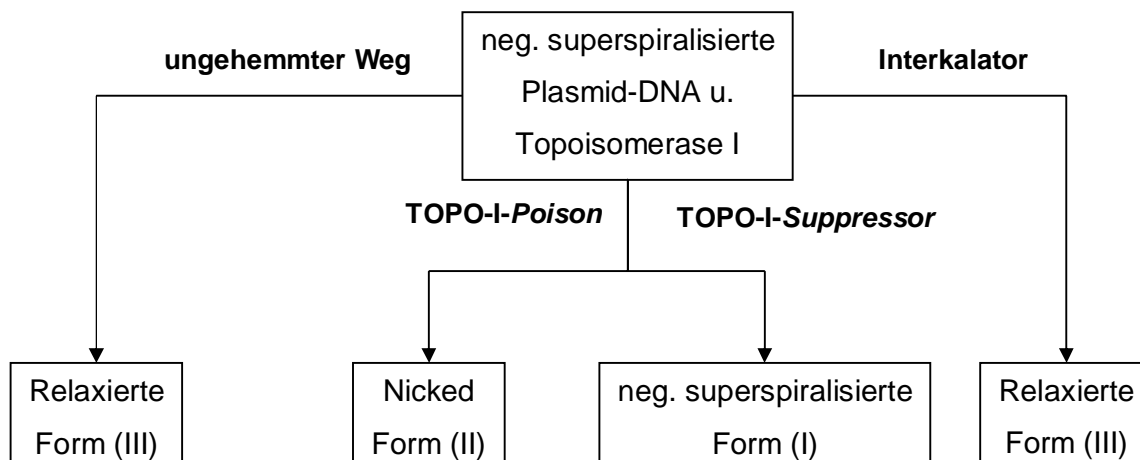
Durchführung des Topoisomerase-I-Relaxations-Assay <sup>[127]</sup>:

Negativ superspiralisierte Plasmid-DNA (pLAZ-Plasmid-DNA mit einem nicked-Anteil < 10 %) wurde 45 min. bei 37°C mit humaner Topoisomerase I (Topogen) und unterschiedlichen Konzentrationen an Testsubstanz (5, 10, 20 und 50 µM) in einem die physiologischen Bedingungen widerspiegelnden Reaktionspuffer inkubiert. Mittels SDS (Sodium Dodecylsulfat) und Proteinkinase K wurde die Reaktion gestoppt und das Enzym von der DNA abgespalten. Nach Zugabe von Auftragspuffer schloss sich die gelelektrophoretische Trennung der erhaltenen Proben in einem 1%igen Agarosegel an (2 h bei 120 V). Die Detektion erfolgte nach Anfärben der Banden in einem Ethidiumbromid-haltigen Bad unter UV-Licht.

Fungiert die Testsubstanz als TOPO-I-Suppressor (s. S. 132 f.), wird die DNA-Bindung des Enzyms und somit die durch die Topoisomerase I katalysierte Relaxation verhindert; die Plasmid-DNA bleibt folglich in ihrer negativ superspiralisierten Form (s. Abb. 4.4, S. 135). Diese wandert aufgrund der kompakteren Struktur schneller durch das poröse Gel als die relaxierte Form <sup>[190]</sup>.

Im Gegensatz hierzu kommt es in Anwesenheit eines *TOPO-I-Poisons* zur vermehrten Bildung von nicked-Plasmid-DNA, da die Religation des durch die Topoisomerase I verursachten Einzelstrangbruchs im „Cleavable-Komplex“ gehemmt wird.

Darüber hinaus können mithilfe des Relaxations-Assays zusätzlich Informationen über den Bindungsmodus gewonnen werden: Interkalatoren führen durch das Einschleiben zwischen die gestapelten Basenpaare zu einer Entspiralisierung der DNA (s. Kap. 1.3, S. 8) <sup>[190]</sup>. Nimmt der Anteil der durch die Topoisomerase-I-induzierten, relaxierten Form der Plasmid-DNA mit steigender Konzentration der zu untersuchenden Verbindung signifikant zu (*DNA-Unwinding*), könnte dies ein Hinweis auf eine interkalierende Testsubstanz sein (s. Kap. 4.1.4.2, S. 136) <sup>[127]</sup>.



**Abb. 4.4:** Bildung der unterschiedlichen Plasmid-DNA-Formen (s. Abb. 4.3, S. 134) nach Inkubation neg. superspiralierter Plasmid-DNA mit einem *TOPO-I-Poison*, *-Suppressor* oder Interkalator in Gegenwart von Topoisomerase I.

Die relaxierte sowie nicked Form der DNA sind jedoch nach dem beschriebenen Verfahren gelelektrophoretisch nicht klar voneinander zu trennen, weshalb zur genauen Differenzierung eines *TOPO-I-Giftes* von einer interkalierenden Verbindung eine zweite Testmethode herangezogen werden muss (s. Kap. 4.1.4.2, S. 136) <sup>[190]</sup>.

#### 4.1.4.2 Topoisomerase-I-Cleavage-Assay<sup>[127, 190]</sup>

##### Durchführung des Topoisomerase-I-Cleavage-Assay<sup>[127]</sup>:

Die Durchführung des Topoisomerase-I-Cleavage-Assays erfolgte bis auf die Verwendung von Ethidiumbromid-haltigem Agarosegel analog zu dem bereits in Kapitel 4.1.4.1, S. 134 beschriebenen Relaxations-Assay.

Durch die Verwendung von Ethidiumbromid-haltigem Gel können nicked, relaxierte und negativ superspiralisierte Form voneinander separiert werden. Während die elektrophoretische Mobilität der nicked-DNA durch Ethidiumbromid praktisch unbeeinflusst bleibt, wird die Helix der relaxierten Form entwunden<sup>[190]</sup>. Dies spiegelt sich in einer Abnahme der helikalen Windungszahl  $T_w$  wider; gleichzeitig nimmt die superhelikale Windungszahl  $W_r$  zu, wodurch die relaxierte DNA in eine positiv superspiralisierte Form übergeht. Diese wandert geringfügig schneller durch das Gel als die negativ superspiralisierte Form<sup>[125, 175, 190]</sup>.

Dieses Testverfahren dient primär der Identifizierung von Verbindungen mit TOPO-I-*Poison*-Aktivität<sup>[127]</sup>. Nimmt die Intensität der Bande der nicked-DNA in Anwesenheit einer Testsubstanz zu, handelt es sich folglich um ein Topoisomerase-I-Gift<sup>[190]</sup>. Als Vergleich wurde eine Probe mit dem TOPO-I-*Poison* Camptothecin **150** aufgetragen (Formel s. Abb. 4.2, S. 133).

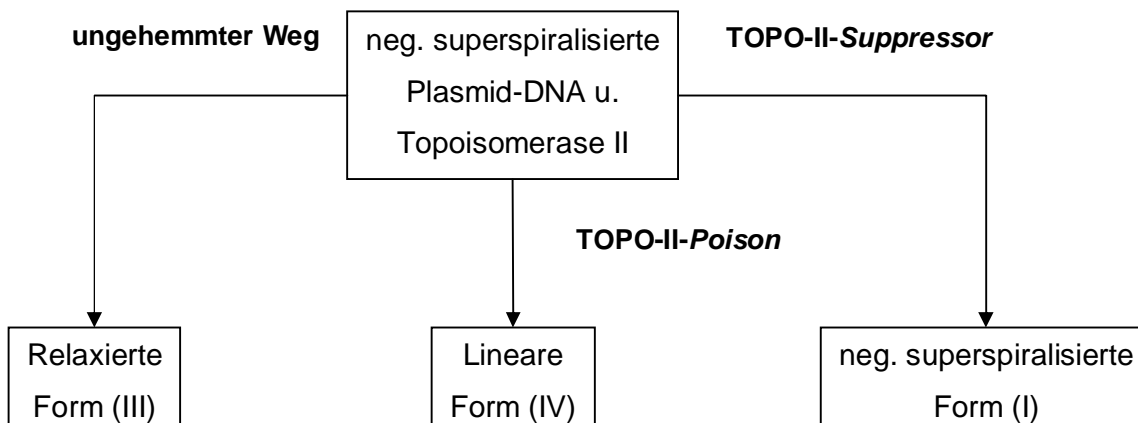
Ist im umgekehrten Fall beim Cleavage-Assay keine Intensitätszunahme der Bande der nicked Form zu beobachten, im Topoisomerase-I-Relaxations-Assay unterdessen jedoch eine deutlich vermehrte Bildung relaxierter Plasmid-DNA mit steigender Konzentration der zu untersuchenden Verbindung zu erkennen (s. Kap. 4.1.4.1, S. 134), liegt eine interkalierende Substanz vor<sup>[127]</sup>.

Darüber hinaus wurde der Cleavage-Assay genutzt, um zusätzlich auf indirektem Wege eine Topoisomerase-I-*Suppressor*-Aktivität nachzuweisen. Gibt man zu einer Probe, die bereits Camptothecin **150** enthält, einen TOPO-I-*Suppressor* hinzu, so wird die normalerweise durch Camptothecin **150** gesteigerte Bildung von nicked-DNA unterdrückt, da die Ausbildung des „Cleavable-Komplexes“ durch den *Suppressor* verhindert wird. Die DNA bleibt demzufolge in ihrer initialen Konformation (negativ superspiralisiert).

#### 4.1.4.3 Topoisomerase-II-Cleavage-Assay <sup>[127, 181, 184]</sup>

##### Durchführung des Topoisomerase-II-Cleavage-Assay <sup>[127]</sup>:

Die Durchführung erfolgte analog zum Topoisomerase-I-Cleavage-Assay. Als Enzym wurde die humane Topoisomerase II (Topogen) verwendet. Als Vergleichssubstanz diente Etoposid **151** (Formel s. Abb. 4.2, S. 133).



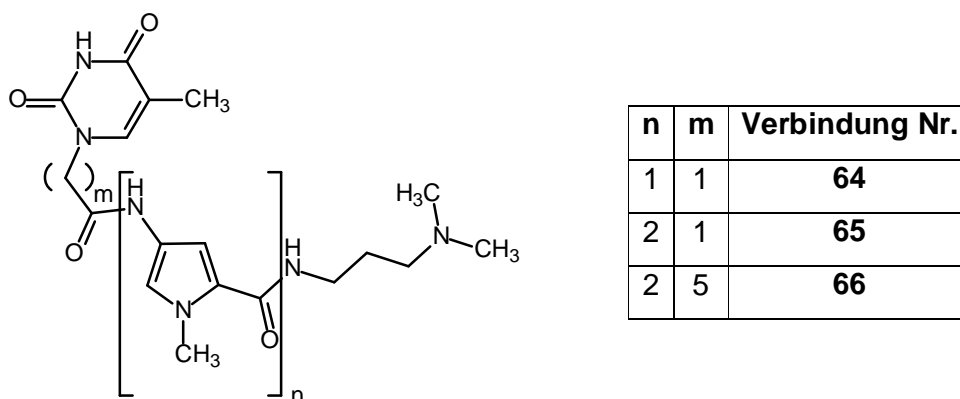
**Abb. 4.5:** Nach Inkubation negativ superspiralisierter Plasmid-DNA mit einem TOPO-II-Poison in Gegenwart von humaner Topoisomerase II kommt es zur Bildung der linearen Plasmid-DNA-Form (Form IV, s. Abb. 4.3, S. 134).

Wie aus Abbildung 4.5 hervorgeht, können TOPO-II-Poisons - diese hemmen die Religation des durch die humane Topoisomerase II verursachten Doppelstrangbruchs im spaltbaren Komplex - anhand der Bildung linearer Plasmid-DNA identifiziert werden. In Abwesenheit der Testsubstanz bzw. in Anwesenheit nicht Topoisomerase-II-hemmender Verbindungen entsteht (im Falle eukaryotischer Topoisomerase II) nach Wiederverknüpfung der freien Enden die relaxierte Form <sup>[127, 181, 184]</sup>. Wird hingegen die katalytische Aktivität der Topoisomerase II durch einen TOPO-II-Suppressor gehemmt, bleibt die DNA in ihrer negativ superspiralisierten Form.

## 4.2 Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Pyrrolcarboxamide mit *N*-terminaler Thyminalkanoyl-Funktion

### 4.2.1 Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen

Die Nucleobasen-gekoppelten Pyrrolcarboxamide **64**, **65** und **66** (s. Abb. 4.6) wurden mithilfe der in Kapitel 4.1 (S. 128 ff.) beschriebenen Methoden auf ihre DNA-Bindeeigenschaften und Wechselwirkungen mit den Topoisomerasen I und II untersucht.



**Abb. 4.6:** Übersicht der getesteten Verbindungen

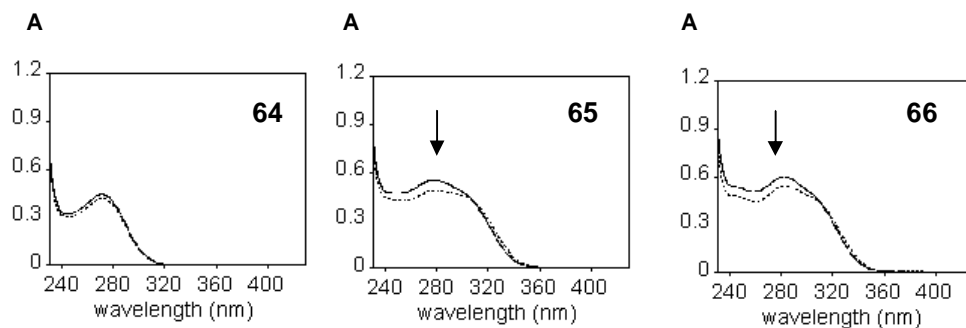
Wie aus den Ergebnissen der  $T_m$ -Wert-Bestimmungen hervorgeht (s. Tab. 4.1, S. 139), zeigten lediglich die Bispyrrol-Derivate **65** und **66** einen signifikanten, wenngleich schwachen Anstieg der DNA-Schmelztemperatur, wobei die mit poly(dAdT)-DNA ermittelten Werte deutlich höher lagen als unter Verwendung von Kalbs-thymus(CT)-DNA (GC-Anteil ~ 42 %).

Verbindung	DT <sub>m</sub>	DT <sub>m</sub>
	(poly(dAdT)) [°C]; r = 1	(CT-DNA) [°C]; r = 1
<b>64</b>	n. a.	n. a.
<b>65</b>	7.7 ± 0.15	2.4 ± 0.32
<b>66</b>	6.9 ± 0.11	2.7 ± 0.24

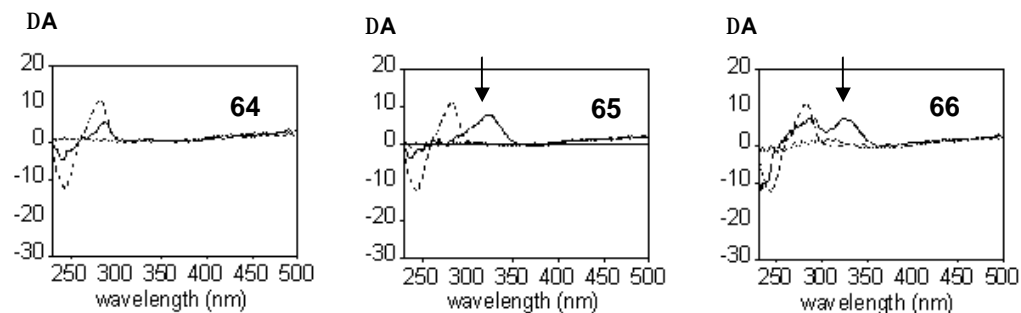
**Tab. 4.1:**  $\Delta T_m$ -Werte (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung) der untersuchten Thymin-gekoppelten Pyrrolcarboxamide **64-66**; r = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; n. a. = keine messbare DNA-Bindung,  $\Delta T_m \leq 1^\circ\text{C}$

Damit korrelierend sind auch die mittels UV-Absorptionsspektroskopie und Circulardichroismus erhaltenen Resultate (s. Abb. 4.7).

**UV-Absorptionsspektren:** (r = 1; — Substanz; ---- Substanz + CT-DNA)



**CD-Spektren:** (r = 10; ..... Substanz; ---- CT-DNA; — Substanz + CT-DNA)



**Abb. 4.7:** UV-Absorptions- und CD-Spektren von **64-66**; r = molares Verhältnis CT-DNA/Testsubstanz



Nur für die beiden Hybridmoleküle mit Bispyrrolcarboxamid-Grundgerüst war eine schwach hypochrome Verschiebung des UV-Absorptionsspektrums sowie ein positives CD-Signal zwischen  $\lambda = 300\text{-}350\text{ nm}$  in Anwesenheit von CT-DNA zu beobachten.

In den Topoisomerase-Hemmtestungen konnte für keine der drei Verbindungen eine Topoisomerase I oder II hemmende Aktivität nachgewiesen werden.

#### 4.2.2 Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien

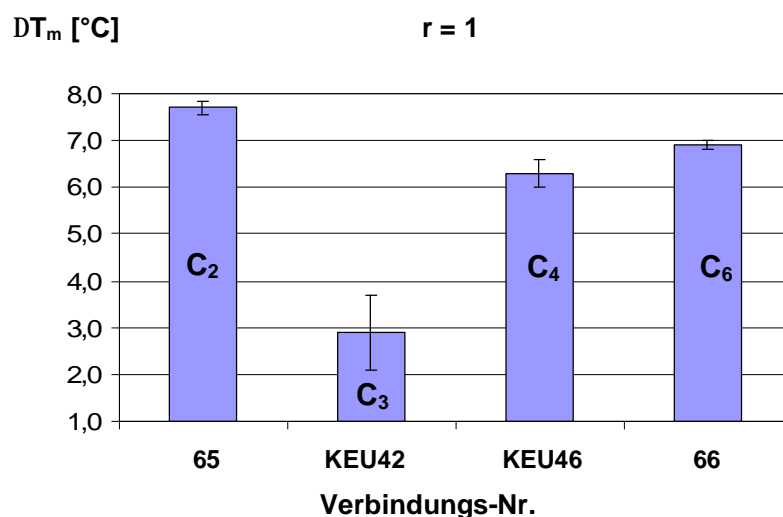
Da das Monopyrrol-Derivat **64** keine DNA-Bindung zeigte, wurden lediglich die beiden Bispyrrole **65** und **66** ausgewählt, um am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) Heidelberg mittels MTS-Assay <sup>[166, 196]</sup> auf ihre Zytotoxizität an einer humanen Melanomzelllinie (Sk-Mel-28) getestet zu werden. Weder für Verbindung **65** noch **66** konnte nach drei Tagen Inkubationszeit eine Zellwachstumshemmung in den verwendeten Konzentrationen (1-250  $\mu\text{M}$ ) festgestellt werden.

#### 4.2.3 Interpretation der Ergebnisse

Die Testergebnisse der Nucleobasen-gekoppelten Hybridmoleküle lassen sich in folgender Weise interpretieren:

Anhand der  $T_m$ -Wert- und UV-spektroskopischen Messungen wurde für die beiden Bispyrrol-Derivate **65** und **66** eine schwache DNA-Affinität gezeigt. Wie zu erwarten, binden diese aufgrund ihres Pyrrolcarboxamid-Grundgerüsts vorzugsweise an poly(dAdT)-DNA (s. Tab. 4.1, S. 139). Das positive CD-Signal der beiden Hybridmoleküle bei  $\lambda = 300\text{-}350\text{ nm}$  (UV-Absorptionsmaximum des Bispyrrol-Strukturelementes) deutete zusätzlich auf Minor Groove Binding hin. Demgegenüber konnte für das Monopyrrol-Derivat **64** keine DNA-Bindung nachgewiesen werden, was die vororientierenden Struktur-Wirkungsbeziehungen von Hotzel <sup>[122]</sup> und Keuser <sup>[125]</sup>, denen zufolge für eine ausreichende DNA-Bindung mindestens zwei Fünfringhetarene bzw. drei Carboxamid-Funktionen erforderlich sind, bestätigt.

Die Hypothese, dass durch Verwendung längerer aliphatischer Linker am *N*-Terminus die Anpassungsgeometrie zur Ausbildung eines dualen Bindungsmodus (Minor Groove Binding und Hoogsteen-Basenpaarungen in der großen Rinne) begünstigt und auf diese Weise die DNA-Affinität dieser Verbindungsklasse gesteigert werden könnte (s. Kap. 1.7, S. 41 u. Kap. 2.1, S. 45), wurde jedoch nicht bestätigt. Wider Erwarten wurde für das Hybridmolekül mit C<sub>2</sub>-Linker **65** ein höherer  $\Delta T_m$ -Wert mit poly(dAdT)-DNA ermittelt als für das homologe Thyminhexanoylbispyrrolcarboxamid **66** sowie die bereits von Keuser<sup>[125]</sup> synthetisierten und getesteten Thymin-gekoppelten Bispyrrolcarboxamide mit C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Linker (**KEU42** und **KEU46**, s. Abb. 4.8). Darüber hinaus war Verbindung **66** mit einer aliphatischen Kettenlänge von 6 C-Atomen dem Thyminbuttersäure-Derivat **KEU46** bezüglich der DNA-Affinität kaum überlegen.



**Abb. 4.8:** Balkendiagramm der  $\Delta T_m$ -Werte (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung) mit poly(dAdT)-DNA in Abhängigkeit der aliphatischen Linkerlänge am *N*-Terminus;  $r$  = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz

Da der Verlust an inneren Freiheitsgraden für starre Liganden geringer ist, binden diese im Vergleich zu flexibleren Molekülen oftmals fester an ihr Target<sup>[133]</sup>. Möglicherweise nimmt auch das Hybridmolekül **65** aufgrund der geringeren Flexibilität des C<sub>2</sub>-Linkers eine relativ starre sichelförmige Bindekonformation an, wobei sich das Bispyrrol-Strukturelement zusammen mit der *N*-terminalen Thymin-Base in der

kleinen Rinne der DNA anlagert. In diesem Falle könnten zusätzliche Interaktionen zwischen den Nucleobasen der Minor Groove und dem Thymin des Liganden für die stärkere Fixierung von **65** verantwortlich sein. Zudem könnte der auf der Freisetzung von Wassermolekülen beruhende Entropiegewinn, der die treibende Kraft bei einer Rinnenbindung darstellt (s. Kap. 1.4, S. 21), durch die zusätzliche Bindung des Thymins in der kleinen Rinne verstärkt werden.

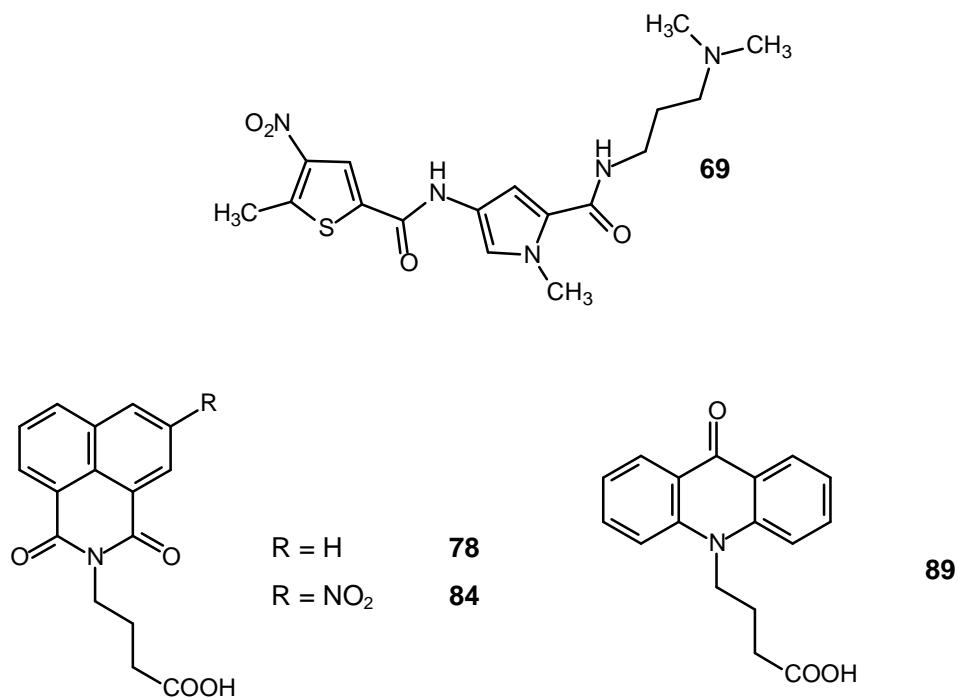
Ferner waren die beiden Bispyrrolcarboxamid-Derivate **65** und **66** im MTS-Assay (DKFZ Heidelberg) gegenüber der getesteten Melanomzelllinie (Sk-Mel-28) inaktiv. Ursache hierfür könnte neben der schwachen DNA-Affinität dieser Substanzklasse die fehlende Topoisomerase-Hemmung sein, da die Topoisomerasen neben der DNA als relevantes Target der antitumoralen Aktivität DNA-interagierender Substanzen anzusehen sind <sup>[6, 13, 28]</sup>. Außerdem deuten die mittels ACD (Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada) berechneten logP-Werte (-2.07 für **65** und -1.33 für **66**) auf eine sehr große Hydrophilie der beiden Moleküle hin, wodurch zusätzlich die Zellpenetration erschwert sein dürfte.

Da die DNA-Affinität gegenüber den zuvor von Keuser <sup>[125]</sup> synthetisierten Nucleobasen-gekoppelten Pyrrolcarboxamid-Derivaten nicht signifikant gesteigert werden konnte, und die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Hybridmoleküle **64-66** zudem in den Topoisomerase-Hemmungs-Assays sowie im MTS-Assay alle inaktiv waren, wurde auf eine Fortsetzung der Synthese dieser Verbindungsserie verzichtet.

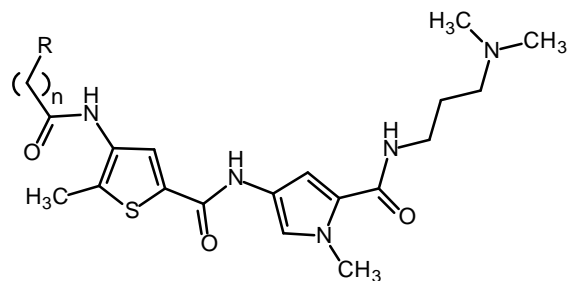
## 4.3 Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundstruktur

### 4.3.1 Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen

In Analogie zu den Nucleobasen-gekoppelten Derivaten wurden zunächst mittels  $T_m$ -Wert-Messung die DNA-Affinitäten der in Tabelle 4.2, S. 144 aufgeführten Combilexine bestimmt. Zusätzlich wurden auch die  $\Delta T_m$ -Werte des Nitrothiophenpyrrolcarboxamids **69** sowie einiger - zum Aufbau der Hybridmoleküle eingesetzter - Interkalatorcarbonsäuren ermittelt (s. Abb. 4.9). Diese sollten Aufschluss darüber geben, ob die einzelnen Bausteine schon vor ihrer Verknüpfung eine nachweisbare DNA-Affinität besitzen bzw. welchen Beitrag die einzelnen Basis-Strukturen für eine DNA-Bindung liefern.



**Abb. 4.9:** Übersicht der mittels  $T_m$ -Wert-Messung untersuchten Bausteine



R	n	Verbindung Nr.
	1	<b>91</b>
	2	<b>92</b>
	3	<b>93</b>
	4	<b>94</b>
	5	<b>95</b>
	3	<b>96</b>
	2	<b>97</b>
	3	<b>98</b>
	2	<b>104</b>
	2	<b>105</b>

**Tab. 4.2:** Übersicht der Testverbindungen mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundstruktur

Verbindung	DT <sub>m</sub> (poly(dAdT)) [°C]; r = 1	DT <sub>m</sub> (CT-DNA) [°C]; r = 1	DT <sub>m</sub> (CT-DNA)/ DT <sub>m</sub> (poly(dAdT)) [%]
<b>69</b>	3.2 ± 0.8	0.7 ± 1.1	22
<b>78</b>	n. a.	n. a.	-
<b>84</b>	1.5 ± 0.4	n. a.	-
<b>89</b>	n. a.	n. a.	-
<b>91</b>	21.2 ± 0.3	6.8 ± 1.5	32
<b>92</b>	<b>22.6 ± 0.3</b>	<b>8.4 ± 0.4</b>	37
<b>93</b>	17.4 ± 0.3	2.5 ± 0.3	14
<b>94</b>	15.1 ± 0.4	5.4 ± 0.5	36
<b>95</b>	9.9 ± 0.3	2.4 ± 0.3	24
<b>96</b>	12.6 ± 0.4	4.4 ± 0.4	34
<b>97</b>	20.3 ± 0.4	3.4 ± 0.5	17
<b>98</b>	<b>23.3 ± 0.4</b>	<b>6.3 ± 0.8</b>	27
<b>104</b>	12.0 ± 0.2	2.4 ± 0.1	20
<b>105</b>	18.2 ± 0.7	4.5 ± 0.2	25

**Tab. 4.3:** Ergebnisse der T<sub>m</sub>-Wert-Messungen (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen, ± Standardabweichung); r = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; n. a. = keine messbare DNA-Bindung, ΔT<sub>m</sub> ≤ 1°C; letzte Spalte: prozentuales Verhältnis der mit CT- und poly(dAdT)-DNA ermittelten Werte

Wie Tabelle 4.3 zu entnehmen ist, besitzt das Nitrothiophenpyrrolcarboxamid **69** nur eine äußerst schwache DNA-Affinität. Auch bei den Interkalatorcarbonsäuren **78**, **84** und **89** war kein signifikanter Anstieg der DNA-Schmelztemperatur zu beobachten (lediglich für die Nitronaphthalimidbuttersäure **84** konnte eine geringfügige DNA-Schmelzpunkterhöhung mit poly(dAdT)-DNA ermittelt werden). Aufgrund der zu schwachen DNA-Affinitäten wurde auf weitere biophysikalische/biochemische sowie zellbiologische Testungen dieser Synthese-Bausteine verzichtet.

Die Combilexine hingegen zeigten alle eine gute bis sehr gute DNA-Bindung an das Polynucleotid poly(dAdT) (ΔT<sub>m</sub>-Werte ≥ 10°C, s. Tab. 4.3), wobei die höchsten ΔT<sub>m</sub>-Werte für das Naphthalimidpropionyl- (ΔT<sub>m</sub>(poly(dAdT)) = 22.6°C) und Acridonbuta-

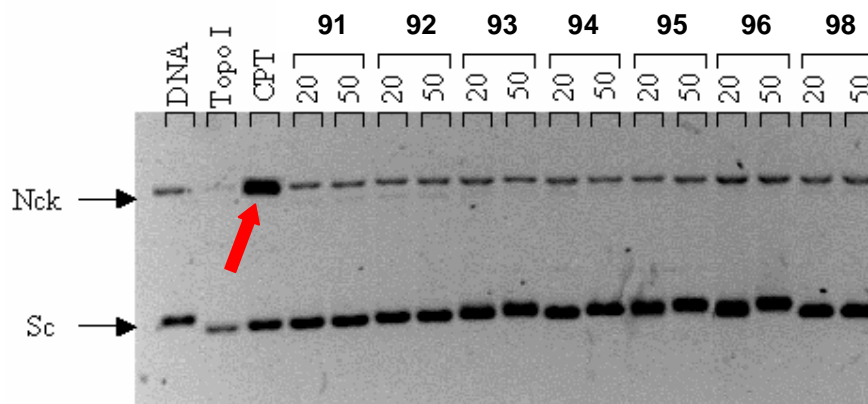
noyl-gekoppelte Thiophenpyrrolcarboxamid ( $\Delta T_m(\text{poly(dAdT)}) = 23.3^\circ\text{C}$ ) **92** und **98** ermittelt wurden. Überraschenderweise war das 5-Nitronaphthalimid-substituierte Derivat **96** der entsprechenden nicht-nitrierten Verbindung **93** bezüglich der DNA-Bindungsstärke weit unterlegen.

Darüber hinaus zeigten alle Thiophen-haltigen Combilexine (bis auf Verbindungen **97**, **104** und **105**; diese werden zurzeit noch in Lille getestet) eine hypochrome Bandenverschiebung bei den UV-spektroskopischen Untersuchungen. Für die gleichen Testsubstanzen wurde anhand eines positiven CD-Signals bei  $\lambda = 300\text{-}350$  nm (UV-Absorptionsmaximum der Thiophenpyrrolcarboxamid-Einheit) Minor Groove Binding nachgewiesen (s. Tab. 4.4). Hinweise auf eine mögliche Interkalation konnten aus den gemessenen CD-Spektren jedoch nicht gewonnen werden. Dies könnte allerdings auch auf die zuvor erwähnten technisch bedingten Intensitätsschwankungen der Banden zurückzuführen sein (s. Kap. 4.1.3, S. 131).

Verbindung	91	92	93	94	95	96	97	98	104	105
UV (r = 1)	h	h	h	h	h	h	n. b.	h	n. b.	n. b.
CD (r = 10)	+	+	+	+	+	+	n. b.	+	n. b.	n. b.

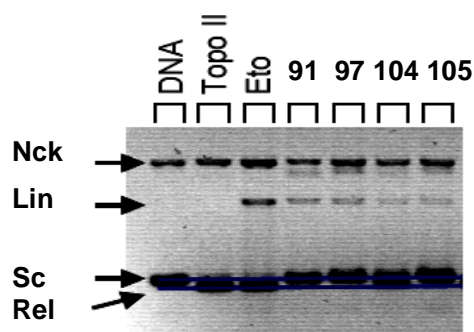
**Tab. 4.4:** Ergebnisse der UV-spektroskopischen Messungen ((h) = hypochrome Verschiebung der UV-Absorptionsbande) und des Circular dichroismus (CD) ((+) steht für ein positives CD-Signal bei  $\lambda = 300\text{-}350$  nm); r = molares Verhältnis CT-DNA/Testsubstanz; n. b. = nicht bestimmt, diese Substanzen befinden sich zurzeit noch in Testung in Lille

Im Topoisomerase-I-Cleavage-Assay (s. Kap. 4.1.4.2, S. 136) konnte jedoch für keine der getesteten Verbindungen (**91**, **92**, **93**, **94**, **95**, **96**, **98**) eine Topoisomerase-I-*Poison*-Aktivität nachgewiesen werden: im Gegensatz zur Vergleichsprobe mit dem TOPO-I-*Poison* Camptothecin (CPT) **150** (s. Abb. 4.2, S. 133) war in Anwesenheit der Testsubstanzen keine Intensitätszunahme der nicked-Plasmid-DNA-Bande zu beobachten (s. Abb. 4.10, S. 147).



**Abb. 4.10:** Ergebnis des Topoisomerase-I-Cleavage-Assay. Negativ superspiralisierte Plasmid DNA (Linie: DNA) wurde mit Topoisomerase I alleine (Linie: Topo I) oder in Anwesenheit von 20  $\mu\text{M}$  Camptothecin (Linie: CPT) bzw. 20 und 50  $\mu\text{M}$  der entsprechenden Combilexine (**91, 92, 93, 94, 95, 96, 98**) inkubiert. Die Auftrennung der Proben erfolgte auf einem Ethidiumbromid-haltigen Agarosegel. (Nck: nicked-Plasmid-DNA; Sc: negativ superspiralisierte Plasmid-DNA; der rote Pfeil markiert den deutlich sichtbaren *Poison*-Effekt von CPT)

Der Topoisomerase-II-Cleavage-Assay (s. Kap. 4.1.4.3, S. 137) wurde mit allen in Tabelle 4.2, S. 144 aufgeführten Combilexinen durchgeführt. Vier der getesteten Hybridmoleküle (**91, 97, 104, 105**) zeigten eine schwache TOPO-II-*Poison*-Aktivität (erkennbar am Auftreten der Bande linearer-Plasmid-DNA, s. Abb. 4.11).



**Abb. 4.11:** Ergebnis des Topoisomerase-II-Cleavage-Assay. Negativ superspiralisierte Plasmid DNA (Linie: DNA) wurde mit Topoisomerase II alleine (Linie: Topo II) oder in Anwesenheit von 50  $\mu\text{M}$  Etoposid (Linie: Eto) bzw. 50  $\mu\text{M}$  der entsprechenden Combilexine (**91, 97, 104, 105**) inkubiert. Die Auftrennung der Proben erfolgte auf einem Ethidiumbromid-haltigen Agarosegel. (Nck: nicked-Plasmid-DNA; Sc: negativ superspiralisierte Plasmid-DNA; Lin: lineare Plasmid-DNA; Rel: relaxierte Plasmid-DNA)



Darüber hinaus scheinen die Verbindungen **91**, **97**, **104**, **105** gleichzeitig als TOPO-II-*Suppressoren* zu fungieren, da die Plasmid-DNA in Anwesenheit dieser Testsubstanzen zum größten Teil in ihrer initialen, negativ superspiralisierten Konformation bleibt (s. Abb. 4.11, S. 147).

Interessante Ergebnisse lieferte auch der Topoisomerase-I-Relaxations-Assay (s. Kap. 4.1.4.1, S. 134). Bis auf das Nitronaphthalimid-substituierte Derivat **96** konnte für alle Verbindungen eine Topoisomerase-I-*Suppressor*-Aktivität nachgewiesen werden (s. Tab. 4.5). Das DNA-Unwinding, welches bei den Substanzen **92**, **94**, **96** und **98** auftrat, weist zusätzlich (bei nicht vorhandener TOPO-I-*Poison*-Aktivität, s. Kap. 4.1.4.2, S. 136) auf Interkalation hin.

Verbindung	<b>91</b>	<b>92</b>	<b>93</b>	<b>94</b>	<b>95</b>	<b>96</b>	<b>97</b>	<b>98</b>	<b>104</b>	<b>105</b>
Konzentration [ $\mu\text{M}$ ]	20	20	20	20	10	-	50	20	50	10
Unwinding	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-

**Tab. 4.5:** Ergebnisse des Topo-I-Relaxations-Assays; Konzentration [ $\mu\text{M}$ ]: Konzentration der Testsubstanzen, ab der eine Topoisomerase-I-*Suppressor*-Aktivität zu beobachten ist, (-) = keine nachweisbare *Suppressor*-Aktivität; Unwinding: (-) = kein Unwinding, (+) = Unwinding, d. h. der Anteil relaxierter Plasmid-DNA nimmt mit steigender Konzentration an Testsubstanz zu

Ferner wurden die Naphthalimid-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide **91**, **92**, **93**, **94**, **95**, **96** sowie das Acridonbuttersäure-Derivat **98** einem separaten Topo-I-Cleavage-Assay unterzogen, bei dem sie zusammen mit Camptothecin **150**, Topoisomerase I und Plasmid-DNA inkubiert wurden (s. Kap. 4.1.4.2, S. 136). Hierbei zeigte sich, dass die Naphthalimide **93**, **94** und **95** den durch Camptothecin induzierten *Poison*-Effekt (vermehrte Bildung von nicked-DNA) unterdrücken, was deren Topoisomerase-I-*Suppressor*-Aktivität zusätzlich untermauert. Zurzeit werden am Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM in Lille Footprinting-Experimente durchgeführt, die Aufschluss darüber liefern sollen, ob diese Hemmung an sequenzspezifischen Abschnitten der DNA erfolgt.

### 4.3.2 Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien

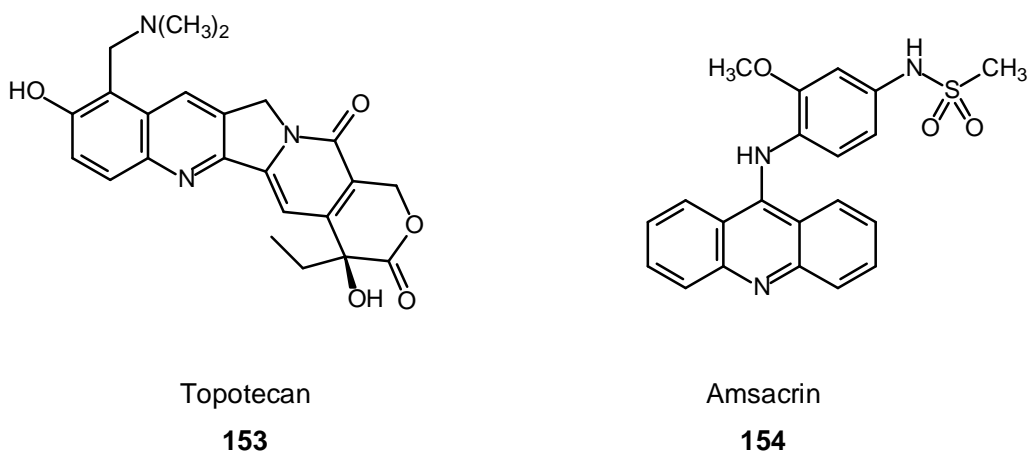
Die Verbindungen **91**, **92**, **93**, **94**, **95**, **96** und **98** wurden mittels MTS-Assay <sup>[73, 74]</sup> an der Tumorzelllinie HT-29 (humanes Kolonkarzinom) auf ihre Zytotoxizität geprüft (Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille). Desweiteren wurden die Combilexine **93**, **95**, **96** und **98** - ebenfalls mittels MTS-Assay <sup>[166, 196]</sup> - an der humanen Melanomzelllinie Sk-Mel-28 (DKFZ, Heidelberg) getestet. Wider Erwarten konnte für keine der Testsubstanzen eine signifikante zytotoxische Aktivität gegenüber den beiden Zelllinien nachgewiesen werden ( $IC_{50}$ -Werte  $> 100 \mu\text{M}$ ;  $IC_{50}$  = Konzentration der Testsubstanz in  $\mu\text{M}$ , bei der die Wachstumshemmung der entsprechenden Zelllinie 50 % beträgt).

Aufgrund begrenzter Kapazitäten wurde aus der Serie der Combilexine mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundstruktur lediglich das Naphthalimidbuttersäure-Derivat **93** vom National Cancer Institute (NCI) für das präklinische *in vitro*-Antitumor-Screening an 60 humanen Tumorzelllinien <sup>[106, 127, 197, 198]</sup> ausgewählt. Eine Substanz gilt als zytotoxisch aktiv gegenüber einer bestimmten Zelllinie, wenn der entsprechende  $GI_{50}$ -Wert  $< 10^{-4}$  M bzw.  $\text{Log}_{10}GI_{50}$ -Wert  $< -4.0$  ist ( $GI_{50}$  = molare Konzentration der Testsubstanz, bei der die Wachstumshemmung der entsprechenden Zelllinie 50 % beträgt) <sup>[106, 127]</sup>. Verbindung **93** zeigte im 60 Tumorzelllinien-Assay eine ausgeprägte Selektivität der zytotoxischen Wirkung für die drei Zelllinien MALME-3M und SK-MEL-5 (humanes Melanom) sowie OVCAR-4 (Ovarialkrebs) (s. Tab. 4.6).

Tumorzelllinie	MALME-3M (Melanom)	SK-MEL-5 (Melanom)	OVCAR-4 (Ovarialkrebs)
$GI_{50}$ [M]	$2.6 \cdot 10^{-5}$	$3.82 \cdot 10^{-5}$	$4.10 \cdot 10^{-5}$
$\text{Log}_{10}GI_{50}$	- 4.59	- 4.42	- 4.39

**Tab. 4.6:**  $GI_{50}$ - und  $\text{Log}_{10}GI_{50}$ -Werte von Verbindung **93** für die drei Zelllinien, an denen im 60 Tumorzelllinien-Assay des NCI <sup>[106, 127, 197, 198]</sup> eine ausreichende Zellwachstumshemmung zu beobachten war.  $GI_{50}$  = molare Konzentration der Testsubstanz, die zu 50 % Proliferationshemmung der entsprechenden Zelllinie führt;  $\text{Log}_{10}GI_{50}$  = dekadischer Logarithmus der molaren Konzentration der Testsubstanz, die zu 50 % Proliferationshemmung der entsprechenden Zelllinie führt.

Gegenüber den restlichen 57 Zelllinien war Verbindung **93** inaktiv. Zudem sind die in Tabelle 4.6, S. 149 angegebenen Hemmkonzentration relativ hoch (alle  $> 10^{-6}$  M). Dies spiegelt sich folglich auch in einem sehr hohen Mean Graph Midpoint (= Durchschnittswert der  $\text{Log}_{10}\text{GI}_{50}$ -Werte aller 60 Zelllinien (MG\_MID)) wider (MG\_MID für **93** = -4.03; im Vergleich hierzu besitzen die beiden Referenzsubstanzen Topotecan **153** und Amsacrin **154** (s. Abb. 4.12) einen MG\_MID von -7.2 bzw. -6.36). Auf eine *in vivo*-Testung am Tier wurde daher vom Biological Evaluation Committee (BEC) des NCI <sup>[197, 198]</sup> verzichtet.



**Abb. 4.12:** Strukturformeln von Topotecan **153** und Amsacrin **154**

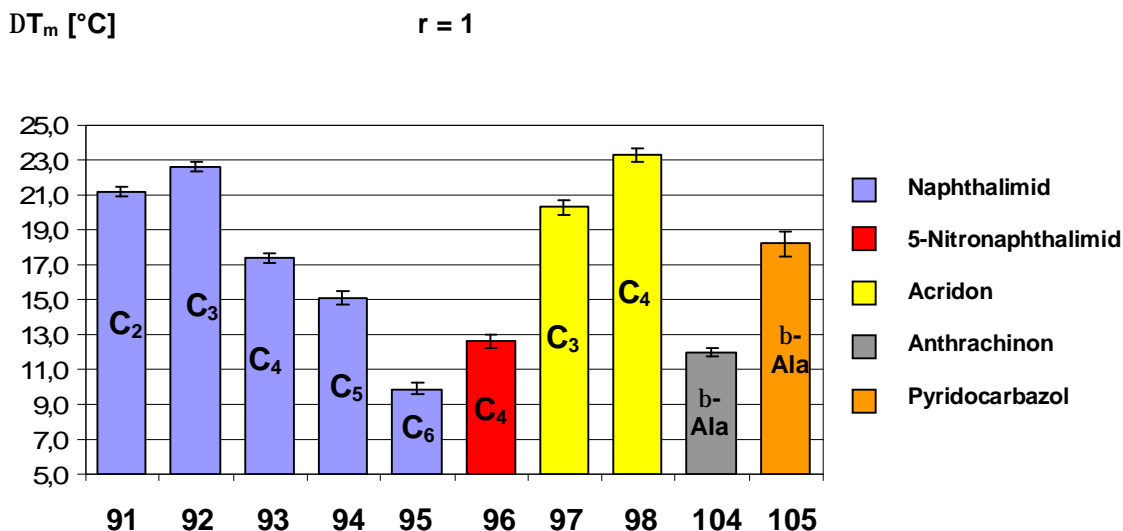
### 4.3.3 Interpretation der Ergebnisse

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

Für den rinnenbindenden Synthesebaustein **69** und die Interkalatorcarbonsäuren **78**, **84** und **89** konnte keine bzw. nur eine sehr schwache DNA-Affinität ermittelt werden. Erst die Verknüpfung dieser Partialstrukturen über eine weitere Amidbindung führt zu Hybridmolekülen, die sich durch eine gute bis sehr gute DNA-Bindung auszeichnen (s. Tab. 4.3, S. 145 u. Tab. 4.4, S. 146). Dies bestärkt ebenfalls die Vermutung, dass mindestens drei Amidbindungen für eine signifikante DNA-Bindung Voraussetzung sind <sup>[122, 125]</sup>. Desweiteren scheinen die Interkalatoren am *N*-terminalen Ende für die Stabilisierung DNA-Ligand-Komplexe essentiell zu sein (s. Kap. 1.5.2, S. 36 u. Kap.

2.2.3, S. 53), da die Combilexine im Vergleich zu den Nucleobasen-gekoppelten Bispyrrolcarboxamiden (s. Kap. 4.2.1, S. 138) und Verbindung **69** zu einem beachtlichen Anstieg der DNA-Schmelztemperatur führten. Dass die singulären Interkalatorbuttersäure-Derivate demgegenüber keine signifikante DNA-Affinität aufwiesen, liegt vermutlich darin begründet, dass sie in dem für die  $T_m$ -Wert-Messungen eingesetzten Puffermedium (pH = 7.1) zum Teil in deprotonierter Form vorliegen. Demzufolge könnte eine Abstoßung durch die ebenfalls negativ geladene DNA die Bindung der Carboxylat-Anionen an ihr Target verhindern.

Wie aus den in Tabelle 4.3, S. 145 aufgeführten Verhältnissen  $\Delta T_m(\text{CT-DNA})/\Delta T_m(\text{poly(dAdT)})$  (diese liegen für sämtliche Combilexine zwischen 14 und 37 %) hervorgeht, binden die Combilexine der Thiophenpyrrolcarboxamid-Reihe erwartungsgemäß bevorzugt an AT-reiche Sequenzen der DNA (zum Vergleich: für Netropsin **29** als hoch AT-selektiver Minor Groove Binder wurde ein Verhältnis von 41 % ermittelt). Darüber hinaus lassen die Ergebnisse aus den  $T_m$ -Wert-Messungen mit dem Polynucleotid poly(dAdT) darauf schließen, dass die zur optimalen Anpassung an die DNA erforderliche Linkerlänge vom verwendeten chromophoren Strukturelement (bzw. dessen räumlicher Struktur) am *N*-terminalen Ende abhängig ist (s. Abb. 4.13).



**Abb. 4.13:** Balkendiagramm der  $\Delta T_m$ -Werte (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung) mit poly(dAdT)-DNA in Abhängigkeit des Interkalators und der aliphatischen Linkerlänge am *N*-Terminus; C<sub>n</sub> = Linkerlänge am *N*-Terminus; β-Ala = β-Alanin-Linker; r = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz

Während für die Naphthalimid-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide die höchste DNA-Affinität unter Verwendung eines C<sub>3</sub>-Linkers (Verbindung **92**) erreicht wurde, war das Acridonbuttersäure-Derivat **98** dem Acridonpropionsäure-Derivat **97** bezüglich der DNA-Bindungsstärke überlegen. Wahrscheinlich sind aufgrund des unterschiedlichen Anellierungsmusters und der folglich ungleichen Raumausdehnung der beiden planaren Chromophore verschiedene Linkerlängen erforderlich, damit neben dem Minor Groove Binding der Thiophenpyrrolcarboxamid-Einheit eine optimale, konformativ spannungsfreie Interkalation der entsprechenden tricyclischen Strukturelemente gewährleistet wird.

Auffallend ist auch, dass das Anthrachinon-Derivat **104** mit  $\beta$ -Alanin-Linker gegenüber den anderen Combilexinen (mit Ausnahme von Verbindung **95**) mit einer geringeren Aktivität an poly(dAdT)-DNA bindet (s. Abb. 4.13, S. 151). Da die Verknüpfung mit dem rinnenbindenden Molekülteil bei Verbindung **104** über die 2-Position des linear anellierten Chromophors erfolgte (s. Tab. 4.2, S. 144), lagert sich das Anthrachinon vermutlich - in Analogie zu den Anthracyclinen (s. Kap. 1.3.1, S. 11) - senkrecht zur Basenpaar-Trajektorie an, was dazu führt, dass Ring A und Ring C des Tricyclus zum Teil bis in die große bzw. kleine Rinne hinausragen. Die Ausbildung von  $\pi$ - $\pi$ -Stacking-Interaktionen mit den DNA-Basen der Interkalationskavität, die im Wesentlichen zur Stabilisierung der Charge-Transfer-Komplexe beitragen, wäre somit eingeschränkt. Bei den Naphthalimid- und Acridon-Derivaten sowie dem Pyridocarbazol-gekoppelten Derivat **105** erfolgte die Verknüpfung dagegen an einer (mehr oder weniger) zentral gelegenen Position der chromophoren Heterocyclen, weshalb hier eine Interkalation parallel zur Basenpaar-Trajektorie und folglich eine bessere Überlappung der Grenzorbitale des Interkalators und der DNA-Basen erfolgen kann (s. Kap. 6.4, S. 218 und Kap. 6.6, S. 238). Darüber hinaus ist die für eine Wechselwirkung mit den Nucleobasen zur Verfügung stehende  $\pi$ -konjugierte Fläche bei dem ebenfalls über einen  $\beta$ -Alanin-Linker verknüpften Pyridocarbazolthiophenpyrrolcarboxamid **105** - hier besteht das chromophore System aus vier anellierten Ringen - größer als bei Verbindung **104**. Überraschenderweise zeigte jedoch auch das Pyridocarbazol-gekoppelte Derivat mit  $\beta$ -Alanin-Linker **105** - trotz der zusätzlichen Amidbindung im *N*-terminalen Bereich (s. Kap. 2.2.4, S. 57) - bezüglich der DNA-Affinität keine Vorteile gegenüber den Naphthalimid- und Acridon-Derivaten mit C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Linker.

Wenngleich vom 5-Nitronaphthalimid nur das entsprechende Buttersäureamid-Derivat **96** synthetisiert wurde, deuten die Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Testungen dennoch auf eine klare Überlegenheit der nicht-nitrierten Naphthalimid-Derivate hin. Obwohl für Verbindung **96** ein dualer Bindungsmodus nachgewiesen wurde (Minor Groove Binding: positives CD-Signal; Interkalation: Unwinding im Topo-I-Relaxations-Assay), bindet sie trotz des elektronenziehenden Charakters der Nitrogruppe im Vergleich zum entsprechenden unsubstituierten Naphthalimidbuttersäureamid-Derivat **93** unerwarteterweise mit einer wesentlich geringeren Aktivität an poly(dAdT)-DNA. Zudem weist Verbindung **96** als einzige Testsubstanz keine Topoisomerase-I-*Suppressor*-Aktivität und wider Erwarten auch keine Topoisomerase II hemmenden Eigenschaften auf (s. Kap. 2.2.3, S. 54 f.).

Auch für die beiden in Bezug auf die DNA-Affinität potentesten Hybridmoleküle **92** und **98** sowie das Naphthalimidpentanoyl-gekoppelte Thiophenpyrrolcarboxamid **94** wurde ein dualer Bindungsmodus gezeigt (CD: + und Unwinding im Topo-I-Relaxations-Assay).

Die Ergebnisse der biochemischen Assays korrelierten jedoch in keinster Weise mit den Resultaten der biophysikalischen DNA-Bindestudien. Die bis auf Verbindung **96** bei allen Combilexinen zu beobachtende Topoisomerase-I-*Suppressor*-Aktivität war bei Verbindung **95** mit der schwächsten DNA-Affinität sowie dem Pyridocarbazol **105** am stärksten ausgeprägt (s. Tab. 4.5, S. 148). Eine Topoisomerase-II-Hemmung konnte lediglich für die Verbindungen **91**, **97**, **104** und **105** nachgewiesen werden, während für die beiden Derivate **92** und **98** mit der höchsten DNA-Affinität keine Aktivität im Topoisomerase-II-Cleavage-Assay festgestellt wurde. Zudem wies keine der getesteten Substanzen eine Topoisomerase-I-*Poison*-Aktivität auf. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass eine gute DNA-Bindung keine notwendige Voraussetzung für die Hemmung der Topoisomerasen I und II ist.

Oftmals besteht nach Literaturangaben zwischen den biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Daten DNA-bindender Liganden keine direkte Korrelation [73, 74, 139, 199, 200]. So waren auch die hier aufgeführten, relativ lipophilen Combilexine (logP-Werte s. Tab. 4.7, S. 154) der Thiophenpyrrolcarboxamid-Reihe trotz ihrer guten bis sehr guten DNA-Affinität und der TOPO-I-*Suppressor*- bzw. der zum Teil vorhandenen TOPO-II-*Poison*-Aktivität in den durchgeführten Zytotoxizitäts-Studien nicht ausreichend bzw. nur schwach aktiv (s. Kap. 4.3.2, S. 149).

Verbindung	91	92	93	94	95	96	97	98	104	105
logP-Wert	2.59	2.76	2.98	3.28	3.57	2.89	2.30	2.63	1.76	2.20

**Tab. 4.7:** Mittels dem Programm ACD (Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada) berechnete logP-Werte der Combilexine

Der Hauptgrund hierfür dürfte primär pharmakokinetischer Natur sein, wobei eine mangelhafte Zellmembranpenetration vermutlich das größte Problem darstellt <sup>[28]</sup>. Wie bei den in der Arbeit später beschriebenen Kristallisationsversuchen (s. Kap. 5.2.2, S. 178) und im NMR-Titrationsexperiment (s. Kap. 7.3, S. 243) zu beobachten war, scheinen die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexine zu einer Art Selbstaggregation zu neigen. Dieses Phänomen wurde kürzlich auch bei einer Minor-Groove-bindenden Serie festgestellt und untersucht: je größer die Tendenz der Moleküle zur Bildung von Aggregaten ist, desto geringer ist folglich deren zelluläre Bioverfügbarkeit <sup>[201]</sup>.

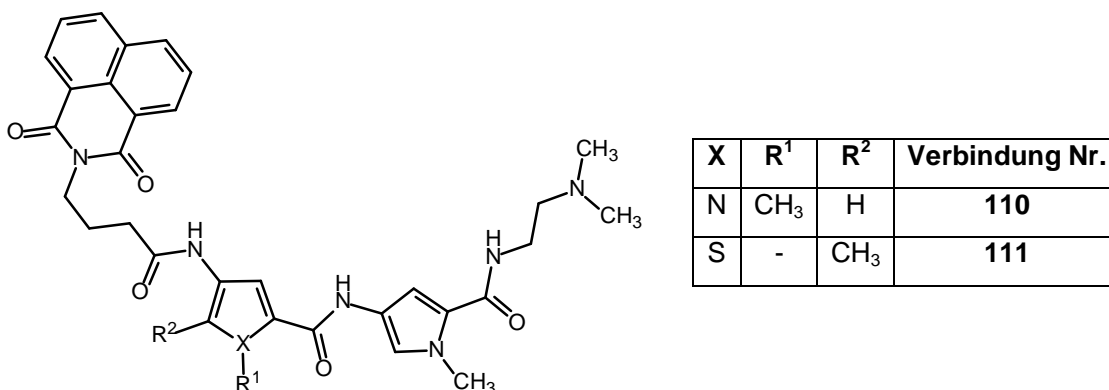
Dennoch sollte berücksichtigt werden, dass aufgrund der inzwischen stark restriktiven NCI-Auswahl nicht alle Substanzen der Thiophenpyrrolcarboxamid-Reihe auf ihre Zytotoxizität hin untersucht wurden, und lediglich das Naphthalimidbuttersäureamid-Derivat **93** an einem breiteren Spektrum verschiedenster Tumorzelllinien (60-Tumorzelllinien-Assay des NCI) getestet wurde. Da Verbindung **93** eine schwache, dafür aber hochselektive Aktivität gegenüber verschiedenen Zelllinien zeigte (s. Kap. 4.3.2, S. 149), kann somit nicht vollkommen ausgeschlossen werden, dass die anderen Testsubstanzen dieser ersten Serie von Combilexinen - insbesondere diejenigen mit zusätzlicher TOPO-II-*Poison*-Aktivität (**91**, **97**, **104**, **105**) - möglicherweise auch eine antineoplastische Wirksamkeit gegen bestimmte Tumorzellen besitzen.

Darüber hinaus war das von Keuser <sup>[125]</sup> synthetisierte Naphthalimidbutanoylgekoppelte Bispyrrolcarboxamid KEU87 **46** (s. Abb. 2.6, S. 54) im Gegensatz zum entsprechenden Thiophenpyrrolcarboxamid-Derivat **93** im NCI-Screening völlig inaktiv <sup>[125]</sup>. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die durch Einführung des Thiophenrings erreichte Steigerung der Lipophilie gegenüber den Bispyrrolcarboxamiden ( $\log P(\mathbf{93}) = 2.98$ ;  $\log P(\mathbf{46}) = 1.54$ ; berechnet mit dem Programm ACD

(Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada)) erwartungsgemäß zu einer Verbesserung der zytotoxischen Aktivität führt. Eine konkrete Aussage kann an dieser Stelle jedoch nicht getroffen werden, da - wie bereits erwähnt - das Kollektiv der zellbiologisch untersuchten Substanzen zu gering war.

## 4.4 Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion

### 4.4.1 Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen



**Abb. 4.14:** Übersicht der getesteten Combilexine mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion

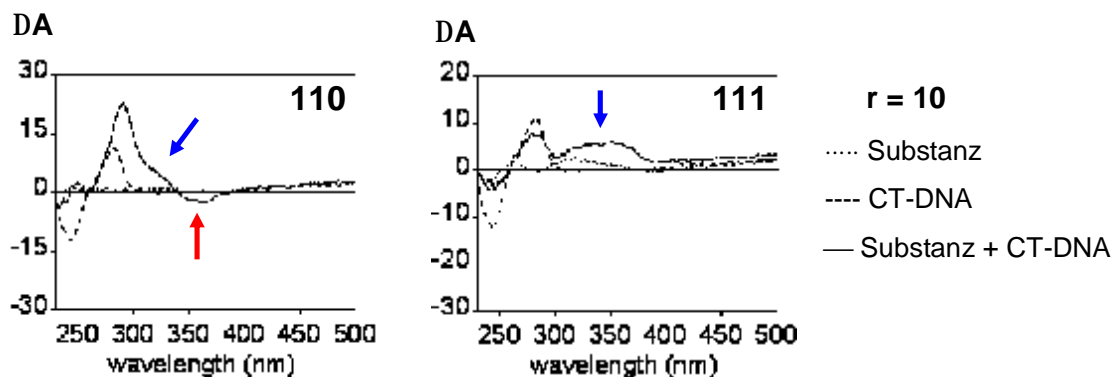
Die Ergebnisse der mit den beiden Combilexinen **110** und **111** (s. Abb. 4.14) durchgeführten biophysikalischen und biochemischen Testungen sind in Tabelle 4.8, S. 156 zusammengestellt. Beide Testsubstanzen führten zu einem signifikanten Anstieg der DNA-Schmelztemperatur ( $\Delta T_m$ -Werte für poly(dAdT)-DNA  $> 10^\circ\text{C}$ ). Die aufgrund der Bispyrrol- bzw. Thiopyrrolcarboxamid-Einheit zu erwartende AT-Selektivität der beiden Verbindungen spiegelt sich auch hier in dem berechneten Verhältnis  $\Delta T_m(\text{CT-DNA})/\Delta T_m(\text{poly(dAdT)})$  wider (s. Kap. 4.3.3, S. 151). Zudem



korreliert die gute DNA-Affinität der beiden Verbindungen mit den Resultaten des Circular dichroismus (s. Abb. 4.15, S. 157): beide Hybridmoleküle zeigten anhand eines positiven CD-Signals Minor Groove Binding; für das Bispyrrolcarboxamid **110** deutete zusätzlich ein negatives CD-Signal bei  $\lambda = 350$  nm auf Interkalation hin.

Verbindung	110	111
$DT_m$ (poly(dAdT)) [°C]; $r = 1$	$18.5 \pm 0.6$	$12.2 \pm 0.2$
$DT_m$ (CT-DNA) [°C]; $r = 1$	$8.2 \pm 1.1$	$4.1 \pm 1.1$
$DT_m(\text{CT-DNA})/DT_m(\text{poly(dAdT)})$ [%]	44	34
CD ( $r = 10$ )	+/-	+
TOPO-I-Suppressor-Aktivität	+	+
TOPO-I-Poison-Aktivität	-	-
TOPO-II-Poison-Aktivität	+	+

**Tab. 4.8:** Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen Assays.  $\Delta T_m$ -Werte: Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung,  $r$  = molares Verhältnis DNA/Tests substanz; Circular dichroismus (CD): (+) und (-) steht für ein positives bzw. negatives CD-Signal,  $r$  = molares Verhältnis CT-DNA/Tests substanz; Topoisomerase-Inhibitions-Assays: (+) bedeutet TOPO-Suppressor- bzw. TOPO-Poison-Aktivität; (-) bedeutet keine TOPO-Suppressor- bzw. TOPO-Poison-Aktivität.



**Abb. 4.15:** Circulardichroismus(CD)-Spektren für Verbindungen **110** und **111**:  $r$  = molares Verhältnis CT-DNA/Testsubstanz; der blaue Pfeil markiert positive CD-Signale, verursacht durch Minor Groove Binding, der rote Pfeil kennzeichnet ein negatives CD-Signal, hervorgerufen durch Interkalation.

Sowohl das Bispyrrolcarboxamid-Derivat **110** als auch das Thiophenpyrrolcarboxamid-Derivat **111** zeigten im Topoisomerase-I-Relaxationsassay (s. Kap. 4.1.4.1, S. 134) eine Hemmung der Topoisomerase I (Topo-I-*Suppressor*-Aktivität) und im Topoisomerase-II-Cleavage-Assay (s. Kap. 4.1.4.3, S. 137) eine schwache TOPO-II-*Poison*-Aktivität. Eine Topoisomerase-I-*Poison*-Aktivität (s. Topoisomerase-I-Cleavage-Assay Kap. 4.1.4.2, S. 136) konnte hingegen für keine der beiden Substanzen festgestellt werden (s. Tab. 4.8, S. 156).

#### 4.4.2 Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien

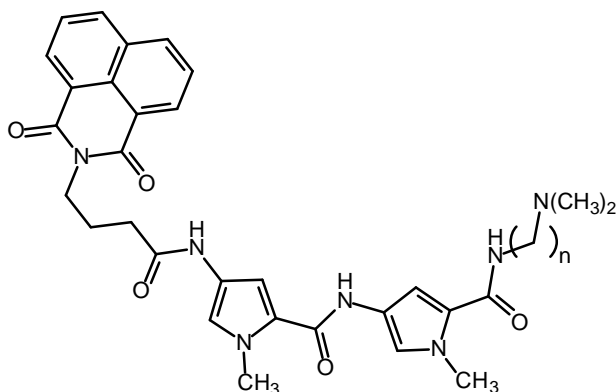
Bei dem mit den beiden Combilexinen **110** und **111** durchgeführten MTS-Assay-Verfahren <sup>[73, 74]</sup> an der humanen Kolonkarzinomzelllinie HT-29 (Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille) war keine Zellwachstumshemmung zu verzeichnen. Weitere zellbiologische Zytotoxizitäts-Studien wurden bisher nicht durchgeführt.

### 4.4.3 Interpretation der Ergebnisse

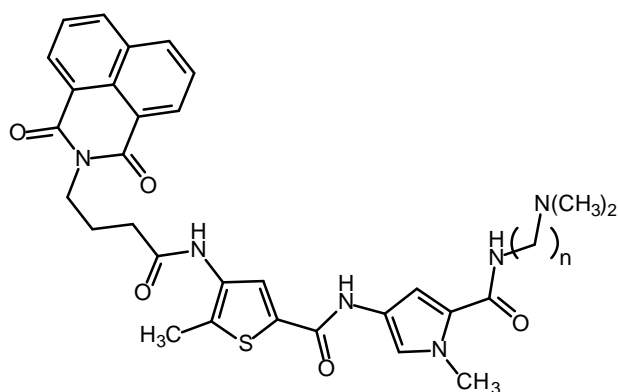
Zusammenfassend kann gesagt werden, dass

- die Combilexine **110** und **111** mit guter Affinität und Selektivität an AT-reiche Sequenzen der DNA binden, wobei das Bispyrrol-Derivat **110** dem mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundstruktur **111** überlegen war
- beide Substanzen eine TOPO-I-*Suppressor* - und zudem schwache TOPO-II-*Poison*-Aktivität besitzen
- weder Verbindung **110** noch **111** im MTS-Assay <sup>[73, 74]</sup> eine zytotoxische Wirksamkeit gegenüber der verwendeten Zelllinie HT-29 (Kolonkarzinom) zeigten.

Stellt man die  $\Delta T_m$ -Werte von **110** und **111** denen der korrespondierenden Derivate mit C-terminaler *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Seitenkette KEU87 **46** und **93** gegenüber, wird jedoch deutlich, dass die Combilexine mit Ethylendiamin-Funktion am C-Terminus (**110** und **111**) eine geringere Affinität zu poly(dAdT)-DNA aufweisen als die entsprechenden Propylendiamin-substituierten Verbindungen **46** und **93** (s. Abb. 4.16, S. 159).



Verbindung Nr.	n = 2	n = 3
<b>110</b>		KEU87 46
<b>DT<sub>m</sub></b> <b>(poly(dAdT))</b> <b>[°C]; r = 1</b>	18.5 ± 0.6	21.5 ± 0.1



Verbindung Nr.	n = 2	n = 3
<b>111</b>		<b>93</b>
<b>DT<sub>m</sub></b> <b>(poly(dAdT))</b> <b>[°C]; r = 1</b>	12.2 ± 0.2	17.4 ± 0.3

**Abb. 4.16:** Vergleich der  $\Delta T_m$ -Werte (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung,  $r$  = molares Verhältnis poly(dAdT)-DNA/ Testsubstanz) der Combilexine mit C-terminaler Ethylendiamin-Funktion mit denen der korrespondierenden Propylendiamin-substituierten Derivate.

Eine mögliche Ursache hierfür könnte sein, dass die zusätzliche Methylengruppe bei Verbindung **46** bzw. **93** sich zum einen thermodynamisch günstig auf die freie Bindungsenthalpie auswirkt (höherer Entropiegewinn durch eine vermehrte Verdrängung von Wassermolekülen aus der Minor Groove, s. Kap. 1.4, S. 21) und zum anderen die für eine gute DNA-Bindung essentiellen van der Waals-Interaktionen mit den Nucleobasen der Minor Groove und folglich die DNA-Ligand-Komplexstabilität erhöht.

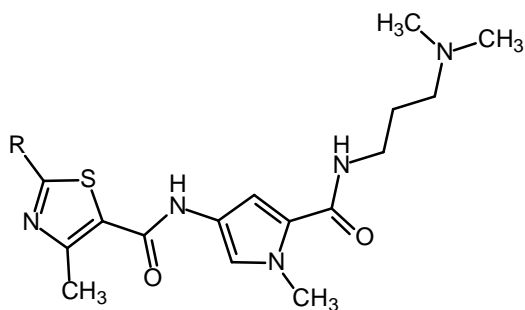
Da die Hybridmoleküle **110** und **111** denen mit C-terminaler Propylendiamin-Funktion in Bezug auf die DNA-Bindungsstärke unterlegen waren und gegenüber diesen in den biophysikalischen/biochemischen sowie zellbiologischen Assays keine sonstigen

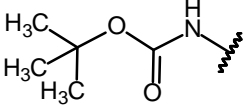
Vorteile aufwies, wurde die *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Seitenkette zur Synthese der weiteren Combilexine beibehalten.

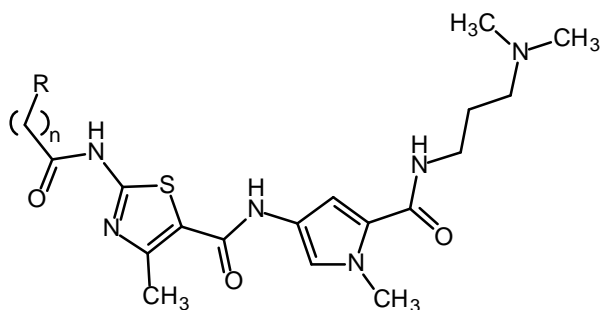
## **4.5 Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit Methylthiazolpyrrolcarboxamid-Grundstruktur**

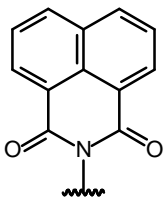
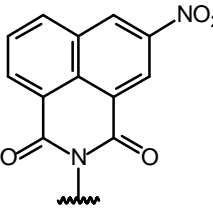
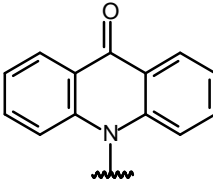
### **4.5.1 Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen**

Auch die Combilexine der Methylthiazolpyrrolcarboxamid-Serie **119-123** wurden den in Kapitel 4.1, S. 128 ff. beschriebenen Testverfahren unterzogen. Zusätzlich sollte überprüft werden, welchen Beitrag die rinnenbindende Oligoamid-Struktureinheit zur DNA-Bindung liefert. Hierzu wurden ebenfalls die beiden Thiazolpyrrolcarboxamid-Derivate **117** und **118** mittels  $T_m$ -Wert-Messung auf ihre DNA-Affinität untersucht. Eine Übersicht der getesteten Verbindungen gibt Tabelle 4.9, S. 161.



R	Verbindung Nr.
	<b>117</b>
NH <sub>2</sub>	<b>118</b>



R	n	Verbindung Nr.
	2	<b>119</b>
	3	<b>120</b>
	3	<b>121</b>
	2	<b>122</b>
	3	<b>123</b>

**Tab. 4.9:** Übersicht der getesteten Methylthiazolopyrrolcarboxamid-Derivate

Interessante Ergebnisse lieferten insbesondere die DNA-Bindestudien dieser Substanzklasse (s. Tab. 4.10, S. 162). Wenngleich für die Boc-geschützte Verbindung **117** kein signifikanter Anstieg der DNA-Schmelztemperatur zu beobachten war, so ist die DNA-Bindungsstärke des nach Abspaltung der Schutzgruppe aus **117** resultierenden Aminothiazolopyrrolcarboxamids **118** mit einem  $\Delta T_m$ -Wert von 13.4 °C

für poly(dAdT)-DNA als gut zu bezeichnen. Bezüglich der Combilexine wurden - in Übereinstimmung mit den Thiophen-Derivaten (s. Kap. 4.3.1, S. 143) - die höchsten DNA-Affinitäten für das Naphthalimidthiazolpyrrolcarboxamid mit C<sub>3</sub>-Linker **119** und das Acridonbuttersäureamid-Derivat **123** ermittelt. Demgegenüber binden die (5-Nitro-)Naphthalimidbutanoyl-gekoppelten Verbindungen **120** und **121** sowie das über eine C<sub>3</sub>-Kette verknüpfte Acridon-Derivat **122** mit einer vergleichsweise niedrigen Affinität an die DNA. Dennoch zeigten alle Hybridmoleküle Minor Groove Binding (positives CD-Signal) mit klarer Präferenz für AT-reiche Abschnitte der DNA ( $\Delta T_m(\text{CT-DNA})/\Delta T_m(\text{poly(dAdT)})$  [%] für alle Testsubstanzen  $\leq 41\%$ , s. a. Kap. 4.3.3, S. 151); bei Verbindung **123** deutete zusätzlich ein DNA-Unwinding im TOPO-I-Relaxations-Assay auf Interkalation hin. Bei den UV-spektroskopischen Messungen - diese wurden bisher lediglich mit Verbindung **120** und **123** durchgeführt - war eine hypochrome, bei **123** zusätzlich eine bathochrome Bandenverschiebung (Verschiebung des Absorptionsmaximums von  $\lambda = 300$  nm zu  $\lambda = 320$  nm) zu erkennen.

Verbin- dung	$\Delta T_m$ (poly(dAdT)) [°C]; r = 1	$\Delta T_m$ (CT-DNA) [°C]; r = 1	$\Delta T_m(\text{CT-DNA})/\Delta T_m(\text{poly(dAdT)})$ [%]	UV r = 1	CD r = 10	Unwin- ding
<b>117</b>	2.1 ± 0.6	n. a.	-	n. b.	n. b.	n. b.
<b>118</b>	13.4 ± 0.2	2.8 ± 0.1	21	n. b.	n. b.	n. b.
<b>119</b>	<b>26.5 ± 0.2</b>	<b>9.1 ± 0.5</b>	34	n. b.	+	-
<b>120</b>	4.7 ± 0.2	1.1 ± 0.4	23	h	+	-
<b>121</b>	6.9 ± 0.3	2.7 ± 0.5	39	n. b.	+	-
<b>122</b>	9.6 ± 0.3	1.8 ± 0.6	19	n. b.	+	-
<b>123</b>	<b>13.9 ± 0.2</b>	<b>5.7 ± 0.9</b>	41	h + b	+	+

**Tab. 4.10:** Ergebnisse der DNA-Bindestudien.  $\Delta T_m$ -Werte: Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung, n. a. = keine messbare DNA-Bindung,  $\Delta T_m \leq 1^\circ\text{C}$ ; UV-spektroskopische Messungen: (h) und (b) steht für hypochrome bzw. bathochrome Verschiebung der UV-Absorptionsbande; Circular dichroismus (CD): (+) steht für ein positives CD-Signal; Unwinding: (-) = kein Unwinding, (+) = Unwinding, d. h. der Anteil relaxierter Plasmid-DNA nimmt mit steigender Konzentration an Testsubstanz zu; r = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; n. b. = nicht bestimmt.

Verbindung	TOPO-I- <i>Poison-</i> Aktivität	TOPO-I- <i>Suppressor-</i> Aktivität	TOPO-II- <i>Poison-</i> Aktivität	TOPO-II- <i>Suppressor-</i> Aktivität
<b>119</b>	-	+	+	+
<b>120</b>	-	-	-	-
<b>121</b>	-	+	+	-
<b>122</b>	-	+	+	+
<b>123</b>	-	-	-	-

**Tab. 4.11:** Ergebnisse der Topoisomerase-Inhibitions-Assays: (+) bedeutet TOPO-*Suppressor-* bzw. TOPO-*Poison-*Aktivität; (-) bedeutet keine TOPO-*Suppressor-* bzw. TOPO-*Poison-*Aktivität.

Alle Combilexine der Methylthiazolpyrrolcarboxamid-Reihe **119-123** wurden mittels den beschriebenen Topoisomerase-Inhibitions-Assays (s. S. 134 ff.) auf ihre Topoisomerase I und II hemmende Aktivität untersucht. Die erhaltenen Testresultate sind in Tabelle 4.11 aufgeführt. Für drei der getesteten Substanzen (Naphthalimid **119**, 5-Nitronaphthalimid **121** und Acridon **122**) wurde sowohl eine TOPO-I-*Suppressor-*Aktivität im Topoisomerase-I-Relaxations-Assay (s. Kap. 4.1.4.1, S. 134) als auch eine TOPO-II-*Poison-*Aktivität im Topoisomerase-II-Cleavage-Assay (s. Kap. 4.1.4.3, S. 137) nachgewiesen. Darüber hinaus fungieren Verbindung **119** und **122** zusätzlich als TOPO-II-*Suppressors*.

#### 4.5.2 Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien

Mit Ausnahme des Acridonpropionsäureamid-Derivates **122** wurden alle Hybridmoleküle mit Thiazolpyrrolcarboxamid-Grundgerüst (**119**, **120**, **121**, **123**) im MTS-Assay-Verfahren<sup>[73, 74]</sup> auf ihre Zytotoxizität an der humanen Kolonkarzinomzelllinie HT-29 (Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille) geprüft. Lediglich für die in Bezug auf die DNA-Affinität potenteste Testsubstanz **119** war eine schwache zellbiologische Hemm-Aktivität gegenüber dieser Zelllinie zu verzeichnen (s. Tab. 4.12, S. 164).



Verbindung	119	120	121	123
IC <sub>50</sub> [µM]	100	n. i.	n. i.	n.i.

**Tab. 4.12:** Testergebnis des Zytotoxizitäts-Assays (MTS <sup>[73, 74]</sup>) an der humanen HT-29 Kolonkarzinomzelllinie; die Zellkultur wurde 72 h mit unterschiedlich hoch konzentrierten Lösungen (0-100 µM) der jeweiligen Testsubstanz in DMSO inkubiert; IC<sub>50</sub> = Konzentration der Testsubstanz in µM, bei der die Wachstumshemmung der entsprechenden Zelllinie 50 % beträgt; n. i. = keine Zellwachstumshemmung zu verzeichnen, IC<sub>50</sub> > 100 µM.

Darüber hinaus wurde sowohl das Aminothiazolpyrrolcarboxamid **118** als auch das Naphthalimidbuttersäure-Derivat **120** vom NCI für die Bestimmung der Zytotoxizität im 60-Tumorzelllinien-Assay <sup>[106, 127, 197, 198]</sup> ausgewählt. Die Testergebnisse für die Zelllinien, die von den beiden Substanzen biologisch ausreichend gehemmt wurden (GI<sub>50</sub>-Wert < 10<sup>-4</sup> M bzw. Log<sub>10</sub>GI<sub>50</sub>-Wert < -4.0), sind in Tabelle 4.13 aufgeführt.

Verbindung	118					120
Tumorzelllinie	RPMI-8226 (Leukämie)	SK-MEL-28 (Melanom)	DU-145 (Prostatakrebs)	BT-549 (Brustkrebs)	T-47D (Brustkrebs)	OVCAR-4 (Ovarialkrebs)
GI <sub>50</sub> [M]	6.01·10 <sup>-5</sup>	6.54·10 <sup>-5</sup>	6.73·10 <sup>-5</sup>	7.67·10 <sup>-5</sup>	3.57·10 <sup>-5</sup>	9.48·10 <sup>-5</sup>
Log <sub>10</sub> GI <sub>50</sub>	-4.22	-4.18	-4.17	-4.12	-4.45	-4.02
MG_MID	-4.02					-4.0

**Tab. 4.13:** Ergebnis des 60-Tumorzelllinien-Assays (NCI) <sup>[106, 127, 197, 198]</sup>. GI<sub>50</sub> = molare Konzentration der Testsubstanz, die zu 50 % Proliferationshemmung der entsprechenden Zelllinie führt; Log<sub>10</sub>GI<sub>50</sub> = dekadischer Logarithmus der molaren Konzentration der Testsubstanz, die zu 50 % Proliferationshemmung der entsprechenden Zelllinie führt; MG\_MID = durchschnittlicher Log<sub>10</sub>GI<sub>50</sub>-Wert, bezogen auf alle 60 Zelllinien.

Wie aus Tabelle 4.13, S. 164 hervorgeht, zeigte Verbindung **118** eine selektive Zellwachstumshemmung an fünf verschiedenen Tumorzelllinien (darunter zwei aus der Kategorie Brustkrebs). Für das Combilexin **120** war eine äußerst schwache, aber dennoch selektive zytotoxische Aktivität für die Zelllinie OVCAR-4 (Ovarialkrebs) zu beobachten. Die angegebenen Hemmkonzentrationen waren allerdings noch zu hoch ( $GI_{50} > 10^{-6}$ ,  $MG_{MID} \geq -4.02$ ), um die beiden Substanzen für eine *in vivo*-Testung am Tier zu qualifizieren.

### 4.5.3 Interpretation der Ergebnisse

In Übereinstimmung mit den Combilexinen der Thiophenpyrrolcarboxamid-Reihe (s. Kap. 4.3.1, S. 143) handelt es sich auch unter den bioisosteren Thiazol-Derivaten bei dem über eine C<sub>3</sub>-Kette verknüpften Naphthalimid-Derivat **119** und dem Acridon mit C<sub>4</sub>-Linker **123** um die in Bezug auf die DNA-Affinität potentesten Verbindungen. Die im Vergleich hierzu geringe Bindungsstärke der Naphthalimidbutanoyl-gekoppelten Verbindung **120** und des Acridonpropionsäureamid-Derivates **122** verdeutlichen, dass die Wahl einer geeigneten Linkerlänge von enormer Bedeutung zur Gewährleistung einer optimalen Anpassungsgeometrie an die DNA ist.

Interessanterweise zeigte das 5-Nitronaphthalimid-substituierte Thiazol-Derivat **121** im Gegensatz zum entsprechenden bioisosteren 5-Nitronaphthalimid-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamid **96** (s. Tab. 4.2, 144) eine TOPO-I-*Suppressor*- und TOPO-II-*Poison*-Aktivität. Offensichtlich hängt die Fähigkeit zur Hemmung der Topoisomerasen nicht alleine von den Eigenschaften des interkalierenden Strukturelementes am N-Terminus ab. Dennoch weist auch das Nitronaphthalimid **121** (in Analogie zu **96**, s. S. 153) nicht die erwarteten Vorteile (wie gesteigerte DNA-Affinität und zytotoxische Aktivität) gegenüber den unsubstituierten Naphthalimid-Derivaten **119** und **120** auf.

Überraschend ist auch, dass das unsubstituierte Aminothiazolpyrrolcarboxamid **118** trotz Fehlen eines interkalierenden Strukturelementes mit einer dem Combilexin **123** vergleichbar hohen Affinität an poly(dAdT)-DNA bindet. Verantwortlich hierfür könnte die freie N-terminale Aminogruppe sein, die bei der Komplexbildung als H-Brücken-Donator oder Akzeptor wahrscheinlich zur optimalen Positionierung des Moleküls in

der Minor Groove beiträgt. Hingegen wurde für Verbindung **117** - vermutlich bedingt durch die raumerfüllende Boc-Schutzgruppe am *N*-Terminus, die eine Bindung in der kleinen Rinne sterisch behindert - nur eine äußerst geringe DNA-Affinität ermittelt.

Um eine sehr vielversprechende Substanz handelt es sich bei dem Naphthalimid-propionsäureamid **119**. Diese zeigte neben einer sehr guten DNA-Bindung und Topoisomerase I- und II-Hemmung (s. Tab. 4.11, S. 163) bisher als einzige Substanz eine - wenn auch schwache - antitumorale Wirksamkeit gegen die im MTS-Assay eingesetzte HT-29 Kolonkarzinomzelllinie (s. Kap. 4.5.2, S. 163). Die gegenüber dieser Zelllinie inaktiven Thiazol-Derivate **120**, **121** und **123** hingegen besitzen im Vergleich zu **119** eine wesentlich geringere DNA-Affinität, ferner weisen Verbindung **120** und **123** keine Topoisomerase hemmende Aktivität auf. Dies erklärt vermutlich auch, warum das Naphthalimid-Derivat **120** im 60 Zelllinien-Antitumor-Screening des NCI kaum aktiv war. Darüber hinaus sind die generell schwachen Zytotoxizitäten der Thiazole möglicherweise auf die bereits erwähnte Neigung zur Selbstaggregation (s. S. 154) zurückzuführen.

Umso erstaunlicher ist jedoch, dass das Aminothiazol-Derivat **118** trotz seiner im Vergleich zu den Combilexinen hohen Hydrophilie (logP-Wert im negativen Bereich, s. Tab. 4.14) zu einer Zellwachstumshemmung von fünf verschiedenen Tumorzelllinien im 60-Zelllinien-Assay führte.

Verbindung	118	119	120	121	122	123
logP-Wert	-0.91	1.92	2.13	2.04	1.46	1.79

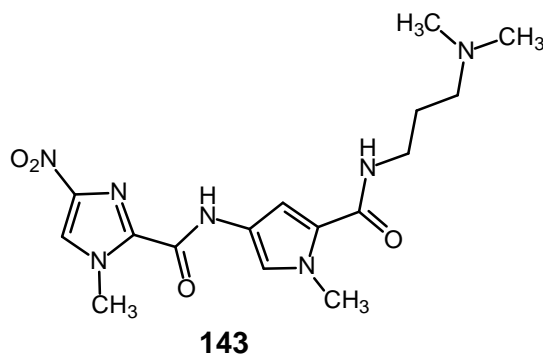
**Tab. 4.14:** Mittels dem Programm ACD (Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada) berechnete logP-Werte der Thiazolpyrrolcarboxamid-Derivate

Dies ist sicherlich unter anderem auf das geringere Molekulargewicht der am *N*-Terminus unsubstituierten Verbindung **118** und die im Vergleich zu den Combilexinen geringere Tendenz zur Selbstaggregation zurückzuführen (die singulären rinnenbindenden Strukturelemente (als Bausteine zu den Produktsynthesen) neigten bei den Kristallisationsversuchen im Gegensatz zu den Hybridmolekülen nicht zur Agglomeratbildung, s. S. 178), wodurch anscheinend eine für die gezeigte biologi-

sche Aktivität intrazellulär ausreichende Substanzkonzentration von **118** erreicht wird.

## 4.6 Ergebnisse der biophysikalischen/biochemischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine mit Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamid-Grundstruktur

### 4.6.1 Ergebnisse der biophysikalischen und biochemischen Untersuchungen



R	n	X	Verbindung Nr.
	2	CH	<b>145</b>
	3	CH	<b>146</b>
	3	N	<b>147</b>
	3	CH	<b>148</b>
	3	N	<b>149</b>

**Tab. 4.15:** Übersicht der getesteten Imidazol-Derivate

Die Hybridmoleküle mit Imidazolpyrrol- und Bisimidazolcarboxamid-Basisstruktur **145-149** (s. Tab. 4.15, S. 167) wurden mittels  $T_m$ -Wert-Messung (s. Kap. 4.1.1., S. 128), Circular dichroismus (s. Kap. 4.1.3, S. 130) und Topoisomerase-Inhibitions-Assays (s. Kap. 4.1.4, S. 131 ff.) auf ihre DNA-Binde- sowie Topoisomerase I und II hemmenden Eigenschaften untersucht. In Analogie zum Nitrothiophen- und Aminothiazolpyrrolcarboxamid **69** und **118** als Synthesebausteine wurde ebenfalls die DNA-Affinität des Nitroimidazolpyrrolcarboxamids **143** ermittelt.

Verbin- dung	$DT_m$ (poly(dAdT)) [°C]; $r = 1$	$DT_m$ (CT-DNA) [°C]; $r = 1$	$DT_m(\text{CT-DNA})/$ $DT_m(\text{poly(dAdT)})$ [%]	CD $r = 10$	Unwin- ding
<b>143</b>	$1.4 \pm 0.2$	n. a.	-	n. b.	n. b.
<b>145</b>	$18.1 \pm 0.2$	$12.1 \pm 0.1$	<b>67</b>	+	-
<b>146</b>	$12.8 \pm 0.5$	$4.5 \pm 0.3$	35	+	-
<b>147</b>	$7.2 \pm 0.2$	$1.1 \pm 0.2$	15	+	-
<b>148</b>	$18.0 \pm 0.6$	$6.0 \pm 0.5$	33	+	-
<b>149</b>	$11.3 \pm 0.7$	$6.3 \pm 0.5$	<b>56</b>	+	+

**Tab. 4.16:** Ergebnisse der DNA-Bindestudien.  $\Delta T_m$ -Werte: Mittelwerte aus mindestens drei Messungen,  $\pm$  Standardabweichung, n. a. = keine messbare DNA-Bindung,  $\Delta T_m \leq 1^\circ\text{C}$ ; Circular dichroismus (CD): (+) steht für ein positives CD-Signal; Unwinding: (-) = kein Unwinding, (+) = Unwinding, d. h. der Anteil relaxierter Plasmid-DNA nimmt mit steigender Konzentration an Testsubstanz zu;  $r$  = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; n. b. = nicht bestimmt.

Den  $T_m$ -Wert-Messungen zufolge (s. Tab. 4.16) besitzt das Nitroimidazolpyrrolcarboxamid **143** im Gegensatz zu den aus diesem Grundgerüst aufgebauten Complexinen **145**, **146** und **148** keine signifikante DNA-Affinität. Mit Ausnahme von Verbindung **147** zeigten alle Hybridmoleküle eine gute DNA-Bindung ( $\Delta T_m$ -Werte  $> 10^\circ\text{C}$ ) und Minor Groove Binding (CD: positiv). Für das Acridonbisimidazolcarboxamid **149** wurde anhand der im TOPO-I-Relaxations-Assay sichtbaren Entspiralisierung zusätzlich eine Interkalation nachgewiesen. Darüber hinaus waren die

Bisimidazol-Derivate **147** und **149** den entsprechenden Imidazolpyrrolcarboxamiden **146** und **148** bezüglich der DNA-Affinität unterlegen.

Das bei Verbindung **145** und **149** erhöhte Verhältnis  $\Delta T_m(\text{CT-DNA})/\Delta T_m(\text{poly(dAdT)})$  (56 und 67 %) deutet im Vergleich zu den Thiophen- und Thiazol-haltigen Combilexinen (hier lag dieses Verhältnis bei allen Verbindungen  $\leq 44$  %) auf eine Verschiebung der Sequenzselektivität zugunsten GC-reicher DNA hin. Da die  $T_m$ -Wert-Messung mit dem synthetischen Polymer poly(dAdT)-DNA wesentlich empfindlicher ist als unter Verwendung natürlicher Kalbsthymus(CT)-DNA, werden mit letzterer stets niedrigere Werte gemessen<sup>[176]</sup>. Dies könnte eventuell die Ursache dafür sein, dass gegenüber Verbindung **145** und **149** bei den Imidazol-Derivaten **146**, **147** und **148** keine Steigerung der GC-Selektivität feststellbar war.

Verbindung	TOPO-I- <i>Poison</i> - Aktivität	TOPO-I- <i>Suppressor</i> - Aktivität	TOPO-II- <i>Poison</i> - Aktivität	TOPO-II- <i>Suppressor</i> - Aktivität
<b>145</b>	-	+	-	+
<b>146</b>	-	+	-	-
<b>147</b>	n. b.	-	+	-
<b>148</b>	-	+	+	-
<b>149</b>	n. b.	-	+	+

**Tab. 4.17:** Ergebnisse der Topoisomerase-Inhibitions-Assays: (+) bedeutet TOPO-*Suppressor*- bzw. TOPO-*Poison*-Aktivität; (-) bedeutet keine TOPO-*Suppressor*- bzw. TOPO-*Poison*-Aktivität; n. b. = nicht bestimmt.

Wie aus den Ergebnissen der Topoisomerase-Inhibitions-Assays hervorgeht (s. Tab. 4.17), zeigten einige Testsubstanzen eine TOPO-I-*Suppressor*-Aktivität (**145**, **146**, **148**). Hierbei handelte es sich ausnahmslos um Imidazolpyrrolcarboxamide. Dem Gel des Topoisomerase-II-Cleavage-Assays war darüber hinaus zu entnehmen, dass beide Bisimidazol-Derivate **147** und **149** sowie Verbindung **148** als TOPO-II-*Poisons* agieren. Daneben weisen das Acridonbuttersäure-Derivat **149** und Naphthalimidpropionsäureamid **145** eine TOPO-II-*Suppressor*-Aktivität auf.

## 4.6.2 Ergebnisse der zellbiologischen Zytotoxizitäts-Studien

Alle Imidazol-haltigen Combilexine wurden am Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille an der HT-29 Zelllinie (humanes Kolonkarzinom) zellbiologisch auf ihre Zytotoxizität geprüft (s. Tab. 4.18).

Verbindung	145	146	147	148	149
IC <sub>50</sub> [µM]	10	n. i.	n. i.	50	n.i.

**Tab. 4.18:** Testergebnis des Zytotoxizitäts-Assays (MTS <sup>[73, 74]</sup>) an der humanen HT-29 Kolonkarzinomzelllinie; die Zellkultur wurde 72 h mit unterschiedlich hoch konzentrierten Lösungen (0-100 µM) der jeweiligen Testsubstanz in DMSO inkubiert; IC<sub>50</sub> = Konzentration der Testsubstanz in µM, bei der die Wachstumshemmung der entsprechenden Zelllinie 50 % beträgt; n. i. = keine Zellwachstumshemmung zu verzeichnen, IC<sub>50</sub> > 100 µM.

Für die beiden Imidazolpyrrolcarboxamide **145** und **148** war eine im Vergleich zu den bislang getesteten Substanzen erstaunlich hohe zytotoxische Aktivität zu verzeichnen. Das Acridonbuttersäure-Derivat **148** führte ab einer Konzentration von 50 µM, das Naphthalimidpropionyl-gekoppelte Derivat **145** schon ab einer Konzentration von 10 µM zu einer 50 %igen Zellwachstumshemmung.

Weitere Zytotoxizitäts-Studien wurden nicht durchgeführt.

## 4.6.3 Interpretation der Ergebnisse

Sowohl aus den DNA-Bindestudien als auch den zellbiologischen Untersuchungen geht hervor, dass die Imidazolpyrrolcarboxamid-Derivate den Bisimidazolen überlegen waren. Vielversprechende Ergebnisse lieferten auch hier wieder insbesondere das über einen C<sub>3</sub>-Linker verknüpfte Naphthalimid-Derivat **145** sowie das Acridonbuttersäureamid-Derivat **148**. Beide Substanzen zeigten neben einer sehr guten DNA-Affinität und Topoisomerase I und II hemmenden Eigenschaften eine zytotoxische Aktivität im MTS-Assay.

Wenngleich die mit der synthetischen Einführung eines bzw. zweier Imidazolringe im rinnenbindenden Molekülteil angestrebte GC-Selektivität nicht so stark ausgeprägt war, deuten die für die Verbindungen **145** und **149** ermittelten  $\Delta T_m$ -Werte für poly(dAdT)- und CT-DNA dennoch auf eine Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA hin. Diese war jedoch überraschenderweise bei dem Bisimidazol-Derivat **149** nicht so stark ausgeprägt wie bei dem Imidazolpyrrolcarboxamid **145**.

Erwartungsgemäß zeigte das Nitroimidazolpyrrolcarboxamid **143** in Analogie zum Nitrothiophenpyrrolcarboxamid **69** keine signifikante DNA-Affinität (s. a. Kap. 4.3.1, S. 143).

## 4.7 Bilanz der Ergebnisse der Combilexine

Wertvolle Hinweise, die vereinzelt vororientierende Aussagen bezüglich Struktur und Wirkung zulassen, konnten vor allem aus den DNA-Bindestudien gewonnen werden:

- 1) Daraus, dass die Nitro-Fünfringhetarenpyrrolcarboxamid-Grundstrukturen gegenüber den „fertigen“ Combilexinen und dem Aminothiazolpyrrolcarboxamid keine signifikante DNA-Affinität zeigten, kann geschlossen werden, dass für eine DNA-Bindung mindestens drei Amidfunktionen bzw. zwei Amidfunktionen und eine *N*-terminale Aminfunktion erforderlich sind.
- 2) Eine Propylendiamin-Seitenkette am C-Terminus ist bezüglich der DNA-Affinität günstiger als die um ein C-Atom verkürzte Ethylendiamin-Funktion.
- 3) Die zur Gewährleistung einer möglichst guten Anpassungsgeometrie an die DNA erforderliche Linkerlänge am *N*-terminalen Ende ist von der Art des interkalierenden Strukturelementes abhängig. Für die Verknüpfung des Naphthalimids mit dem rinnenbindenden Molekülteil ist ein C<sub>3</sub>-Linker, für die des Acridons ein C<sub>4</sub>-Linker vorteilhaft.
- 4) Die Einführung einer Nitro-Gruppe an 5-Position des Naphthalimids führt wider Erwarten weder zu einer Verbesserung der zellbiologischen Aktivität noch zu einer Steigerung der DNA-Affinität.



- 5) Die Thiophen-, Thiazol- und Bispyrrolcarboxamide besitzen AT-Selektivität, bei den Imidazol-Derivaten ist andeutungsweise eine GC-Selektivität erkennbar.
- 6) Als Bindungsmodus wurde für die meisten Combilexine Minor Groove Binding, bei manchen assoziiert mit einer Interkalation des Chromophoren Systems (Acridon, (5-Nitro-)Naphthalimid) nachgewiesen.

Bezüglich der Topoisomerase hemmenden Eigenschaften lassen sich keine klaren Aussagen auf eine Korrelation zwischen Struktur und Wirkung treffen. Zum einen zeigte keine der Testsubstanzen eine TOPO-I-*Poison*-Aktivität, wohingegen eine TOPO-I-*Suppressor*-Aktivität bei fast allen Hybridmolekülen zu verzeichnen war. Darüber hinaus wiesen unter den Thiophen-, Thiazol- und Imidazol-haltigen Derivaten vereinzelt Naphthalimid-, Acridon- und 5-Nitronaphthalimid-gekoppelte Verbindungen sowie die beiden Anthrachinon- und Pyridocarbazol-*N*-terminal funktionalisierten Verbindungen **104** und **105** eine TOPO-II-*Poison*- und/oder TOPO-II-*Suppressor*-Aktivität auf. Auch eine Korrelation zwischen Topoisomerase-Hemmung und DNA-Affinität war auszuschließen.

Obwohl die Ergebnisse der biochemischen, biophysikalischen und zellbiologischen Testungen der Combilexine nur teilweise miteinander korrelieren, ist festzustellen, dass mit Ausnahme von Verbindung **120** (s. S. 166) alle zytotoxisch aktiven Hybridmoleküle (**93**, **119**, **145**, **148**) eine gute bis sehr gute DNA-Affinität besitzen ( $\Delta T_m > 17^\circ\text{C}$ ) und zudem eine Topoisomerase I und/oder II hemmende Aktivität aufweisen. Bei Verbindung **119**, **145** und **148** handelt es sich in Bezug auf die DNA-Bindungsstärke sogar um die aus der Serie der Thiazol- und Imidazol-Derivate potentesten Moleküle. Konkrete Aussagen konnten jedoch zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit nicht getroffen werden, da die Hybridmoleküle bis auf die Naphthalimid-Derivate **93** und **120** nur an einer bzw. zum Teil zwei Zelllinien auf ihre antitumorale Wirksamkeit getestet wurden und die zellbiologischen Daten für das Anthrachinon-Derivat **104** sowie das Pyridocarbazol-gekoppelte Thiophenpyrrolcarboxamid **105** bislang noch nicht vorliegen (diese werden zurzeit noch mittels MTS-Assay-Verfahren <sup>[73, 74]</sup> an der humanen Kolonkarzinomzelllinie HT-29 am Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM in Lille getestet). Dabei könnte es sich insbesondere bei dem Pyridocarbazol-Derivat **105** um eine vielversprechende Substanz handeln, für die ebenfalls positive Resultate im MTS-Assay <sup>[73, 74]</sup> zu erwarten sein dürften; neben Topoisomerase I und II hemmenden Eigenschaften

zeigte Verbindung **105** - im Gegensatz zum Anthrachinon-Derivat **104** - eine mit den gegenüber der HT-29-Zelllinie zytotoxisch aktiven Combilexinen **145** und **148** vergleichbar hohe DNA-Affinität ( $\Delta T_m$  für poly(dAdT) = 18.2 °C).

Die Summation der Ergebnisse lässt dennoch darauf schließen, dass die Naphthalimidpropion- und Acridonbuttersäure-Derivate **92**, **98**, **119**, **145**, **148** die aussichtsreichsten Kandidaten hinsichtlich DNA-Affinität bzw. Zytotoxizität darstellen.

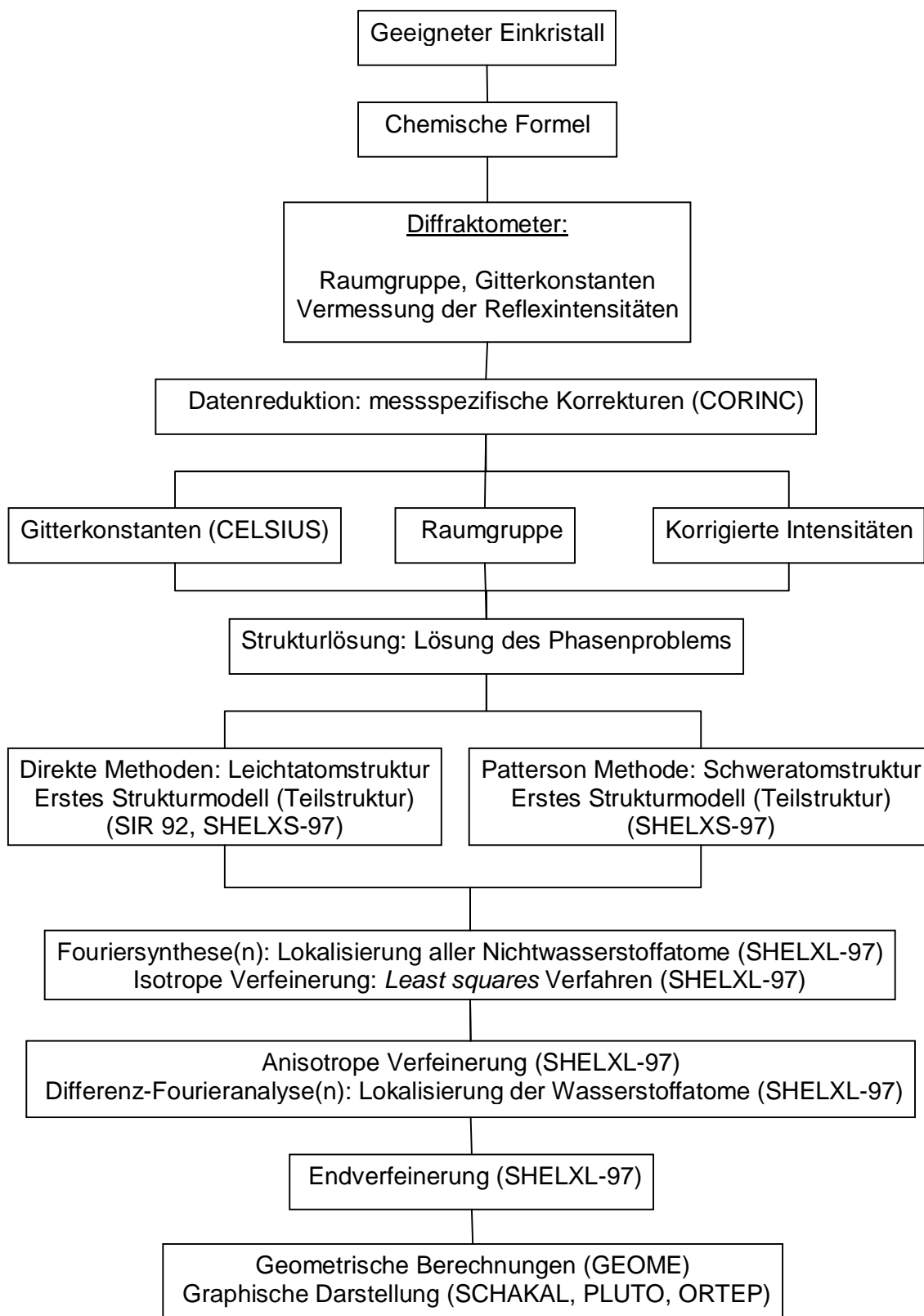
## **5. Kristallographie/Röntgenstrukturanalyse**

### **5.1 Zielsetzung**

Obwohl die Röntgenkristallstrukturanalyse nach wie vor diejenige Methode darstellt, die den größten Informationsgehalt zur vollständigen molekularen Aufklärung einer chemischen Verbindung liefert, wurden in der Literatur bisher weder singuläre noch an DNA gebundene Combilexine auf der Ebene von Kristallstrukturen beschrieben. Aus solchen Strukturen wären jedoch wichtige Informationen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen zu gewinnen, zumal die Erfahrung gezeigt hat, dass selbst sehr große Moleküle wie z. B. Proteine (Hämoglobin, Purinnucleosid-Phosphorylase (PNP)) im Kristallgitter eine Geometrie annehmen, die der biologisch aktiven Form in Lösung sehr ähnlich sein kann <sup>[133]</sup>. Diesbezüglich sollte mithilfe verschiedener Kristallisationsverfahren versucht werden, geeignete Einkristalle ausgewählter Testsubstanzen für die Durchführung einer Röntgenstrukturanalyse zu gewinnen. Darüber hinaus sollten die erhaltenen Kristallstrukturen mit den semiempirisch-quantenmechanisch berechneten Konformationen der Combilexine verglichen werden, um die Leistungsfähigkeit der eingesetzten Rechenmethode (s. Kap. 6.2, S. 206) zu bewerten.

### **5.2 Methodischer Ablauf einer Röntgenkristallstrukturanalyse**

Die Durchführung einer Röntgenkristallstrukturanalyse verläuft grundsätzlich immer nach dem gleichen Prinzip. Eine schematische Darstellung des methodischen Ablaufs gibt Abbildung 5.1, S. 175.



**Abb. 5.1:** Methodischer Ablauf einer Röntgenkristallstrukturanalyse

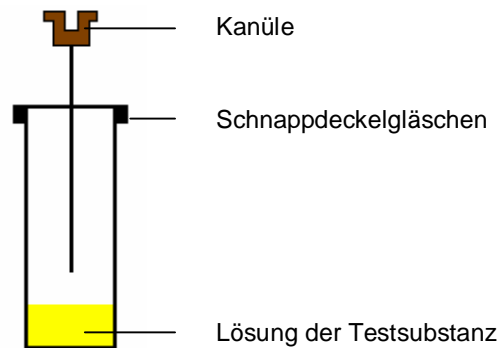
Hierbei stellt die Züchtung eines geeigneten Kristalls im ersten Schritt die größte Herausforderung dar und erfordert ein hohes Maß an „Fingerspitzengefühl“. So sollte zur Vermeidung einer Bildung verwachsener Konglomerate vieler kleiner Kristallite stets angestrebt werden, dass die Keimbildungsgeschwindigkeit möglichst kleiner als die Kristallwachstumsgeschwindigkeit ist. Gleichzeitig besteht bei zu hoher Kristallwachstumsgeschwindigkeit die Gefahr, dass Kristallbaufehler auftreten <sup>[202]</sup>. Aus diesem Grund wurden unterschiedliche Kristallisationsverfahren ausgewählt, die durch Variation verschiedener Faktoren (Lösungsmittel, Temperatur und Lösungsmittelverdunstungsgeschwindigkeit) zu einer langsamen Überschreitung des Sättigungspunktes und somit geringeren Keimzahl führen sollten.

Da sich Salze wegen der starken ionischen Wechselwirkungen oftmals besser zur Kristallisation eignen als die korrespondierenden freien Basen <sup>[133]</sup>, wurden die verschiedenen Combilexine (tertiäre Amine) zur Durchführung der Kristallisationsversuche in Form ihrer Pikrate, Tosylate oder Hydrochloride eingesetzt. Zur Darstellung der Pikrate und Tosylate wurde eine ethanolische Lösung der zu kristallisierenden Verbindung mit einer ethanolischen Pikrinsäure- bzw. p-Toluensulfonsäurelösung versetzt. Die erhaltenen Niederschläge wurden abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert <sup>[172]</sup>. Die entsprechenden Hydrochloride wurden durch Ausfällen aus einer etherischen Lösung der freien Basen mit etherischem Chlorwasserstoff gewonnen. Im Folgenden sollen die verwendeten Kristallisationsverfahren kurz beschrieben werden.

### **5.2.1 Verdunstungsmethode**

Zur Kristallisation durch Lösungsmittelverdunstung wurden mithilfe verschiedener Lösungsmittel (Methanol, Ethanol, Aceton, Isopropanol, 1-Propanol, Ethylacetat, Wasser, Dichlormethan und Chloroform) sowie deren Mischungen unterschiedlich konzentrierte Lösungen der Combilexine hergestellt. Um einer Fehlkristallbildung an Fremd- oder amorphen Substanzpartikeln vorzubeugen, wurden die Lösungen über eine Fritte filtriert. Die nachfolgende Aufbewahrung der klaren Substanzlösungen in mittels Kanüle belüfteten Schnappdeckelgläschen bei unterschiedlichen Temperaturen (8°C und RT) sollte ein gleichmäßiges Verdunsten des Lösungsmittels ermög-

lichen (s. Abb. 5.2). Anschließend sollten die nach Überschreitung des Sättigungspunktes gebildeten Kristallisationskeime zu geeigneten Kristallen heranwachsen.



**Abb. 5.2:** Kristallisation durch Lösungsmittelverdunstung; die Substanz-Lösung befindet sich in einem Schnapdeckelglaschen; die Kanüle ermöglicht ein kontinuierliches Verdunsten des Lösungsmittels;

## 5.2.2 „Hanging-Drop Vapour Diffusion“-Methode <sup>[203]</sup>

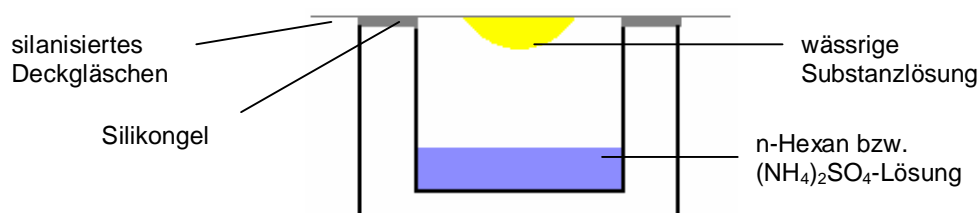
Die „Hanging-Drop Vapour Diffusion“-Methode wurde auf zwei verschiedene Arten durchgeführt.

### Methode a)

Unterschiedlich hoch konzentrierte Lösungen der Testsubstanzen in Wasser wurden auf silanisierten Deckgläschen in Form eines hängenden Tropfens über die Vertiefung einer Linbro-Platte, die mit n-Hexan befüllt war, gestülpt. Die Ränder wurden mit Silikongel abgedichtet (s. Abb. 5.3, S. 178). Die Verdunstung des für die Substanz sehr schlechten Lösungsmittels n-Hexan und dessen anschließende Kondensation an der wässrigen Grenzschicht sollte nach einigen Wochen zum Auskristallisieren der Substanz im Tropfen führen.

Methoden b)

In die Vertiefungen der Linbro-Platte wurden anstelle von n-Hexan wässrige Ammoniumsulfatlösungen in steigenden Konzentrationen eingefüllt. Die verschiedenen konzentrierten wässrigen Substanzlösungen wurden 1:1 mit der entsprechenden Ammoniumsulfatlösung verdünnt, bevor sie als Tropfen auf den silanisierten Deckgläschen über das Reservoir gestülpt wurden. Der hierbei herrschende Konzentrationsunterschied zwischen Substanz- und Ammoniumsulfatlösung bewirkt einen Wasserentzug im Tropfen, was nach einigen Tagen bis Wochen zum Auskristallisieren der Combilexine führen sollte.



**Abb. 5.3:** Querschnitt durch eine Kammer einer Linbro-Platte

Weder mit der Verdunstungs- noch mit der „Hanging-Drop“-Methode ist es gelungen, brauchbare Kristalle der Testsubstanzen zur Durchführung einer Röntgenkristallstrukturanalyse zu erhalten. Stattdessen kam es zur Bildung hochviskoser, gallertartiger Massen, die vermutlich auf eine Selbstassoziation der Combilexine zurückzuführen ist<sup>[201]</sup> (s. Kap. 4.3.3, S. 154).

Deshalb sollte zur Gewinnung von Kristallstrukturen für die Validierung der semiempirisch-quantenmechanischen Berechnungen (s. Kap. 6.2, S. 206) zunächst versucht werden, die unterschiedlichen rinnenbindenden Grundgerüste zu kristallisieren. Unter Anwendung der Verdunstungsmethode (s. Kap. 5.2.1, S. 176 f.) bei RT mit Methanol als Lösungsmittel konnten bereits nach wenigen Tagen geeignete Einkristalle der Verbindungen **60**, **69**, **117**, **143** und **144** gewonnen werden. Die beiden Verbindungen **69** und **117** wurden in Form ihrer freien Base kristallisiert, wohingegen beim Bispyrrol-Derivat **60** und den dazu bioisosteren Imidazol-haltigen Verbindungen **143** und **144** der Einsatz der Hydrochloride zur erfolgreichen Kristallzüchtung erforderlich war. Die so erhaltenen Strukturen sollten

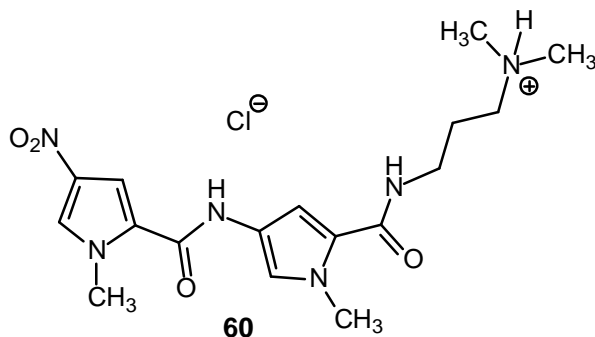
darüber hinaus für einen Vergleich mit den Ergebnissen der zur Strukturaufklärung genutzten  $^1\text{H}$ -NOE-Experimente (s. Kap. 3.1.2, S. 60 und Kap. 3.3.4, S. 81) herangezogen werden.

Vier der fünf ermittelten Kristallstrukturen (**69**, **117**, **143** und **144**) wurden in die Datenbank des Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) aufgenommen.

Bei der nachfolgenden Beschreibung der dreidimensionalen Strukturen werden lediglich Besonderheiten genannt. Detailinformationen zu den einzelnen Molekülstrukturen im Kristall gibt Kapitel 10.2, S. 271 ff.

## 5.3 Beschreibung der ermittelten Röntgenkristallstrukturen

### 5.3.1 Kristallstruktur des Bispyrrolcarboxamids (**60**)

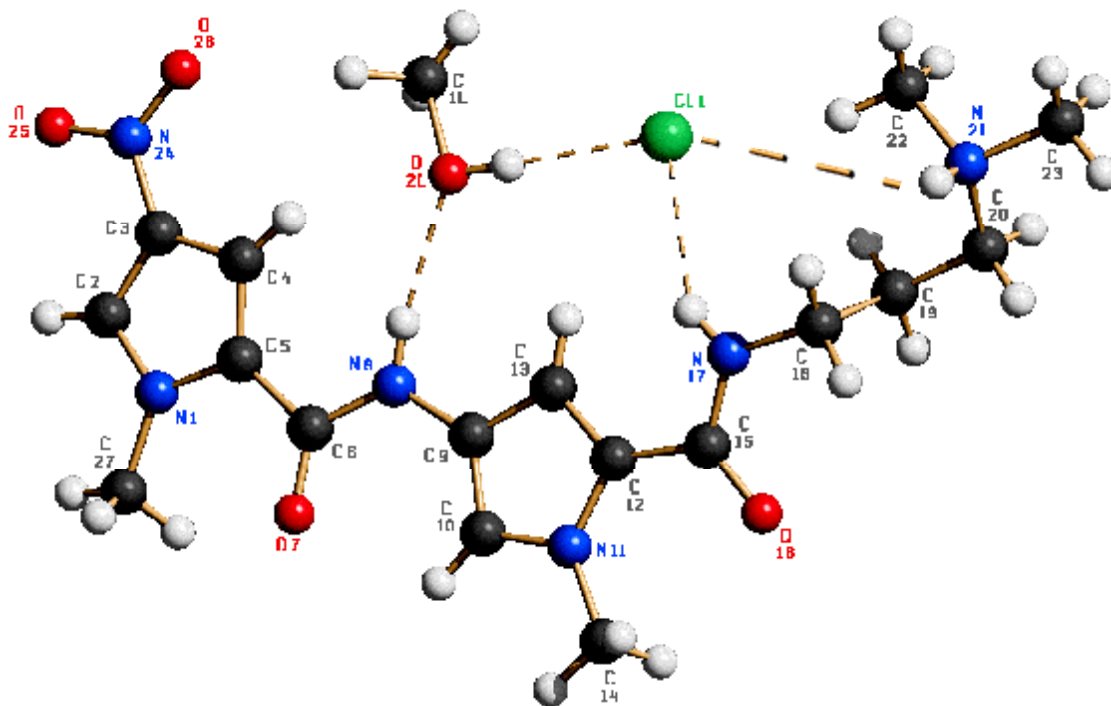


Während intensiver Recherchen wurde nach Fertigstellung der Kristallstruktur von Verbindung **60** festgestellt, dass diese bereits von einer chinesischen Arbeitsgruppe in der *Acta Crystallographica* hinterlegt wurde <sup>[204]</sup>. Die beiden unabhängig voneinander ermittelten Strukturen stimmen weitestgehend miteinander überein. In beiden Fällen wurden die zur Messung genutzten Einkristalle durch langsames Verdunsten einer methanolischen Lösung des entsprechenden Hydrochlorids bei RT erhalten. Auch das nach Strukturverfeinerung angegebene Verhältnis Parameterzahl zu beobachteten Reflexen ist fast identisch. Die im Rahmen dieser Arbeit bestimmte Kristallstruktur ist jedoch aufgrund des niedrigeren R-Wertes (5.2 % vs. 6.8 %) als



deutlich besser zu bewerten. Die folgenden Strukturbetrachtungen beziehen sich auf die eigens ermittelte Kristallstruktur.

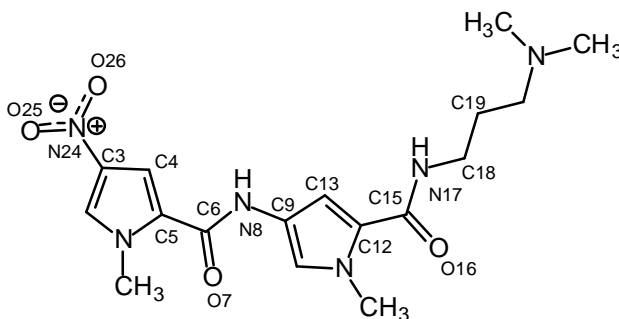
Drehkristall- und Weissenbergaufnahmen zeigten ein monoklines Kristallsystem. Zusammen mit den Auslöschungen wurde auf die Raumgruppe  $P2_1/c$  geschlossen. Als Symmetrieelemente liegen in der Elementarzelle zweizählige Schraubenachsen parallel zur b-Achse und senkrecht dazu stehende c-Gleitspiegelebenen vor <sup>[202]</sup> (s. Abb. 5.5, S. 183). Durch direkte Methoden bei der Strukturlösung wurden alle Nichtwasserstoffatome lokalisiert und anschließend mit anisotropen Auslenkungsparametern verfeinert. Die Wasserstoffatome wurden geometrisch eingefügt (NH's und OH's gefunden) und reitend isotrop verfeinert.



**Abb. 5.4:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **60**; Nummerierung nicht gemäß IUPAC; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

Abbildung 5.4 zeigt die aus der Elementarzelle herausgegriffene Kristallstruktur eines singulären Moleküls. Beide Amidbindungen liegen wie zuvor durch <sup>1</sup>H-NOE-Differenzanalyse erwartet (s. Kap. 3.1.2, S. 60) in Analogie zu Peptiden in einer trans-(Z)-Konfiguration vor, wodurch die zur Anpassung an die Curvature der kleinen Rinne der B-DNA erwünschte „Sichelkonformation“ begünstigt wird. In der Elemen-

tarzelle sind pro Molekül der Verbindung **60** ein Molekül Methanol und als Gegenion ein Chlorid-Anion über intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen eingeschlossen. Sowohl die beiden amidischen NH-Gruppen als auch die protonierte Aminfunktion der Seitenkette fungieren hierbei als Wasserstoffbrückendonatoren. An dieser Stelle sei angemerkt, dass die in der Kristallstruktur der Leitsubstanz Netropsin <sup>[132]</sup> als Wasserstoffbrückendonatoren zu Lösungsmittelmolekülen fungierenden NH-Gruppen ebenfalls in der Kristallstruktur des Netropsin-DNA-Komplexes <sup>[64, 69]</sup> für die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen mit Adenin-N3 bzw. Thymin-O2 in der kleinen Rinne der B-DNA verantwortlich sind (s. Kap. 1.4, S. 24). Eine ähnliche Ligand-Target-Interaktion wäre deshalb auch für die aus Verbindung **60** aufgebauten Combilexine denkbar, indem die amidischen NH-Gruppen sowie die protonierte Aminfunktion der Seitenkette (die tertiäre Amingruppe der Seitenkette liegt bei physiologischem pH-Wert protoniert vor) Wasserstoffbrückenbindungen zu Adenin-N3 bzw. Thymin-O2 ausbilden würden.



Winkel Nr.	Den Winkel umschließende Atome				Torsionswinkel [°]
ψ1	C13	C12	C15	O16	-168.4
ψ2	C4	C5	C6	O7	171.0
φ1	C15	N17	C18	C19	95.0
φ2	C6	N8	C9	C13	-172.1
φ3	C4	C3	N24	O26	-0.8
φ4	C4	C3	N24	O25	179.2
ω1	C12	C15	N17	C18	-178.1
ω2	C5	C6	N8	C9	179.0

**Tabelle 5.1:** Einige ausgewählte Torsionswinkel von Verbindung **60**

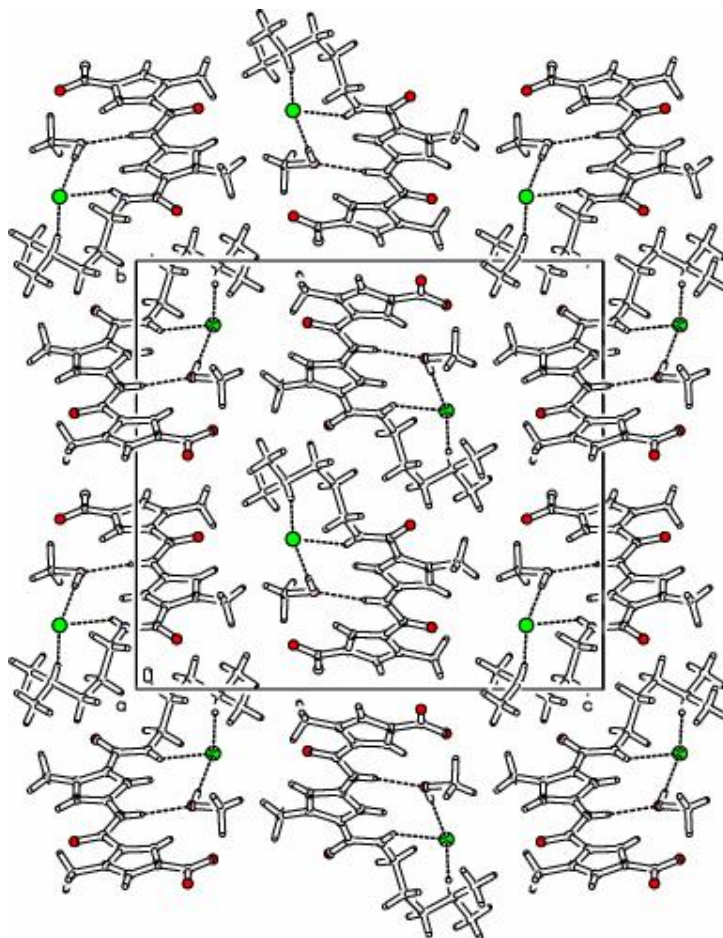
Beide Amidbindungen sind, wie an den zugehörigen Torsionswinkeln  $\omega_1$  und  $\omega_2$  in Tabelle 5.1, S. 181 zu erkennen ist, im Wesentlichen planar. Auch die beiden Pyrrolringe stehen koplanar zueinander und bilden zusammen mit der Nitrogruppe nahezu eine Ebene (s. Tab. 5.1, S. 181:  $\psi_2$ ,  $\phi_2$ ,  $\phi_3$  und  $\phi_4$ ). Lediglich die aliphatische Seitenkette zeigt durch 85°-Drehung um die N17-C18-Einfachbindung eine größere Abweichung.

Den Winkel umschließende Atome			Bindungswinkel [°]
O16	C15	C12	122.6
O16	C15	N17	122.7
C15	N17	C18	123.3
O7	C6	C5	122.9
O7	C6	N8	123.2
C6	N8	C9	124.1

**Tabelle 5.2:** Ausgewählte Bindungswinkel von Verbindung **60** im Bereich der Amidbindungen; Atombezeichnung siehe Tabelle 5.1, S. 181

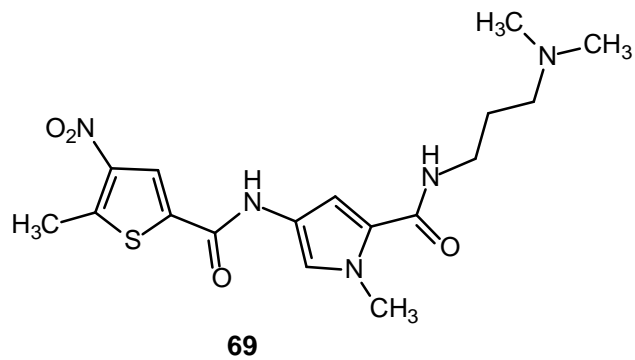
Die C-N-Bindungslängen der beiden Amidbindungen liegen mit 134 pm (C15-N17) und 135 pm (C6-N8) genau zwischen der einer C-N-Einfach- (148.7 pm) und der einer C=N-Doppelbindung (127 pm). Die planare Anordnung (s. Tab. 5.1, S. 181:  $\omega_1$  und  $\omega_2$ ), die Bindungswinkel um 120° im Bereich der Amidbindungen (s. Tab. 5.2) sowie die C-N-Bindungslängen spiegeln den partiellen Doppelbindungscharakter der Peptidbindungen wider. Zur (E)/(Z)-Isomerisierung wäre daher eine Aktivierungsenthalpie von  $\geq 90$  kJ/mol erforderlich <sup>[205]</sup>.

Im PLUTO-Plot der Kristallpackung von **60** (s. Abb. 5.5, S. 183) sind die zur b-Achse parallel ausgerichteten Schraubenachsen sowie die hierzu senkrecht angeordneten c-Gleitspiegelebenen sehr gut zu erkennen.



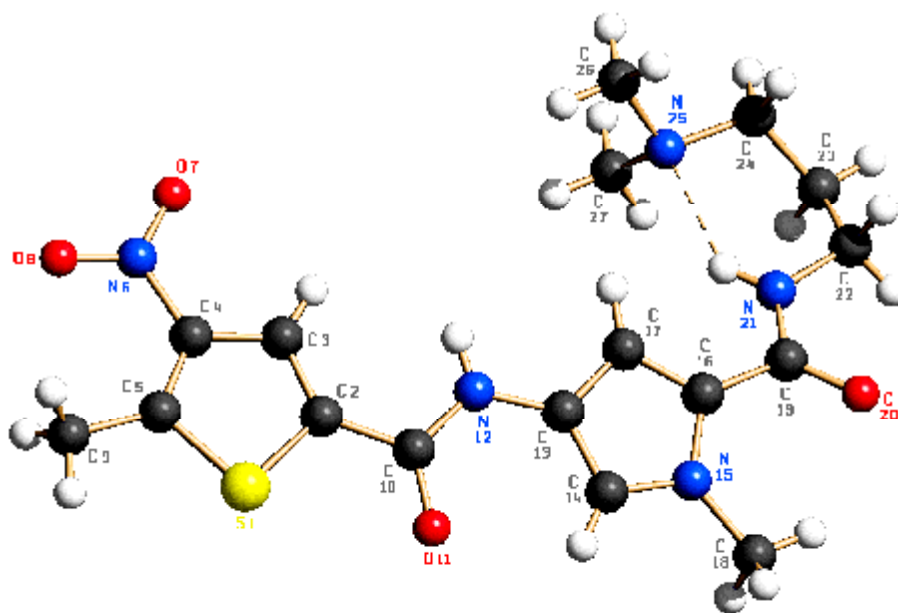
**Abb. 5.5:** PLUTO-Plot der Kristallpackung von **60**; Blickrichtung entlang der a-Achse; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

### 5.3.2 Kristallstruktur des Thiophenpyrrolcarboxamids (**69**)



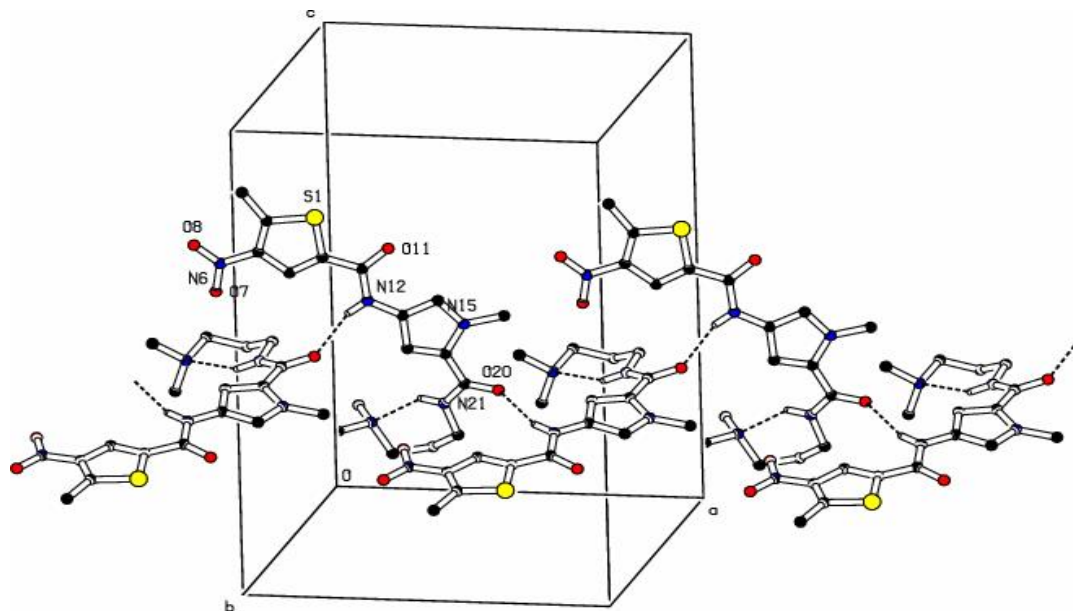
Durch langsames Verdunsten einer methanolischen Lösung des Thiophenpyrrolcarboxamids **69** wurden nach 14 Tagen gelbe plattenförmige Einkristalle erhalten. Weissenbergaufnahmen zeigten ein orthorhombisches Kristallsystem mit der Laue-Symmetrie *mmm*. Durch die Auslöschungen konnte die Raumgruppe *P bca* zugeordnet werden, die durch drei senkrecht zueinander angeordnete Gleitspiegelebenen *a*, *b* und *c* in der Elementarzelle gekennzeichnet ist ( $b \perp a$ ,  $c \perp b$ ,  $a \perp c$ ). Durch das Vorliegen eines orthorhombischen Kristallsystems folgt, dass die drei zwischen den Basisvektoren aufgespannten Winkel  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  in der Elementarzelle gleich groß ( $90^\circ$ ) sind <sup>[202]</sup> (s. Abb. 5.7, S. 186).

Die Strukturlösung lieferte alle Nichtwasserstoffatome, die anschließend anisotrop verfeinert wurden. Durch Differenz-Fourieranalysen konnten nur die amidischen NH's lokalisiert werden; die weiteren Wasserstoffatome wurden geometrisch eingefügt. Alle Wasserstoffatome wurden reitend mit isotropen Auslenkungsparametern verfeinert. Die erhaltene Kristallstruktur ist mit einem Verhältnis Parameterzahl zu beobachteten Reflexen von 258:2927 (dieses sollte etwa 1:10 bis minimal 1:7 betragen) und einem R-Wert von 5.6 % (dieser sollte für kleine Strukturen < 5 % sein) als gut zu bewerten.

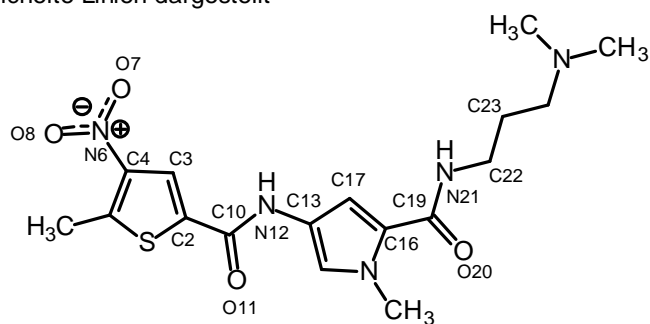


**Abb. 5.6:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **69**; Nummerierung nicht gemäß IUPAC; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

Wie Abbildung 5.6, S. 184 zu entnehmen ist, liegt auch Verbindung **69** in einer sichelförmigen Konformation vor, in der beide Amidbindungen trans-(Z)-konfiguriert sind. Durch  $^1\text{H}$ -NOE-Differenzanalyse konnte zuvor bereits gezeigt werden, dass auch in Lösung die Amidbindungen bevorzugt in einer trans-(Z)-Konfiguration vorliegen. Aufgrund der in Lösung zu erwartenden Rotation der beiden Hetarene an der zentralen Amidbindung konnte die Struktur anhand des durchgeführten  $^1\text{H}$ -NOE-Experimentes jedoch noch nicht eindeutig aufgeklärt werden (s. Kap. 3.3.4, S. 81). Da die Kristallstruktur der freien Base **69** vorliegt, bildet sich im Gegensatz zu Verbindung **60** (s. Abb. 5.4, S. 180) in der Seitenkette eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen der amidischen NH-Gruppe und der tertiären Aminfunktion als Wasserstoffbrückenakzeptor aus (s. Abb. 5.6, S. 184). Zusätzlich trägt eine intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen der die beiden Hetarene verknüpfenden Amid-NH-Gruppe und der amidischen Carbonyl-CO-Funktion der Seitenkette eines benachbarten Moleküls zur weiteren Stabilisierung der Kristallpackung bei (s. Abb. 5.7, S. 186). Die auf diese Weise verknüpften Strukturen bilden eine lange zickzackförmige Kette, die sich über die Elementarzelle hinaus durch das gesamte Translationsgitter hinweg fortpflanzt. Es ist zu erwarten, dass auch *in vivo* ähnliche Interaktionen zwischen den Combilexinen mit Thiophenpyrrolcarboxamid-Grundgerüst und Biopolymeren (DNA) auftreten, bei denen die Wasserstoffbrückenbindungen von den gleichen Positionen des rinnenbindenden Molekülteils ausgehend zur DNA gebildet werden wie in der Kristallstruktur (s. Kap. 5.3.1, S. 181). Neben N12-H12 und N21-H21 (s. Abb. 5.6, S. 184) würde dann vermutlich auch die in Lösung protoniert vorliegende Aminfunktion der Seitenkette (N25) eine H-Brückendonator-Funktion übernehmen.



**Abb. 5.7:** PLUTO-Plot der Elementarzelle von **69**; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt



Winkel Nr.	Den Winkel umschließende Atome				Torsionswinkel [°]
$\psi_1$	C17	C16	C19	O20	154.4
$\psi_2$	C3	C2	C10	O11	-171.6
$\phi_1$	C19	N21	C22	C23	165.5
$\phi_2$	C10	N12	C13	C17	176.7
$\phi_3$	C3	C4	N6	O7	-0.2
$\phi_4$	C3	C4	N6	O8	179.8
$\omega_1$	C2	C10	N12	C13	-174.3
$\omega_2$	C16	C19	N21	C22	178.0

**Tabelle 5.3:** Einige ausgewählte Torsionswinkel von Verbindung **69**

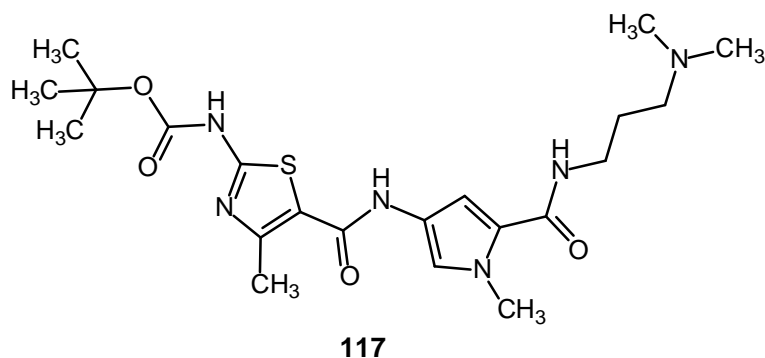
Den Winkel umschließende Atome			Bindungswinkel [°]
O11	C10	N12	123.2
O11	C10	C2	120.2
C10	N12	C13	125.2
O20	C19	N21	122.4
O20	C19	C16	123.1
C19	N21	C22	122.9

**Tabelle 5.4:** Ausgewählte Bindungswinkel von Verbindung **69** im Bereich der Amidbindungen; Atombezeichnung s. Tabelle 5.3, S. 186

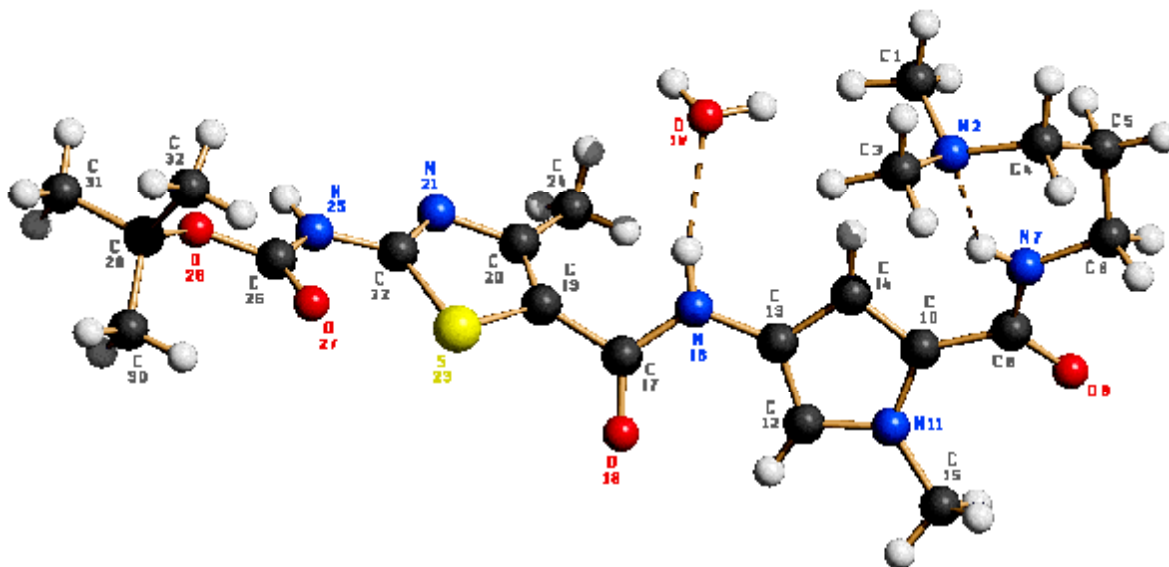
Wie den in Tabelle 5.3, S. 186 angegebenen Torsionswinkeln und auch dem PLUTO-Plot (s. Abb. 5.7, S. 186) zu entnehmen ist, liegt **69** in der Elementarzelle als sehr planare Struktur vor. Lediglich die C16-C19 Einfachbindung ist mit  $26^\circ$  ( $\psi_1$ ) etwas stärker aus der Ebene herausgedreht, was auf die Ausbildung der intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung in der Seitenkette zurückzuführen ist. Die Amidbindungen zeigen alle Charakteristika einer Peptidbindung. Sie sind planar ( $\omega_1$  und  $\omega_2$ ), die Bindungswinkel liegen alle im Bereich von  $120^\circ$  (s. Tabelle 5.4) und die C-N-Bindungslängen liegen mit 133 pm (C19-N21) und 134 pm (C10-N12) zwischen der einer C-N-Einfach- und der einer C=N-Doppelbindung. Der partielle Doppelbindungscharakter und die damit verbundene Rotationsbarriere der Amidbindungen führen auch hier wieder zur Stabilisierung der energetisch günstigen Sichelkonformation mit trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen.



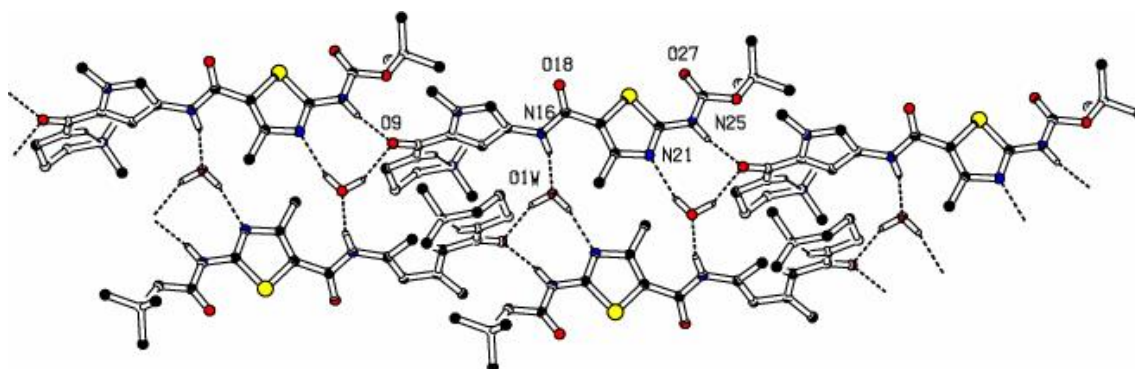
### 5.3.3 Kristallstruktur des Methylthiazolpyrrolcarboxamids (117)



Langsames Verdunsten einer methanolischen Lösung von Verbindung **117** führte nach 10 Tagen zur Ausbildung farbloser Einkristalle, die scharf begrenzte Reflexe lieferten. Dem triklinen Kristallsystem konnte die Raumgruppe P-1 zugeordnet werden, bei der als Symmetrieelement in der Elementarzelle lediglich ein Inversionszentrum vorliegt <sup>[202]</sup> (s. Abb. 5.9, S. 189). Die Strukturlösung lieferte alle Nichtwasserstoffatome. Nach anisotroper Verfeinerung der Nichtwasserstoffatome wurden sämtliche Wasserstoffatome mittels Differenz-Fourieranalysen lokalisiert und reitend isotrop verfeinert. Die verfeinerte Struktur weist einen R-Wert von 4.5 % auf und kann daher zusammen mit einem Verhältnis Parameterzahl zu beobachteten Reflexen von 313:4423 als sehr gut beurteilt werden.



**Abb. 5.8:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **117**; Nummerierung nicht gemäß IUPAC; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

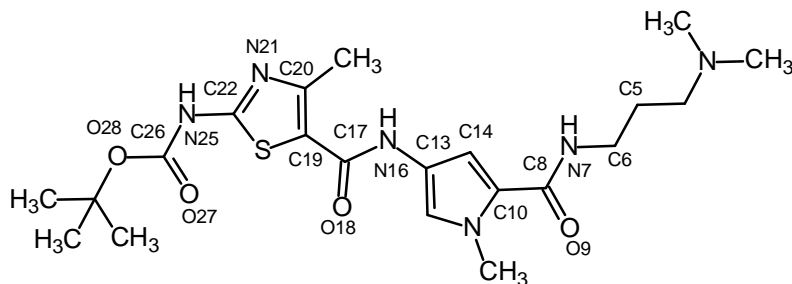


**Abb. 5.9:** PLUTO-Plot der Kristallpackung von **117**; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

Anhand der Kristallstruktur von **117** konnte zum ersten Mal in der Pyrrolcarboxamid-Reihe auch die Geometrie der *N*-terminalen Amidbindung aufgeklärt werden, die hier in Analogie zu den beiden anderen Amidbindungen in der für Peptide typischen *trans*-(*Z*)-Konfiguration vorliegt (s. Abb. 5.8). Verbindung **117** nimmt in der Elementarzelle eine Konformation an, in der die Methylgruppe des Thiazolrings - anders wie bei den vorherigen Molekülen - zur konkaven Molekülseite orientiert ist.

Hierdurch wird ermöglicht, dass sich N21 des Thiazols an der Ausbildung von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zur Stabilisierung der Kristallpackung beteiligt (s. Abb. 5.9, S. 189). Neben N21 sind auch die NH-Gruppen der zentralen und *N*-terminalen Amidbindung, sowie die Carbonylgruppe der Seitenkette (O9) in die Ausbildung von fünf intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen involviert. Hieraus resultieren in der Elementarzelle zwei, über Wasserstoffbrücken miteinander verknüpfte, antiparallel verlaufende Molekülketten. Da die direkte Interaktion der beiden Ketten durch die zur konkaven Seite orientierten Methylgruppen der Thiazolringe sterisch behindert wird (s. Abb. 5.9, S. 189), verlaufen die intermolekularen H-Brücken über zwischen den beiden Schichten eingeschlossene Wassermoleküle. Diese übernehmen als Zwischenglied sowohl H-Brückendonator- als auch H-Brückenakzeptor-Funktionen und tragen somit zusätzlich zur Stabilisierung der Kristallpackung bei.

Wie zuvor bei Verbindung **69** beschrieben (s. Kap. 5.3.2, S. 183), bildet sich ebenfalls in der Kristallstruktur von **117** zwischen N2 (als Akzeptor) und N7-H7 (als Donator) eine intramolekulare H-Brücke in der aliphatischen Seitenkette aus (s. Abb. 5.8, S. 189).



Winkel Nr.	Den Winkel umschließende Atome				Torsionswinkel [°]
$\psi_1$	O9	C8	C10	C14	-154.6
$\psi_2$	O18	C17	C19	C20	-129.2
$\phi_1$	C5	C6	N7	C8	161.9
$\phi_2$	C14	C13	N16	C17	-165.4
$\phi_3$	N21	C22	N25	C26	-168.6
$\omega_1$	C6	N7	C8	C10	-179.5
$\omega_2$	C13	N16	C17	C19	-177.3
$\omega_3$	C22	N25	C26	O28	179.75

**Tabelle 5.5:** Einige ausgewählte Torsionswinkel von Verbindung **117**

Den Winkel umschließende Atome			Bindungswinkel [°]
O9	C8	C10	122.3
O9	C8	N7	123.1
C8	N7	C6	124.6
O18	C17	C19	121.7
O18	C17	N16	124.0
C17	N16	C13	124.4
O27	C26	N25	123.9
C26	N25	C22	123.4

**Tabelle 5.6:** Ausgewählte Bindungswinkel von Verbindung **117** im Bereich der Amidbindungen; Atombezeichnung s. Tabelle 5.5

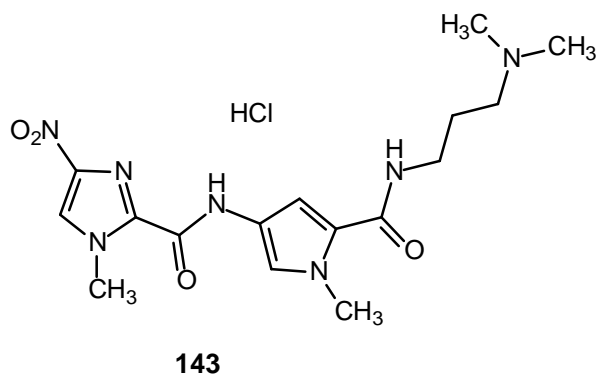
Die Torsionswinkel  $\omega_1$ ,  $\omega_2$  und  $\omega_3$  um  $180^\circ$  bzw.  $-180^\circ$  (s. Tab. 5.5, S. 191), die Bindungswinkel im Bereich der Amidbindungen um  $120^\circ$  (s. Tab. 5.6, S. 191) sowie die C-N-Amidbindungslängen (N7-C8 = 132 pm, N16-C17 = 135 pm, N25-C26 = 137 pm) spiegeln die planare Anordnung und den partiellen Doppelbindungscharakter der Peptidbindungen wider, was inzwischen ein durchgängiges Phänomen darstellt.

Im Gegensatz zu **60** und **69** sind die beiden Hetarene hier nicht koplanar zueinander angeordnet, was vor allem durch die Rotation des Thiazolrings um die C17-C19- und C22-N25-Bindung ( $\psi_2$  und  $\phi_3$ , s. Tab. 5.6, S. 191) bedingt ist. Folglich weicht die Molekülgeometrie im Kristall zum Teil von der gewünschten Sichelkonformation ab.

Ein denkbarer Erklärungsansatz hierfür könnte die van der Waals-Abstoßung zwischen den freien Elektronenpaaren des Thiazol-Stickstoffs N21 und des N-terminalen amidischen Carbonyl-Sauerstoffs O27<sup>[92]</sup> sein sowie die bereits erwähnte, in der vorliegenden Konformation begünstigte Ausbildung einer zusätzlichen H-Brücke (zwischen Thiazol-N21 und einem Wassermolekül, s. Abb. 5.9, S. 189), die im Wesentlichen zur Stabilisierung der Kristallpackung beiträgt.

Moleküle sind jedoch in der Lage, ihre Geometrie (Konformation) in Abhängigkeit von der Umgebung zu ändern. So kann die Molekülgeometrie im kristallinen Zustand sowohl durch Kristallpackungskräfte als auch durch Wechselwirkungen mit Nachbarmolekülen bzw. eingeschlossenen Lösungsmittelmolekülen erheblich beeinflusst werden<sup>[133]</sup>. Es kann daher nicht zwangsläufig davon ausgegangen werden, dass auch bei den Combilexinen der Thiazolpyrrolcarboxamid-Reihe in Lösung oder in dem an DNA gebundenen Komplex die gleiche von der Sichelform abweichende Konformation des rinnenbindenden Molekülteils vorliegt, wie es am Beispiel der Kristallstruktur von Verbindung **117** gezeigt wurde. Dies würde außerdem den Resultaten der biophysikalischen DNA-Bindestudien widersprechen, da für das Aminothiazolpyrrolcarboxamid **118** sowie die dieses Grundgerüst enthaltenden Combilexine **119** und **123** eine gute bzw. sehr gute DNA-Affinität ermittelt wurde (s. Kap. 4.5.1, S. 160), die bei einer derart beschriebenen starken Abweichung der Molekülgeometrie von der gewünschten Sichelkonformation als denkbare „Bindeform“ nicht vorstellbar gewesen wäre.

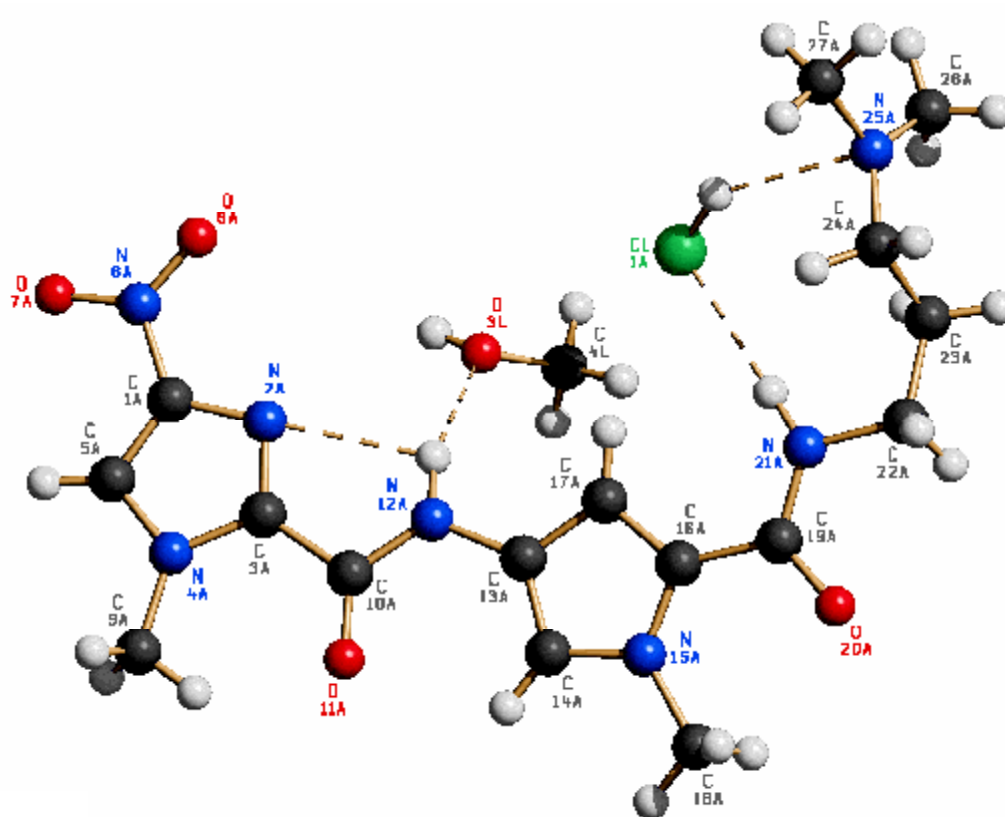
### 5.3.4 Kristallstruktur des Imidazolpyrrolcarboxamids (**143**)



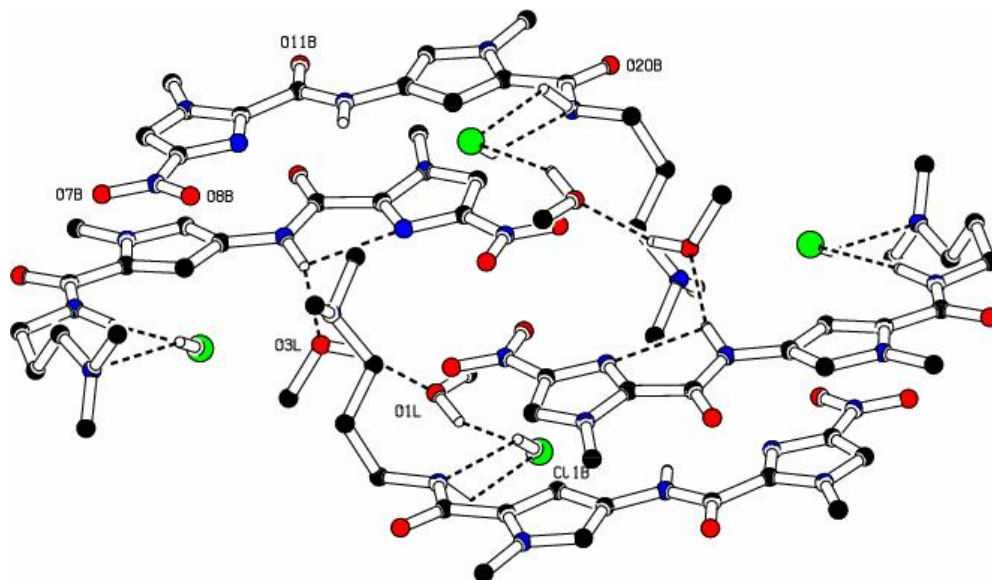
Verbindung **143** wurde durch langsames Verdunsten einer methanolischen Lösung des Hydrochlorids in Form gelber Plättchen kristallisiert. Drehkristall- und Weissenbergaufnahmen zeigten ein triklines Kristallsystem mit der Raumgruppe P-1, die durch ein Inversionszentrum in der Elementarzelle gekennzeichnet ist <sup>[202]</sup>. Durch Strukturlösung konnten alle Nichtwasserstoffatome lokalisiert werden. Diese wurden anschließend mit anisotropen Auslenkungsparametern verfeinert. Die Wasserstoffatome hingegen wurden alle geometrisch eingefügt und reitend isotrop verfeinert. Selbst nach Verfeinerung betrug der R-Wert immer noch 9.8 %. Zusammen mit einem Verhältnis Parameterzahl zu beobachteten Reflexen von 543:4476 ist die Kristallstruktur jedoch durchaus als zufrieden stellend zu bewerten.

Die Kristallstruktur von **143** enthält zwei unabhängige Moleküle (Molekül A und B), die sich lediglich durch die Konformation der Seitenkette unterscheiden (s. Kap. 10.2.4, S. 293). Abbildung 5.10, S. 194 zeigt die Kristallstruktur eines der beiden in der Elementarzelle vorliegenden Moleküle (Molekül A). Die Struktur liegt in einer sichelförmigen Geometrie ähnlich Verbindung **60** vor, die neben der trans-(Z)-Konfiguration der beiden Amidbindungen zusätzlich durch intermolekulare H-Brücken zu eingeschlossenen Lösungsmittelmolekülen sowie eine intramolekulare Chelatisierung zwischen der zentralen Amidbindung (N12A-H12A) und dem Imidazolstickstoff in 3-Position (N2A) begünstigt wird. Bei Vorliegen einer cis-(E)-Konfiguration der Amidbindung wäre diese intramolekulare Chelatisierung nicht möglich. Wie bei den bisher beschriebenen Kristallstrukturen sind auch bei **143** im Kristall alle zur konkaven Molekülseite orientierten NH-Funktionen (als H-Brückendonatoren) und Stickstoffatome mit freien Elektronenpaaren (als H-

Brückenakzeptoren) an der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen beteiligt. Es ist deshalb vorstellbar, dass die genannten Positionen bei einer DNA-Bindung der entsprechenden Combilexine analoge Funktionen übernehmen. Die amidischen NH-Gruppen und die bei physiologischem pH-Wert protonierte Aminfunktion der Seitenkette könnten dabei möglicherweise als H-Brückendonatoren fungieren. Darüber hinaus wäre denkbar, dass der Imidazolstickstoff N2A als H-Brückenakzeptor die Ausbildung einer H-Brücke zu Guanin-NH<sub>2</sub> ermöglicht und auf diese Weise zur Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA beiträgt [64].



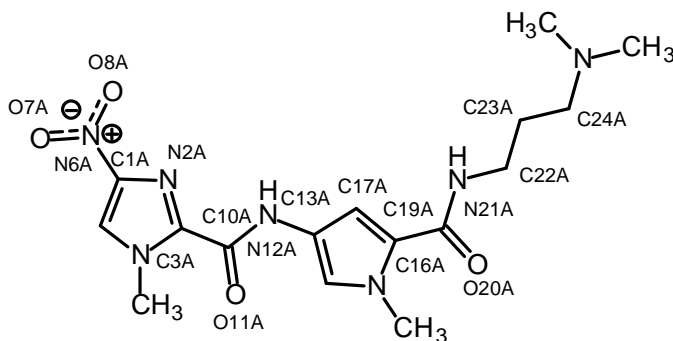
**Abb. 5.10:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **143** (HCl) am Beispiel von Molekül A; Nummerierung nicht gemäß IUPAC; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt



**Abb. 5.11:** PLUTO-Plot des in der Elementarzelle vorliegenden Grundmotivs von **143**; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

Abbildung 5.11 zeigt das Grundmotiv der Elementarzelle, welches aus insgesamt vier Molekülen (je zwei Moleküle der Struktur A und B) besteht. Die Anordnung der Moleküle in der Kristallpackung ergibt sich durch die Drehung der Strukturen um das hier als Symmetrieelement vorliegende Inversionszentrum. Zur Stabilisierung der Kristallpackung tragen intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zu Methanol und HCl (Cl = grün) bei (s. Tab. 10.5, S. 300).





Winkel Nr.	Den Winkel umschließende Atome				Torsionswinkel [°]
$\psi_1$	C17A	C16A	C19A	O20A	176.5
$\psi_2$	N2A	C3A	C10A	O11A	176.8
$\phi_1$	C19A	N21A	C22A	C23A	166.9
$\phi_2$	C10A	N12A	C13A	C17A	-167.2
$\phi_3$	N2A	C1A	N6A	O7A	172.5
$\phi_4$	N21A	C22A	C23A	C24A	71.7
$\omega_1$	C16A	C19A	N21A	C22A	-175.8
$\omega_2$	C3A	C10A	N12A	C13A	177.0

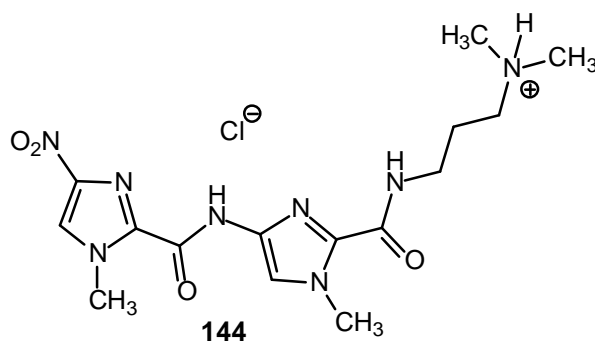
**Tabelle 5.7:** Einige ausgewählte Torsionswinkel von Verbindung **143** (am Beispiel von Molekül A)

Den Winkel umschließende Atome			Bindungswinkel [°]
O20A	C19A	N21A	122.2
O20A	C19A	C16A	120.9
C19A	N21A	C22A	119.0
O11A	C10A	N12A	126.0
O11A	C10A	C3A	122.4
C10A	N12A	C13A	122.4

**Tabelle 5.8:** Ausgewählte Bindungswinkel von Verbindung **143** (am Beispiel von Molekül A) im Bereich der Amidbindungen; Atombezeichnung siehe Tabelle 5.7

Die in Tabelle 5.7, S. 196 aufgeführten Torsionswinkel  $\psi_1$ ,  $\psi_2$  und  $\phi_3$  verdeutlichen, dass die beiden Fünfringsysteme mit der Nitrogruppe nahezu eine Ebene bilden (s. Abb. 5.10, S. 194), aus der der Pyrrolring durch eine geringfügige Rotation um die N12A-C13A-Einfachbindung ( $\phi_2 = -167.2^\circ$ ) nur schwach herausgedreht ist. Die aliphatische Seitenkette hingegen zeigt aufgrund ihrer konformativen Flexibilität eine deutlichere Abweichung ( $\phi_4 = 72^\circ$ ). Die beiden Amidbindungen weisen auch hier wieder die typischen strukturellen Merkmale der durch Röntgenstrukturanalysen aufgeklärten Peptidbindungen auf: Bindungswinkel um  $120^\circ$  (s. Tab. 5.8, S. 196), Planarität ( $\omega_1$  sowie  $\omega_2$  um  $(-180^\circ)$ , s. Tab. 5.7, S. 196) und C-N-Bindungslängen die zwischen der einer C-N-Einfach- (148.7 pm) und einer C=N-Doppelbindung (127 pm) liegen (C19A-N21A = 133 pm; C10A-N12A = 135 pm).

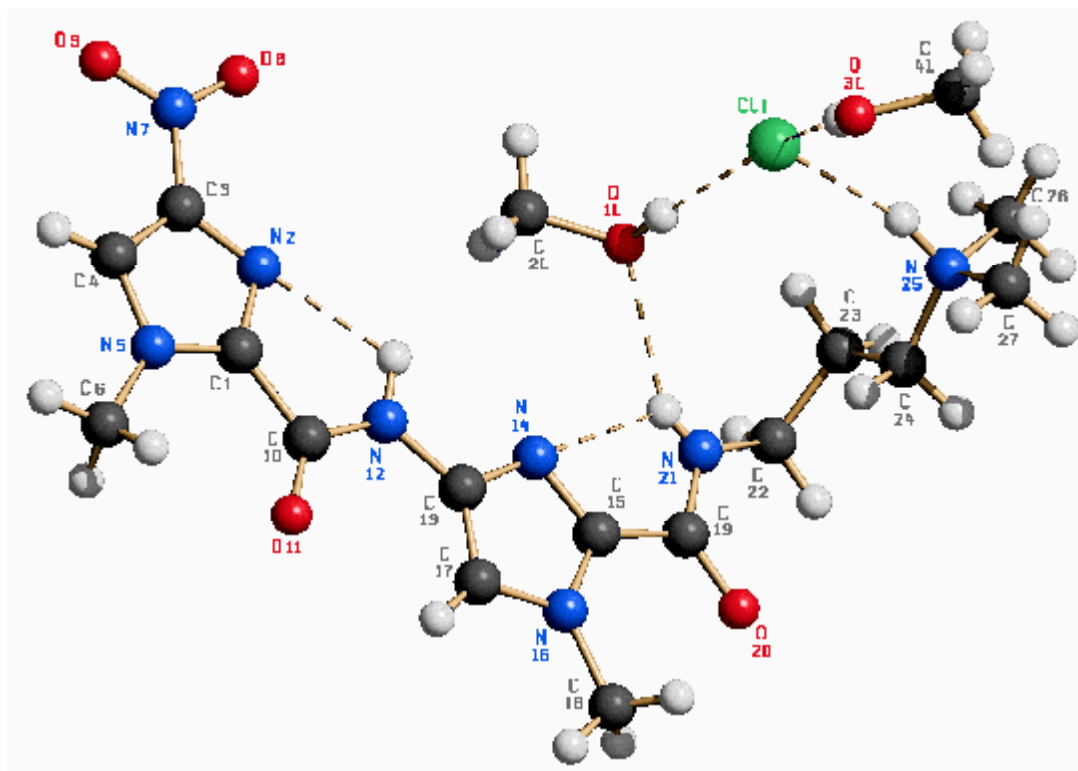
### 5.3.5 Kristallstruktur des Bisimidazolcarboxamids (144)



Geeignete Einkristalle der Verbindung **144** wurden durch Verdunstung einer methanolischen Lösung des Hydrochlorids nach der in Kapitel 5.2.1, S. 176 beschriebenen Methode erhalten. Die farblosen Kristalle lieferten scharf begrenzte Reflexe. Weissenbergaufnahmen zeigten ein monoklines Kristallsystem, welches die typischen Auslöschungen einer C-Zentrierung zeigte. Nach Strukturlösung wurde auf die Raumgruppe C c geschlossen.

Die Lokalisierung der Nichtwasserstoffatome erfolgte durch direkte Methoden bei der Strukturlösung. Differenz-Fourieranalysen lieferten alle NH's und OH's, alle weiteren Wasserstoffatome wurden geometrisch eingefügt und reitend isotrop verfeinert. Die Nichtwasserstoffatome wurden mit anisotropen Auslenkungsparametern verfeinert.

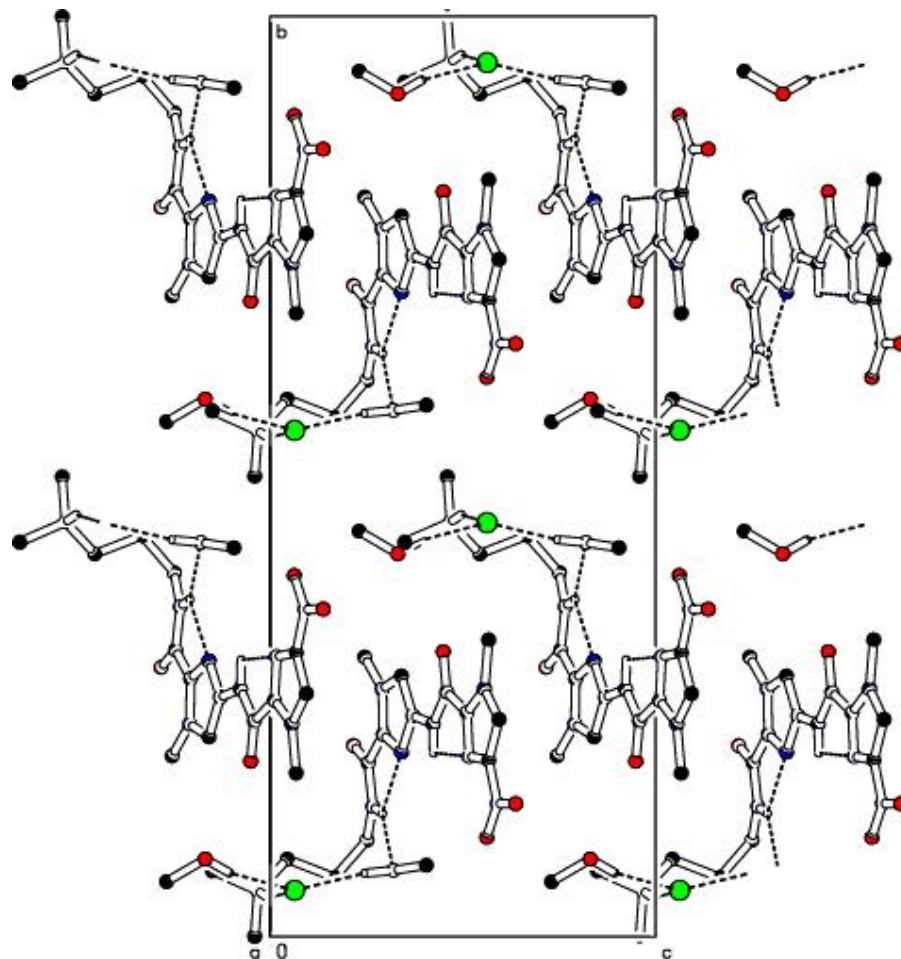
Das Verhältnis Parameterzahl zu beobachteten Reflexen beträgt 308:3174. Zusammen mit einem R-Wert von 4.2 % kann die Kristallstruktur als sehr gut bewertet werden.



**Abb. 5.12:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **144**; Nummerierung nicht gemäß IUPAC; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

In Analogie zu Verbindung **143** (s. Kap. 5.3.4, S. 193) liegt **144** im Kristallgitter ebenfalls in einer isohelicalen Sichelkonformation vor (s. Abb. 5.12), die durch die trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen und die daraus resultierende zweifache intramolekulare Chelatisierung stabilisiert ist. Diese beiden intramolekularen H-Brücken zwischen den Amid-NH-Gruppen und den beiden Stickstoffatomen (N2 und N14) der Imidazolringe, sowie die trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen führen zu einer koplanaren Anordnung der beiden Heteroaromaten ( $\psi_1$ ,  $\psi_2$ ,  $\phi_2$  sowie  $\phi_3 \sim (+)(-)$ 180°, s. Tab. 5.9, S. 200). Abbildung 5.13, S. 199 zeigt deutlich, dass lediglich die aliphatische Seitenkette aus dieser Ebene herausragt ( $\phi_1 = -128.7^\circ$ , Tab. 5.9, S. 200). Darüber hinaus führen von der Seitenkette ausgehende intermolekulare H-Brückenbindungen zu einem Einschluss eines Methanolmoleküls und eines Chlorid-

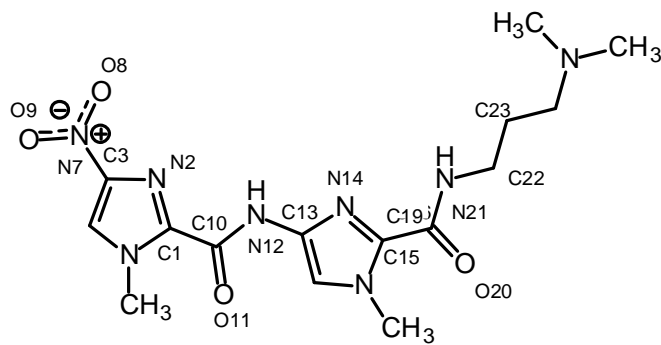
Anions. Das Chlorid-Anion schließt über eine weitere H-Brücke ein zweites Molekül Methanol in die Kristallstruktur ein. Eine Interaktion der Nucleobasen der kleinen Rinne der B-DNA mit den in Abbildung 5.12, S. 198 gezeigten als H-Brückendonatoren/-akzeptoren fungierenden Gruppen auf der konkaven Molekülseite der zugehörigen Combilexine wäre auch hier vorstellbar.



**Abb. 5.13:** PLUTO-Plot der Elementarzelle von **144** mit Blickrichtung entlang der a-Achse; Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien dargestellt

Bei dem hier vorliegenden Bravais-Gitter C (s. Abb. 5.13) handelt es sich um ein einseitig flächenzentriertes Gitter, in dem ein zusätzlicher Translationspunkt auf der ab-Ebene sitzt, wodurch das Volumen der Elementarzelle verdoppelt wird. Dies erlaubt die Beschreibung in einem Kristallsystem höchstmöglicher Symmetrie <sup>[202]</sup>.

Die Raumgruppe  $Cc$  besitzt als Symmetrieelement  $c$ -Gleitspiegelebenen, die senkrecht zur  $b$ -Achse (Gleitrichtung  $c$ ) verlaufen. Hieraus ergibt sich die in Abbildung 5.13, S. 199 dargestellte Kristallpackung mit 4 Molekülen pro Elementarzelle.



Winkel Nr.	Den Winkel umschließende Atome				Torsionswinkel [°]
$\psi_1$	N14	C15	C19	O20	-175.7
$\psi_2$	N2	C1	C10	O11	177.7
$\phi_1$	C19	N21	C22	C23	-128.7
$\phi_2$	C10	N12	C13	N14	179.8
$\phi_3$	O9	N7	C3	N2	180.0
$\omega_1$	C15	C19	N21	C22	-170.4
$\omega_2$	C1	C10	N12	C13	179.8

**Tabelle 5.9:** Einige ausgewählte Torsionswinkel von Verbindung **144**

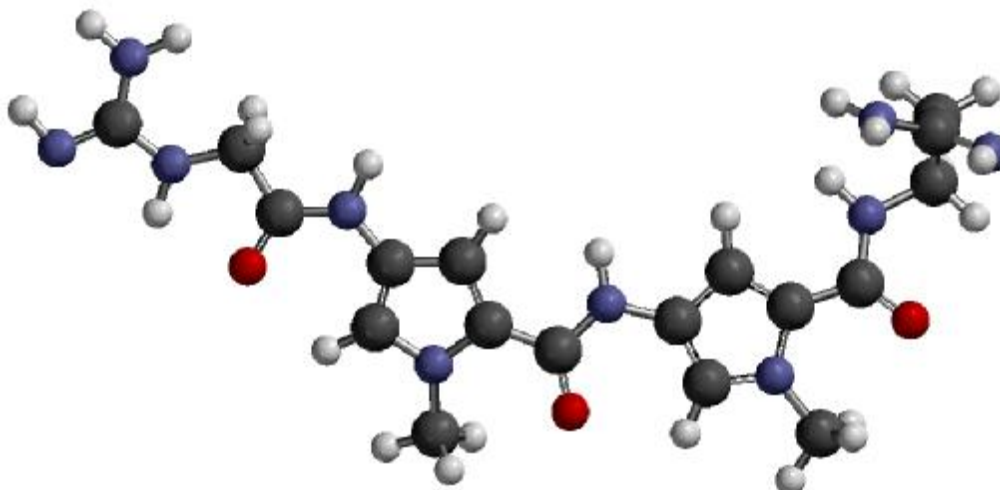
Den Winkel umschließende Atome			Bindungswinkel [°]
O20	C19	N21	124.7
O20	C19	C15	121.2
C19	N21	C22	123.3
O11	C10	N12	125.0
O11	C10	C1	123.5
C10	N12	C13	125.5

**Tabelle 5.10:** Ausgewählte Bindungswinkel von Verbindung **144** im Bereich der Amidbindungen; Atombezeichnung siehe Tabelle 5.9, S. 200

Die beiden Amidbindungen weisen wie bei den zuvor beschriebenen Kristallstrukturen die typischen strukturellen Merkmale und somit den partiellen Doppelbindungscharakter einer Peptidbindung auf. Sämtliche Bindungswinkel im Bereich der Amidbindungen betragen ca. 120° (s. Tab. 5.10) und die C-N-Amidbindungs-längen liegen mit 132 pm (C19-N21) und 135 pm (C10-N12) zwischen der einer C-N-Einfach- (148.7 pm) und der einer C=N-Doppelbindung (127 pm). Die beiden Torsionswinkel  $\omega_1$  und  $\omega_2$  (s. Tab. 5.9, S. 200) spiegeln die Planarität der beiden Amidbindungen wider.

## 5.4 Bilanz

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, die Struktur fünf rinnenbindender Grundbausteine potentieller DNA-Liganden röntgenkristallographisch aufzuklären. Die mittels Röntgenstrukturanalyse ermittelten Konformationen der Grundgerüste besitzen eine Geometrie die der des Netropsins im Kristall<sup>[132]</sup> sehr ähnlich ist (s. Abb. 5.14, S. 202). Darüber hinaus liefern sie interessante Hinweise auf mögliche Struktur-Wirkungsbeziehungen mit der DNA.



**Abb. 5.14:** Kristallstruktur von Netropsin <sup>[132]</sup>, die Struktur wurde zur Visualisierung aus der PDB-Datenbank <sup>[206]</sup> in das Programm SPARTAN <sup>[171]</sup> importiert

Mit Ausnahme von **117** (s. Kap. 5.3.3, S. 188) liegen die Moleküle in einer „Sichelform“ vor, weshalb eine gute Anpassung des rinnenbindenden Molekülteils der Combilexine an die Curvature der Minor-Groove zu erwarten war. Begünstigt wird diese Konformation durch die *trans*-(*Z*)-Amidkonfiguration, die für sämtliche Amidbindungen in den Kristallstrukturen nachgewiesen werden konnte. Somit wurden die Ergebnisse der zur Strukturaufklärung der Amidbindungen durchgeführten <sup>1</sup>H-NOE-Differenzanalysen (s. Kap. 3.1.2, S. 60 und Kap. 3.3.4, S. 81) bestätigt. Zusätzlich konnte anhand der Kristallstruktur von Verbindung **117** zum ersten Mal auch die Struktur der *N*-terminalen Amidbindung aufgeklärt werden, die ebenfalls *trans*-(*Z*)-Konfiguration besitzt. Die Angabe der Bindungs- und Torsionswinkel im Bereich der Amidbindungen sowie der C-N-Amidbindungslängen bei den einzelnen Kristallstrukturen verdeutlichte den für Peptide typischen partiellen Doppelbindungscharakter und die damit verbundene Rotationsbarriere innerhalb der Amidbindungen.

Die Lösungsmiteileinschlüsse in den Kristallstrukturen, die vor allem bei den hygroskopischen Hydrochloriden auftraten, tragen über die Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen zur Stabilisierung der Kristallpackung bei. In Analogie zur Kristallstruktur des Netropsins <sup>[132]</sup> fungieren die zur konkaven Molekülseite orientierten, amidischen NH-Gruppen in den Kristallstrukturen der Grundgerüste als H-Brückendonatoren. Desweiteren sind auch der tertiäre

Aminstickstoff der Seitenkette sowie bei den Imidazolderivaten **143** (s. Abb. 5.10, S. 194) und **144** (s. Abb. 5.12, S. 198) die zur konkaven Molekülseite orientierten Imidazol-Stickstoffatome an der Ausbildung von H-Brücken beteiligt. Durch die Kristallstruktur des Netropsin-DNA-Komplexes <sup>[64]</sup> konnte gezeigt werden, dass sich zwischen Netropsin und den Nucleobasen in der kleinen Rinne der B-DNA Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden, bei denen ebenfalls die Amid-NH-Gruppen des Netropsins als H-Brückendonatoren fungieren (s. Kap. 1.4, S. 24). Eine ähnliche Interaktion mit der DNA wäre deshalb auch *in vivo* mit den rinnenbindenden Strukturelementen der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexine zu erwarten. Darüber hinaus könnte ebenfalls die bei physiologischem pH-Wert protonierte Aminfunktion in der Seitenkette eine Funktion als H-Brückendonator übernehmen, während der Imidazolstickstoff bei Verbindung **143** und **144** durch Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zu Guanin-NH<sub>2</sub> für die Verschiebung der Sequenzselektivität zu GC-reicher DNA verantwortlich sein könnte (s. Kap. 1.4.1, S. 26).

Es sei an dieser Stelle jedoch darauf hingewiesen, dass es sich bei der Röntgenkristallstruktur eines Moleküls um eine (zunächst nur) im Kristall energetisch günstige Konformation handelt, die durch Kristallpackungskräfte sowie eingeschlossene Lösungsmittelmoleküle von einer Lösungs- oder „Gasphasen“-Minimumskonformation abweichen kann (s. Kap. 5.3.3, S. 188). Es kann dennoch davon ausgegangen werden, dass die in dieser Arbeit röntgenkristallographisch ermittelten Molekülgeometrien der rinnenbindenden Grundgerüste - falls sie nicht dem energetisch globalen Minimum entsprechen - doch zumindest ein energetisch günstiges lokales Minimum auf der Energiehyperfläche der zahlreich möglichen Konformationen darstellen <sup>[133]</sup>. Zur Ermittlung weiterer Konformationen, die eventuell von biologischer Relevanz sein könnten ist es daher sinnvoll, zusätzlich *in silico*-Methoden wie Molecular Modelling-Studien durchzuführen (s. Kap. 6, S. 204).



## 6. Molecular Modelling-Studien auf der Basis semiempirischer Berechnungen; Vergleich der Datensätze ausgewählter Verbindungen mit den experimentellen Ergebnissen

### 6.1 Zielsetzung

Da es bislang nicht gelungen ist, die Molekülstruktur der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexine röntgenkristallographisch aufzuklären (s. Kap. 5, S. 174), sollten die theoretisch energieärmsten Konformationen (lokale Minima) ausgewählter Testverbindungen *in silico* simuliert sowie deren - für eine DNA-Bindung möglicherweise relevanten - elektronischen Moleküleigenschaften, wie molekulares elektrostatisches Potential (MEP) und Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO = energetisch niedrigstes, unbesetztes Molekülorbital), berechnet werden. Darüber hinaus sollten ebenfalls die lokalen Minimumskonformationen und MEPs der zum Aufbau der Hybridmoleküle verwendeten rinnenbindenden Grundstrukturen sowie die elektronischen Eigenschaften (LUMOs und MEPs) einiger - als Bausteine zur Synthese der Combilexine eingesetzter - Interkalatorcarbonsäuren ermittelt werden. Hierzu wurde das im Programmpaket SPARTAN<sup>[171]</sup> implementierte Rechen-Modul *Equilibrium Conformer* (Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup>) in Kombination mit einer semiempirisch-quantenmechanischen AM1-Rechnung (nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>) verwendet.

Die Berechnung der LUMOs sollte Aufschluss darüber liefern, inwiefern die Combilexine bzw. Interkalatorcarbonsäuren die Voraussetzungen für die Ausbildung von Charge-Transfer(CT)-Komplexen mit den bei einer Interkalation als  $\pi$ -Elektronendonatoren fungierenden Nucleobasen erfüllen. So sollte das LUMO bei den berechneten Molekülen als Elektronenakzeptororbital über dem  $\pi$ -elektronenarmen, interkalierenden Chromophor lokalisiert sein und zudem auf einem möglichst niedrigen Energieniveau liegen, um eine starke CT-Wechselwirkung mit den HOMOs (Highest Occupied Molecular Orbital = energetisch höchstes, besetztes Molekülorbi-

tal) der Elektronendonatoren (Nucleobasen) eingehen zu können <sup>[211]</sup> (s. Kap. 6.4, S. 218).

Ein weiterer Schwerpunkt bestand darin zu überprüfen, ob die in Anlehnung an die Leitsubstanz Netropsin synthetisierten, bioisosteren Combilexine auch die für eine Bindung in der kleinen Rinne relevanten, strukturellen Eigenschaften aufweisen („Curvature“ des rinnenbindenden Strukturelements, trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen, Orientierung der Alkylgruppen zur konvexen und der amidischen NH-Gruppen zur konkaven Molekülseite, Ladungsverteilung auf der konkaven Molekülseite) bzw. welchen Einfluss die Substitution eines Pyrrolrings durch einen bioisosteren Fünfringheterocyclus auf die Molekülgeometrie nimmt.

Die auf diese Weise ermittelten Datensätze (Konformation, MEP, LUMO) sollten zur Rationalisierung der in den Kapiteln 4.3 - 4.6, S. 143 ff. aufgeführten Ergebnisse der DNA-Bindestudien und wenn möglich der zellbiologischen Testungen herangezogen werden.

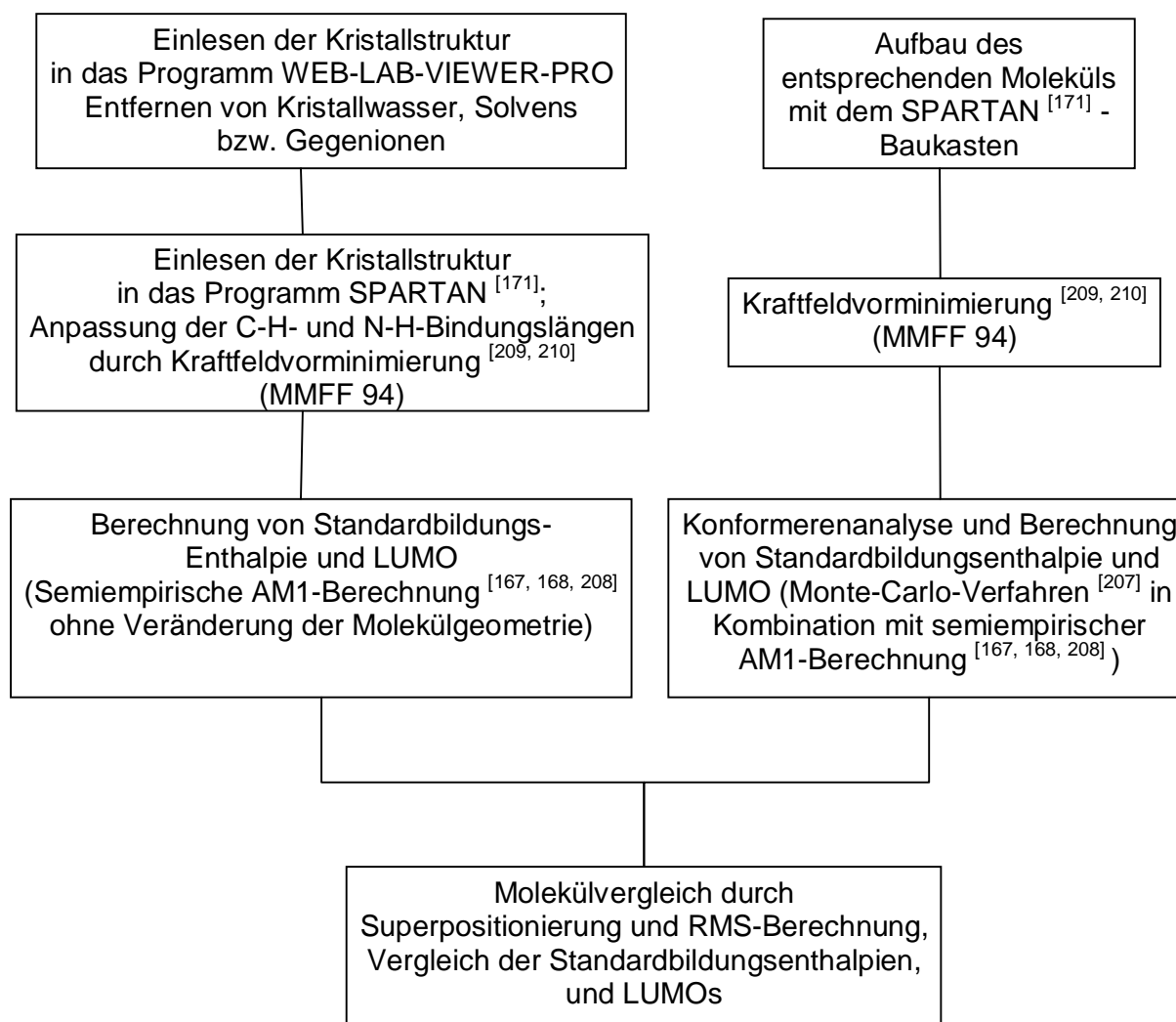
Sollte eine Korrelation zwischen den *in vitro*- und *in silico*-Daten bestehen, könnten die eingesetzten Rechenverfahren zur Strukturoptimierung und Vorhersage vororientierender Struktur-Wirkungsbeziehungen für weiterführende Arbeiten genutzt werden.

Die Verfahrensweise und Ergebnisse werden wie folgt diskutiert:

- 1) Validierung des Berechnungsverfahrens
- 2) Vergleich der berechneten lokalen Minimumskonformationen und MEPs der rinnenbindenden Grundgerüste mit den Ergebnissen der DNA-Bindestudien ( $\Delta T_m$ -Werte)
- 3) Vergleich der berechneten elektronischen Moleküleigenschaften (MEPs und LUMO-Energien) der Interkalatorcarbonsäuren mit den Ergebnissen der DNA-Bindestudien ( $\Delta T_m$ -Werte)
- 4) Vergleich der berechneten lokalen Minimumskonformationen und elektronischen Moleküleigenschaften (MEPs und LUMO-Energien) ausgewählter Combilexine mit den Ergebnissen der DNA-Binde- und Zytotoxizitäts-Studien
- 5) Bilanz der SPARTAN-Berechnungen

## 6.2 Validierung des Berechnungsverfahrens

Da die Berechnungen möglichst realitätsnahe Ergebnisse liefern sollten, war es erforderlich, das mit dem Programm SPARTAN<sup>[171]</sup> geplante Berechnungsverfahren zunächst hinsichtlich seiner Aussagekraft und Leistungsfähigkeit zu validieren. Hierzu sollten die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Röntgenkristallstrukturen **60**, **69**, **117**, **143**, **144** (s. Kap. 5.3, S. 179 ff.) sowie die des singulären Netropsins (im DNA-ungebundenen Zustand)<sup>[132]</sup> herangezogen werden.



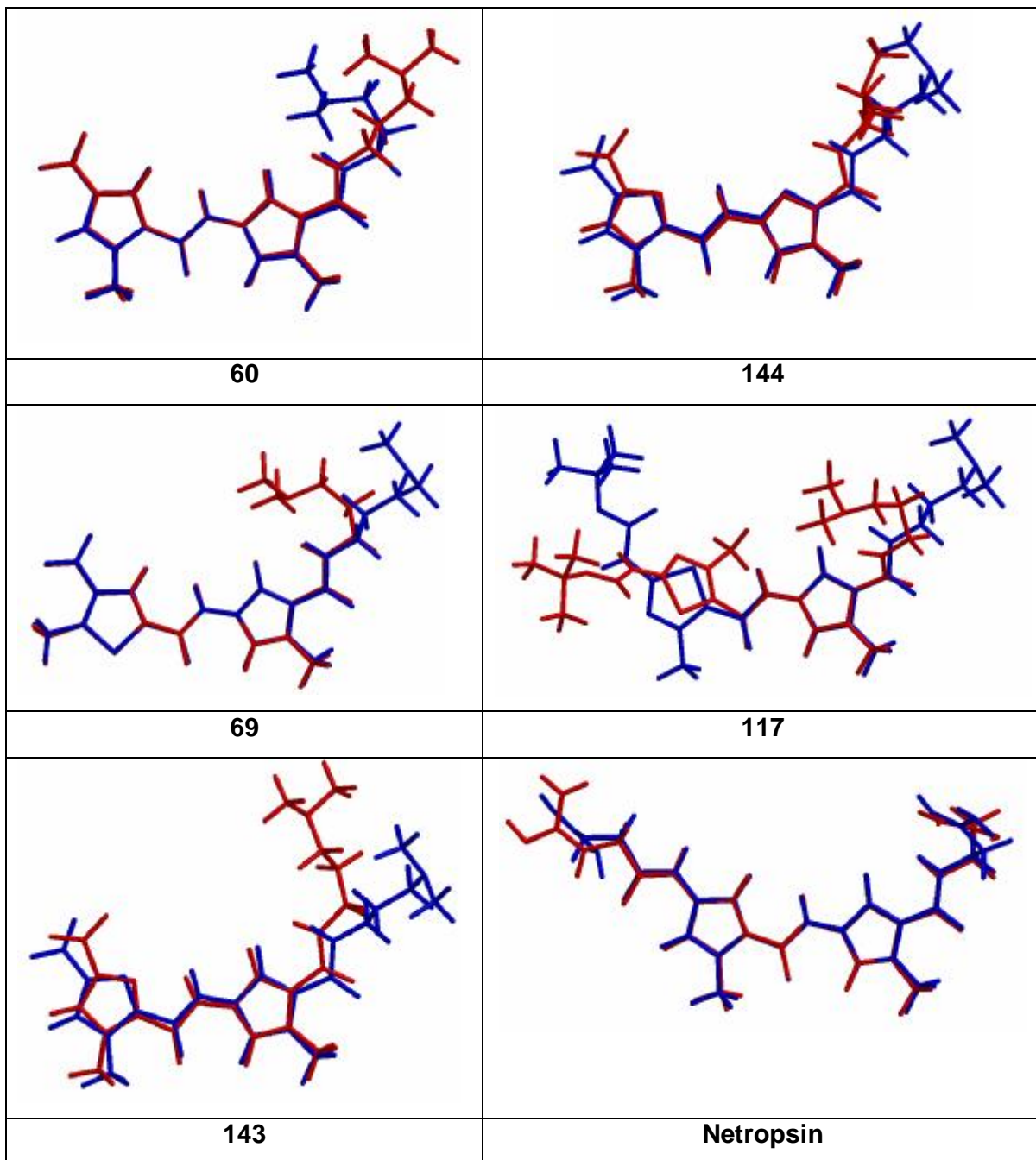
**Abb. 6.1:** Schematische Darstellung zur Vorgehensweise der Validierung

Wie aus Abbildung 6.1, S. 206 hervorgeht, wurden die entsprechenden Kristallstrukturen zunächst in das Programm WEB-LAB-VIEWER-PRO importiert um Kristallwasser, eingeschlossene Lösungsmittelmoleküle sowie z. T. vorhandene Gegenionen zu entfernen. Anschließend wurden die Moleküle als PDB-file in das Programm SPARTAN<sup>[171]</sup> transferiert.

Da durch die Röntgenbeugung das Elektronendichtemaximum bestimmt wird, das bei dem einzigen Elektron eines H-Atoms in Richtung der Bindung verschoben ist, sind die röntgenographisch bestimmten Bindungslängen zu H-Atomen stets deutlich kürzer als die mit anderen Methoden gemessenen Kern-Kern-Abstände<sup>[202]</sup>. Folglich weichen die X-H-Bindungslängen (X = Schweratom) der Moleküle im Kristall von den theoretischen Standardwerten ab. Deshalb mussten die C-H- und N-H-Bindungslängen der zur Validierung eingesetzten Kristallstrukturen angepasst werden. Die Molekülgeometrie sollte hierbei jedoch unbeeinflusst bleiben, weshalb zunächst alle Schweratome fixiert wurden (sog. *freeze*, engl. = einfrieren), bevor die Moleküle zur Anpassung der entsprechenden X-H-Bindungslängen Kraftfeldvorminimiert (MMFF 94<sup>[209, 210]</sup>) wurden. Anschließend wurden mit der semiempirisch-quantenmechanischen AM1-Methode (nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>, s. Kap. 3.9.4, S. 112) im Programmpaket SPARTAN<sup>[171]</sup> die Standardbildungsenthalpien und LUMO-Energien der Kristallstrukturen berechnet. Um auch hierbei zu gewährleisten, dass die Molekülgeometrie der Kristallstrukturen erhalten bleibt, wurde die AM1-Rechnung mit dem in SPARTAN<sup>[171]</sup> implementierten Rechen-Modul *Single Point Energy* kombiniert.

Parallel dazu wurden die Strukturen der gleichen Moleküle (**60**, **69**, **117**, **143**, **144** und Netropsin) nach dem Baukasten-Prinzip in SPARTAN<sup>[171]</sup> aufgebaut und einer Kraftfeldvorminimierung (MMFF 94<sup>[209, 210]</sup>) unterzogen. Die Suche nach lokalen Energieminima sowie die Berechnung der Standardbildungsenthalpien und Grenzorbital-Energien (LUMO) erfolgte - ebenfalls im SPARTAN-Programmpaket<sup>[171]</sup> - unter Anwendung einer Konformationsanalyse nach dem Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup> (hierzu verwendetes Rechen-Modul: *Equilibrium Conformer*) in Kombination mit einer semiempirisch-quantenmechanischen AM1-Rechnung (nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>, s. Kap. 3.9.4, S. 112). Bei einer Konformeranalyse nach dem Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup> werden die Startwinkel für die Konformationssuche rein zufällig gewählt<sup>[133]</sup>.

Abbildung 6.2, S. 209 zeigt, dass die Kristallstrukturen der Verbindungen **60**, **69**, **143**, **144** und des Netropsins (rot dargestellt) relativ gut mit den im Programmpaket SPARTAN<sup>[171]</sup> ermittelten Minimumskonformeren (blau dargestellt) übereinstimmen. Größere Divergenzen ergeben sich hauptsächlich innerhalb der C-terminalen Propylendiamin-Funktion, was vor allem auf die konformative Flexibilität und die daraus resultierende hohe Anzahl an Freiheitsgraden der aliphatischen Seitenkette zurückzuführen sein dürfte. Zudem beziehen sich die mithilfe von SPARTAN<sup>[171]</sup> durchgeführten Berechnungen auf Systeme bei 0 K (-273.15 °C) im Vakuum, so dass Solvenseinflüsse, Kristallpackungskräfte sowie die Möglichkeit zur Ausbildung von H-Brückenbindungen vollkommen unberücksichtigt bleiben. Dies dürfte auch der Grund dafür sein, dass sich die Molekülgeometrie der Kristallstruktur des Boc-geschützten Thiazolpyrrolcarboxamids **117** so stark von der des berechneten Moleküls unterscheidet (s. Kap. 5.3.3, S. 188).



**Abb. 6.2:** Superpositionierung der Kristallstrukturen (rot) und der entsprechenden in SPARTAN<sup>[171]</sup> aufgebauten und simulierten, lokalen Minimumkonformationen ((blau); Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup> in Kombination mit einer semiempirischen AM1-Berechnung<sup>[167, 168, 208]</sup>)

	$\Delta H_{f0}$ [kcal/mol]	LUMO [eV]	RMS-Abweichung [Å]
<b>60</b> (Kristall)	48.26	-0.46	0.0947
<b>60</b> (SPARTAN)	19.78	-0.59	
<b>69</b> (Kristall)	27.57	-1.34	0.0805
<b>69</b> (SPARTAN)	-0.30	-1.43	
<b>117</b> (Kristall)	72.21	-0.51	0.5717
<b>117</b> (SPARTAN)	-75.76	-0.86	
<b>143</b> (Kristall)	87.09	-0.97	0.2817
<b>143</b> (SPARTAN)	36.37	-0.81	
<b>144</b> (Kristall)	92.56	-0.72	0.2307
<b>144</b> (SPARTAN)	50.78	-0.83	
<b>Netropsin</b> (Kristall)	89.95	0.14	0.0687
<b>Netropsin</b> (SPARTAN)	25.71	0.09	

**Tab. 6.1:** Mittels semiempirischer AM1-Rechnung (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) ermittelte Standardbildungsenthalpien, LUMO-Energien und RMS-Abweichungen der Kristallstrukturen und der in SPARTAN <sup>[171]</sup> aufgebauten Moleküle im Vergleich.

Aus Tabelle 6.1 geht hervor, dass die berechneten Standardbildungsenthalpien (AM1) der Kristallstrukturen erheblich höher sind als die der in SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelten Minimumskonformationen (Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup>/AM1). Dies ist - wie zuvor schon erwähnt (s. Kap. 5.4, S. 201) - vor allem darauf zurückzuführen, dass die Moleküle im festen Zustand eine (zunächst nur) im Kristall energetisch günstige Konformation annehmen, bei der es sich um eines von mehreren möglichen lokalen Minima auf der Energiehyperfläche handelt <sup>[133]</sup>. Demgegenüber repräsentieren die durch Konformationsanalyse nach dem Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup> simulierten Molekülgeometrien die jeweils energetisch am tiefsten liegenden lokalen Minima, die - da Lösungsmiteleinflüsse und Kristallpackungskräfte der Kristallstrukturen bei der Berechnung im Vakuum unberücksichtigt bleiben - folglich in SPARTAN <sup>[171]</sup> als energetisch günstiger eingestuft werden.

Die berechneten LUMO-Energien (AM1) hingegen unterscheiden sich nur geringfügig und liegen für die Kristallstrukturen und die mit SPARTAN<sup>[171]</sup> simulierten Molekülgeometrien in etwa im gleichen Größenordnungsbereich.

Zum Vergleich der Molekülgeometrien wurde darüber hinaus die sogenannte Root-Mean-Square(RMS)-Methode angewendet. Hierbei werden durch Superpositionierung der entsprechenden Molekülgeometrien (Kristallstruktur und in SPARTAN<sup>[171]</sup> simuliertes lokales Energieminimum) die Raumkoordinaten aller das jeweilige Molekül aufbauenden Atome verglichen und die Abweichungen nach folgender Formel in Å berechnet<sup>[211]</sup>:

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum_{i=1} d^2}{n}}$$

RMS = Root Mean Square  
d = Abstand der Atome eines Paares  
n = Zahl der betrachteten Atompaare

Die in Tabelle 6.1, S. 210 angegebenen RMS-Abweichungen wurden mithilfe des Programms HYPERCHEM RELEASE<sup>[212]</sup> ermittelt. Die Konformationen der in SPARTAN<sup>[171]</sup> aufgebauten Moleküle zeigten mit Ausnahme des Boc-geschützten Thiazol-Derivates **117** gegenüber den Röntgenkristallstrukturgeometrien insgesamt sehr geringe RMS-Abweichungen (0.0687-0.2817 Å).

Da die in SPARTAN<sup>[171]</sup> simulierte Konformation von Verbindung **117** im Vergleich zur Kristallstruktur in einer - zur Gewährleistung einer guten Rinnenbindung essentiellen - wesentlich energieärmeren „Sichelform“ vorliegt und darüber hinaus für einige Testsubstanzen der Thiazolcarboxamid-Reihe eine gute bzw. sehr gute DNA-Affinität gezeigt wurde (s. Kap. 4.5.1, S. 160 ff.), ist anzunehmen, dass die Thiazol-Derivate in Lösung oder in dem an DNA gebundenen Komplex eine äquivalente, zur Curvature der Minor Groove komplementäre, sichelförmige Konformation annehmen (s. a. Kap. 5.3.3, S. 192).

Zusammenfassend kann man sagen, dass die mithilfe von SPARTAN<sup>[171]</sup> durchgeführten Berechnungen relativ realitätsnahe Ergebnisse liefern und das Berechnungsverfahren somit als validiert betrachtet werden kann. Es darf jedoch bei den folgenden Betrachtungen und Auswertungen der Datensätze nicht außer Acht gelassen werden, dass es sich bei den Berechnungen nur um theoretische Modelle



handelt, die nicht zwangsläufig die Moleküleigenschaften im physiologischen Milieu widerspiegeln.

### **6.3 Vergleich der berechneten lokalen Minimumskonformationen und molekularen elektrostatischen Potentiale (MEPs) der rinnenbindenden Grundgerüste mit den Ergebnissen der DNA-Bindestudien (DT<sub>m</sub>-Werte)**

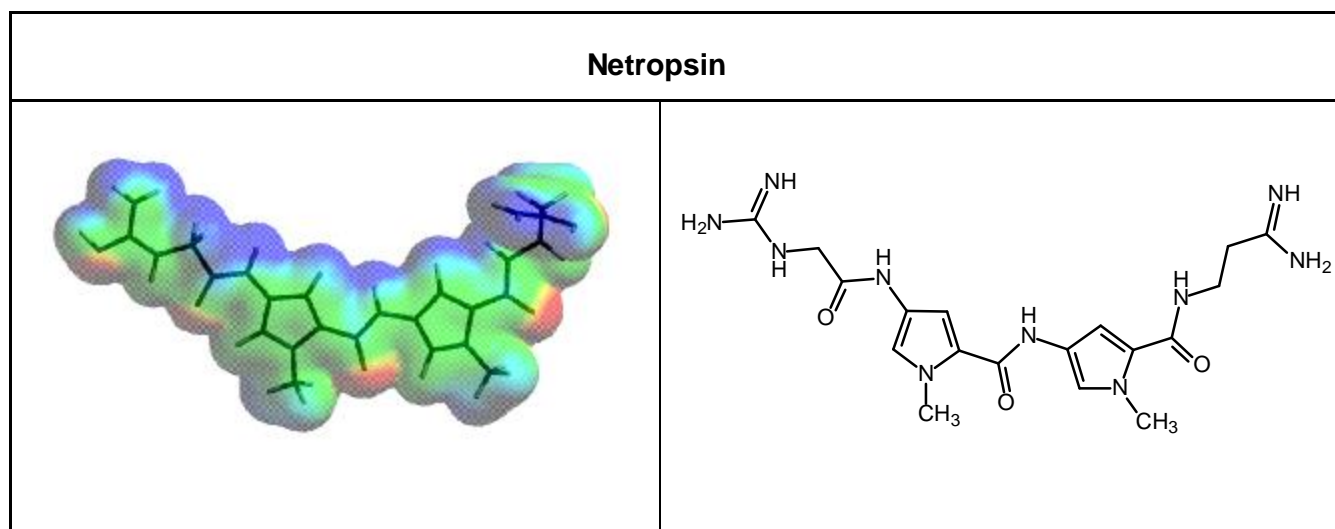
Da die Minor Groove in AT-reichen Abschnitten der DNA eine kleinere räumliche Ausdehnung aufweist als in GC-reichen Regionen und sich letztere durch eine sehr geringe konformative Flexibilität auszeichnet <sup>[213]</sup>, sollte die Molekülgeometrie von Minor Groove Bindern eine möglichst optimale Anpassung an die Curvature der kleinen Furche erlauben. Die sichelförmige Konformation stellt daher eine wichtige strukturelle Voraussetzung für eine gute Rinnenbindung dar.

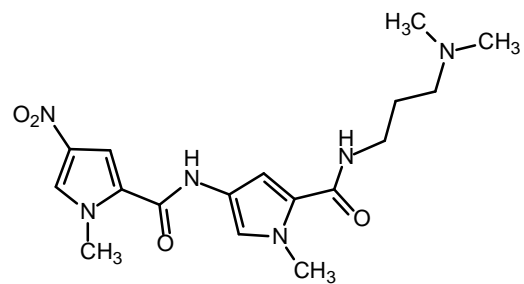
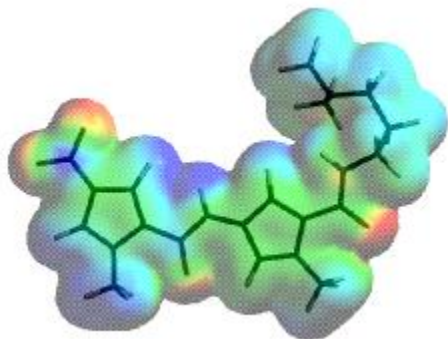
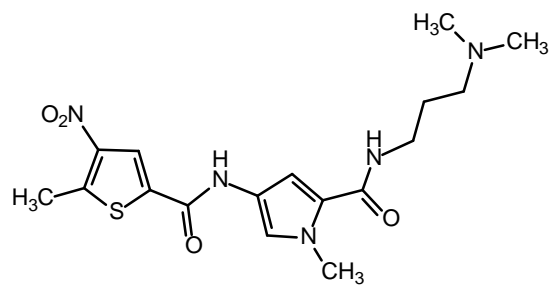
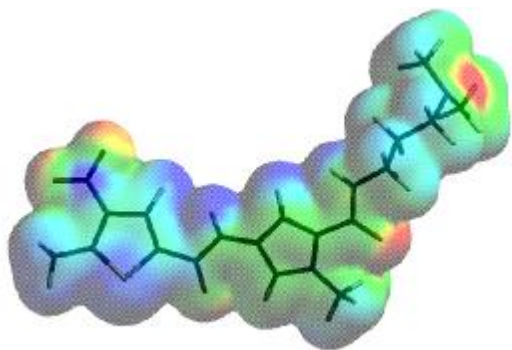
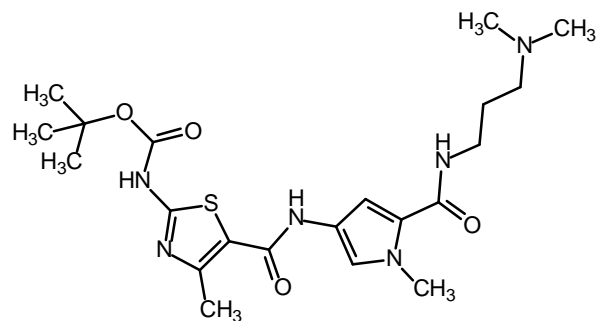
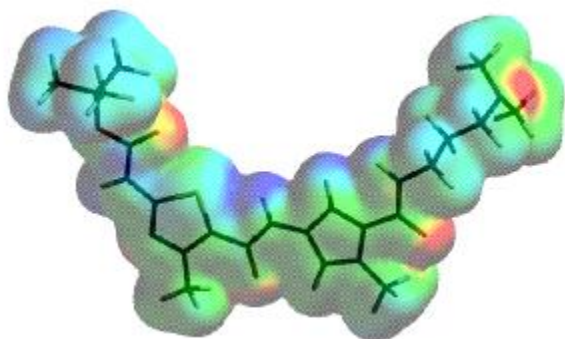
Darüber hinaus spielen - wie zuvor erwähnt (s. Kap. 1.4, S. 23) - die sequenzabhängigen Eigenschaften der kleinen Rinne der B-DNA hinsichtlich der DNA-Affinität und Sequenzselektivität von Minor Groove Bindern eine sehr entscheidende Rolle <sup>[8, 12]</sup>. Zum einen unterscheidet sich die kleine Furche in AT-reichen Abschnitten der DNA von einer hauptsächlich aus GC-Basenpaaren aufgebauten Minor Groove in dem zur Ausbildung von H-Brücken zur Verfügung stehenden Muster an H-Brückendonatoren und -akzeptoren <sup>[95, 96]</sup> (bei AT-Basenpaaren fungieren Adenin-N3 und Thymin-O2 als H-Brückenakzeptoren, bei GC-Basenpaaren Guanin-NH<sub>2</sub> als H-Brückendonator sowie Guanin-N3 und Cytosin-O2 als H-Brückenakzeptoren, s. Abb. 1.18, S. 23). Zum anderen sind die elektrostatischen Unterschiede AT- und GC-reicher Regionen von großer Bedeutung <sup>[8, 11, 12, 66, 69]</sup>. Wie man inzwischen weiß, wirkt sich eine elektronenarme konkave Molekülseite der Rinnenbinder besonders günstig auf eine DNA-Bindung in AT-reichen Abschnitten der kleinen Furche aus (s. Kap. 1.4, S. 23). Demzufolge beeinflusst auch die Ladungsverteilung eines Minor Groove Binders die DNA-Affinität und Sequenzselektivität des Liganden.

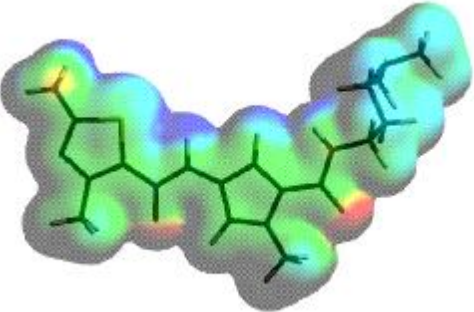
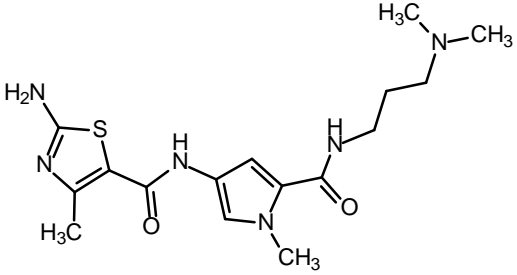
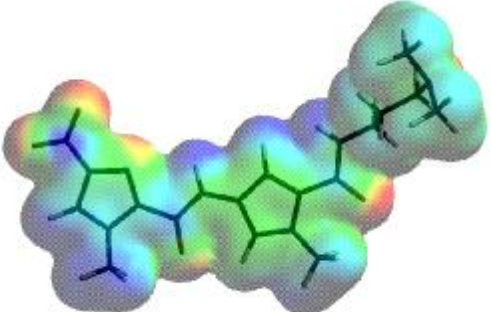
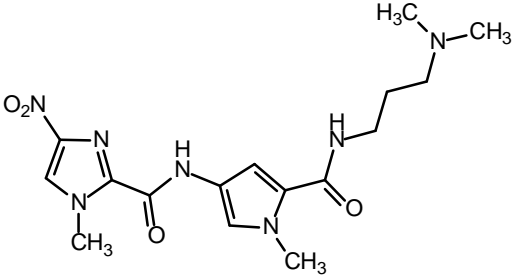
Infolgedessen wurde sowohl eine energetisch günstige Minimumskonformation als auch das molekulare elektrostatische Potential (Ladungsverteilungsmuster auf der van der Waals-Oberfläche) der Hetarenpyrrolcarboxamide **60**, **69**, **117**, **118**, **143** sowie des Netropsins im Programmpaket SPARTAN<sup>[171]</sup> berechnet (Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup> in Kombination mit einer semiempirisch-quantenmechanischen AM1-Rechnung nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>, s. Kap. 6.2, S. 206).

Das molekulare elektrostatische Potential (MEP) gibt - unter Berücksichtigung von Kernladung und Elektronendichteverteilung - die Ladungsverteilung in einem Molekül an<sup>[169, 214]</sup>. Im für die Berechnung eingesetzten Programm SPARTAN<sup>[171]</sup> ist das MEP zur Visualisierung farbcodiert: rote Felder charakterisieren Regionen negativer elektrostatischer Potentiale (hohe Elektronendichte), blaue Bereiche spiegeln ein positiv elektrostatisches Potential wider (geringe Elektronendichte) und Mischfarben (grün und gelb) repräsentieren Bereiche mittlerer Elektronendichte<sup>[214]</sup>.

Die in SPARTAN<sup>[171]</sup> simulierten Molekülgeometrien und MEPs der Verbindungen **60**, **69**, **117**, **118** und **143** sollten durch Vergleich mit der Leitstruktur Netropsin zur Erklärung der für die entsprechenden Substanzen ermittelten  $\Delta T_m$ -Werte herangezogen werden (s. Tab. 6.3, S. 216). Bei der Betrachtung der MEPs sollte insbesondere der Ladungsverteilung auf der konkaven Molekülseite Beachtung geschenkt werden.



**Verbindung 60****Verbindung 69****Verbindung 117**

<b>Verbindung 118</b>	
	
<b>Verbindung 143</b>	
	

**Tab. 6.2:** Molekulares elektrostatisches Potential der in SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelten Minimumskonformationen der Hetarenpyrrolcarboxamide **60**, **69**, **117**, **118**, **143** und des Netropsins (Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup> in Kombination mit einer semiempirischen AM1-Berechnung <sup>[167, 168, 208]</sup>, das MEP reicht von -70 bis +40 kcal/mol und ist farbcodiert: rote Bereiche: negatives elektrostatisches Potential, blaue Bereiche: positives elektrostatisches Potential, gelbe Bereiche: schwach negatives bis neutrales elektrostatisches Potential, grüne Bereiche: neutral bis schwach positives elektrostatisches Potential; Projektion des MEP auf die Elektronenwolke der Moleküle, deren äußere Grenze jeweils einer Elektronendichte von 0.004 e/au<sup>3</sup> entspricht <sup>[214]</sup>)

Tabelle 6.2, S. 213-215 zeigt die in SPARTAN<sup>[171]</sup> berechneten lokalen Minimumskonformationen und MEPs der Hetarenpyrrolcarboxamide **60**, **69**, **117**, **118** und **143** im Vergleich zu Netropsin. Alle Verbindungen liegen in Übereinstimmung zur Leitstruktur Netropsin in der zur Gewährleistung einer Bindung in der kleinen Rinne erforderlichen sichelförmigen Konformation vor, die vor allem durch die trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen und die Bindungswinkel im Bereich der Carboxamidgruppen um 120° begünstigt wird. Auch die Methylgruppen der Fünfringhetarene sind zur konvexen Molekülseite orientiert, während die amidischen NH-Gruppen der konkaven Seite der Curvature zugewandt sind. Eine Ausnahme bildet die N-terminale Amidgruppe des Boc-geschützten Thiazol-Derivates **117**: hier hat die Abstoßung zwischen den freien Elektronenpaaren des N-terminalen Carbonyl-Sauerstoffs und des Thiazol-N3 zur Folge, dass die amidische NH-Gruppe der konvexen, der Carbonyl-Sauerstoff hingegen der konkaven Molekülseite zugewandt ist<sup>[92]</sup>.

Betrachtet man demgegenüber die ermittelten  $\Delta T_m$ -Werte der entsprechenden Verbindungen (s. Tab. 6.3), so ist jedoch festzustellen, dass mit Ausnahme des Aminothiazol-Derivates **118** keines der Hetarenpyrrolcarboxamide eine ausreichende Affinität an der DNA zeigte.

Verbindung	Netropsin	60	69	117	118	143
$\Delta T_m$ (poly(dAdT)) [°C]; r = 1	40.4 ± 1.1	1.9 ± 0.1	3.2 ± 0.8	2.1 ± 0.6	13.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2
$\Delta T_m$ (CT-DNA) [°C]; r = 1	16.6 ± 0.5	1.2 ± 0.2	0.7 ± 1.1	n.a.	2.8 ± 0.1	n.a.

**Tab. 6.3:** Ergebnisse der  $T_m$ -Wert-Messungen (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen ± Standardabweichung); r = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; n. a. = keine messbare DNA-Bindung,  $\Delta T_m \leq 1^\circ\text{C}$

Eine mögliche Erklärung hierfür liefert das berechnete MEP der Moleküle. Verbindung **118** besitzt in Analogie zu Netropsin als einzige Substanz ein durchgehend positives elektrostatisches Potential auf der dem Rezeptor zugewandten, konkaven Molekülseite, was die elektrostatische Interaktion mit der in AT-reichen Regionen elektronenreichen Minor Groove verstärkt. Dies könnte die vergleichsweise erhöhte DNA-Affinität sowie AT-Selektivität des Aminothiazolpyrrolcarboxamids **118** erklären.

Darüber hinaus könnte der bei Verbindung **118** zur konkaven Molekülseite orientierte hydrophobe Schwefel in van der Waals-Interaktion mit den Adenin-C2-Atomen in der Minor Groove treten. Da die AT-Sequenzspezifität von Minor Groove Bindern in erster Linie auf enge van der Waals-Kontakte zwischen Ligand und den C2-Atomen des Adenins zurückzuführen ist (s. Kap. 1.4, S. 24), sollte der der konkaven Seite zugewandte Schwefel ebenfalls als sequenzselektierender Faktor berücksichtigt werden. Auf die Bedeutung der *N*-terminalen Aminogruppe als möglicherweise zusätzliche H-Brückendonator- bzw. H-Brückenakzeptor-Funktion wurde bereits in Kapitel 4.5.3, S. 165 eingegangen.

Demgegenüber weisen die *N*-terminal Nitro-substituierten Derivate **60**, **69** und **143** über der Nitrogruppe, das Imidazolpyrrolcarboxamid **143** zusätzlich über Imidazol-N3 sowie das Boc-geschützte Thiazol-Derivat **117** über dem *N*-terminalen amidischen Carbonyl-Sauerstoff einen punktuell negativen Ladungsschwerpunkt an der konkaven Seite der Curvature auf.

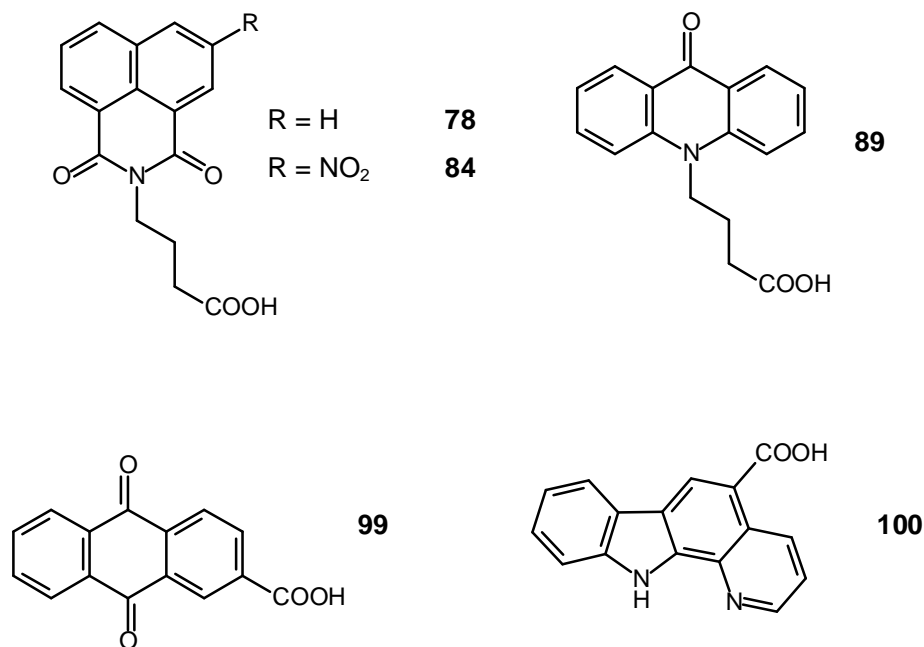
Die Combilexine der Imidazol- bzw. Thiazolpyrrolcarboxamid-Reihe zeigten jedoch z. T. sehr gute DNA-Affinitäten (s. Kap. 4.5.1, S. 160 und Kap. 4.6.1, 167) und weisen ebenfalls - wie später in Kapitel 6.5, S. 232 aufgeführt - über dem der konkaven Seite zugewandten Imidazol-N3 bzw. amidischen Carbonyl-Sauerstoff am *N*-Terminus ein negatives elektrostatisches Potential auf. Folglich scheint die schwache DNA-Affinität des Nitroimidazol-Derivates **143** wohl eher auf das Fehlen einer *N*-terminalen amidischen NH-Gruppe als mögliche H-Brückendonator-Funktion sowie die hohe Elektronendichte über der Nitrogruppe, und die des Thiazolpyrrolcarboxamids **117** vielmehr auf die möglicherweise zu einer sterischen Hinderung in der kleinen Rinne führende Boc-Schutzgruppe zurückzuführen zu sein (s. Kap. 4.5.3, S. 166). Auch bei den beiden Nitro-substituierten Derivaten **60** und **69** spielt mit Sicherheit die fehlende Amid-Funktion am *N*-Terminus zusätzlich eine entscheidende Rolle für die schwache DNA-Affinität (s. Kap. 4.7, S. 171).

## 6.4 Vergleich der berechneten elektronischen Moleküleigenschaften (MEPs und LUMO-Energien) der Interkalatorcarbonsäuren mit den Ergebnissen der DNA-Bindestudien (DT<sub>m</sub>-Werte)

Im Folgenden sollte überprüft werden, ob die zum Aufbau der Combilexine verwendeten Interkalatorcarbonsäuren die Voraussetzungen zur Ausbildung von Charge-Transfer-Komplexen (oder: Elektronen-Donator-Akzeptor-Komplexen (EDA-Komplexe)) mit den Nucleobasen der DNA erfüllen.

Bei Charge-Transfer-Komplexen findet ein intermolekularer Elektronentransfer von den besetzten Orbitalen eines Elektronendonators zu den unbesetzten Orbitalen eines Elektronenakzeptors statt <sup>[215]</sup>. Je geringer die Energiedifferenz zwischen diesen Orbitalen ist, umso stärker sind die Charge-Transfer-Interaktionen zwischen Donator und Akzeptor ausgeprägt <sup>[170]</sup>. Im allgemeinen werden hierbei nur die Elektronenübergänge zwischen dem energetisch höchsten, besetzten Molekülorbital (HOMO) des Donators und dem energetisch niedrigsten, unbesetzten Molekülorbital (LUMO) des Akzeptors berücksichtigt, da diese den größten Beitrag zum Gesamtbetrag der Wechselwirkungsenergie liefern <sup>[211]</sup>.

Daher wurden zunächst die Grenzorbital-Energien der als  $\pi$ -Elektronendonatoren fungierenden Nucleobasen sowie einiger der als  $\pi$ -Elektronenakzeptoren agierenden Interkalatorcarbonsäuren (s. Abb. 6.3, S. 219) mittels einer semiempirisch-quantenmechanischen AM1-Methode (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> berechnet.



**Abb. 6.3:** Strukturformeln der in SPARTAN<sup>[171]</sup> berechneten Interkalatorcarbonsäuren

Die mithilfe der semiempirischen AM1-Rechnung ermittelten HOMO-Energien der vier DNA-Basen (s. Tab. 6.4, S. 220) verdeutlichen, dass das HOMO-Energieniveau der beiden Pyrimidinbasen Cytosin und Thymin wesentlich niedriger liegt als das der Purinbasen Adenin und Guanin. Aufgrund der folglich höheren HOMO-LUMO-Energiedifferenz ist ein Elektronentransfer vom HOMO der Pyrimidinbasen zum LUMO der  $\pi$ -elektronenarmen, interkalierenden Chromophore energetisch benachteiligt und somit nach dieser Grenzorbitalbetrachtung nicht zu erwarten. In den EDA-Komplexen werden also vermutlich die Purinbasen die Rolle des  $\pi$ -Elektronendonators übernehmen<sup>[211]</sup>. Für die folgenden Betrachtungen wurden daher lediglich die Grenzorbital-Energien des Adenins und des Guanins herangezogen.

Zudem weist Guanin von allen vier DNA-Basen das höchste HOMO-Energieniveau auf, wodurch die Charge-Transfer-Wechselwirkungen zwischen Guanin und einem Interkalator energetisch begünstigt sind. Dies könnte neben der in GC-reichen Regionen weiteren Minor Groove ein zusätzlicher Erklärungsansatz für die bei den meisten reinen Interkalatoren zu beobachtende GC-Selektivität sein<sup>[211]</sup> (s. a. Kap. 1.3, S. 10 und Kap. 2.2.3, S. 56).



Nucleobase	HOMO [eV]
Guanin	-8.52
Adenin	-8.77
Cytosin	-9.38
Thymin	-9.61

**Tab. 6.4:** Mittels einer semiempirischen AM1-Rechnung (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelte HOMO-Energien der vier DNA-Basen.

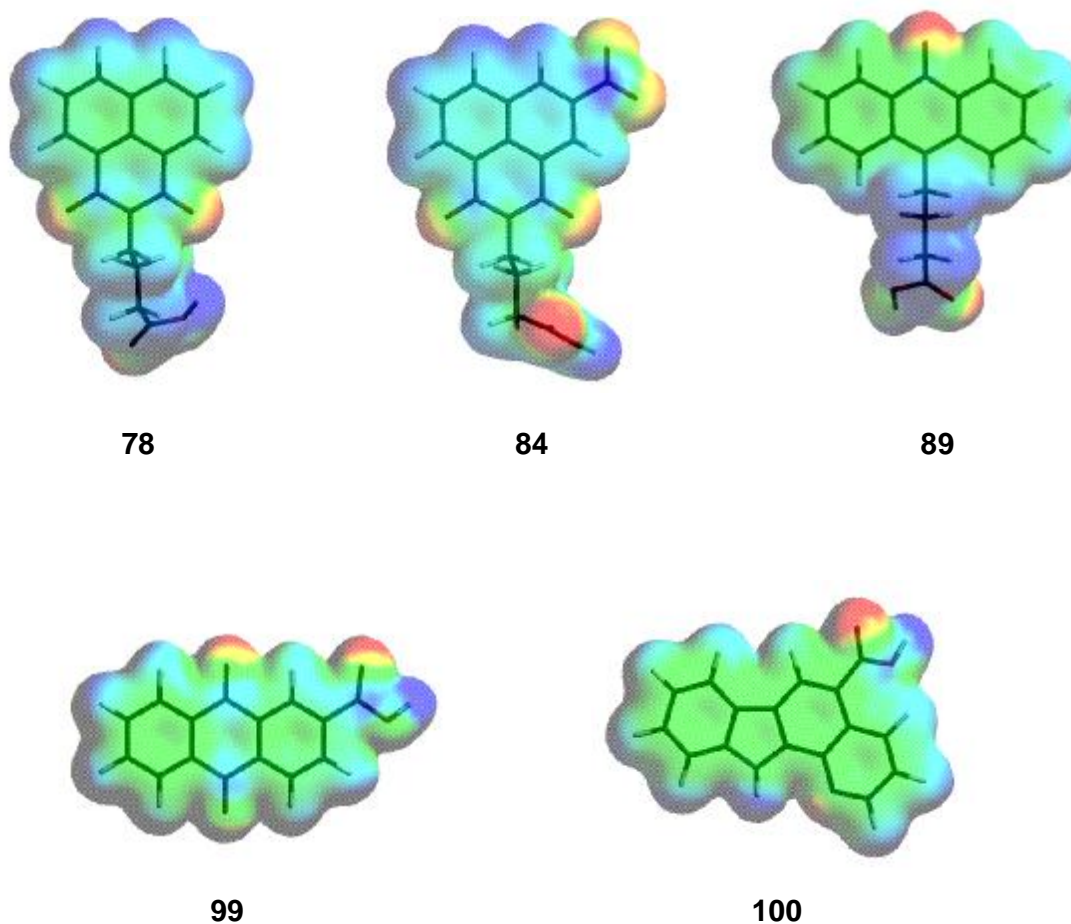
	HOMO [eV]	LUMO [eV]	Differenz $\frac{1}{2}\text{HOMO(A)}-\text{LUMO(I)}\frac{1}{2}$ [eV]	Differenz $\frac{1}{2}\text{HOMO(G)}-\text{LUMO(I)}\frac{1}{2}$ [eV]
<b>Adenin</b>	-8.77	-0.11	-	-
<b>Guanin</b>	-8.52	-0.12	-	-
<b>78</b>	-9.60	-1.59	7.18	6.93
<b>84</b>	-10.08	-2.10	6.67	6.42
<b>89</b>	-8.52	-0.53	8.24	7.99
<b>99</b>	-10.31	-1.73	7.04	6.79
<b>100</b>	-8.53	-0.95	7.82	7.57

**Tab. 6.5:** Mittels einer semiempirischen AM1-Rechnung (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelte Grenzorbital-Energien der Purinbasen der DNA und einiger Interkalatorcarbonsäuren;  $|\text{HOMO(A)}-\text{LUMO(I)}|$  = Betrag der Differenz zwischen der HOMO-Energie des Adenins und der LUMO-Energie der Interkalatorcarbonsäure;  $|\text{HOMO(G)}-\text{LUMO(I)}|$  = Betrag der Differenz zwischen der HOMO-Energie des Guanins und der LUMO-Energie der Interkalatorcarbonsäure

Damit eine Charge-Transfer-Wechselwirkung zustande kommt, muss das LUMO des Akzeptors (hier Interkalatorcarbonsäuren) auf einem niedrigeren energetischen Niveau liegen als das LUMO des Donators (hier Adenin und Guanin) <sup>[215]</sup>. Wie aus den Resultaten der AM1-Rechnung hervorgeht (s. Tab. 6.5, S. 220), wird diese zwingende Voraussetzung von allen Testverbindungen erfüllt. Darüber hinaus ist das LUMO nach der Betrachtung der Grenzorbital-Koeffizienten bei allen Carbonsäure-Derivaten über dem chromophoren System lokalisiert (ohne Abbildung).

Zur Visualisierung der Ladungsverteilung über dem chromophoren System wurde zusätzlich das MEP der Verbindungen **78**, **84**, **89**, **99** und **100** mittels einer semiempirischen AM1-Methode (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> berechnet (s. Abb. 6.4, S. 222).

Alle Interkalatorcarbonsäuren weisen ein positives elektrostatisches Potential (niedrige Elektronendichte) über dem völlig koplanaren,  $\pi$ -konjugierten Strukturelement auf, was sich auf deren Elektronenakzeptoreigenschaften und somit die  $\pi$ - $\pi$ -Stacking-Interaktionen mit den Nucleobasen positiv auswirkt (s. Kap. 1.3, S. 7 ff.).



**Abb. 6.4:** Mittels einer semiempirischen AM1-Rechnung (nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>) im Programmpaket SPARTAN<sup>[171]</sup> ermitteltes molekulares elektrostatisches Potential der Intercalatorcarbonsäuren **78**, **84**, **89**, **99**, und **100**; (das MEP reicht von -70 bis +40 kcal/mol und ist farbcodiert: rote Bereiche: negatives elektrostatisches Potential, blaue Bereiche: positives elektrostatisches Potential, gelbe Bereiche: schwach negatives bis neutrales elektrostatisches Potential, grüne Bereiche: neutral bis schwach positives elektrostatisches Potential; Projektion des MEP auf die Elektronenwolke der Moleküle, deren äußere Grenze jeweils einer Elektronendichte von  $0.004 \text{ e}/\text{au}^3$  entspricht<sup>[214]</sup>)

**Fazit:**

Den Ergebnissen der AM1-Rechnungen zufolge erfüllen die zum Aufbau der Combi-lexine verwendeten interkalierenden Bausteine **78**, **84**, **89**, **99** und **100** die in Bezug auf LUMO und MEP bestehenden elektronischen Voraussetzungen für eine gute Interkalation.

Es ist jedoch festzustellen, dass die für Verbindungen **78**, **84** und **89** berechneten Ergebnisse nicht mit den Resultaten der  $T_m$ -Wert-Messungen in Einklang zu bringen sind (s. Tab. 6.6 und Kap. 4.3.1, S. 143), da keine der drei Verbindungen zu einem signifikanten Anstieg der DNA-Schmelztemperatur führte. Konkrete Aussagen bezüglich einer Korrelation zwischen den  $\Delta T_m$ -Werten und den berechneten HOMO-LUMO-Energiedifferenzen (s. Tab. 6.5, S. 220) können daher an dieser Stelle nicht getroffen werden.

Verbindung	78	84	89
$DT_m$ (poly(dAdT)) [°C]; $r = 1$	n. a.	$1.5 \pm 0.4$	n. a.
$DT_m$ (CT-DNA) [°C]; $r = 1$	n. a.	n. a.	n. a.

**Tab. 6.6:** Ergebnisse der  $T_m$ -Wert-Messungen (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen  $\pm$  Standardabweichung);  $r$  = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; n. a. = keine messbare DNA-Bindung,  $\Delta T_m \leq 1^\circ\text{C}$

Die Divergenzen zwischen den Ergebnissen der *in silico*- und *in vitro*-Untersuchungen sind vermutlich darauf zurückzuführen, dass eine DNA-Bindung der in dem für die  $T_m$ -Wert-Messungen eingesetzten Puffermedium (pH = 7.1) zum Teil als Carboxylat-Anionen vorliegenden Interkalatorcarbonsäuren durch die Abstoßung von der negativ geladenen DNA verhindert wird (s. Kap. 4.3.3, S. 151) und darüber hinaus die realen Reaktionsbedingungen bei den durchgeführten AM1-Berechnungen nicht berücksichtigt werden.

Dennoch deuten die durchgeführten Molecular Modelling-Studien darauf hin, dass die *N*-terminalen interkalierenden Strukturerelemente der synthetisierten Combilexine (Naphthalimid, 5-Nitronaphthalimid, Acridon, Anthrachinon und 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol) die Voraussetzungen für eine gute Interkalation erfüllen, zumal für einige Hybridmoleküle ein dualer Bindungsmodus (Interkalation und Minor Groove Binding) belegt wurde (s. Kap. 4.3 - 4.6, S. 143 - 171).

## **6.5 Vergleich der berechneten lokalen Minimumskonformationen und elektronischen Moleküleigenschaften (MEPs und LUMO-Energien) ausgewählter Combilexine mit den Ergebnissen der DNA-Binde- und Zytotoxizitäts-Studien**

Da bislang keine Röntgenkristallstrukturen der Combilexine zur Verfügung stehen, die Molekülgeometrie und elektronischen Eigenschaften - wie in den vorherigen Kapiteln 6.3 und 6.4, S. 212 ff. bereits erläutert - jedoch von Bedeutung für die DNA-Affinität bzw. Sequenzselektivität sind, sollte am Beispiel ausgewählter Testverbindungen eine relevante lokale Minimumskonformation, das molekulare elektrostatische Potential (MEP) sowie das Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) im Programmpaket SPARTAN<sup>[171]</sup> berechnet werden.

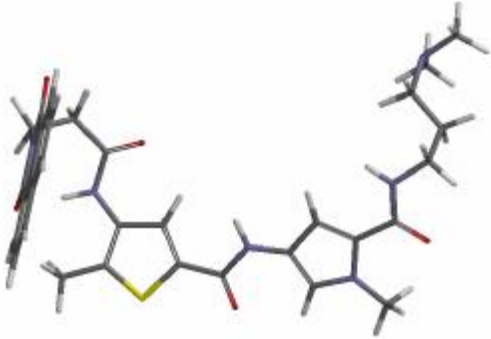
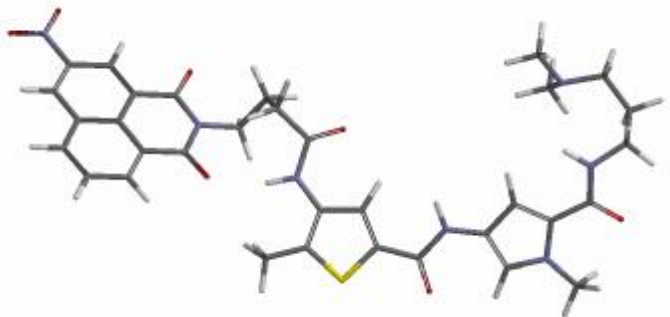
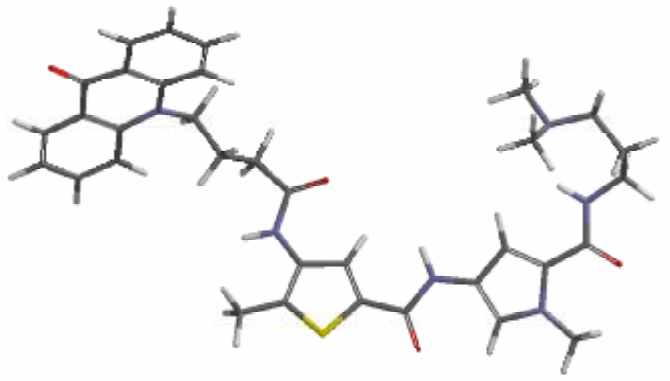
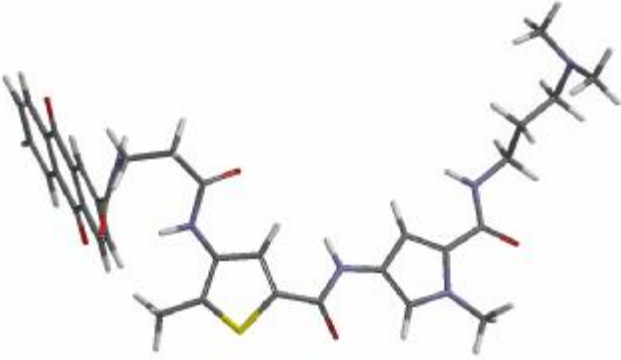
Hierzu wurden die entsprechenden Moleküle mithilfe des SPARTAN<sup>[171]</sup>-Baukastens aufgebaut und Kraftfeld-vorminimiert (MMFF 94<sup>[209, 210]</sup>). Anschließend folgte eine Konformationsanalyse mit dem Rechenmodul *Equilibrium Conformer* (Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup>) in Kombination mit der semiempirischen AM1-Rechnung (nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>, s. Kap. 3.9.4, S. 112).

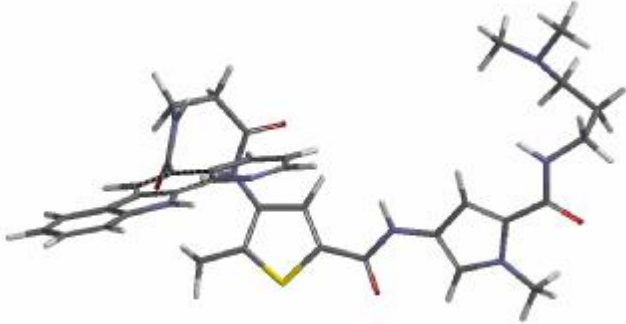
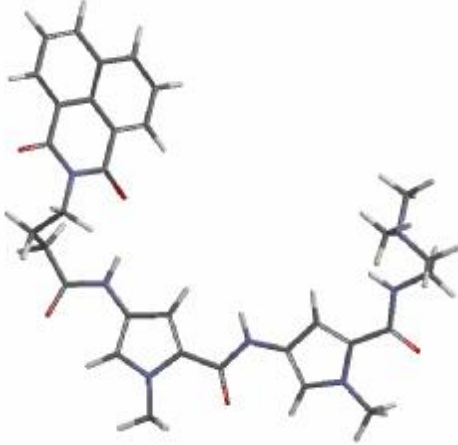
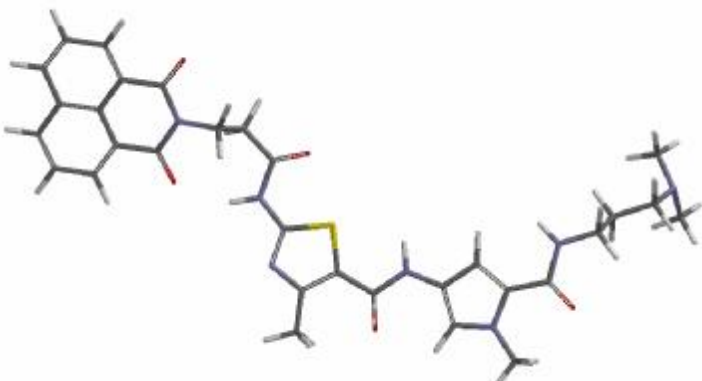
Hierbei galt es zu überprüfen, ob die Hybridmoleküle die Voraussetzungen für eine gute DNA-Bindung erfüllen. Darüber hinaus sollten die *in silico*-Daten wenn möglich dazu dienen, einen Bezug zu den Ergebnissen der *in vitro* durchgeführten DNA-Binde- und Zytotoxizitäts-Studien herzustellen.

In Tabelle 6.7, S. 226-229 sind die mithilfe des SPARTAN<sup>[171]</sup>-Programms simulierten Minimumskonformere aufgeführt. Sämtliche Testverbindungen nehmen

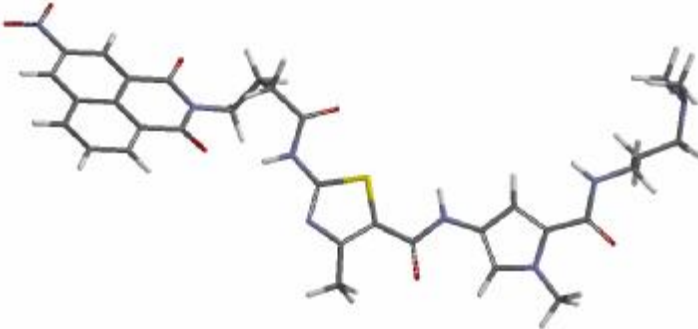
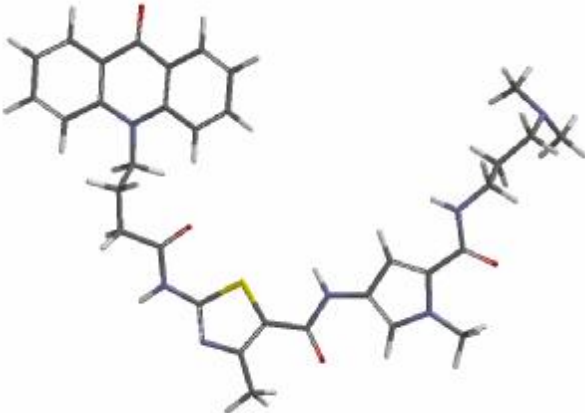
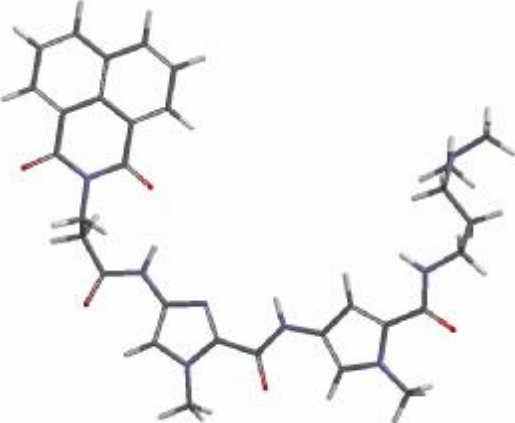
erwartungsgemäß eine für die Bindung in der Minor Groove essentielle sichelförmige Konformation mit trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen an, wobei die Methylgruppen der Heterene der konkaven Molekülseite zugewandt sind. Die Koplanarität der chromophoren Systeme an der aliphatischen Kette des *N*-Terminus (Naphthalimid, 5-Nitronaphthalimid, Acridon, Anthrachinon, 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol) dürfte zudem eine gute Interkalation zwischen die gestapelten Basenpaare der DNA ermöglichen (s. Kap. 1.3, S. 9).

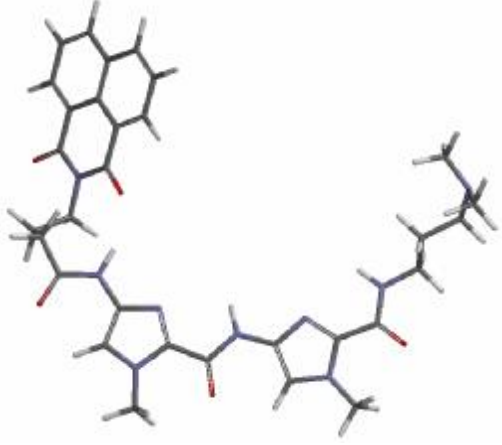
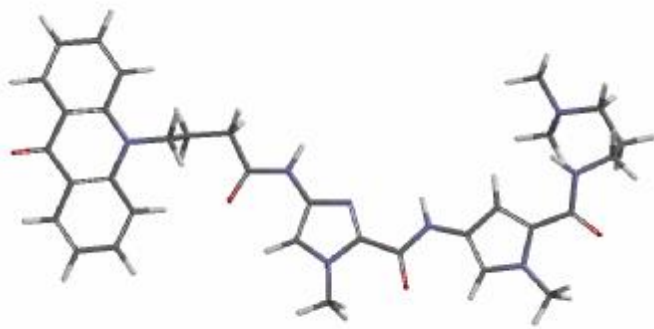
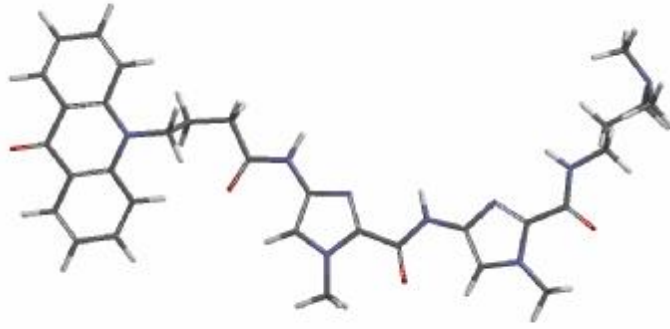
Bei genauerer Betrachtung der Molekülgeometrien fällt jedoch eine Besonderheit bezüglich der Orientierung der *N*-terminalen amidischen Carbonyl- und NH-Funktion auf: bei dem Bispyrrol-Derivat **110** und den (Bis-)Imidazolen **145**, **147**, **148**, **149** sind alle amidischen NH-Gruppen der konkaven sowie die Carbonylgruppen der konvexen Seite der Curvature zugewandt, wohingegen die *N*-terminale NH- und CO-Funktion bei den Thiophen-Derivaten **92**, **96**, **98**, **104**, **105** und den Thiazolpyrrolcarboxamiden **119**, **121**, **123** konträr (NH zur konvexen, CO zur konkaven Molekülseite orientiert) angeordnet sind. Während dies bei den Thiazolen - wie zuvor am Beispiel des Boc-geschützten Thiazolpyrrolcarboxamids **117** demonstriert (s. Kap. 6.3, S. 216) - auf die Elektronenpaarabstoßung zwischen Thiazol-N3 und des *N*-terminalen amidischen Carbonyl-Sauerstoffs zurückzuführen ist, liegt die Ursache bei den Thiophenen möglicherweise in der van der Waals-Abstoßung zwischen der Methylgruppe des Thiophens an 5-Position und der amidischen Carbonyl-Funktion am *N*-Terminus begründet.

Verbindung	Minimumskonformation (Monte-Carlo <sup>[207]</sup> /AM1 <sup>[167, 168, 208]</sup> )
92	
96	
98	
104	

Verbindung	Minimumskonformation (Monte-Carlo <sup>[207]</sup> /AM1 <sup>[167, 168, 208]</sup> )
105	
110	
119	

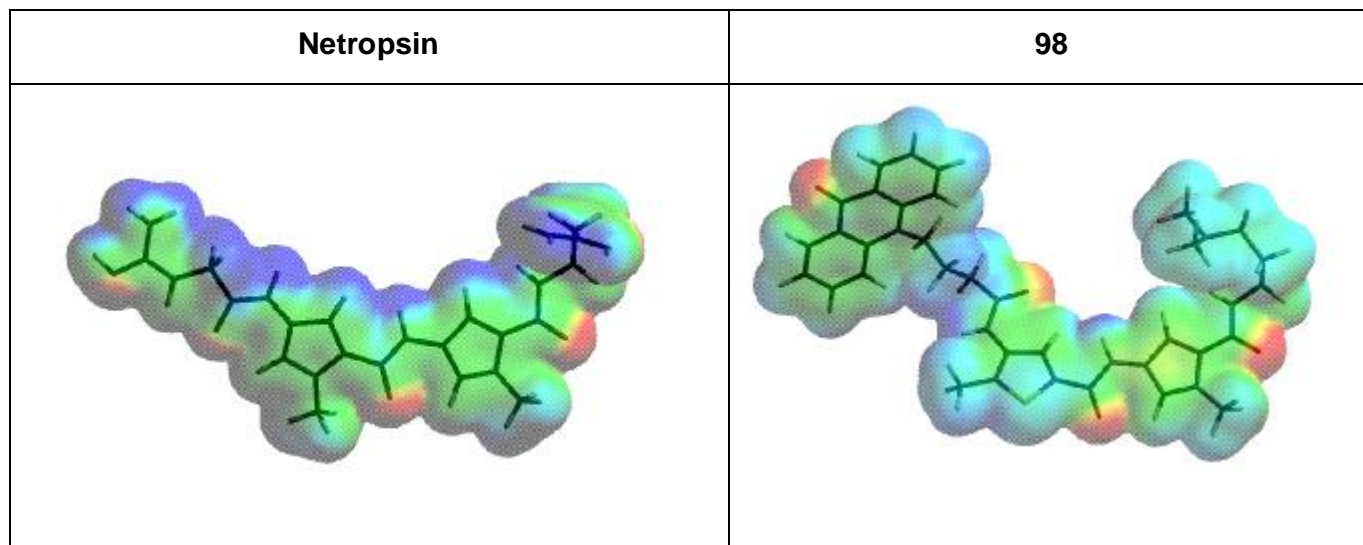


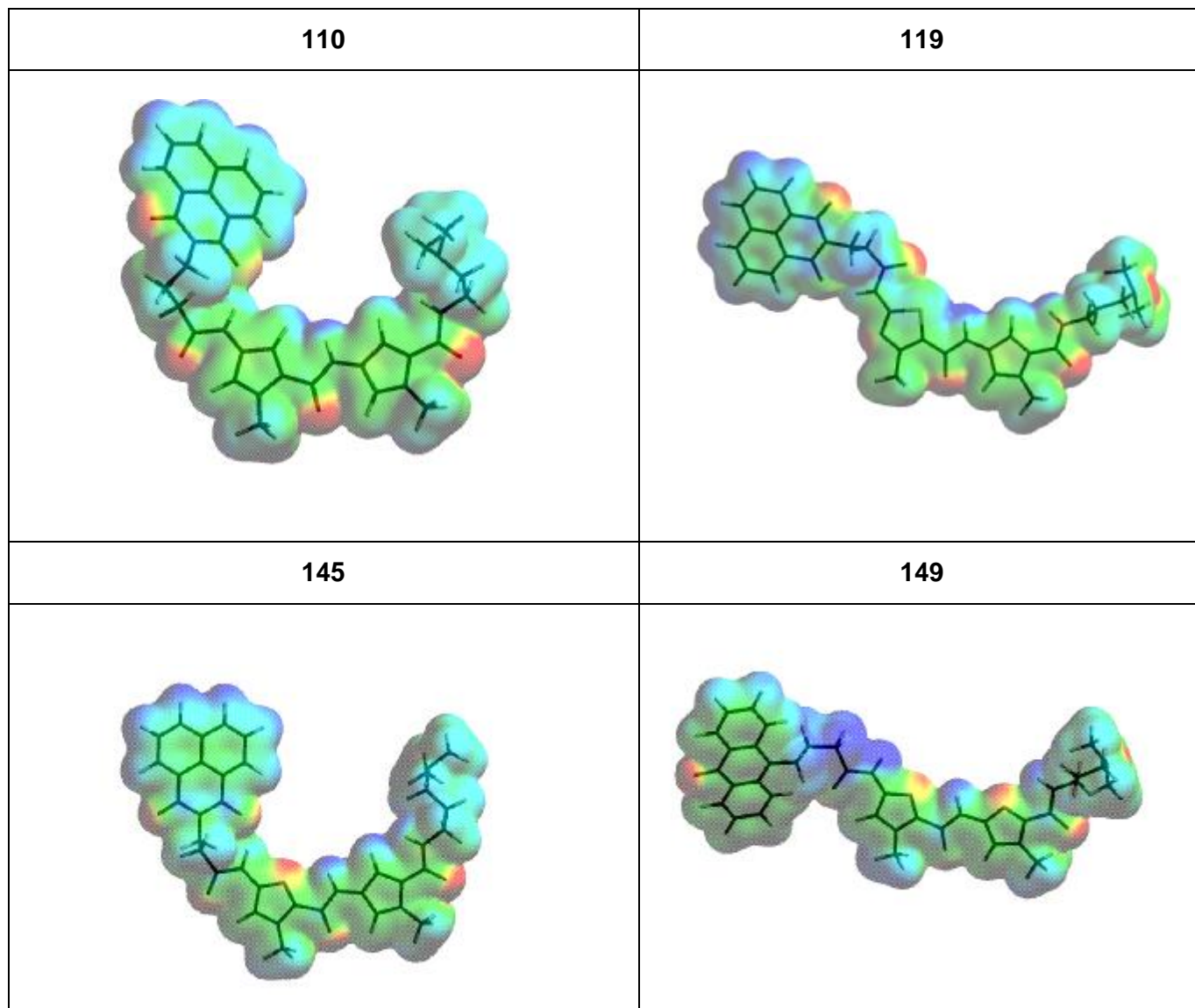
Verbindung	Minimumskonformation (Monte-Carlo <sup>[207]</sup> /AM1 <sup>[167, 168, 208]</sup> )
121	
123	
145	

Verbindung	Minimumskonformation (Monte-Carlo <sup>[207]</sup> /AM1 <sup>[167, 168, 208]</sup> )
147	
148	
149	

**Tab. 6.7:** Im SPARTAN <sup>[171]</sup>-Programmpaket ermittelte lokale Minimumskonformationen ausgewählter Combilexine (Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup> in Kombination mit einer semiempirischen AM1-Rechnung nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>)

Das molekulare elektrostatische Potential unterscheidet sich im Bereich der C-terminalen Propylamin-Seitenkette sowie des N-terminalen Linkers zwischen den einzelnen Testsubstanzen nicht signifikant; es ist bei allen Verbindungen in diesen beiden Regionen gleichermaßen positiv. Auch die interkalierenden Strukturelemente am N-Terminus weisen alle eine zur Ausbildung von  $\pi$ - $\pi$ -Stacking-Interaktionen mit den als Elektronendonatoren fungierenden Purinbasen günstige, elektronenarme Ladungsoberfläche über dem chromophoren System auf (s. Kap. 6.4, S. 221 f.). Differenzen bezüglich der Elektronenverteilung auf der konkaven Molekülseite der Curvature ergeben sich daher primär aufgrund der unterschiedlichen Fünfringhetarene innerhalb der rinnenbindenden Struktureinheit der Hybridmoleküle. Zur Veranschaulichung der daraus resultierenden Besonderheiten sind in Tabelle 6.8, S. 230-231 stellvertretend die MEPs einzelner Combilexine der Thiophen-, Thiazol- und Imidazolpyrrol- bzw. Bisimidazolcarboxamid-Reihe auf der Basis der lokalen Minimumskonformationen (s. Tab. 6.7, S. 226-229) im Vergleich zu Netropsin dargestellt.



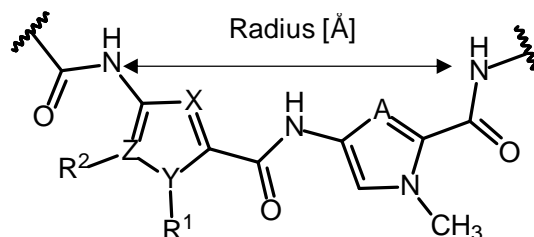


**Tab. 6.8:** Mittels einer semiempirischen AM1-Rechnung (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> ermitteltes molekulares elektrostatisches Potential ausgewählter Combiflexine im Vergleich zu Netropsin; die MEPs beziehen sich auf die nach dem Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup> simulierten Molekülgeometrien; (das MEP reicht von -70 bis +40 kcal/mol und ist farbcodiert: rote Bereiche: negatives elektrostatisches Potential, blaue Bereiche: positives elektrostatisches Potential, gelbe Bereiche: schwach negatives bis neutrales elektrostatisches Potential, grüne Bereiche: neutral bis schwach positives elektrostatisches Potential; Projektion des MEP auf die Elektronenwolke der Moleküle, deren äußere Grenze jeweils einer Elektronendichte von 0.004 e/au<sup>3</sup> entspricht <sup>[214]</sup>)

Wie aus Tabelle 6.8, S. 230-231 hervorgeht, weist das Bispyrrolcarboxamid **110** ein mit Netropsin vergleichbares und für die Bindung in AT-reichen Regionen der Minor Groove günstiges, positives elektrostatisches Potential auf der konkaven Molekülseite auf. Dies spiegelt sich auch in den für diese Verbindung ermittelten  $\Delta T_m$ -Werten wider, die unter Verwendung von poly(dAdT)-DNA wesentlich höher lagen als die mit Kalbsthymus(CT)-DNA bestimmten Werte (s. Tab. 6.9, S. 234). Auch die Thiophen- und Thiazolpyrrolcarboxamide (wie am Beispiel von **98** und **119** in Tabelle 6.8, S. 230-231 verdeutlicht) besitzen eine verhältnismäßig elektronenarme konkave Molekülseite. Die hohe Elektronendichte über dem der konkaven Molekülseite zugewandten amidischen Carbonyl-Sauerstoff am *N*-Terminus scheint die DNA-Affinität und auch AT-Selektivität der Thiophene und Thiazole nicht sonderlich zu beeinflussen, da sowohl das Thiophen-Derivat **98** als auch die Thiazolhaltige Verbindung **119** zu einem höheren Anstieg der DNA-Schmelztemperatur mit dem Polynucleotid poly(dAdT) führten als das Bispyrrolcarboxamid **110** (s. Tab. 6.9, S. 234). Auf die möglicherweise zusätzlich AT-sequenzselektierende Funktion des zur konkaven Seite der Curvature orientierten Thiazol-S1 wurde bereits zuvor am Beispiel des Aminothiazol-Derivates **118** hingewiesen (s. S. 217).

Die Imidazol-haltigen Combilexine **145** und **149** hingegen, für die bei den  $T_m$ -Wertmessungen andeutungsweise eine gesteigerte GC-Selektivität zu verzeichnen war (s. Tab. 6.9, S. 234), besitzen einen negativen Ladungsschwerpunkt über den Imidazol-N3-Atomen, was vermutlich zu elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Imidazol-N3 und den eher positiv polarisierten H-Atomen der Guanin-NH<sub>2</sub>-Gruppe führt. Hierdurch könnte die zur Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA erwünschte Ausbildung der H-Brücke zwischen Imidazol-N3 und Guanin-NH<sub>2</sub> zusätzlich begünstigt werden.

Die Curvature der Minor Groove Binder kann die Stärke und die Selektivität der DNA-Bindung erheblich beeinflussen (s. Kap. 6.3, S. 212)<sup>[92, 218]</sup>. Aus diesem Anlass sollte zusätzlich untersucht werden, inwiefern die unterschiedlichen Heterarene Einfluss auf die Radien der Curvature auf der konkaven Molekülseite der rinnenbindenden Oligoamid-Einheit nehmen. Hierzu wurde bei den in SPARTAN<sup>[171]</sup> simulierten Minimumskonformationen der Combilexine und des Netropsins - wie in Abbildung 6.5, S. 233 dargestellt - der Abstand zwischen den Stickstoffatomen der C- und der *N*-terminalen amidischen NH-Gruppe bestimmt.



**Abb. 6.5:** Schematische Darstellung zur Ermittlung der Radien der Curvature auf der konkaven Molekülseite

Laut den in SPARTAN<sup>[171]</sup> vorgenommenen Abstandsmessungen (s. Tab. 6.9, S. 234) besitzen die simulierten Minimumskonformere der Combilexine einen Radius, der dem des potentiellen Minor Groove Binders Netropsin sehr ähnlich ist. Dennoch lässt sich eine Abhängigkeit der ermittelten NH-NH-Abstände von den Fünfringheterocyclen erkennen. Während der Radius des Bispyrrol-Derivates **110** (10.27 Å) nahezu identisch mit dem des Netropsins (10.28 Å) ist, führt der zur konkaven Seite orientierte relativ große Schwefel bei den Thiazol-Derivaten **119**, **121** und **123** zu einer geringfügigen Aufweitung der Curvature (Radien um 10.70 Å). Demgegenüber weisen die Thiophene **92**, **96**, **98**, **104**, **105** (mit Radien von 10.11-10.15 Å), die Imidazolpyrrolcarboxamide **145** und **148** (mit Radien von 10.14 und 10.15 Å) sowie die Bisimidazol-Derivate **147** und **149** (mit Radien von 10.00 Å) im Vergleich zu Netropsin eine minimal stärkere Konkavität der Oligocarboxamid-Einheit auf.

Somit erfüllen sämtliche Testverbindungen die strukturellen Voraussetzungen für eine DNA-Bindung in der kleinen Rinne, was mit den Ergebnissen des Circular-dichroismus korreliert: mit Ausnahme der Anthrachinon- und Pyridocarbazol-*N*-terminal gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide **104** und **105** (hier lagen die Ergebnisse des Circular-dichroismus zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht vor) wurde für alle Combilexine dieser Arbeit Minor Groove Binding nachgewiesen (positives CD-Signal, s. Kap. 4.3-4.6, S. 143 ff.).

Eine konkrete Gesetzmäßigkeit zwischen den bisher ermittelten Befunden (Konformation, MEP, Radien der Curvature) und den unterschiedlichen DNA-Affinitäten ( $\Delta T_m$ -Werten) der entsprechenden Verbindungen ist infolge der Komplexität in der *in vitro*-Realität jedoch nicht zu erkennen (s. Tab. 6.9, S. 234).

Verbindung	Curvature- Radius [Å]	LUMO [eV]	DT <sub>m</sub> (poly(dAdT)) [°C]; r = 1	DT <sub>m</sub> (CT-DNA) [°C]; r = 1	Inter- kalation	MTS- Assay (HT-29) aktiv
<b>Netropsin</b>	10.28	0.09	40.4	16.6	/	/
<b>92</b>	10.12	-1.65	22.6	8.4	+	nein
<b>96</b>	10.15	-2.36	12.6	4.4	+	nein
<b>98</b>	10.12	-0.65	23.3	6.3	+	nein
<b>104</b>	10.14	-1.79	12.0	2.4	-	n. b.
<b>105</b>	10.11	-0.90	18.2	4.5	-	n. b.
<b>110</b>	10.27	-1.65	18.5	12.2	+	nein
<b>119</b>	10.68	-1.75	26.5	9.1	-	ja
<b>121</b>	10.68	-2.36	6.9	2.7	-	nein
<b>123</b>	10.70	-1.03	13.9	5.7	+	nein
<b>145</b>	10.14	-1.62	18.1	12.1	-	ja
<b>147</b>	10.00	-1.60	7.2	1.1	-	nein
<b>148</b>	10.15	-0.37	18.0	6.0	-	ja
<b>149</b>	10.00	-0.38	11.3	6.3	+	nein

**Tab. 6.9:** Gegenüberstellung der mittels semiempirischer AM1-Rechnung (nach Stewart<sup>[208]</sup> und Dewar<sup>[167, 168]</sup>) in SPARTAN<sup>[171]</sup> ermittelten LUMO-Energien sowie der Radien der Curvature auf der konkaven Molekülseite (Abstand zwischen der C- und N-terminalen amidischen NH-Gruppe in [Å]) mit den Ergebnissen der in vitro durchgeführten DNA-Binde- und Zytotoxizitäts-Studien. Die LUMO-Energien und Radien beziehen sich auf die mittels Monte-Carlo-Verfahren<sup>[207]</sup> simulierten Minimumskonformere. Ergebnisse der T<sub>m</sub>-Wert-Messungen (Mittelwerte aus mindestens drei Messungen): r = molares Verhältnis DNA/Testsubstanz; Interkalation: (+) steht für Interkalation (**92**, **96**, **98**, **123** und **149** zeigten Unwindung im TOPO-I-Relaxations-Assay, **110** zeigte ein negatives CD-Signal), (-) keine Interkalation nachweisbar; Ergebnisse der Zytotoxizität-Studien im MTS-Assay (INSERM, Lille)<sup>[73, 74]</sup> an der humanen Kolonkarzinomzelllinie HT-29: zytotoxisch aktiv = GI<sub>50</sub>-Wert < 10<sup>-4</sup> M bzw. IC<sub>50</sub>-Werte < 100 µM, n. b. = nicht bestimmt;

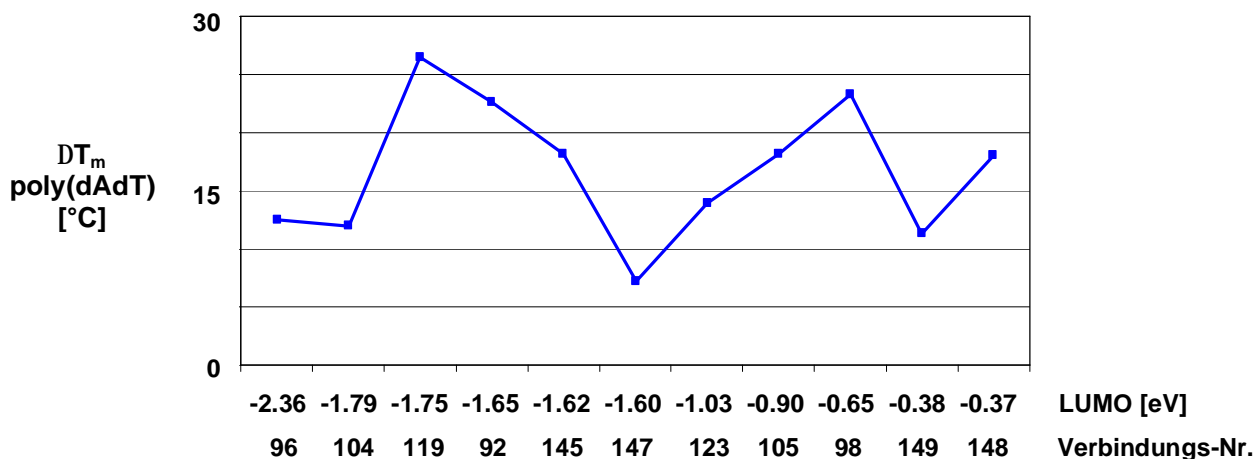
Betrachtet man die mittels AM1-Rechnung ermittelten LUMO-Energien der simulierten Molekülgeometrien (s. Tab. 6.9, S. 234) so fällt auf, dass die Combilexine ausnahmslos ein signifikant niedrigeres LUMO-Energieniveau aufweisen als Netropsin. Dies ist auf die Anwesenheit des chromophoren Systems am *N*-Terminus der Hybridmoleküle zurückzuführen, zumal sich gezeigt hat, dass das LUMO bei den berechneten Molekülen über dem interkalierenden Grundgerüst lokalisiert ist (ohne Abbildung). Darüber hinaus liegen die LUMOs bei allen in Tabelle 6.9, S. 234 aufgeführten Testverbindungen auf einem energetisch niedrigeren Niveau als die LUMO-Energien der bei einer Interkalation als Elektronendonatoren fungierenden Purinbasen (LUMO(Guanin) = -0.12 eV, LUMO(Adenin) = -0.11 eV, s. Kap. 6.4, S. 218 ff.). Insofern wird die Voraussetzung zur Ausbildung von Charge-Transfer-Komplexen zwischen den interkalierenden Strukturelementen am *N*-Terminus und den DNA-Basen bei allen Combilexinen erfüllt <sup>[211]</sup> (s. Kap. 6.4, S. 218 ff.).

Dennoch wurde eine Interkalation nur für sechs der dreizehn Verbindungen nachgewiesen (s. Tab. 6.9, S. 234): die Naphthalimide **92** und **110**, die Acridone **98**, **123**, **149** sowie das 5-Nitronaphthalimid-Derivat **96**, deren LUMO-Energien in Abhängigkeit des anellierten Systems von -2.36 bis -0.38 eV reichen, so dass hier kein korrelierender Zusammenhang feststellbar ist. Eine Erklärung können auch die in Tabelle 6.7, S. 226-229 aufgeführten, simulierten Molekülgeometrien nicht liefern. So unterscheiden sich die beiden Acridone **148** und **149** nicht merklich in der Konformation am *N*-Terminus; eine Interkalation war jedoch nur bei **149** zu beobachten, während aber für **148** ein höherer  $\Delta T_m$ -Wert ermittelt wurde. Bei dem Naphthalimid-Derivat **92** hingegen, für das sowohl eine Interkalation als auch eine sehr gute DNA-Affinität zeigte, ragt das tricyclische, aromatische System vollkommen aus der Curvature heraus.

Ferner weisen die 5-Nitronaphthalimid-Derivate **96** und **121** die niedrigsten LUMO-Energiewerte auf. Aufgrund der daraus im Vergleich zu den anderen Derivaten resultierenden geringeren HOMO(Purinbasen)-LUMO(Interkalator)-Energiedifferenz wären für die 5-Nitronaphthalimid-substituierten Verbindungen demgemäß die stärksten Charge-Transfer-Wechselwirkungen und höchsten Komplexstabilitäten zu erwarten gewesen. Dem widersprechend sind allerdings die im Vergleich zu den unsubstituierten Naphthalimiden **92** und **119** für Verbindung **96** und **121** ermittelten, relativ niedrigen  $\Delta T_m$ -Werte (s. Tab. 6.9, S. 234).



Auch zwischen den Grenzorital-Energien der Acridon-, Naphthalimid-, Anthrachinon-, sowie Pyridocarbazol-gekoppelten Oligocarboxamide und den DNA-Affinitäten ( $\Delta T_m$ -Werten) konnte keine Korrelation festgestellt werden (s. Abb. 6.6).



**Abb. 6.6:**  $\Delta T_m$ -Werte in Abhängigkeit von den ermittelten LUMO-Energien

Da die Zytotoxizität DNA-interagierender Wirkstoffe auf verschiedenen Wirkmechanismen beruht (s. Kap. 1.1, S. 5), lässt sie sich nicht alleine über einen Angriff am biopolymeren Haupt-Target definieren. Daher korreliert die antineoplastische Aktivität von DNA-Liganden nicht zwangsläufig mit deren DNA-Affinität [73, 74, 139, 199, 200]. Darüber hinaus wird die biologische Wirksamkeit - wie schon zuvor erläutert (s. Kap. 4.3.3, S. 154) - oftmals zusätzlich durch pharmakokinetische Faktoren (Zellpenetration) limitiert [28]. Aufgrund dessen fällt es generell schwer, einen Bezug zwischen den *in silico* berechneten Parametern und der zellbiologischen Aktivität zu finden. So konnten auch bei den im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexinen keine Gesetzmäßigkeiten zwischen der zellbiologischen Aktivität und den ermittelten Konformationen und LUMO-Energien festgestellt werden (s. Tab. 6.9, S. 234).

## 6.6 Bilanz der SPARTAN-Berechnungen

Zusammenfassend lassen sich die im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelten Befunde wie folgt kommentieren:

Für sämtliche Combilexine konnte gezeigt werden, dass sie die theoretischen Voraussetzungen für eine Bindung in der kleinen Rinne der DNA sowie eine Interkalation erfüllen:

- 1) Sie weisen alle eine sichelförmige Molekülgeometrie mit trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen auf.
- 2) Die Methylgruppen der Fünfringhetarene sind zur konvexen Molekülseite orientiert.
- 3) Die Radien der Curvature auf der konkaven Seite der Oligocarboxamid-Einheit stimmen mit dem der Leitstruktur Netropsin sehr gut überein.
- 4) Mit Ausnahme der *N*-terminalen amidischen NH- und CO-Funktion der Thiophen- und Thiazol-Derivate sind alle amidischen NH-Gruppen zur konkaven und Carbonylgruppen zur konvexen Molekülseite orientiert.
- 5) Die interkalierenden Grundgerüste am *N*-Terminus weisen alle Koplanarität und ein positives elektrostatisches Potential über dem chromophoren System auf.
- 6) Die LUMOs sind über dem interkalierenden Strukturelement am *N*-Terminus lokalisiert und befinden sich auf einem energetisch niedrigeren Niveau als die LUMO-Energien der als Elektronendonatoren bei Charge-Transfer-Komplexen mit der DNA fungierenden Purinbasen Guanin und Adenin.

Allerdings lieferten weder die simulierten Konformationen noch die ermittelten Grenzorbital-Energien oder Ladungsverteilungsmuster konkrete Hinweise zur Erklärung der experimentellen Befunde aus den DNA-Binde- und Zytotoxizitäts-Studien.

Für eine möglichst gute DNA Bindung der Combilexine ist die aliphatische Linkerlänge am *N*-Terminus, die infolge des induced-fit eine optimale Einpassung des interkalierenden Strukturelementes zwischen die gestapelten Basenpaare erlaubt, von entscheidender Bedeutung. Aufgrund der Berechnung der singulären Moleküle sowie der konformativen Flexibilität des aliphatischen Linkers konnten

jedoch keine Aussagen bezüglich der zur Gewährleistung eines dualen Bindungsmodus erforderlichen Anpassungsgeometrie im *N*-terminalen Bereich der Combilexine gemacht werden. Optimal hierzu wären Röntgenkristallstrukturen der DNA-Ligand-Komplexe.

Darüber hinaus sei angemerkt, dass bei den hier durchgeführten Berechnungen keine Informationen hinsichtlich der Verteilung der Grenzorbitale im EDA-Komplex selbst gewonnen werden konnten. Die richtige Distribution der Grenzorbitale im Molekülkomplex (Lokalisierung des HOMO beim Elektronendonator und des LUMO beim Elektronenakzeptor) ist jedoch ebenfalls eine essentielle Voraussetzung für die Ausbildung von Charge-Transfer-Wechselwirkungen <sup>[211, 216]</sup>. Auch fehlen Informationen über den Überlappungsgrad der beteiligten Grenzorbitale, die nach Mulliken <sup>[217]</sup> für die Beurteilung der Stärke einer Charge-Transfer-Wechselwirkung ausschlaggebend sind.

Die Rationalisierung der zellbiologischen Daten auf der Ebene von Struktur-betrachtungen ist ebenfalls nicht ohne weiteres möglich, da - wie unter 6.5, S. 236 erläutert - die Antitumoraktivität von DNA-Liganden nicht alleine auf eine Interaktion mit der DNA zurückzuführen ist und zudem von pharmakokinetischen Faktoren beeinflusst wird.

Dennoch konnten insbesondere in Bezug auf die Sequenzselektivität einige wertvolle Zusammenhänge abgeleitet werden:

- Im Gegensatz zur Kristallstruktur des Boc-geschützten Thiazolpyrrol-carboxamids **117** liegen die Thiazol-haltigen Verbindungen vermutlich in einer Sichelkonformation vor, in der der Schwefel des Thiazolrings zur konkaven Seite orientiert ist. Dies würde sowohl die z. T. sehr hohe DNA-Affinität als auch AT-Selektivität der Thiazolpyrrolcarboxamide erklären.
- Die Thiophen-, Thiazol- und Bispyrrolcarboxamide weisen ein positives elektrostatisches Potential auf der konkaven Molekülseite auf und binden daher bevorzugt an AT-reiche Sequenzen der DNA.
- Die Imidazol-Derivate besitzen einen negativen Ladungsschwerpunkt über den der konkaven Seite zugewandten Imidazol-N3-Atomen. Dies begünstigt vermutlich die zur Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA erwünschte Wechselwirkung mit der Guanin-NH<sub>2</sub>-Gruppe und

reduziert die Affinität zur elektronenreichen Minor Groove in AT-reichen Abschnitten der DNA.

Abschließend zu diesem Kapitel sei nochmals ausdrücklich betont, dass die hier durchgeführten Modellrechnungen (im Vakuum bei 0 K) nur anteilig die wahren Verhältnisse widerspiegeln.

## 7. <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Titration eines DNA-Oligonucleotids mit einer ausgewählten Combilexin-Testverbindung

### 7.1 Zielsetzung

Für ein möglichst zielgerichtetes „DNA-targeted-Drug“-Design ist das Verständnis über die zugrunde liegenden Interaktionen zwischen Ligand und DNA auf molekularer Ebene von entscheidender Bedeutung <sup>[219, 220]</sup>. Neben theoretischen Methoden (s. Kap. 6, S. 204) sind auch Experimente wertvoll, die in Lösung wahre Informationen über Ligand-DNA-Interaktionen liefern. Eine sehr leistungsfähige Methode, welche in den letzten Jahrzehnten auch zur Untersuchung von Ligand-DNA-Komplexen in Lösung eingesetzt wurde, stellt die hochauflösende <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie dar <sup>[219, 221]</sup>.

Anhand von Shifteffekten - insbesondere der tieffeldigen Resonanzsignale der DNA-Basen zwischen 12 und 14 ppm (Resonanzbereich der Iminoprotonen der Nucleobasen (Thymin-NH3 und Guanin-NH1, s. Abb. 1.18, S. 23) - die infolge der Titration einer wässrigen DNA-Lösung mit einer DNA-interagierenden Substanz resultieren, lassen sich Aussagen bezüglich des Bindungsmodus treffen <sup>[221]</sup>.

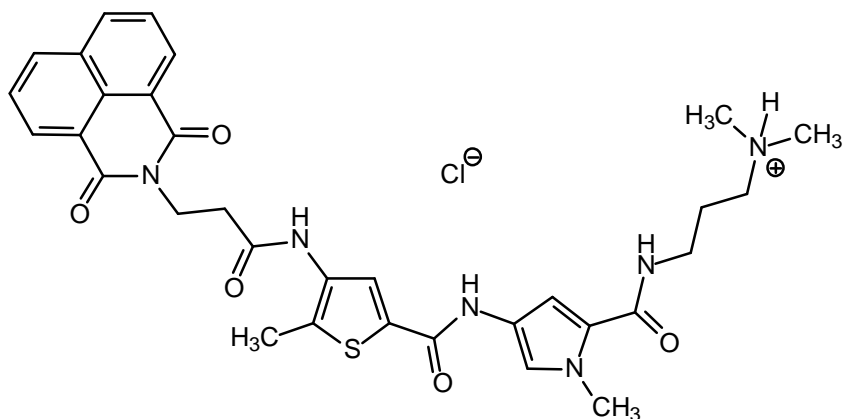
Während die durchweg koplanaren Interkalator-Strukturelemente aufgrund von Ringstromeffekten zu einem Hochfeldshift - oftmals assoziiert mit einer Signalverbreiterung - der Iminoprotonen der DNA-Basen führen, ist ein Shift in die entgegengesetzte Richtung in der Regel indikativ für Major oder Minor Groove Binding. Demgegenüber wird die chemische Verschiebung von Thymin-NH3 bzw. Guanin-NH1 durch Substanzen, die sich unspezifisch am Rückgrat der DNA anlagern, normalerweise nicht beeinflusst <sup>[221]</sup>.

Erfahren die Iminoprotonen der GC-Basenpaare (Guanin-NH1) dabei einen größeren Shift zu höherem bzw. tieferem Feld als die der AT-Basenpaare (Thymin-NH3), so ist davon auszugehen, dass die entsprechende Testverbindung eine Präferenz für GC-reiche Sequenzen der DNA besitzt. Im umgekehrten Falle hingegen ist auf eine AT-Selektivität zu schließen <sup>[221]</sup>.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte unter Ergänzung der durch die biochemischen/biophysikalischen Messungen erhaltenen Erkenntnisse bezüglich der DNA-Bindungsmodi erstmalig ein  $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsexperiment am Beispiel eines Oligonucleotids mit einem ausgewählten Combilexin dieser Arbeit durchgeführt werden. Aus den spektralen Veränderungen im tieffeldigen Resonanzbereich der DNA während der Titration könnten weitere, wertvolle Informationen über die Interaktionsbereiche der synthetisierten Hybridmoleküle an der DNA gewonnen werden.

## 7.2 Auswahl des Combilexins und eines geeigneten DNA-Oligonucleotids

Zur Durchführung des NMR-Experimentes wurde Verbindung **92** ausgewählt, für die in den DNA-Bindestudien sowohl eine ausgezeichnete DNA-Affinität als auch ein dualer Bindungsmodus zu verzeichnen war (s. Kap. 4.3.1, S. 143 ff.). Da die Titrationsen im Allgemeinen im wässrigen Milieu ( $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ -Mischungen) durchgeführt werden und sich die Salze im Vergleich zu den freien Basen durch eine bessere Wasserlöslichkeit auszeichnen, wurde Verbindung **92** in Form ihres Hydrochlorids eingesetzt (Herstellung s. Kap. 5.2, S. 176).

**92**

Als DNA-Komponente wurde das selbstkomplementäre, doppelsträngige Decanucleotid d(GCGAATTCGC) (Fa. Eurogentec S. A., Seraing, Belgien) verwendet. Diese Sequenz ist Bestandteil des für zahlreiche Röntgenkristallstrukturen und NMR-spektroskopische Untersuchungen des Netropsin-DNA-Komplexes eingesetzten Dodecanucleotids d(CGCGAATTCGCG) <sup>[64, 69, 222]</sup>.

Es wurde vermutet, dass sich die rinnenbindende Oligoamid-Einheit von Verbindung **92** - aufgrund der für die Thiophenpyrrolcarboxamide belegten AT-Selektivität (s. Kap. 4.3.1, S. 143 ff.) - in Analogie zur Leitstruktur Netropsin in der aus den zentralen vier AT-Basenpaaren gebildeten Minor Groove des Oligonucleotids anlagert <sup>[64, 69, 222]</sup> (s. Abb. 1.19, S. 24). Die flankierenden GC-Basenpaare sollten parallel hierzu die Interkalation des *N*-terminalen Naphthalimids gewährleisten, zumal für das 5-Nitronaphthalimid-Derivat Mitonafide **21** (s. Abb. 1.15, S. 18) im Rahmen eines <sup>1</sup>H-NMR-Titrationsexperimentes eine Interkalation mit Präferenz für GC-reiche Regionen nachgewiesen werden konnte <sup>[221]</sup>.

Vor diesem Hintergrund war davon auszugehen, dass es aufgrund des dualen Bindungsmodus während der Titration des Oligonucleotids mit **92** neben einem durch Minor Groove Binding verursachten Tieffeldshift der AT-Iminoprotonen (Thymin-NH<sub>3</sub>) zu einer auf Interkalation zurückzuführenden Hochfeldverschiebung der Iminoprotonen der GC-Basenpaare (Guanin-NH<sub>1</sub>) kommt.

### 7.3 Probenvorbereitung/Versuchsdurchführung

Die Durchführung einer <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Titration erfolgt immer nach folgender methodischer Verfahrensweise: eine konstante Menge Oligonucleotid wird üblicherweise bis zu einem DNA/Ligand-Verhältnis von 1:3 mit steigenden Mengen an Testsubstanz versetzt. Nach jeder Zugabe wird die Probe zur Äquilibration der Komplex-Bildung bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend NMR-spektroskopisch vermessen.

Die nachfolgend beschriebenen <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Messungen wurden an einem 400 MHz-Gerät der Fa. Bruker bei 294 K (Dipl. Chem. H. Kolshorn, Institut für Organische Chemie, Universität Mainz) durchgeführt. Die Wassersignale wurden unterdrückt.

Die in der Literatur aufgeführten Versuchsdurchführungen sind größtenteils nur sehr rudimentär beschrieben und daher schwer reproduzierbar. Auch fehlen häufig die Konzentrationsangaben der eingesetzten DNA-Menge bzw. variieren sehr stark (2 - 25 mM). Daher musste die Methode insbesondere in Bezug auf die Probenvorbereitung völlig neu etabliert werden.

Hierzu wurden zunächst unterschiedlich hoch konzentrierte Lösungen des Oligonucleotids in 700  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$  (6:1) hergestellt und anschließend vermessen. Es wurde festgestellt, dass eine Konzentration von 2.5 mM DNA (= 1.75  $\mu\text{mol}/700 \mu\text{l}$ ) für die mittels NMR erfassbare Nachweisgrenze ausreichend und damit für die Durchführung des Titrationsexperimentes geeignet ist.

Bei den Löslichkeitsversuchen der singulären Testsubstanz **92** kam es indessen trotz Einsatz des Hydrochlorids zu Löslichkeitsproblemen. Bereits bei einer Konzentration von 0.625 mM, die theoretisch einem DNA/Ligand-Verhältnis von nur 1:0.25 entspräche, flockte das Combilexin aus der als Solvens verwendeten  $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ -Mischung (6:1) aus. Aus diesem Grund wurde der  $\text{D}_2\text{O}$ -Anteil des Lösungsmittelgemischs vollständig durch  $\text{DMSO-d}^6$  ersetzt <sup>[219]</sup>. Unter Verwendung einer Stammlösung von **92** in  $\text{DMSO-d}^6$  (175 mM) sollte eine Konzentrationsreihe des singulären Liganden angesetzt werden. Die Konzentrationen wurden hierbei so gewählt, dass sie den für die spätere Titration geplanten DNA/Ligand-Verhältnissen 1:0.25, 1:0.5, 1:0.75, 1:1, 1:1.5, 1:2 und 1:3 entsprechen. Somit wurden 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20 und 30  $\mu\text{l}$  der Stammlösung (175 mM) zu je 700  $\mu\text{l}$  Solvens ( $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO-d}^6$  6:1) pipettiert. Bei den darauf folgenden NMR-Messungen der hergestellten Lösungen waren jedoch keine Resonanzsignale des Thiophenpyrrolcarboxamid-Derivates **92** sichtbar. Zudem war nach einigen Stunden eine deutliche Viskositätserhöhung der Proben zu beobachten, was in Zusammenhang mit den fehlenden Signalen im NMR-Spektrum auf eine Selbstaggregation von Verbindung **92** schließen lässt <sup>[201]</sup> (s. a. Kap. 4.3.3, S. 154 u. Kap. 5.2.2, S. 178).

Infolgedessen wurde die Versuchsdurchführung optimiert, indem der  $\text{DMSO-d}^6$ -Anteil des als Lösungsmittel eingesetzten  $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO-d}^6$ -Gemischs von 6:1 auf 5:2 erhöht und die Versuchsreihe wie zuvor beschrieben wiederholt wurde. Die NMR-spektroskopischen Messungen lieferten unabhängig von der Konzentration bei allen Proben deutliche und bezüglich der chemischen Verschiebung identische Signale des Liganden (Signalzuordnung analog Kap. 3.12, S. 124 und Kap. 10.3.25.2, S. 345).



Folglich wurde als Solvens für die Durchführung der Titration ein H<sub>2</sub>O/DMSO-d<sup>6</sup>-Lösungsmittelgemisch im Verhältnis 5:2 verwendet. Zur Herstellung der DNA-Probenlösung (2.5 mM) wurden 1.75 µmol Oligonucleotid in 700 µl Solvens gelöst. Diese wurde im Anschluss NMR-spektroskopisch vermessen. Die Zugabe der Stammlösung des Liganden in DMSO-d<sub>6</sub> (175 mM) erfolgte bis zu einem DNA/Ligand-Verhältnis von 1:1 in 2.5 µl (0.625 mM) Schritten (s. Tab. 7.1). Nach jeder Zugabe wurde die Probe 30 Minuten bei RT inkubiert und anschließend vermessen. Die weitere Erhöhung der Ligandkonzentration auf 3.75 mM führte jedoch zur Ausfällung des Liganden, weshalb das Experiment nicht bis zu einem DNA/Ligand-Verhältnis von 1:3 fortgeführt werden konnte.

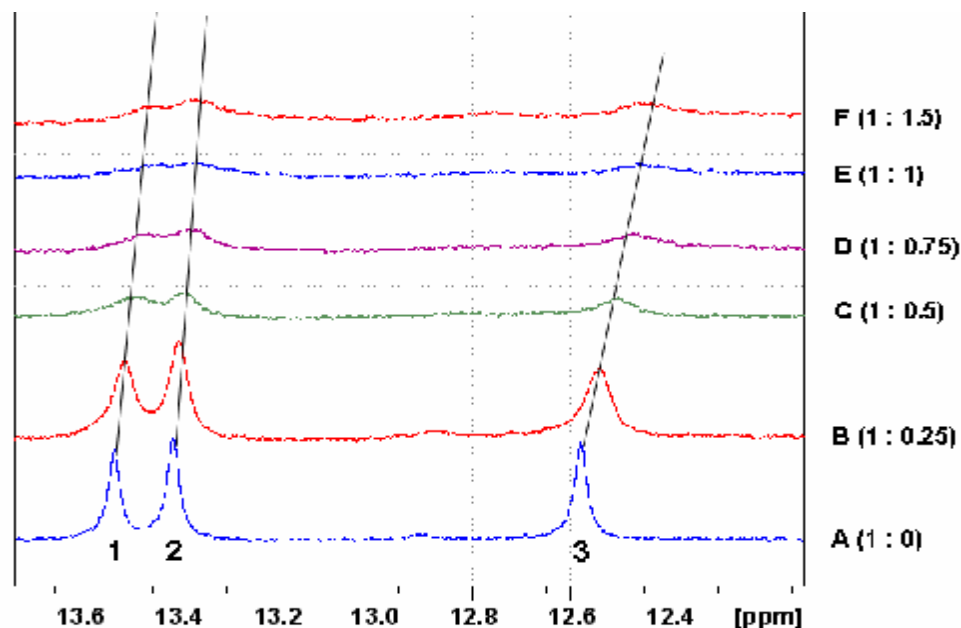
Probe	DNA [mM]	92 [mM]	DNA : Ligand
A	2.5	-	-
B	2.5	0.625	1 : 0.25
C	2.5	1.25	1 : 0.5
D	2.5	1.875	1 : 0.75
E	2.5	2.5	1 : 1
F	2.5	3.75	1 : 1.5

**Tab. 7.1:** Konzentrationsangaben des Oligonucleotids und des Combilexins **92** sowie die daraus resultierenden DNA/Ligand-Verhältnisse während des Titrationsexperimentes

## 7.4 Ergebnis des <sup>1</sup>H-NMR-Titrationsexperimentes

Trotz der Verwendung des relativ kurzen Decanucleotids war das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum im Bereich zwischen 1-8.5 ppm sehr komplex, weshalb hier weder eine Signalzuordnung des Liganden noch der DNA vorgenommen werden konnte. Insbesondere im aliphatischen Bereich gestaltete sich das Spektrum aufgrund der Überlagerung höchst komplizierter Spinsysteme der 2'-Desoxyribose sehr unübersichtlich <sup>[223, 224]</sup>.

Eindeutig zuzuordnen waren jedoch die Signale der H-Brücken-gebundenen Iminoprotonen der Watson-Crick-Basenpaare (Thymin-NH3:  $\delta = 13.53$  und  $13.41$  ppm, Guanin-NH1:  $\delta = 12.58$  ppm, s. Abb. 7.1 und Tab. 7.2 (Probe A)) im tieffeldigen Resonanzbereich <sup>[222]</sup>.



**Abb. 7.1:** Spektrale Veränderungen der Iminoprotonensignale ((1) + (2): Thymin-NH3, (3): Guanin-NH1) während der Titration

Probe (DNA : Ligand)	d (Thymin-NH3) (1)		d (Thymin-NH3) (2)		d (Guanin-NH1) (3)	
	[ppm]	[Hz]	[ppm]	[Hz]	[ppm]	[Hz]
A (1 : 0)	13.53	5417.6	13.41	5369.4	12.58	5036.9
B (1 : 0.25)	13.51	5408.4	13.40	5364.6	12.54	5022.3
C (1 : 0.5)	13.49	5406.0	13.38	5359.9	12.50	5006.9
D (1 : 0.75)	13.46	5391.7	13.37	5353.2	12.47	4993.5
E (1 : 1)	13.44	5383.8	13.36	5351.1	12.46	4990.3
F (1 : 1.5)	13.44	5383.8	13.36	5351.1	12.46	4990.3
Dd	0.09	33.8	0.05	18.3	0.12	46.6

**Tab. 7.2:** Hochfeldverschiebungen ([ppm] und [Hz]) der Iminoprotonensignale des Oligonucleotids im Verlauf der Titration;  $\Delta\delta$  = Differenz des maximalen Shifteffekts

Allerdings deutete die unerwarteterweise während der Titration zu beobachtende Viskositätssteigerung der Messlösung sowie das Ausflocken der Testsubstanz ab einem DNA/Ligand-Verhältnis von 1:1 wiederum auf eine Selbstaggregation des Liganden mit steigender Konzentration hin. Die zu beobachtenden Shifffeffekte der Iminoprotonen waren folglich - wie aus Tabelle 7.2, S. 245 hervorgeht - nur relativ schwach ausgeprägt ( $\Delta\delta = 0.05-0.12$  ppm) und stagnierten ab einem Konzentrationsverhältnis von 1:1. Im Vergleich dazu sind in der Literatur für einige interkalierenden Substanzen Hochfeldverschiebungen von bis zu 1 ppm beschrieben <sup>[221]</sup>.

Dennoch lässt der schwache Hochfeldshift, der bis zu einem DNA/Ligand-Verhältnis von 1:1 sowohl für die Iminoprotonen der AT- als auch die der GC-Basenpaare zu registrieren war (s. Abb. 7.1 und Tab. 7.2, S. 245), zusammen mit der deutlichen Signalverbreiterung während der Titration auf eine Interkalation von Verbindung **92** schließen <sup>[221]</sup>. Darüber hinaus weist die geringfügig stärker ausgeprägte Hochfeldverschiebung der Guanin-NH1-Protonen ( $\Delta\delta = 0.12$  ppm) zumindest andeutungsweise auf eine GC-Selektivität der interkalierenden Partialstruktur hin.

Die hierbei durch den Interkalator induzierten Ringstromeffekte wirken sich nicht nur auf die DNA-Basen der Interkalationskavität sondern ebenfalls - wenn auch in abgemildeter Form - auf die unmittelbar zu diesen benachbarten Nucleobasenpaare aus <sup>[221]</sup>. Dies würde erklären, warum neben dem Hochfeldshift der Iminoprotonen der GC-Basenpaare des verwendeten Oligonucleotids d(GCGAATTCGC) auch eine schwache Hochfeldverschiebung der Iminoprotonen der von ihnen flankierten AT-Basenpaare auftritt. Die durch Interkalatoren hervorgerufenen Shifffeffekte sind darüber hinaus zumeist größer als diejenigen rinnenbindender Substanzen <sup>[221]</sup>. Es wäre daher denkbar, dass der - durch die Rinnenbindung des Thiophenpyrrolcarboxamid-Gerüsts an der zentralen AATT-Sequenz - erwartete Tieffeldshift der Thymin-NH3-Protonen durch die gleichzeitige Interkalation des Naphthalimids zwischen die benachbarten GC-Basenpaare zu einer Hochfeldverschiebung „überkompensiert“ wird.

Die starke Linienverbreiterung sowie die Intensitätsabnahme der Iminoprotonenresonanzsignale während der Titration könnten ein Hinweis darauf sein, dass Verbindung **92**, unter den hier durchgeführten Reaktionsbedingungen, eine relativ lange Verweilzeit an der DNA besitzt. Für die Bindungskinetik solcher Verbindungen gilt nach Feigon die folgende Beziehung <sup>[221]</sup>:

$$t > [\pi(\nu_A - \nu_B)]^{-1}$$

wobei  $t$  die Verweilzeit des Liganden an seiner Bindungsstelle in Sekunden [s] ist und  $\nu_A - \nu_B$  der Durchschnittswert der maximalen Shifffekte in Hertz [Hz]. Setzt man den für Verbindung **92** errechneten Durchschnittswert in die angegebene Formel ein (= 32.9 Hz, s. Tab. 7.2, S. 245) so erhält man:  $t > 9.68$  ms. Für Substanzen, die im Rahmen der NMR-Zeitskala eine kurze Verweilzeit an der DNA besitzen, ist  $t$  in der Regel  $< 1$  ms<sup>[221]</sup>.

Die beschriebene Linienverbreiterung könnte jedoch auch auf die bereits zuvor erwähnte Viskositätserhöhung der Messlösung und die damit einhergehende Verminderung der transversalen Relaxationszeit  $T_2$  der Kerne zurückzuführen sein<sup>[185]</sup>. Aber auch intermolekulare Austauschphänomene dürften hierfür eine Rolle spielen. So zeigen die Iminoprotonen, die sehr raschen Austauschprozessen ( $\sim 200$ /Sekunde) mit den Lösungsmittelprotonen unterliegen, ein wesentlich breiteres Signal<sup>[221]</sup>.

## 7.5 Bilanz des <sup>1</sup>H-NMR-Titrationsexperimentes

Obwohl es im Zuge der Titration - vermutlich bedingt durch die Neigung der Testsubstanz zur Selbstaggregation - zu relativ schwachen Shifffekten kam, konnte für das Combilexin **92** eine auf Interkalation hinweisende Hochfeldverschiebung der Iminoprotonen des Oligonucleotids registriert werden. Der bei den Iminoprotonen der GC-Basenpaare etwas stärker ausgeprägte Shift deutete zudem auf eine favorisierte Interkalation zwischen die GC-Nukleobasen hin. Konkrete Hinweise auf Minor Groove Binding waren den Spektren nicht zu entnehmen. Es bleibt jedoch zu vermuten, dass der normalerweise für Minor Groove Binder charakteristische Tieffeldshift der Iminoprotonen, wie eingangs beschrieben (s. Kap. 7.4, S. 246), durch die gleichzeitige Interkalation des Naphthalimids kompensiert wird, zumal für das Naphthalimid-gekoppelte Thiophenpyrrolcarboxamid **92** neben einer Interkalation (Unwinding im TOPO-I-Relaxations-Assay) anhand des positiven Circular dichroismus eine Bindung in der kleinen Rinne eindeutig belegt wurde (s. Kap. 4.3.1, S. 146).

Darüber hinaus sind die NMR-Spektren bei Titrationsen mit Substanzen, die einen dualen Bindungsmodus aufweisen, generell sehr schwierig zu interpretieren<sup>[221]</sup>.

Wenngleich die Ergebnisse des hier durchgeführten Titrationsexperimentes keine weiterführenden Erkenntnisse bezüglich der Interaktion von **92** mit der DNA auf molekularer Ebene lieferten, so bestätigen sie die zuvor ermittelten Resultate der biophysikalischen und biochemischen DNA-Bindestudien nachhaltig (s. Kap. 4.3.1, S. 143 ff.). Auch die mit der Verbreiterung und Intensitätsabnahme der Imino-protonensignale begründete Annahme einer langen Verweilzeit von Verbindung **92** an der DNA ( $t > 9.68$  ms) wird durch die für diese Substanz gezeigte, hohe DNA-Affinität ( $\Delta T_m$ -Wert = 22.6 °C) untermauert.

Durch eine weitere Optimierung der Versuchsbedingungen (Lösungsmittel, Inkubationszeit, Temperatur) könnte die hier etablierte Methode möglicherweise zur Charakterisierung des Bindungsmodus der Combilexine herangezogen werden. Insbesondere zum Nachweis der mittels Circular dichroismus nur schwer erfassbaren Interkalation der Hybridmoleküle (s. Kap. 4.1.3, S. 130 f.) sollte die <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopische Titration ein vielversprechendes, ergänzendes Verfahren darstellen.

Für eine genauere Aufklärung der Interaktionsbereiche wären jedoch weitere Untersuchungen wie z. B. zweidimensionale (2D) <sup>1</sup>H-NMR-Verfahren nötig, die eine Zuordnung sämtlicher Protonensignale des Liganden und des Targets erlauben (z. B. 2D-COSY, 2D-TOCSY) und mit deren Hilfe die räumliche Nachbarschaft der Kerne festgestellt und folglich eine exakte Abstandsanalytik durchgeführt werden könnte (z. B. 2D-NOESY, 2D-ROESY). Aus <sup>31</sup>P-NMR-Untersuchungen wären zusätzlich wichtige Informationen über die konformativen Veränderungen im Rückgrat der DNA (s. a. Kap. 1.3, S. 7 ff.) zu gewinnen<sup>[95, 220]</sup>. Die auf diese Weise ermittelten Datensätze könnten in die Berechnung der DNA-Ligand-Komplexe - z. B. mittels Moleküldynamik-Simulation (MD) - mit einbezogen werden. Der größte Informationsgehalt würde jedoch nach wie vor aus einer gut aufgelösten Röntgenkristallstruktur eines Combilexin-DNA-Komplexes resultieren.

## 8. Docking-Experiment einer ausgewählten Testverbindung

### 8.1 Zielsetzung

*In silico* Simulationen von DNA-Ligand-Komplexen (Docking-Experimente) sind in den vergangenen Jahren ein sehr beliebtes Werkzeug zur Untersuchung von DNA-Ligand-Interaktionen geworden und aus der heutigen Arzneimittelforschung hinsichtlich Leitstruktur-Suche und -Optimierung nicht mehr wegzudenken<sup>[75, 133]</sup>.

Da auch anhand des erstmals am Beispiel von Verbindung **92** durchgeführten <sup>1</sup>H-NMR-Titrationsexperimentes kein zusätzlicher molekularer Informationsgewinn bezüglich der Wechselwirkungen zwischen DNA und Testsubstanz erzielt wurde (s. Kap. 7, S. 240 ff.) sowie mangels Röntgenkristallstrukturen der DNA-Combilexin-Komplexe sollte mithilfe eines im Arbeitskreis Pindur durchgeführten Docking-Experimentes<sup>[131]</sup> mit dem Programm ICM-PRO<sup>[225, 226]</sup> ein rationales DNA-Bindungs-Modell des Naphthalimidpropionyl-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamids **92** (s. Kap. 7.2, S. 241) auf molekularer Ebene berechnet und visualisiert werden. Darüber hinaus sollte untersucht werden, inwiefern das Hybridmolekül infolge der Komplexbildung einem induced-fit unterliegt.

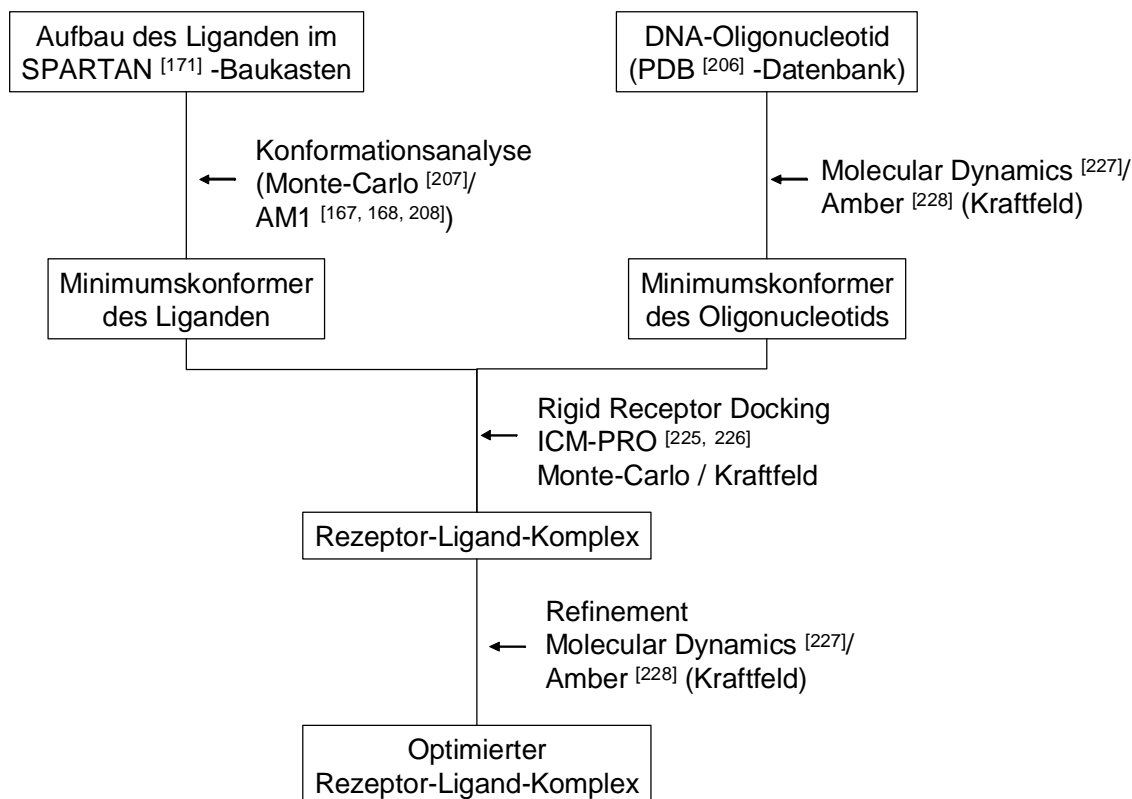
### 8.2 Durchführung des Docking-Experimentes<sup>[131]</sup>

In dem zur Durchführung des Docking-Experimentes verwendeten Programm ICM-PRO<sup>[225, 226]</sup> erfolgt die *in silico* Simulation der Target-Ligand-Komplexe nach dem sogenannten *Rigid Receptor Docking*-Verfahren (nur der Ligand ist flexibel, der Rezeptor bleibt starr). Die zur Interkalation des *N*-terminalen Naphthalimids von Verbindung **92** erforderliche Ausbildung einer Kavität zwischen den DNA-Basen (s. Kap. 1.3, S. 7) kann folglich nicht während des Dockings stattfinden. Infolgedessen musste die als Target eingesetzte Kristallstruktur des entsprechenden Oligonucleotids eine Interkalationskavität aufweisen, was die Suche nach einem Rezeptor mit

geeigneter Sequenz relativ schwierig gestaltete. Nach intensiver Recherche in der PDB-Datenbank <sup>[206]</sup> wurde das Undecamer d(GCGA[Interkalationskavität]ATTCGCG) mit dem PDB-Code 1G3X <sup>[229]</sup> ausgewählt.

Abbildung 8.1, S. 251 zeigt die methodische Vorgehensweise des Docking-Experimentes. Zunächst wurde die Kristallstruktur des DNA-Oligonucleotids in dem Programm HYPERCHEM RELEASE <sup>[212]</sup> mittels Molecular Dynamics Simulation <sup>[227]</sup> unter Anwendung der Kraftfeld-Methode AMBER <sup>[228]</sup> energieminiert. Der Aufbau sowie die Berechnung eines energetisch günstigen lokalen Konformers des Liganden **92** erfolgte parallel hierzu im Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> (s. Kap. 6.5, S. 224 u. Tab. 6.7, S. 226). Da die tertiäre Aminfunktion der C-terminalen Seitenkette der Lexitropsine bei physiologischem pH-Wert protoniert vorliegt (s. Kap. 2.2.1, S. 48), wurde Verbindung **92** in kationischer Form als Ligand eingesetzt (s. S. 241). Nach Transfer der separat ermittelten Minimumskonformation des Liganden und des Rezeptors in das Programm ICM-PRO <sup>[225, 226]</sup> schloss sich der Docking-Prozess mit dem programmspezifischen, implementierten Algorithmus <sup>[226]</sup> an. Hierbei erfolgt die konformative Anpassung des Liganden an seine Bindungssequenz nach einem Monte-Carlo-Verfahren. Im Anschluss wird zur Bewertung des gebildeten Komplexes mithilfe der sogenannten *Scoring*-Funktion die Komplexbildungsenergie über eine Kraftfeld-Methode berechnet <sup>[226]</sup>.

Im letzten Schritt wurde der gedockte Komplex im Programm HYPERCHEM RELEASE <sup>[212]</sup> zur Optimierung der Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen einer Molecular Dynamics-Berechnung <sup>[227]</sup> mit dem Nucleinsäuren-parametrisierten Kraftfeld AMBER <sup>[228]</sup> (sog. *Refinement*) unterzogen. Im Gegensatz zu dem in ICM-PRO <sup>[225, 226]</sup> durchgeführten Docking-Experiment sind bei diesem Refinement sowohl der Ligand als auch der Rezeptor flexibel.



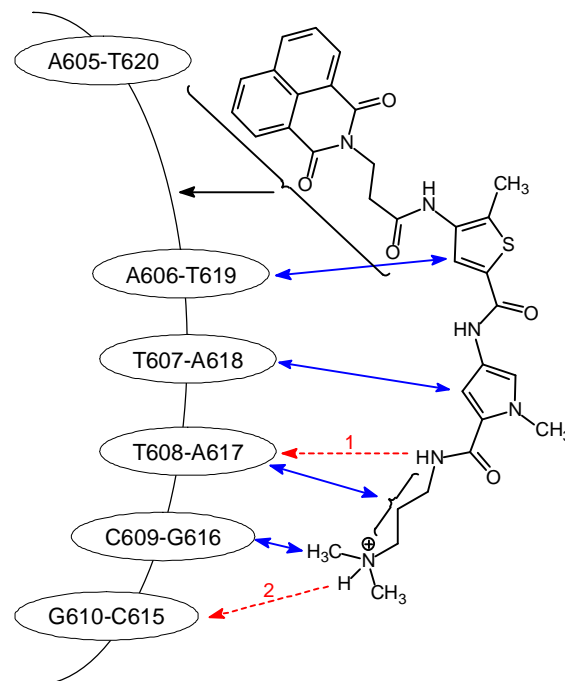
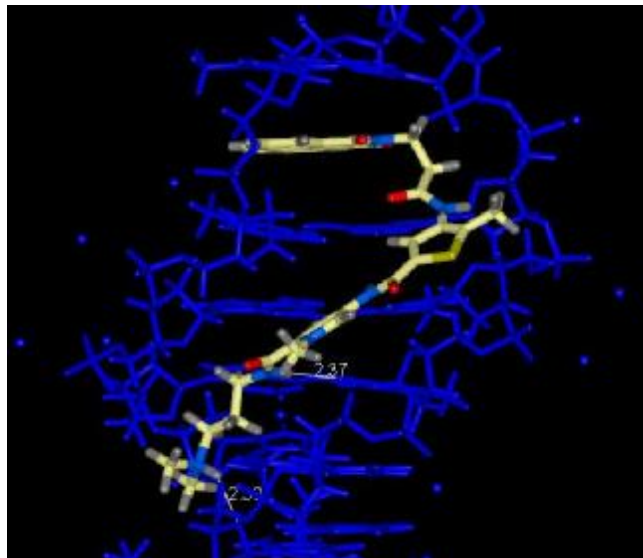
**Abb. 8.1:** Schematische Darstellung der Durchführung des Docking-Experimentes

### 8.3 Ergebnis des Docking-Experimentes

Wie Abbildung 8.2, S. 252 verdeutlicht, bindet das Combilexin **92** an eine sechs Basenpaare (d(A[Interkalationskavität]ATTCG)) umfassende Sequenz. Während sich das *N*-terminale, interkalierende Strukturelement nahezu parallel zur Basenpaar-Trajektorie in der Interkalationskavität zwischen den beiden AT-Basenpaaren einlagert, passt sich die Thiophenpyrrolcarboxamid-Einheit exakt an die Topologie der Minor Groove an. Hierdurch wird die Ausbildung enger van der Waals-Kontakte zwischen den CH-Gruppen der beiden Fünfringhetarene sowie den Methyl- und Methyl-Gruppe(n) der Propylendiamin-Funktion des Liganden und den Adenin-C2-Atomen bzw. Amino-Gruppen der Guanin-Basen ermöglicht (blaue Pfeile). Zusätzlich tragen zwei H-Brücken zwischen den als Donatoren fungierenden NH-Funktionen der C-terminalen Seitenkette und Thymin(608)-O2 sowie dem Desoxyribose-Ring-



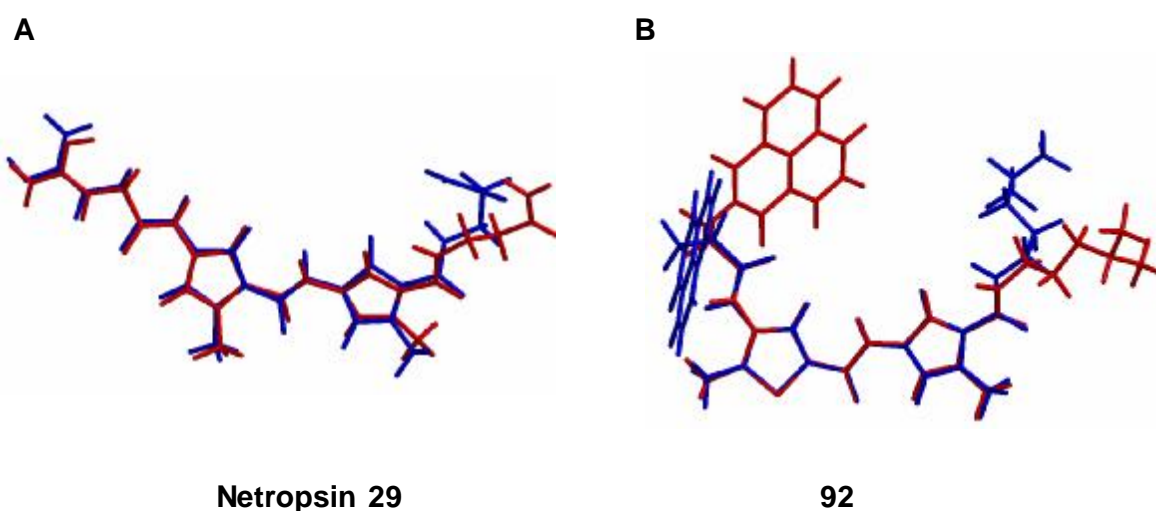
sauerstoff-O4\* des Guanosins (610) als Akzeptoren zur Positionierung des Lexitropsins **92** bei (rote Pfeile).



**Abb. 8.2:** links: in ICM-PRO <sup>[225, 226]</sup> simulierter Komplex von Verbindung **92** an das Oligonucleotid (blau) mit der Sequenz d(GCGAATTCGCG); Blick auf die kleine Rinne mit Blickrichtung senkrecht zur DNA-Helixachse; die unmittelbar nach dem Docking in ICM-PRO <sup>[225, 226]</sup> ermittelte Komplexbildungsenergie beträgt -110.7 kcal/mol ( $\Delta E(\text{Kräftefeld}^{\text{[226]}})$ )  
rechts: Schematische Darstellung der Interaktionen zwischen **92** und den DNA-Basen der Bindungssequenz; blauer Doppelpfeil: van der Waals-Interaktionen mit Atomabständen von 2-4 Å; rot-gestrichelter Pfeil: H-Brücke 1 mit Thymin(608)-O2 als Akzeptor und H-Brücke 2 mit Guanosin(610)-O4\* als Akzeptor; schwarzer Pfeil: Strukturelemente des Liganden, die in der Interkalationskavität zwischen A605-T620 und A606-T619 eingelagert sind

Die nach dem Refinement des gedockten Komplexes in HYPERCHEM <sup>[212]</sup> ermittelte Komplexbildungsenergie beträgt -83.6 kcal/mol ( $\Delta E(\text{Kräftefeld AMBER}^{\text{[228]}})$ ). Wenngleich dieser absolute Energiewert keine konkreten Aussagen zulässt, so können jedoch anhand der Zusammensetzung von  $\Delta E$  sehr interessante Informationen gewonnen werden. Demgemäß liefern die elektrostatischen Wechselwirkungen mit -11.69 kcal/mol (14 % von  $\Delta E$ ) und die Wasserstoffbrücken mit -0.37 kcal/mol (0.004 % von

$\Delta E$ ) nur einen sehr geringen Beitrag zum Gesamtbetrag der Komplexbildungsenergie. Der größte Energiegewinn (-71.51 kcal/mol = 86 % von  $\Delta E$ ) resultiert hingegen aus den engen van der Waals-Interaktionen zwischen Ligand und Target. Um zu überprüfen, ob die Testsubstanz **92** infolge der Komplexbildung einem der Leitstruktur Netropsin **29** (s. Abb. 1.17, S. 22) ähnlichen induced-fit-Effekt unterliegt, wurden die Kristallstruktur des Netropsins ohne DNA <sup>[132]</sup> sowie die in SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelte Minimumskonformation von Verbindung **92** (Monte-Carlo <sup>[207]</sup> / AM1 <sup>[167, 168, 208]</sup>) mit den entsprechenden DNA-Bindegeometrien der Moleküle superpositioniert (s. Abb. 8.3).



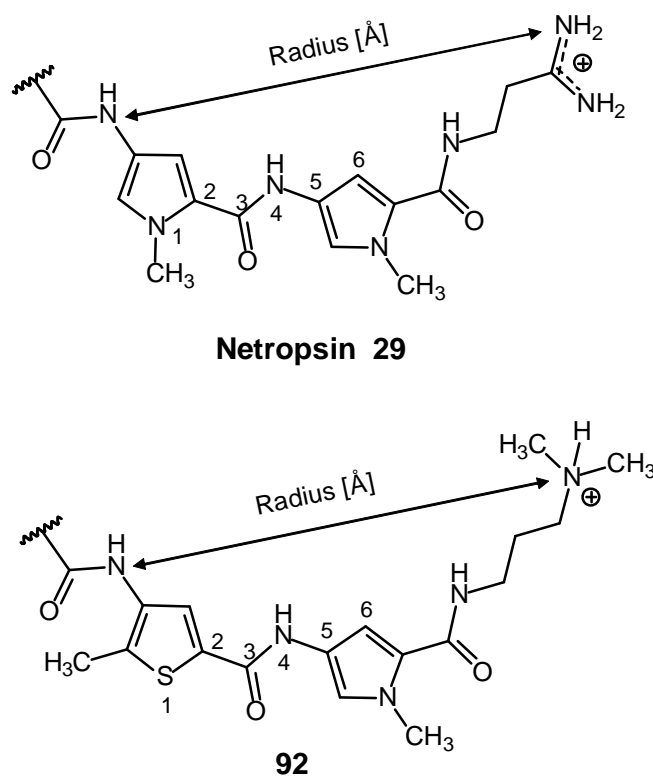
**Abb. 8.3:** **A:** Superpositionierung der Kristallstruktur des singulären Netropsins (ohne DNA) <sup>[132]</sup> (blau) und der DNA-Bindegeometrie aus der Röntgenkristallstruktur des Netropsins gebunden an das Oligonucleotid mit der Sequenz d(CGCGAATTCGCG) <sup>[64]</sup> (rot)  
**B:** Superpositionierung der zum Docking eingesetzten, in SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelten Minimumskonformation (Monte-Carlo <sup>[207]</sup> / AM1 <sup>[167, 168, 208]</sup>) von Verbindung **92** (blau) und der DNA-Bindegeometrie aus dem in ICM-PRO <sup>[225, 226]</sup> gedockten Komplex (rot)  
 Die Superpositionierung wurde mit dem Programm SPARTAN <sup>[171]</sup> durchgeführt.

Bei beiden Verbindungen führt die Rezeptor-induzierte Konformationsänderung der C-terminalen Seitenkettenfunktion zu einer für die Anpassung an die Minor Groove erforderlichen Aufweitung der Curvature der rinnenbindenden Oligoamid-Einheit. Dies konnte zudem anhand in SPARTAN <sup>[171]</sup> durchgeführter Abstandsmessungen auf der konkaven Molekülseite der rinnenbindenden Strukturelemente verdeutlicht werden (s. Abb. 8.4, S. 254 und Tab. 8.1, S. 255). Sowohl für Netropsin als auch das

Thiophenpyrrolcarboxamid **92** ist infolge der Bindung an ihr Target eine signifikante und nahezu identische Zunahme der Radien der Curvature auf der konkaven Molekülseite zu verzeichnen.

Erwartungsgemäß tritt bei dem Hybridmolekül **92** zusätzlich ein sehr ausgeprägter induced-fit innerhalb des aliphatischen Linkers am *N*-Terminus auf (s. Abb. 8.3, S. 253), um eine optimale Einpassung des Naphthalimids in die Interkalationskavität zu ermöglichen.

Darüber hinaus wurden sowohl bei den singulären, DNA-ungebundenen Konformationen als auch den entsprechenden DNA-Bindegeometrien des Netropsins und des Thiophenpyrrolcarboxamids **92** die Torsionswinkel ( $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ ) der die beiden Fünfringhetarene verknüpfenden Bindungen gemessen (s. Abb. 8.4 und Tab. 8.1, S. 255). Deren Summation liefert den Winkel  $\delta$ , der die relative Lage der beiden Hetarene zueinander beschreibt.



**Abb. 8.4:** Bezifferung der für die Winkelmessungen herangezogenen Atome und schematische Darstellung der zur Ermittlung der Radien der Curvature auf der konkaven Molekülseite durchgeführten Abstandsmessungen. Die Winkel- und Abstandsmessungen wurden in dem Programm SPARTAN<sup>[171]</sup> vorgenommen.

<b>Netropsin</b>		
Winkel	Kristallstruktur ohne DNA <sup>[132]</sup>	Bindegeometrie aus der Kristallstruktur mit DNA <sup>[64]</sup>
$\alpha$ 1 $\angle = \text{N1-C2-C3-N4}$	26°	19°
$\beta$ 1 $\angle = \text{C2-C3-N4-C5}$	-4°	-2°
$\gamma$ 1 $\angle = \text{C3-N4-C5-C6}$	-2°	16°
$\delta$ 1 $\angle = \Sigma \alpha$ 1, $\beta$ 1, $\gamma$ 1	20°	33°
Radius [Å]	10.8	14.8
<b>92</b>		
Winkel	In SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelte Minimumskonformation (ohne DNA)	DNA-Bindegeometrie aus dem gedockten Komplex
$\alpha$ 2 $\angle = \text{S1-C2-C3-N4}$	19.9°	23°
$\beta$ 2 $\angle = \text{C2-C3-N4-C5}$	-1.5°	-5.8°
$\gamma$ 2 $\angle \text{C3-N4-C5-C6}$	3.2°	-1.1°
$\delta$ 2 $\angle = \Sigma \alpha$ 2, $\beta$ 2, $\gamma$ 2	21.6°	16.1°
Radius [Å]	10.2	14.9

**Tab. 8.1:** Gegenüberstellung der in SPARTAN <sup>[171]</sup> ermittelten Torsionswinkel und Radien der im ungebundenen Zustand vorliegenden Konformationen und der DNA-Bindegeometrien des Netropsins **29** und des Naphthalimid-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamids **92**. Zur Atombezeichnung und Radienermittlung siehe Abb. 8.4, S. 254.

Wie bereits in Kapitel 1.4, S. 24 erläutert wurde, nimmt das Netropsin bei der DNA-Bindung in der kleinen Rinne eine isohelicale Konformation an, in der die beiden Pyrrolringe etwas stärker gegeneinander verdreht sind (s. Abb. 8.3, S. 253). Die vorgenommenen Winkelmessungen belegen, dass der natürliche „Twist“ zwischen den beiden Pyrrolringen des Netropsins im ungebundenen Zustand ( $\delta 1 = 20^\circ$ ) insbesondere aufgrund der infolge des induced-fit-Effektes verursachten Drehung um die N4-C5-Bindung ( $\gamma 1$ ) verstärkt wird ( $\delta 1(\text{Bindegeometrie}) = 33^\circ$ , s. Kap. 1.4, S. 24)<sup>[64]</sup>. Eine vergleichbar starke, auf die DNA-Bindung zurückzuführende Rotation einer der die beiden Fünfringhetarene des Combilexins **92** verknüpfenden Bindungen war nach den Docking-Experimenten jedoch nicht zu beobachten.

## 8.4 Bilanz des Docking-Experimentes

Mithilfe des erfolgreich durchgeführten Docking-Experimentes ist es gelungen, ein rationales DNA-Bindungs-Modell einer im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Testverbindung an das Oligonucleotid d(GCGAATTCGCG) zu visualisieren. Es wurde gezeigt, dass das als Ligand eingesetzte Naphthalimidpropionyl-gekoppelte Thiophenpyrrolcarboxamid **92** an eine Sequenz von sechs Basenpaaren (AATTCG) bindet. Während sich das chromophore Strukturelement am *N*-Terminus hierbei in die zwischen zwei AT-Basenpaaren lokalisierte Interkalationskavität einschleibt, lagert sich die Thiophenpyrrolcarboxamid-Einheit in der Minor Groove an. Die optimale Anpassung an den Rezeptor wird insbesondere durch die infolge eines induced-fit-Effektes zu beobachtende Konformationsänderung der C-terminalen Propylendiamin-Seitenkette sowie des aliphatischen Linkers am *N*-Terminus gewährleistet. Hierdurch wird die Ausbildung zweier H-Brücken, elektrostatischer sowie enger van der Waals-Wechselwirkungen zwischen Ligand und Target ermöglicht, wobei letztere den größten Beitrag zum Gesamtbetrag der Komplexbildungsenergie liefern.

Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass die hier durchgeführte Modellrechnung nicht die Bedingungen im physiologischen Milieu widerspiegelt und folglich nicht unbedingt ein Abbild der Realität liefert. So musste aufgrund der begrenzten Kapazität der zur Verfügung stehenden Hardware auf die Einbeziehung von Wasser verzichtet werden.

Hydrophobe Wechselwirkungen und entropische Faktoren, die sich infolge der mit der Komplexbildung einhergehenden Verdrängung von Wassermolekülen ergeben (s. Kap. 1.3, S. 7 und Kap. 1.4, S. 21), bleiben somit unberücksichtigt. Darüber hinaus war aufgrund der Unbeweglichkeit des Oligonucleotids während des Docking-Vorgangs nur dem Liganden **92** die Möglichkeit gegeben, sich konformativ anzupassen.

## 9. Zusammenfassung und Ausblick

Die DNA stellt aufgrund des wachsenden Verständnisses über die der Kanzerogenese zugrunde liegenden molekularen Modifikationen auf der Genebene, die sich als Mutationen der DNA manifestieren, nach wie vor ein überaus attraktives Target für das Design antitumoraktiver Zytostatika dar. Diese lassen sich anhand ihres Bindungsmodus in folgender Weise differenzieren: unspezifisch am Rückgrat der DNA bindende Liganden, kovalent bindende Alkylanzien, Interkalatoren und Rinnenbinder (Major/Minor Groove Binder).

Vor dem Hintergrund mithilfe sogenannter „gene-sequence-targeted-drugs“ selektiv die Transkription defekter Gene zu unterbinden, wurden in Anlehnung an die beiden antitumoral wirksamen Naturstoffe Netropsin **29** und Distamycin A **30** - AT-selektive Minor Groove Binder mit Oligopyrrolcarboxamid-Grundstruktur - zahlreiche *Lexitrop-sine* (lat. legere = lesen) entwickelt. Hierunter versteht man Netropsin und Distamycin A analoge Verbindungen, die in der Lage sind, bestimmte Sequenzen der DNA zu erkennen („lesen“). So kann durch den bioisosteren Austausch eines Pyrrolrings der Oligoamid-Einheit durch z. B. Imidazol, Thiazol oder Furan auch eine Präferenz für GC-reiche Sequenzen erzielt werden. Um eine Weiterentwicklung handelt es sich bei den sogenannten *Hybridmolekülen*. Diese bestehen aus einem sequenzspezifisch bindenden Minor Groove Binder, der in der Regel kovalent mit einem Interkalator (sog. *Combilexine*) oder Alkylanz (sog. *DNA-targeted alkylator*) verbunden ist.

Eine weitere Klasse hoch sequenzselektiver DNA-Liganden stellen die möglicherweise als Antisense- oder Antigen-Oligomere einsetzbaren Peptide Nucleic Acids (PNAs) dar. Hierbei handelt es sich um DNA-Mimetika, in denen das Zucker-Phosphat-Rückgrat durch eine *N*-(2-Aminoethyl)glycin-Polyamidkette substituiert wurde.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte aufbauend auf die Naturstoff-Leitsubstanz Netropsin **29** das Design und die Synthese neuer Hybridmoleküle als potentielle, sequenzselektive DNA-Liganden mit zytotoxischer Aktivität verfolgt werden. Neben der in Anlehnung an die Studien von Keuser<sup>[125]</sup> geplanten Darstellung *N*-terminal Thymin-funktionalisierter Pyrrolcarboxamide bestand ein wesentlicher und zudem völlig neuer Aspekt der vorliegenden Arbeit im systematischen Aufbau bioisosterer Combi-

lexine, bestehend aus einem interkalierenden Strukturelement (Acridon, Naphthalimid, 5-Nitronaphthalimid, Anthrachinon, 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol) und Thiophenpyrrol-, Imidazolpyrrol-, Thiazolpyrrol- sowie Bisimidazolcarboxamiden. Da die hierzu in der Literatur beschriebenen Analog-Verfahren größtenteils nicht reproduzierbar waren bzw. zu einer nur unzureichenden Ausbeute führten, mussten die Synthesen von Grund auf *de-novo* erarbeitet und optimiert werden. Anhand biophysikalischer/biochemischer, zellbiologischer und physikochemischer (<sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischer und röntgenstrukturanalytischer) Methoden sowie quantenchemischer Rechnungen sollten erstmals bezüglich der DNA-Bindung, der Topoisomerase-Hemmung und der Antitumor-Zellzytotoxizität in einem breiten Rahmen vororientierende Struktur-Wirkungsbeziehungen an bioisosteren Liganden erstellt werden. Abschließend sollte zur Visualisierung eines rationalen DNA-Bindungs-Modells auf molekularer Ebene am Beispiel eines ausgewählten Combilexins ein Docking-Experiment durchgeführt werden.

Um die in Keuser`s Arbeiten <sup>[125, 126]</sup> noch unzureichende Strukturserie Nucleobasen (Thymin, Adenin und Uracil)-*N*-terminal gekoppelter Pyrrolcarboxamide bezüglich der Linkerlängen-Variation zwischen Pyrrol- und Nucleobasen-Baustein zu vervollständigen, erfolgte im ersten Teil dieser Arbeit zunächst der systematische Aufbau *N*-terminal Thymin-funktionalisierter Mono- bzw. Bispyrrolcarboxamide mit C<sub>2</sub>- und C<sub>6</sub>-Linker. Hierzu wurden die Thyminessig- bzw. -hexansäure - letztere war im Gegensatz zur Thyminessigsäure nicht kommerziell erhältlich und wurde durch regioselektive *N*-1-Alkylierung des Thymins mit 6-Bromhexansäureethylester und anschließende Hydrolyse hergestellt - mithilfe eines geeigneten Amidkupplungsverfahrens (Chlorameisensäureethylester- bzw. DCC/HOBt-Methode) an die zuvor durch Reduktion der entsprechenden Nitropyrrolcarboxamide erhaltenen Amin-Derivate geknüpft. Die zugehörigen Nitropyrrolcarboxamide waren durch Optimierung der von Hotzel <sup>[122]</sup> und Keuser <sup>[125]</sup> bereits angewendeten Methode nach Nishiwaki und Shibuya <sup>[136]</sup> gut zugänglich. Es wurde vermutet, dass es bei dieser Serie von Hybridmolekülen neben der AT-selektiven Bindung der Oligopyrrolcarboxamid-Einheit in der Minor Groove zusätzlich - ähnlich wie bei den PNAs - über die Ausbildung von Hoogsten-Basenpaarungen in der großen Rinne zu einer weiteren Erhöhung der Sequenzselektivität kommt und auf diese Weise die Störung des physiologischen DNA-Metabolismus und folglich die Zytotoxizität gesteigert werden



könne <sup>[125]</sup>. Da nach Keuser <sup>[125, 126]</sup> eine Korrelation zwischen der DNA-Affinität und der aliphatischen Kettenlänge im *N*-terminalen Bereich in Erwägung zu ziehen war, sollte insbesondere durch die Verwendung eines längeren Linkers (C<sub>6</sub>) eine optimale Anpassungsgeometrie zur Ausbildung eines dualen Bindungsmodus begünstigt sein. Die T<sub>m</sub>-Wert-Messungen (Arbeitskreis Pindur, D. Buckert) sowie die am Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, in Lille, Frankreich durchgeführten biophysikalischen/biochemischen Assays ergaben allerdings, dass auch die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Nucleobasen-gekoppelten Testsubstanzen **64-66** keine ausreichende Topoisomerase I oder II hemmende Aktivität aufwiesen, und lediglich die beiden Bispyrrol-Derivate **65** und **66** eine schwache DNA-Affinität (Minor Groove Binding vorzugsweise an poly(dAdT)-DNA) besaßen, die überraschenderweise für das Hybridmolekül mit C<sub>2</sub>-Linker **65** - im Vergleich zu den homologen Verbindungen mit C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>- und C<sub>6</sub>-Linker (**KEU42** <sup>[125]</sup>, **KEU46** <sup>[125]</sup> und **66**) - am stärksten ausgeprägt war. Ferner waren die beim Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) Heidelberg an der humanen Melanomzelllinie Sk-Mel-28 getesteten Thymin-gekoppelten Pyrrolcarboxamide **65** und **66** zytotoxisch inaktiv, was neben der fehlenden TOPO-Hemmung und der zu schwachen DNA-Bindung vermutlich auf die zu hohe Hydrophilie (berechnete logP-Werte im negativen Bereich) dieser Verbindungen zurückzuführen sein dürfte. Da auch durch die Kettenlängen-Variation im *N*-terminalen Bereich gegenüber den zuvor von Keuser synthetisierten Nucleobasen-gekoppelten Hybridmolekülen mit C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Linker weder in Bezug auf die DNA-Affinität noch die Zytotoxizität eine Verbesserung erzielt werden konnte, wurden keine weiteren Varianten dieser Verbindungsserie produziert.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit erfolgte daher unter Verwendung von 5-Methylthiophen, *N*-Methylimidazol und 4-Methylthiazol als heteroaromatische Strukturkomponenten der rinnenbindenden Carboxamid-Einheit der *systematische Aufbau einer neuen Serie von Combilexinen* nach dem Bioisosterie-Konzept.

Im ersten Schritt dieser präparativ sehr aufwendigen Combilexin-Synthesen (bis zu 12 Stufen) wurden die zum Aufbau der Oligoamid-Einheit benötigten Nitrothiophen-, Nitroimidazol- und Boc-geschützten Aminothiazolcarbonsäuren hergestellt. Zur Darstellung der Nitrothiophen- und Nitroimidazolcarbonsäuren wurden die 5-Methyl-2-thiophencarbonsäure sowie der nach Umsetzung von *N*-Methylimidazol mit Chlorameisensäureethylester erhaltene Imidazol-2-carbonsäureester regioselektiv an 4-

Position nitriert. Der Nitro-substituierte Imidazolester wurde im Anschluss hydrolysiert.

Die Synthese des entsprechenden Thiazol-Bausteins begann mit dem Aufbau des 2-Aminothiazol-5-carbonsäureesters nach einer Hantzsch-Thiazolsynthese. Die anschließende Einführung der Boc-Schutzgruppe und Esterhydrolyse führte zur gewünschten Boc-geschützten Aminothiazolcarbonsäure.

Die so hergestellten Fünfringhetarencarbonsäuren wurden über verschiedene Amidkupplungsverfahren (DCC/HOBt bzw. EDCI/HOBt) mit dem Aminomonopyrrolcarboxamid verknüpft. Letzteres wurde wie zuvor beschrieben (nach Nishiwaki und Shibuya<sup>[136]</sup>) dargestellt, wobei neben der bislang verwendeten C-terminalen *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan-Funktion auch die um ein C-Atom kürzere Dimethylaminoethylamin-Seitenkette zum Einsatz kam.

Zur Darstellung des Bisimidazol-Grundgerüsts wurde die 4-Nitroimidazol-2-carbonsäure zunächst mittels EDCI/HOBt an *N,N*-Dimethyl-1,3-diaminopropan gekuppelt. Nachfolgend wurde das reduzierte Monoimidazolcarboxamid mit einer weiteren Menge Nitroimidazolcarbonsäure - ebenfalls unter Anwendung der EDCI/HOBt-Methode - zum Nitrobisimidazolcarboxamid umgesetzt.

Die amidische Verknüpfung der chromophoren, tricyclischen Hetarene (Acridon, Naphthalimid, 5-Nitronaphthalimid) mit den nach Reduktion bzw. Schutzgruppenabspaltung erhaltenen Amin-Derivaten der Hetarenyrrol- bzw. Bisimidazolcarboxamide im letzten Syntheseschritt erfolgte durch geeignete Kupplungsreagenzien (DCC/HOBt bzw. EDCI/HOBt) über aliphatische Carbonsäurelinker variabler Kettenlänge (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>). Die dazu benötigten Acridon- und (5-Nitro-)Naphthalimidalkancarbonsäuren wurden durch *N*-Alkylierung mit den entsprechenden  $\omega$ -Halogenalkancarbonsäureestern und anschließende Esterhydrolyse dargestellt. Zusätzlich wurden Anthrachinon- und Pyridocarbazol-*N*-terminal gekoppelte Thiophenpyrrolcarboxamide mit  $\beta$ -Alanin-Linker synthetisiert. Die beiden als Bausteine eingesetzten Anthrachinon-2- und 11*H*-Pyrido[2,3-*a*]carbazol-5-carbonsäuren wurden mithilfe der EDCI/HOBt-Methode an das zuvor hergestellte  $\beta$ -Alanin-substituierte Lexitropsin gekuppelt.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es somit gelungen, ein reproduzierbares und präparativ gut zugängliches Verfahren zum systematischen Aufbau bioisosterer Combilexine zu entwickeln. Anhand der Testung modernster Reagenzien aus der präparativen

Peptidkupplungschemie wurde gezeigt, dass es sich insbesondere bei der EDCI/HOBt-Methode um ein geeignetes Verfahren zur amidischen Verknüpfung der einzelnen Synthesebausteine handelt, durch deren Optimierung Ausbeuten von bis zu 90 % erzielt werden konnten.

Bei den im Arbeitskreis Pindur sowie am Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, in Lille, Frankreich durchgeführten *DNA-Bindestudien* zeigten mit Ausnahme von drei Verbindungen (**120**, **121**, **147**) alle synthetisierten Combilexine eine gute bis sehr gute DNA-Affinität, wobei die Thiophen- und Thiazol-Derivate eine deutliche AT-Selektivität besaßen, während bei den Imidazol-haltigen Hybridmolekülen andeutungsweise eine Verschiebung der Sequenzspezifität in Richtung GC-reicher DNA zu verzeichnen war.

Auffallend war, dass es sich bei den Naphthalimidpropion- und Acridonbuttersäure-Derivaten **92**, **98**, **119**, **123**, **145** und **148** jeweils um die potentesten Testverbindungen hinsichtlich der DNA-Bindungsstärke handelte, was darauf schließen ließ, dass die zur Gewährleistung einer optimalen Anpassungsgeometrie erforderliche Linkerlänge von der unterschiedlichen Raumausdehnung des interkalativ operierenden Chromophors abhängig ist.

Desweiteren stellte sich heraus, dass eine C-terminale Propylendiamin-Funktion für eine gute DNA-Affinität günstiger ist als die um ein C-Atom kürzere Ethylendiamin-Seitenkette und für eine DNA-Bindung mindestens drei Amidfunktionen bzw. zwei Amidfunktionen und eine N-terminale Aminfunktion erforderlich sind. So zeigten die beiden Nitrohetarenpyrrolcarboxamide **69** und **143** im Gegensatz zu den aus diesen Grundgerüsten aufgebauten Combilexinen und dem Aminothiazol **118** bei den  $T_m$ -Wert-Messungen keine signifikante DNA-Bindung. Demgegenüber waren für die über einen  $\beta$ -Alanin-Linker verknüpften Anthrachinon- und Pyridocarbazol-Derivate **104** und **105** - trotz der zusätzlichen Amidbindung im N-terminalen Bereich - keine Vorteile gegenüber den Acridon- und Naphthalimid-N-terminal gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamiden mit Propion- bzw. Buttersäure-Linker erkennbar.

Mittels Circular dichroismus und TOPO-I-Relaxationsassay wurde als *Bindungsmodus* für die meisten Hybridmoleküle Minor Groove Binding, bei den Verbindungen **92**, **94**, **96**, **98**, **110**, **123** und **149** zusätzlich assoziiert mit einer Interkalation des Chromophoren Systems nachgewiesen.

Vielversprechend waren auch die Ergebnisse der in Lille durchgeführten *Topoisomerase-Hemmungs-Assays*. Unabhängig von der eingesetzten Interkalatorkomponente wurde für nahezu alle Testverbindungen eine TOPO-I-Suppressor-Aktivität, bei vielen in Verbindung mit einer Topoisomerase II-Hemmung belegt.

Bei den zellbiologischen *Zytotoxizitäts-Studien* an der humanen Kolonkarzinomzelllinie HT-29 (Institut de Recherches sur le Cancer, INSERM, Lille) war jedoch lediglich für die bezüglich der DNA-Affinität potentesten Moleküle aus der Serie der Thiazol- und Imidazol-Derivate (**119**, **145**, **148**) eine ausreichende Zellwachstumshemmung zu beobachten. Die beiden Thiophene **92** und **98** hingegen waren trotz ebenfalls sehr guter DNA-Affinität, TOPO-I-Suppressor-Aktivität und der gesteigerten Lipophilie gegenüber dieser Zelllinie inaktiv.

Aufgrund der inzwischen stark restriktiven NCI-Auswahl durchliefen insgesamt nur drei Substanzen (**93**, **118** und **120**) den 60-Tumorzelllinien-Assay des NCI. Sie zeigten zwar nur eine schwache, dafür aber selektive zytotoxische Aktivität gegenüber verschiedenen Zelllinien. Für die Thiophenpyrrolcarboxamide **91**, **92**, **97**, **98** und **105**, die den Verbindungen **93**, **118** und **120** sowohl in den biophysikalischen als auch biochemischen Assays klar überlegen waren, war daher eine antineoplastische Wirksamkeit gegenüber bestimmten Tumorzelllinien nicht auszuschließen.

Insgesamt dürfte es sich in der Serie der bioisosteren Combilexine bei den Naphthalimidpropion- und Acridonbuttersäure-Derivaten **92**, **98**, **119**, **145**, **148** um die aussichtsreichsten Kandidaten in Bezug auf die DNA-Affinität bzw. Zytotoxizität handeln.

Um weitere Informationen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen der Combilexine auf molekularer Ebene zu gewinnen, wurde mithilfe verschiedener *Kristallisationsverfahren* versucht, geeignete Einkristalle ausgewählter Testsubstanzen für die Durchführung einer Röntgenstrukturanalyse zu züchten. Während von den Hybridmolekülen aufgrund von Aggregationsphänomenen keine brauchbaren Kristalle erhalten wurden, ist es in dieser Arbeit gelungen, die Struktur fünf rinnenbindender Grundgerüste (**60**, **69**, **117**, **143**, **144**) röntgenkristallographisch aufzuklären.

Mit Ausnahme des Boc-geschützten Thiazol-Derivates **117** lagen alle Moleküle - in Analogie zur Kristallstruktur des Netropsins<sup>[132]</sup> - in einer für die Bindung in der kleinen Rinne essentiellen, sichelförmigen Konformation vor. Anhand von Verbindung **117** konnte erstmals auch die Struktur der *N*-terminalen Amidbindung aufgeklärt werden, die - wie sämtliche Amidbindungen in den ermittelten Kristall-

strukturen - trans-(Z)-konfiguriert war. Die zur konkaven Molekülseite orientierten NH-Gruppen, die tertiäre Aminfunktion der C-terminalen Seitenkette sowie die bei den Imidazol-Derivaten **143** und **144** ebenfalls der konkaven Molekülseite zugewandten Stickstoffatome waren darüber hinaus an der Ausbildung inter- und intramolekularer H-Brücken zur Stabilisierung der Kristallpackung beteiligt. Da die in der Kristallstruktur der Leitsubstanz Netropsin <sup>[132]</sup> als Wasserstoffbrückendonatoren fungierenden NH-Gruppen ebenfalls in der Kristallstruktur des Netropsin-DNA-Komplexes <sup>[64, 69]</sup> für die Ausbildung von H-Brückenbindungen mit Adenin-N3 bzw. Thymin-O2 in der kleinen Rinne der B-DNA verantwortlich sind, wäre eine ähnliche Ligand-Target-Interaktion auch *in vivo* für die rinnenbindenden Strukturelemente der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Combilexine mit der DNA denkbar. Der Imidazolstickstoff könnte zudem als H-Brückenakzeptor über die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zu Guanin-NH<sub>2</sub> für die Verschiebung der Sequenzselektivität zu GC-reicher DNA bei den Imidazol-haltigen Testsubstanzen verantwortlich sein.

Zur *Rationalisierung der experimentellen Befunde* mit Bezug zur Molekülstruktur (Konformation, molekulares elektrostatisches Potential (MEP), LUMO) wurden auf der Basis semiempirischer AM1-Berechnungen in dem Programmpaket SPARTAN <sup>[171]</sup> vororientierende Molecular Modelling-Studien an ausgewählten Testverbindungen durchgeführt. Durch Vergleich der im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Röntgenkristallstrukturen sowie der des Netropsins <sup>[132]</sup> mit den entsprechenden in SPARTAN berechneten Molekülgeometrien nach der Root-Mean-Square(RMS)-Methode wurde gezeigt, dass das eingesetzte Berechnungsverfahren (Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup> in Kombination mit einer semiempirischen AM1-Rechnung (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>) realitätsnahe, valide Ergebnisse lieferte.

Die Ergebnisse der Berechnungen belegten, dass die strukturellen Voraussetzungen für Minor Groove Binding und Interkalation von allen Combilexinen dieser Arbeit erfüllt wurden:

- 1) Alle berechneten Moleküle lagen in Analogie zu Netropsin in einer sichelförmigen Molekülgeometrie mit trans-(Z)-Konfiguration der Amidbindungen vor, in der die Methylgruppen der Fünfringhetarene zur konvexen und - mit Ausnahme der N-terminalen NH-Funktion der Thiophen- und Thiazol-Derivate - die amidischen NH-Gruppen zur konkaven Molekülseite orientiert waren.

- 2) Die Radien der Curvature auf der konkaven Seite der Oligocarboxamid-Einheit stimmten mit dem der Leitstruktur Netropsin sehr gut überein.
- 3) Die LUMOs waren bei allen Verbindungen über dem völlig koplanaren System am *N*-Terminus lokalisiert und befanden sich auf einem energetisch niedrigeren Niveau als die LUMO-Energien der als Elektronendonatoren bei Charge-Transfer-Komplexen mit der DNA fungierenden Purinbasen Guanin und Adenin.
- 4) Die interkalierenden Grundgerüste besaßen ein positives elektrostatisches Potential über dem chromophoren System, was sich bei einer Interkalation ebenfalls günstig auf deren Elektronenakzeptoreigenschaften auswirken dürfte.

Eine konkrete Gesetzmäßigkeit zwischen den *in silico* ermittelten Befunden (Konformation, MEP, LUMO-Energien) und den unterschiedlichen DNA-Affinitäten bzw. zytotoxischen Aktivitäten der entsprechenden Verbindungen war infolge der Komplexität in der *in vitro*-Realität (z. B. pharmakokinetische Faktoren) jedoch nicht zu erkennen. Allerdings ließen sich einige wertvolle Zusammenhänge bezüglich der Sequenzselektivität ableiten:

- So lagen die Thiazol-haltigen Verbindungen in einer Sichelkonformation vor, in der der Schwefel des Thiazolrings zur konkaven Seite orientiert war. Dieser könnte in van der Waals-Interaktion mit den Adenin-C2-Atomen in der Minor Groove treten, was sowohl die z. T. sehr hohe DNA-Affinität als auch AT-Selektivität der Thiazolpyrrolcarboxamide erklären würde.
- Die Thiophen-, Thiazol- und Bispyrrolcarboxamide wiesen ein positives elektrostatisches Potential (Elektronenmangel) auf der konkaven Molekülseite auf und besitzen daher vermutlich - wie Netropsin - eine Präferenz für die in AT-reichen Sequenzen elektronenreichere Minor Groove der DNA.
- Die Imidazol-Derivate hingegen zeigten einen negativen Ladungsschwerpunkt über den der konkaven Seite zugewandten Imidazol-N3-Atomen. Dies begünstigt vermutlich die zur Verschiebung der Sequenzselektivität in Richtung GC-reicher DNA erwünschte Wechselwirkung mit der Guanin-NH<sub>2</sub>-Gruppe und reduziert die Affinität zur elektronenreichen Minor Groove in AT-reichen Abschnitten der DNA.

Als Ergänzung zu den mittels Circular dichroismus und TOPO-I-Relaxationsexperiment gewonnenen Erkenntnissen bezüglich der DNA-Bindemodi wurde im Rahmen dieser Arbeit erstmalig ein <sup>1</sup>H-NMR-Titrationsexperiment eines DNA-Oligonucleotids mit einem ausgewählten Combilexin (Verbindung **92**) durchgeführt. Die hierbei registrierten Shifffeffekte der Iminoprotonenresonanzsignale der DNA-Basen deuteten auf eine favorisierte Interkalation des Liganden zwischen die GC-Basenpaare hin. Zudem war aufgrund der im Zuge der Titration zu beobachtenden Veränderung des Signalhabitus der Iminoprotonen von einer langen Verweildauer (> 9.68 ms) der Testsubstanz an der DNA auszugehen. Hinweise auf Minor Groove Binding waren jedoch trotz der anhand des Circular dichroismus für Verbindung **92** belegten Bindung in der kleinen Rinne nicht zu verzeichnen, wobei angesichts der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Untersuchungsmethoden zum Nachweis eines dualen Bindungsmodus zumeist der Einsatz verschiedener Verfahren erforderlich ist. Somit könnte die hier etablierte Methode durch eine weitere Optimierung der Versuchsbedingungen (Lösungsmittel, Inkubationszeit, Temperatur) möglicherweise ein alternatives Verfahren zur Charakterisierung des Bindungsmodus der Combilexine - insbesondere zum Nachweis der mittels Circular dichroismus nur schwer erfassbaren Interkalation - darstellen.

Abschließend wurde zur Visualisierung eines rationalen DNA-Bindungs-Modells des bereits zur <sup>1</sup>H-NMR-Titration eingesetzten Naphthalimid-*N*-terminal gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamids **92** ein *Docking-Experiment* (Arbeitskreis Pindur, D. Buckert) durchgeführt. Da in dem hierzu verwendeten Programm ICM-PRO [225, 226] die Simulation der Target-Ligand-Komplexe nach einem *Rigid Receptor Docking*-Verfahren erfolgt, wurde als Rezeptor die Kristallstruktur eines DNA-Oligonucleotids eingesetzt, die bereits vor dem Docking-Prozess eine Interkalationskavität aufwies (d(GCGA[Interkalationskavität]ATTCGCG)).

Es wurde gezeigt, dass sich Verbindung **92** infolge der durch den induced-fit-Effekt hervorgerufenen konformativen Veränderung der C-terminalen Seitenkette sowie des aliphatischen Linkers am *N*-Terminus optimal an den Rezeptor anpasste. Während sich das Naphthalimid-Grundgerüst in die zwischen zwei AT-Basenpaaren lokalisierte Interkalationskavität einschob, lagerte sich die Oligoamid-Einheit in der Minor Groove an. Neben zwei H-Brücken und elektrostatischen Wechselwirkungen lieferten

insbesondere die engen van der Waals-Kontakte zwischen Target und Ligand einen wesentlichen Beitrag zur Komplexbildungsenergie.

*Zukünftige Arbeiten* sollten sich aufgrund der insgesamt doch relativ vielversprechenden Ergebnisse auch weiterhin mit dem Aufbau bioisosterer Combilexine beschäftigen. Hier bestehen noch viele Variationsmöglichkeiten; von dem Einsatz anderer Fünfringheteroaromaten (z. B. Furan, Pyrazole, Oxazole) über die Anzahl bis hin zur Position der ausgetauschten Pyrrolringe. Interessant wäre auch, die zu Pyrrol bioisosteren Heterarene in unterschiedlichster Weise miteinander zu kombinieren.

Zur weiteren Strukturoptimierung sollte man sich ebenfalls mit der Untersuchung der DNA-Ligand-Interaktionen auf molekularer Ebene befassen. Hierzu könnten  $^1\text{H}$ -NMR-Titrationsexperimente unter Anwendung zweidimensionaler (2 D)  $^1\text{H}$ -NMR-Verfahren und anschließende Moleküldynamik-Simulation sehr hilfreich sein. Zudem könnte die zur Charakterisierung von Protein-Ligand-Interaktionen in Lösung bereits erfolgreich eingesetzte STD-NMR-Spektroskopie möglicherweise auch auf DNA-Ligand-Komplexe übertragen werden. Der größte Informationsgehalt wäre jedoch aus einer gut aufgelösten Röntgenkristallstruktur eines Combilexin-DNA-Komplexes zu gewinnen.

In Anlehnung an das Tietze-Modell <sup>[44]</sup> könnte man darüber hinaus versuchen, glykosylierte Varianten der potentesten Combilexine herzustellen, die zur gezielten Behandlung maligner Tumore nach der „Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy“-Strategie eingesetzt werden könnten.



## 10. Experimenteller Teil

### 10.1 Allgemeine Angaben

#### Schmelzpunkte:

Gerät: a) bis 200°C: Büchi 510, unkorrigierte Werte in °C  
 b) > 200°C: Electrothermal IA 920, 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 S. Dieler, Frau S. Maehrlein);  
 70 eV Ionisierungsenergie  
 Finnigan MAT 7 FD-Massenspektrometer (Institut für Organische Chemie, Universität Mainz, Frau M. Eider), 5 kV Ionisierungsenergie

#### IR-Spektren:

Gerät: Avatar 330 FT-IR (Institut für Pharmazie, Universität Mainz);  
 Messung der Reinsubstanz mittels ZnSe-Kristall (AMTIR)

Charakterisierung der Banden:	Transmission
weak (w)	> 60 %
medium (m)	30 % - 60 %
strong (s)	< 30 %

Angaben der Banden als Wellenzahl in [cm<sup>-1</sup>]

**NMR-Spektren:**

Geräte: 300 MHz ( $^1\text{H}$ ) bzw. 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ): Bruker AC-300 (Institut für Pharmazie, Universität Mainz)

Signalabkürzungen:

s:	Singulett
d:	Dublett
dd:	Doppeldublett
t:	Triplett
q:	Quartett
quint:	Quintett
se:	Septett
m:	Multiplett
p:	pseudo: der nachfolgende Kennbuchstabe beschreibt lediglich den Signalhabitus
J:	Kopplungskonstante als Absolutwert in Hz
$\delta[\text{ppm}]$ :	chemische Verschiebung in $\delta$ -Skala

**Röntgenstrukturanalyse:**

Gerät: Turbo-CAD 4, Enraf Nonius,  
(Institut für Organische Chemie, Herr Dr. D. Schollmeyer)

**Chromatographie:**

Dünnschichtchromatographie (DC):	DC-Plastikfolien, Kieselgel 60 F <sub>254</sub> , Schichtdicke 0.25 mm (Fa. Merck); DC-Plastikfolien, Aluminiumoxid (neutral) 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)

Flash-Chromatographie: Kieselgel 60,  
Korngröße 0.015-0.040 mm (Fa. Merck)

### **Molecular Modelling:**

Programm: SPARTAN `04 Version 1.0.1 <sup>[171]</sup>  
Wavefunction, Inc. Irvine, CA  
Verwendete Rechen-Module:  
- Kraftfeldvorminimierung (MMFF 94 <sup>[209, 210]</sup>)  
- *Equilibrium Conformer* (Monte-Carlo-Verfahren <sup>[207]</sup>)  
- AM1 (nach Stewart <sup>[208]</sup> und Dewar <sup>[167, 168]</sup>)

Alle in dieser Arbeit synthetisierten Hetarencarboxamid-Testsubstanzen zeigten im Rahmen der NMR-Nachweisgrenze keine unerwünschten Signale in den <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren. Laut Dünnschichtchromatographie in mindestens drei verschiedenen Fließmitteln waren alle Endverbindungen frei von Verunreinigungen und zeigten nur einen Fleck. Trotz durchgeführter Trocknungsverfahren waren - wie bei Oligoamiden häufig - Lösungsmiteleschlüsse zu beobachten, die bei den entsprechenden Elementaranalysen eingerechnet wurden. Wie durch die in Kapitel 5.3, S. 179 beschriebenen Röntgenkristallstrukturen bereits gezeigt werden konnte, kommt es selbst bei den Grundgerüsten als Synthese-Bausteine zu Lösungsmiteleschlüssen. Bei einzelnen Verbindungen konnte jedoch aufgrund unstöchiometrischer Lösungsmiteleschlüsse keine C,H,N-Analyse mit einer Abweichung < 0.3 % erhalten werden. Hierbei sei angemerkt, dass zu den bisher in der Literatur bekannten Hetarencarboxamiden anderer Serien zumeist keine Elementaranalysen angegeben sind.

Bei den im folgenden Kapitel angegebenen Literaturangaben in der Kopfzeile handelt es sich um die meist in modifizierter Form übernommenen Synthesevorschriften. Dies bedeutet jedoch nicht generell, dass die entsprechenden Verbindungen bereits literaturbekannt sind.

## 10.2 Röntgenkristallographische Daten

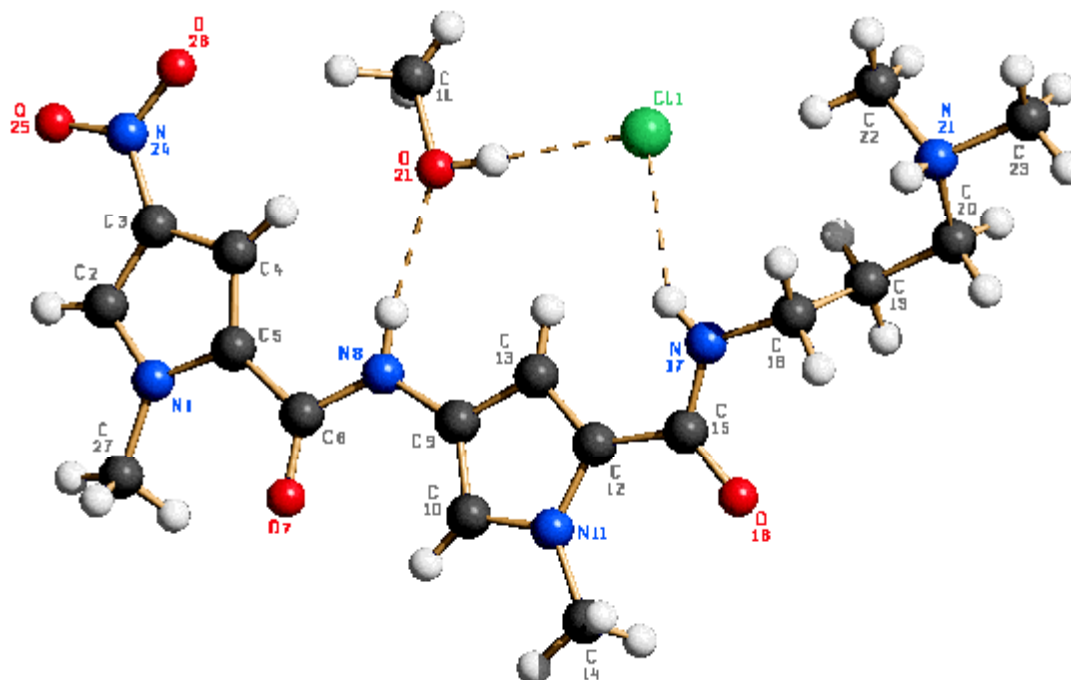
Die aufgenommenen Röntgenkristallstrukturen wurden alle - mit Ausnahme von Verbindung **60** - im Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC), University Chemical Laboratory, Lensfield Road, Cambridge CB2 1EW, U.K., unter den folgenden Nummern hinterlegt:

Verbindung	CCDC-Nr.
<b>69</b>	254238
<b>117</b>	282122
<b>143</b>	282123
<b>144</b>	607345

**Tabelle 10.1:** CCDC-Nummern der hinterlegten Röntgenkristallstrukturen

Nach Fertigstellung der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **60** wurde festgestellt, dass diese bereits von einer chinesischen Arbeitsgruppe veröffentlicht wurde <sup>[204]</sup>. Aus diesem Grund wurde auf ein Hinterlegen der entsprechenden Röntgenkristallstruktur beim CCDC verzichtet. Die beiden unabhängig voneinander kristallisierten und ermittelten Kristallstrukturen stimmen jedoch sehr genau miteinander überein.

## 10.2.1 Röntgenkristallographische Daten der Verbindung 60



**Abb. 10.1:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung 60; Nummerierung nicht gemäß IUPAC

### 10.2.1.1 Kristalldaten für Verbindung 60

Summenformel:	$(C_{17}H_{25}N_6O_4)^+ Cl^- \cdot CH_3OH$		
Molekulargewicht:	444.9 g/mol		
Absorption:	$\mu = 1.94 \text{ mm}^{-1}$ Korrektur mit Psi-scans		
Transmission:	$T_{\min} = 0.94, T_{\max} = 0.99$		
Kristallgröße:	0.096 x 0.128 x 0.512 mm <sup>3</sup> gelbe Nadel		
Raumgruppe:	P 2 <sub>1</sub> /c (monoklin)		
Gitterkonstanten:	a = 6.2086(8) Å		
(berechnet aus 25	b = 17.8201(10) Å	$\beta = 90.803(7)^\circ$	
Reflexen mit	c = 19.421(3) Å		
61° < $\theta$ < 73°)	V = 2148.5(5) Å <sup>3</sup>	z = 4	F(000) = 944
Temperatur:	-80°C		
Dichte:	$d_{\text{rön}} = 1.375 \text{ gcm}^{-3}$		

### 10.2.1.2 Datensammlung

Diffraktometer:	Turbo CAD4		
Strahlung:	Cu-K $\alpha$ Graphitmonochromator		
Scan-Typ:	$\omega/2\theta$		
Scan-Breite:	$0.9^\circ + 0.15 \cdot \tan(\theta)$		
Messbereich:	$2^\circ \leq \theta < 74^\circ$		
	$0 \leq h \leq 7$	$0 \leq k \leq 22$	$-24 \leq l \leq 24$
Reflexzahl:			
gemessen	4938		
unabhängige	4358 ( $R_{\text{int}} = 0.0522$ )		
beobachtete	3754 ( $ F /\sigma(F) > 4.0$ )		

### 10.2.1.3 Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen:	Lorentz- und Polarisationskorrektur, Intensitätsschwankung von ca. 5 % mit kubischen Spline korrigiert
Lösung:	Programm: SIR-97 (Direkte Methoden)
Verfeinerung:	Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren), 294 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: $w = 1/[\sigma^2(F_0^2) + (0.0951 \cdot P)^2 + 0.70 \cdot P]$ wobei $P = (\text{Max}(F_0^2, 0) + 2 \cdot F_0^2)/3$ ; Wasserstoffatome geometrisch eingefügt (NH's und OH's gefunden) und reitend isotrop verfeinert, Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert;
Diskrepanzfaktor:	wR2 = 0.1465 (R1 = 0.0516 für beobachtete Reflexe, 0.0596 für alle Reflexe)
Fitgüte:	S = 1.045
maximale Änderung der Parameter:	0.001 * e.s.d
maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese:	0.60, -0.70 eÅ <sup>-3</sup>
Bemerkung:	Methanol ist fehlgeordnet

### 10.2.1.4 Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (Å<sup>2</sup>)

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i * a_j * a_i a_j$$

Atom	X	Y	Z	U <sub>äq</sub>
CL1	0.72366(8)	0.35057(3)	0.33552(3)	0.0320(2)
N1	1.5942(3)	0.08787(9)	0.56385(8)	0.0253(5)
C2	1.7369(3)	0.0669(1)	0.5160(1)	0.0272(5)
C3	1.6596(3)	0.0909(1)	0.4531(1)	0.0264(5)
C4	1.4618(3)	0.1278(1)	0.4626(1)	0.0277(6)
C5	1.4242(3)	0.1258(1)	0.5319(1)	0.0237(5)
C6	1.2440(3)	0.1579(1)	0.5717(1)	0.0251(5)
O7	1.2171(3)	0.1444(1)	0.63257(8)	0.0401(5)
N8	1.1149(3)	0.20397(9)	0.53470(9)	0.0260(5)
C9	0.9318(3)	0.2400(1)	0.56109(9)	0.0219(5)
C10	0.8604(3)	0.2432(1)	0.6281(1)	0.0251(5)
N11	0.6742(3)	0.28430(9)	0.62822(8)	0.0234(4)
C12	0.6272(3)	0.3074(1)	0.56238(9)	0.0207(5)
C13	0.7855(3)	0.2804(1)	0.51969(9)	0.0224(5)
C14	0.5457(4)	0.2950(1)	0.6900(1)	0.0330(6)
C15	0.4352(3)	0.3523(1)	0.5434(1)	0.0224(5)
O16	0.3225(2)	0.38323(9)	0.58648(7)	0.0340(5)
N17	0.3943(3)	0.3568(1)	0.47560(9)	0.0281(5)
C18	0.2171(3)	0.4001(1)	0.4463(1)	0.0271(5)
C19	0.2868(3)	0.4782(1)	0.4249(1)	0.0306(6)
C20	0.1162(3)	0.5218(1)	0.3853(1)	0.0308(6)
N21	0.0373(3)	0.4843(1)	0.32057(8)	0.0250(5)
C22	0.2121(4)	0.4586(2)	0.2746(1)	0.0409(7)
C23	-0.1113(4)	0.5361(1)	0.2828(1)	0.0397(7)
N24	1.7661(3)	0.0797(1)	0.38944(9)	0.0326(5)
O25	1.9410(3)	0.0467(1)	0.39018(9)	0.0459(5)
O26	1.6796(3)	0.1032(1)	0.33643(8)	0.0448(6)
C27	1.6259(4)	0.0718(1)	0.6371(1)	0.0363(7)
C1L	1.1835(5)	0.2231(2)	0.3181(1)	0.0477(8)
O2L	1.0653(3)	0.22793(9)	0.38018(8)	0.0375(5)

### 10.2.1.5 Anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
CL1	0.0229(3)	0.0399(3)	0.0333(3)	0.0004(2)	0.0024(2)	0.0007(2)
N1	0.0190(7)	0.0292(8)	0.0277(8)	0.0052(6)	0.0047(6)	0.0041(6)
C2	0.0206(9)	0.0283(9)	0.033(1)	0.0056(7)	0.0048(7)	0.0011(8)
C3	0.0224(9)	0.0295(10)	0.0275(10)	0.0054(7)	0.0051(7)	-0.0041(7)
C4	0.0228(9)	0.0318(10)	0.0284(10)	0.0075(8)	0.0004(7)	-0.0009(8)
C5	0.0170(8)	0.0252(9)	0.0289(9)	0.0029(7)	0.0028(7)	0.0033(7)
C6	0.0176(8)	0.0291(9)	0.0288(10)	0.0031(7)	0.0048(7)	0.0022(7)
O7	0.0316(8)	0.058(1)	0.0314(8)	0.0176(7)	0.0105(6)	0.0144(7)

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
N8	0.0179(8)	0.0347(9)	0.0257(8)	0.0059(6)	0.0072(6)	0.0037(7)
C9	0.0153(8)	0.0255(9)	0.0252(9)	0.0002(7)	0.0055(7)	0.0011(7)
C10	0.0214(9)	0.0307(9)	0.0231(9)	0.0033(7)	0.0021(7)	0.0024(7)
N11	0.0202(8)	0.0297(8)	0.0204(8)	0.0028(6)	0.0057(6)	-0.0009(6)
C12	0.0165(8)	0.0239(8)	0.0216(8)	-0.0003(7)	0.0038(6)	-0.0012(7)
C13	0.0186(8)	0.0280(9)	0.0206(8)	0.0016(7)	0.0054(7)	0.0022(7)
C14	0.033(1)	0.046(1)	0.0208(9)	0.0098(9)	0.0108(8)	0.0008(8)
C15	0.0169(8)	0.0248(9)	0.0257(9)	-0.0004(7)	0.0044(7)	-0.0009(7)
O16	0.0276(7)	0.0469(9)	0.0279(7)	0.0150(7)	0.0061(6)	-0.0035(6)
N17	0.0214(8)	0.0381(9)	0.0248(8)	0.0098(7)	0.0039(7)	0.0003(7)
C18	0.0184(9)	0.035(1)	0.0283(9)	0.0027(8)	0.0001(7)	0.0021(8)
C19	0.0225(10)	0.032(1)	0.037(1)	-0.0001(8)	-0.0059(8)	-0.0010(8)
C20	0.031(1)	0.0285(10)	0.032(1)	0.0046(8)	-0.0048(8)	-0.0050(8)
N21	0.0235(8)	0.0294(8)	0.0221(8)	0.0037(7)	0.0043(6)	-0.0004(6)
C22	0.040(1)	0.051(1)	0.032(1)	0.016(1)	0.0187(10)	0.0036(10)
C23	0.044(1)	0.050(1)	0.025(1)	0.020(1)	-0.0031(9)	-0.0007(9)
N24	0.0319(9)	0.0361(9)	0.0299(9)	0.0111(7)	0.0052(7)	-0.0037(7)
O25	0.0398(9)	0.058(1)	0.0402(9)	0.0268(8)	0.0125(7)	-0.0007(8)
O26	0.0462(10)	0.061(1)	0.0272(8)	0.0196(8)	0.0043(7)	-0.0014(7)
C27	0.027(1)	0.052(1)	0.031(1)	0.0102(9)	0.0032(8)	0.0122(9)
C1L	0.051(2)	0.059(2)	0.034(1)	0.021(1)	0.014(1)	0.001(1)
O2L	0.0372(9)	0.0471(9)	0.0285(8)	0.0122(7)	0.0077(6)	0.0005(6)

### 10.2.1.6 Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (Å<sup>2</sup>)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H2	1.86739	0.04026	0.52422	0.039(7)
H4	1.37245	0.14960	0.42793	0.030(6)
H8	1.1176(3)	0.2079(2)	0.490(1)	0.031(6)
H10	0.92845	0.22091	0.66718	0.031(6)
H13	0.79376	0.28777	0.47135	0.031(6)
H14A	0.60448	0.26402	0.72749	0.062(6)
H14B	0.39622	0.28033	0.68036	0.062(6)
H14C	0.55031	0.34798	0.70368	0.062(6)
H17	0.483(3)	0.3374(8)	0.450(1)	0.042(7)
H18A	0.10143	0.40422	0.48068	0.035(5)
H18B	0.15754	0.37325	0.40567	0.035(5)
H19A	0.32780	0.50691	0.46666	0.038(5)
H19B	0.41635	0.47382	0.39601	0.038(5)
H20A	-0.00814	0.53013	0.41573	0.040(5)
H20B	0.17554	0.57155	0.37324	0.040(5)
H21	-0.029(2)	0.445(1)	0.3312(4)	0.026(6)
H22A	0.30476	0.42286	0.29946	0.049(5)



Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H22B	0.29799	0.50184	0.26028	0.049(5)
H22C	0.14893	0.43412	0.23394	0.049(5)
H23A	-0.22068	0.55490	0.31430	0.057(5)
H23B	-0.18169	0.50909	0.24470	0.057(5)
H23C	-0.02901	0.57840	0.26445	0.057(5)
H27A	1.59767	0.11723	0.66393	0.059(5)
H27B	1.77471	0.05543	0.64543	0.059(5)
H27C	1.52673	0.03200	0.65098	0.059(5)
H1LA	1.12786	0.24120	0.27845	0.062(8)
H1LB	1.21056	0.16250	0.31575	0.062(8)
H1LC	1.34044	0.25013	0.33550	0.062(8)
H1LD	1.08407	0.20371	0.27893	0.062(8)
H1LE	1.20567	0.27961	0.29563	0.062(8)
H1LF	1.26037	0.17901	0.32253	0.062(8)
H2LA	0.96101	0.25897	0.36840	0.07(1)

### 10.2.1.7 Wasserstoffbrückenbindungen

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	< (DHA)
N(8)-H(8)...O(2L)	0.87	2.18	3.043(2)	169.2
N(17)-H(17)...Cl(1)	0.82	2.71	3.4278(19)	147.4
N(21)-H(21)...Cl(1) #1	0.83	2.28	3.0932(19)	163.5
O(2L)-H(2LA)...Cl(1)	0.88	2.28	3.1585(17)	172.7

**Tabelle 10.2:** Wasserstoffbrückenbindungen für Verbindung **60**;  
 Bindungslängen (Å), Winkel (Grad);  
 Symmetrische Transformation zur Berechnung äquivalenter Atome:  
 #1 x-1, y, z

### 10.2.1.8 Bindungslängen [Å]

N(1)-C(2)	1.346(2)
N(1)-C(5)	1.392(2)
N(1)-C(27)	1.461(3)
C(2)-C(3)	1.374(3)
C(3)-C(4)	1.407(3)
C(3)-N(24)	1.425(3)
C(4)-C(5)	1.369(3)
C(5)-C(6)	1.484(3)

C(6)-O(7)	1.221(3)
C(6)-N(8)	1.347(2)
N(8)-C(9)	1.409(2)
C(9)-C(10)	1.383(3)
C(9)-C(13)	1.403(2)
C(10)-N(11)	1.368(2)
N(11)-C(12)	1.371(2)
N(11)-C(14)	1.464(2)
C(12)-C(13)	1.381(2)
C(12)-C(15)	1.479(2)
C(15)-O(16)	1.228(2)
C(15)-N(17)	1.340(2)
N(17)-C(18)	1.453(2)
C(18)-C(19)	1.517(3)
C(19)-C(20)	1.515(3)
C(20)-N(21)	1.500(2)
N(21)-C(22)	1.487(2)
N(21)-C(23)	1.491(3)
N(24)-O(26)	1.228(2)
N(24)-O(25)	1.235(2)
C(1L)-O(2L)	1.422(3)

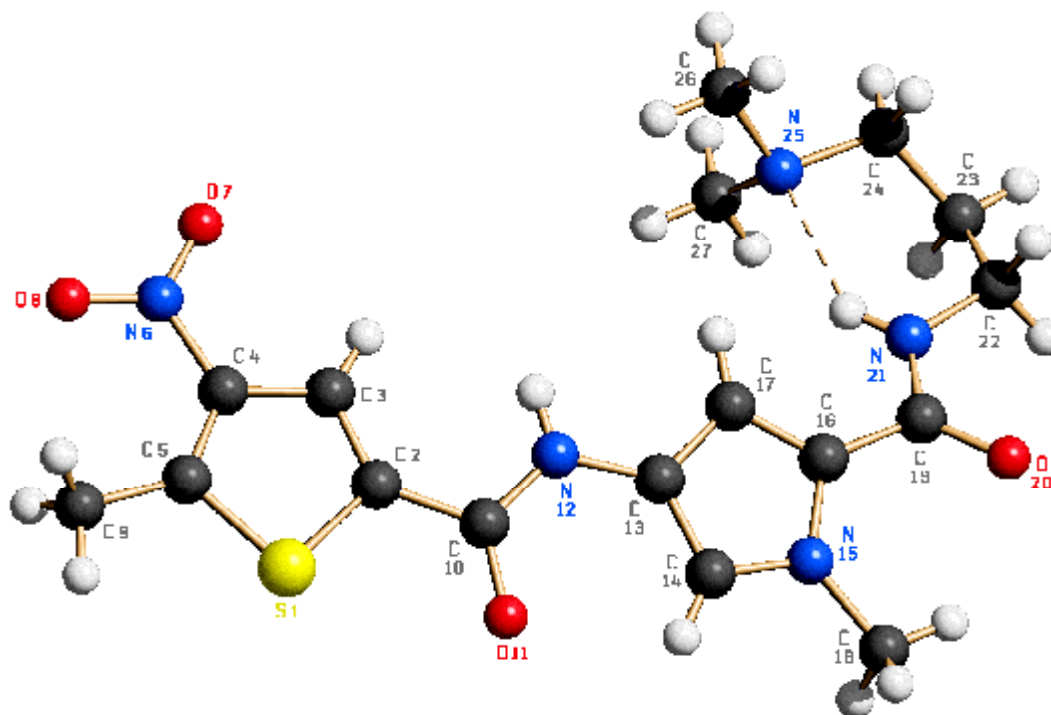
#### 10.2.1.9 Bindungswinkel [Grad]

C(2)-N(1)-C(5)	109.24(16)	C(10)-N(11)-C(14)	122.77(16)
C(2)-N(1)-C(27)	122.42(17)	C(12)-N(11)-C(14)	127.94(16)
C(5)-N(1)-C(27)	128.34(17)	N(11)-C(12)-C(13)	108.17(16)
N(1)-C(2)-C(3)	107.53(17)	N(11)-C(12)-C(15)	123.70(16)
C(2)-C(3)-C(4)	108.93(17)	C(13)-C(12)-C(15)	128.12(17)
C(2)-C(3)-N(24)	124.53(18)	C(12)-C(13)-C(9)	107.15(16)
C(4)-C(3)-N(24)	126.54(18)	O(16)-C(15)-N(17)	122.72(18)
C(5)-C(4)-C(3)	106.12(17)	O(16)-C(15)-C(12)	122.59(17)
C(4)-C(5)-N(1)	108.18(16)	N(17)-C(15)-C(12)	114.69(16)
C(4)-C(5)-C(6)	129.99(17)	C(15)-N(17)-C(18)	123.25(17)
N(1)-C(5)-C(6)	121.82(17)	N(17)-C(18)-C(19)	112.14(16)
O(7)-C(6)-N(8)	123.23(18)	C(20)-C(19)-C(18)	114.20(17)
O(7)-C(6)-C(5)	122.92(17)	N(21)-C(20)-C(19)	114.50(17)
N(8)-C(6)-C(5)	113.85(17)	C(22)-N(21)-C(23)	110.31(16)
C(6)-N(8)-C(9)	124.13(17)	C(22)-N(21)-C(20)	114.04(17)
C(10)-C(9)-C(13)	107.76(16)	C(23)-N(21)-C(20)	109.21(16)
C(10)-C(9)-N(8)	129.23(17)	O(26)-N(24)-O(25)	123.13(18)
C(13)-C(9)-N(8)	123.01(17)	O(26)-N(24)-C(3)	118.48(17)
N(11)-C(10)-C(9)	107.77(16)	O(25)-N(24)-C(3)	118.39(18)
C(10)-N(11)-C(12)	109.15(15)		

## 10.2.1.10 Torsionswinkel [Grad]

C(5)-N(1)-C(2)-C(3)	-0.2(2)
C(27)-N(1)-C(2)-C(3)	-179.61(19)
N(1)-C(2)-C(3)-C(4)	-0.2(2)
N(1)-C(2)-C(3)-N(24)	179.63(19)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	0.5(2)
N(24)-C(3)-C(4)-C(5)	-179.3(2)
C(3)-C(4)-C(5)-N(1)	-0.6(2)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	177.96(19)
C(2)-N(1)-C(5)-C(4)	0.5(2)
C(27)-N(1)-C(5)-C(4)	179.9(2)
C(2)-N(1)-C(5)-C(6)	-178.21(18)
C(27)-N(1)-C(5)-C(6)	1.2(3)
C(4)-C(5)-C(6)-O(7)	171.0(2)
N(1)-C(5)-C(6)-O(7)	-10.6(3)
C(4)-C(5)-C(6)-N(8)	-9.8(3)
N(1)-C(5)-C(6)-N(8)	168.63(17)
O(7)-C(6)-N(8)-C(9)	-1.8(3)
C(5)-C(6)-N(8)-C(9)	178.99(17)
C(6)-N(8)-C(9)-C(10)	7.6(3)
C(6)-N(8)-C(9)-C(13)	-172.07(19)
C(13)-C(9)-C(10)-N(11)	0.2(2)
N(8)-C(9)-C(10)-N(11)	-179.52(18)
C(9)-C(10)-N(11)-C(12)	-0.2(2)
C(9)-C(10)-N(11)-C(14)	175.81(18)
C(10)-N(11)-C(12)-C(13)	0.2(2)
C(14)-N(11)-C(12)-C(13)	-175.60(19)
C(10)-N(11)-C(12)-C(15)	179.24(17)
C(14)-N(11)-C(12)-C(15)	3.5(3)
N(11)-C(12)-C(13)-C(9)	-0.1(2)
C(15)-C(12)-C(13)-C(9)	-179.07(17)
C(10)-C(9)-C(13)-C(12)	-0.1(2)
N(8)-C(9)-C(13)-C(12)	179.65(17)
N(11)-C(12)-C(15)-O(16)	12.8(3)
C(13)-C(12)-C(15)-O(16)	-168.4(2)
N(11)-C(12)-C(15)-N(17)	-167.49(17)
C(13)-C(12)-C(15)-N(17)	11.4(3)
O(16)-C(15)-N(17)-C(18)	1.6(3)
C(12)-C(15)-N(17)-C(18)	-178.12(17)
C(15)-N(17)-C(18)-C(19)	95.0(2)
N(17)-C(18)-C(19)-C(20)	172.09(17)
C(18)-C(19)-C(20)-N(21)	-58.0(3)
C(19)-C(20)-N(21)-C(22)	-50.0(2)
C(19)-C(20)-N(21)-C(23)	-173.95(19)
C(2)-C(3)-N(24)-O(26)	179.3(2)
C(4)-C(3)-N(24)-O(26)	-0.8(3)
C(2)-C(3)-N(24)-O(25)	-0.6(3)
C(4)-C(3)-N(24)-O(25)	179.2(2)

## 10.2.2 Röntgenkristallographische Daten der Verbindung 69



**Abb. 10.2:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung **69**; Nummerierung nicht gemäß IUPAC

### 10.2.2.1 Kristalldaten für Verbindung 69

Summenformel:	(C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub> S)		
Molekulargewicht:	393.46 g/mol		
Absorption:	$\mu = 1.72 \text{ mm}^{-1}$ Korrektur mit Psi-scans		
Transmission:	$T_{\min} = 0.82, T_{\max} = 0.99$		
Kristallgröße:	0.1 x 0.3 x 0.4 mm <sup>3</sup> gelbe Platte		
Raumgruppe:	P bca (orthorhombisch)		
Gitterkonstanten:	a = 13.2765(4) Å		
(berechnet aus 25	b = 15.9166(11) Å		
Reflexen mit	c = 18.9702(7) Å		
66° < $\theta$ < 73°)	V = 4008.7(3) Å <sup>3</sup>	z = 8	F(000) = 1664
Temperatur:	22°C		
Dichte:	$d_{\text{rön}} = 1.304 \text{ gcm}^{-3}$		

### 10.2.2.2 Datensammlung

Diffraktometer:	Turbo CAD4		
Strahlung:	Cu-K $\alpha$ Graphitmonochromator		
Scan-Typ:	$\omega/2\theta$		
Scan-Breite:	$0.9^\circ + 0.14 \cdot \tan(\theta)$		
Messbereich:	$2^\circ \leq \theta \leq 74^\circ$		
	$-16 \leq h \leq 0$	$0 \leq k \leq 19$	$0 \leq l \leq 23$
Reflexzahl:			
gemessen	4520		
unabhängige	4039 ( $R_\sigma = 0.0323$ )		
beobachtete	2927 ( $ F /\sigma(F) > 4.0$ )		

### 10.2.2.3 Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen:	Lorentz- und Polarisationskorrektur
Lösung:	Programm: SIR-97 (Direkte Methoden)
Verfeinerung:	Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren), 258 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: $w = 1/[\sigma^2(F_0^2) + (0.0913 \cdot P)^2 + 1.03 \cdot P]$ wobei $P = (\text{Max}(F_0^2, 0) + 2 \cdot F_0^2)/3$ ; Wasserstoffatome geometrisch eingefügt u. reitend isotrop verfeinert (NH`s lokalisiert), Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert;
Diskrepanzfaktor:	wR2 = 0.1630 (R1 = 0.0557 für beobachtete Reflexe, 0.0785 für alle Reflexe)
Fitgüte:	S = 1.010
maximale Änderung der Parameter:	0.001 * e.s.d
maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese:	0.26, -0.37 eÅ <sup>-3</sup>

### 10.2.2.4 Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter ( $\text{\AA}^2$ )

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i * a_j * a_i a_j$$

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{äq}}$
S1	0.08439(5)	0.16874(5)	0.46216(3)	0.0581(2)
C2	0.0497(2)	0.1065(2)	0.5326(1)	0.0452(7)
C3	0.1295(2)	0.0627(2)	0.5572(1)	0.0515(8)
C4	0.2177(2)	0.0805(2)	0.5188(1)	0.0522(8)
C5	0.2070(2)	0.1368(2)	0.4651(1)	0.0529(8)
N6	0.3119(2)	0.0415(2)	0.5369(2)	0.076(1)
O7	0.3130(2)	-0.0067(2)	0.5860(2)	0.137(2)
O8	0.3866(2)	0.0575(2)	0.5031(2)	0.112(1)
C9	0.2819(2)	0.1715(2)	0.4137(2)	0.074(1)
C10	-0.0569(2)	0.1086(2)	0.5545(1)	0.0470(7)
O11	-0.1196(2)	0.1467(1)	0.5187(1)	0.0630(6)
N12	-0.0803(2)	0.0672(1)	0.6136(1)	0.0487(6)
C13	-0.1782(2)	0.0558(1)	0.6398(1)	0.0434(7)
C14	-0.2677(2)	0.0849(2)	0.6126(1)	0.0489(7)
N15	-0.3438(1)	0.0573(1)	0.6547(1)	0.0485(6)
C16	-0.3040(2)	0.0098(2)	0.7084(1)	0.0440(7)
C17	-0.2010(2)	0.0087(2)	0.7000(1)	0.0470(7)
C18	-0.4507(2)	0.0703(2)	0.6378(2)	0.069(1)
C19	-0.3664(2)	-0.0321(2)	0.7620(1)	0.0492(7)
O20	-0.4504(1)	-0.0060(1)	0.7800(1)	0.0646(7)
N21	-0.3262(2)	-0.1014(2)	0.7890(1)	0.0581(7)
C22	-0.3746(2)	-0.1502(2)	0.8442(2)	0.068(1)
C23	-0.3273(3)	-0.2345(2)	0.8514(2)	0.085(1)
C24	-0.2169(3)	-0.2321(2)	0.8690(2)	0.087(1)
N25	-0.1522(2)	-0.2036(2)	0.8108(1)	0.0666(9)
C26	-0.0550(3)	-0.1772(3)	0.8383(2)	0.096(2)
C27	-0.1369(3)	-0.2686(3)	0.7587(2)	0.106(2)

### 10.2.2.5 Anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	$U_{11}$	$U_{22}$	$U_{33}$	$U_{12}$	$U_{13}$	$U_{23}$
S1	0.0543(4)	0.0677(4)	0.0521(4)	-0.0003(3)	0.0030(3)	0.0097(3)
C2	0.045(1)	0.046(1)	0.044(1)	-0.0037(10)	0.0016(10)	-0.0023(10)
C3	0.049(1)	0.051(1)	0.055(1)	-0.001(1)	0.001(1)	0.000(1)
C4	0.044(1)	0.056(1)	0.057(1)	-0.001(1)	0.000(1)	-0.010(1)
C5	0.051(1)	0.060(1)	0.048(1)	-0.008(1)	0.003(1)	-0.011(1)
N6	0.047(1)	0.098(2)	0.084(2)	0.007(1)	-0.004(1)	-0.004(2)
O7	0.065(2)	0.169(3)	0.178(3)	0.027(2)	-0.004(2)	0.088(3)
O8	0.046(1)	0.191(3)	0.100(2)	0.014(2)	0.008(1)	0.002(2)

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
C9	0.064(2)	0.089(2)	0.070(2)	-0.019(2)	0.021(2)	-0.003(2)
C10	0.044(1)	0.052(1)	0.045(1)	0.002(1)	-0.0004(10)	-0.002(1)
O11	0.054(1)	0.080(1)	0.055(1)	0.0147(10)	0.0009(8)	0.0149(9)
N12	0.0361(10)	0.062(1)	0.048(1)	0.0018(9)	-0.0024(9)	0.0077(9)
C13	0.036(1)	0.049(1)	0.045(1)	0.0020(9)	-0.0014(9)	0.0006(10)
C14	0.044(1)	0.056(1)	0.047(1)	0.004(1)	-0.003(1)	0.003(1)
N15	0.0353(10)	0.059(1)	0.051(1)	0.0076(9)	-0.0037(8)	-0.0010(9)
C16	0.039(1)	0.051(1)	0.042(1)	0.0041(10)	-0.0015(9)	-0.0042(10)
C17	0.038(1)	0.057(1)	0.047(1)	0.006(1)	-0.0020(10)	0.003(1)
C18	0.038(1)	0.096(2)	0.073(2)	0.012(1)	-0.012(1)	0.008(2)
C19	0.041(1)	0.065(1)	0.042(1)	0.000(1)	0.0005(10)	-0.008(1)
O20	0.0441(10)	0.091(1)	0.059(1)	0.0113(9)	0.0104(8)	-0.0050(10)
N21	0.048(1)	0.071(1)	0.056(1)	0.003(1)	0.010(1)	0.011(1)
C22	0.060(2)	0.087(2)	0.058(2)	-0.008(2)	0.012(1)	0.014(1)
C23	0.088(2)	0.079(2)	0.089(2)	-0.016(2)	0.019(2)	0.023(2)
C24	0.090(2)	0.088(2)	0.084(2)	0.004(2)	0.003(2)	0.036(2)
N25	0.066(2)	0.060(1)	0.074(2)	0.005(1)	0.003(1)	0.013(1)
C26	0.079(2)	0.093(3)	0.116(3)	0.004(2)	-0.005(2)	0.006(2)
C27	0.116(3)	0.093(3)	0.108(3)	0.009(2)	0.009(3)	-0.014(3)

### 10.2.2.6 Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (Å<sup>2</sup>)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H3	0.12655	0.02538	0.59493	0.061(8)
H9A	0.24933	0.21170	0.38362	0.136(10)
H9B	0.30877	0.12663	0.38559	0.136(10)
H9C	0.33561	0.19844	0.43893	0.136(10)
H12	-0.033(2)	0.0449(8)	0.6363(8)	0.055(8)
H14	-0.27497	0.11774	0.57240	0.064(8)
H17	-0.15500	-0.01845	0.72913	0.051(7)
H18A	-0.49163	0.04636	0.67431	0.16(1)
H18B	-0.46606	0.04367	0.59367	0.16(1)
H18C	-0.46414	0.12942	0.63429	0.16(1)
H21	-0.268(2)	-0.1208(7)	0.7755(5)	0.070(9)
H22A	-0.44551	-0.15679	0.83329	0.081(7)
H22B	-0.36928	-0.12039	0.88867	0.081(7)
H23A	-0.33613	-0.26483	0.80746	0.107(9)
H23B	-0.36237	-0.26543	0.88793	0.107(9)
H24A	-0.20709	-0.19499	0.90897	0.13(1)
H24B	-0.19581	-0.28795	0.88314	0.13(1)
H26A	-0.06477	-0.13420	0.87311	0.136(10)
H26B	-0.01436	-0.15567	0.80059	0.136(10)
H26C	-0.02166	-0.22445	0.85952	0.136(10)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H27A	-0.20098	-0.28656	0.74065	0.123(9)
H27B	-0.10312	-0.31545	0.78004	0.123(9)
H27C	-0.09663	-0.24698	0.72081	0.123(9)

### 10.2.2.7 Wasserstoffbrückenbindungen

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	< (DHA)
<b>N(12)-H(12)...O(20)#1</b>	0.84	2.09	2.899(3)	160.8
<b>N(21)-H(21)...N(25)</b>	0.87	2.14	2.856(3)	140.1

**Tabelle 10.3:** Wasserstoffbrückenbindungen für Verbindung **69**;

Bindungslängen (Å), Winkel (Grad);

Symmetrische Transformation zur Berechnung äquivalenter Atome:

#1  $x+1/2, y, -z+3/2$

### 10.2.2.8 Bindungslängen [Å]

S(1)-C(5)	1.706(3)
S(1)-C(2)	1.726(2)
C(2)-C(3)	1.352(3)
C(2)-C(10)	1.476(3)
C(3)-C(4)	1.408(3)
C(4)-C(5)	1.364(4)
C(4)-N(6)	1.439(4)
C(5)-C(9)	1.498(4)
N(6)-O(7)	1.207(4)
N(6)-O(8)	1.207(3)
C(10)-O(11)	1.233(3)
C(10)-N(12)	1.338(3)
N(12)-C(13)	1.403(3)
C(13)-C(14)	1.376(3)
C(13)-C(17)	1.400(3)
C(14)-N(15)	1.360(3)
N(15)-C(16)	1.374(3)
N(15)-C(18)	1.470(3)
C(16)-C(17)	1.377(3)
C(16)-C(19)	1.471(3)
C(19)-O(20)	1.237(3)
C(19)-N(21)	1.328(3)
N(21)-C(22)	1.455(3)
C(22)-C(23)	1.486(5)
C(23)-C(24)	1.504(5)
C(24)-N(25)	1.472(4)
N(25)-C(27)	1.444(4)
N(25)-C(26)	1.454(4)



**10.2.2.9 Bindungswinkel [Grad]**

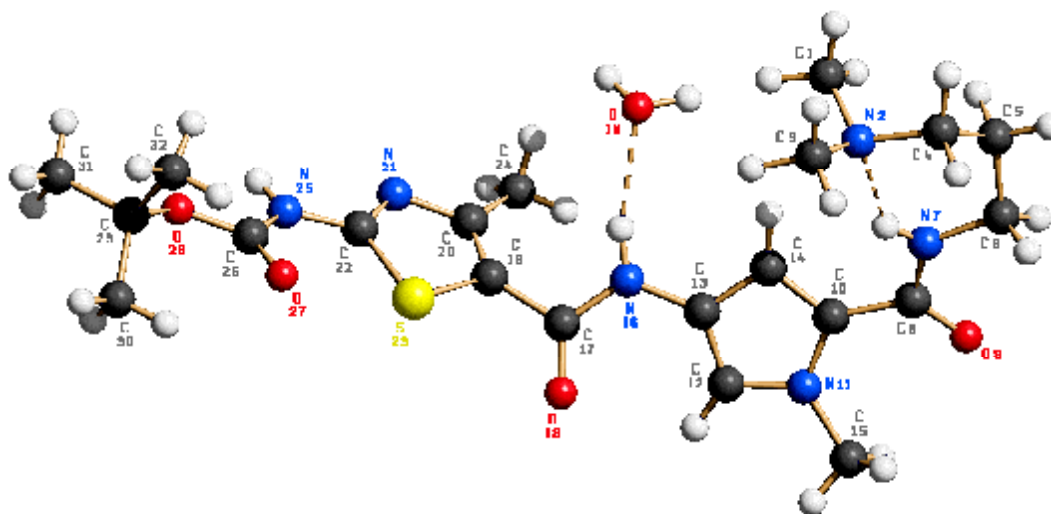
C(5)-S(1)-C(2)	93.34(12)	C(17)-C(13)-N(12)	124.0(2)
C(3)-C(2)-C(10)	131.8(2)	N(15)-C(14)-C(13)	108.2(2)
C(3)-C(2)-S(1)	110.81(19)	C(14)-N(15)-C(16)	109.13(19)
C(10)-C(2)-S(1)	117.43(18)	C(14)-N(15)-C(18)	122.9(2)
C(2)-C(3)-C(4)	111.6(2)	C(16)-N(15)-C(18)	127.6(2)
C(5)-C(4)-C(3)	115.7(2)	N(15)-C(16)-C(17)	107.6(2)
C(5)-C(4)-N(6)	123.5(3)	N(15)-C(16)-C(19)	123.1(2)
C(3)-C(4)-N(6)	120.8(3)	C(17)-C(16)-C(19)	129.3(2)
C(4)-C(5)-C(9)	131.3(3)	C(16)-C(17)-C(13)	107.6(2)
C(4)-C(5)-S(1)	108.59(19)	O(20)-C(19)-N(21)	122.4(2)
C(9)-C(5)-S(1)	120.2(2)	O(20)-C(19)-C(16)	123.1(2)
O(7)-N(6)-O(8)	122.3(3)	N(21)-C(19)-C(16)	114.6(2)
O(7)-N(6)-C(4)	118.0(3)	C(19)-N(21)-C(22)	122.9(2)
O(8)-N(6)-C(4)	119.7(3)	N(21)-C(22)-C(23)	111.2(3)
O(11)-C(10)-N(12)	123.2(2)	C(22)-C(23)-C(24)	114.2(3)
O(11)-C(10)-C(2)	120.2(2)	N(25)-C(24)-C(23)	114.2(3)
N(12)-C(10)-C(2)	116.6(2)	C(27)-N(25)-C(26)	109.2(3)
C(10)-N(12)-C(13)	125.2(2)	C(27)-N(25)-C(24)	112.0(3)
C(14)-C(13)-C(17)	107.4(2)	C(26)-N(25)-C(24)	109.7(3)
C(14)-C(13)-N(12)	128.6(2)		

**10.2.2.10 Torsionswinkel [Grad]**

C(5)-S(1)-C(2)-C(3)	-0.1(2)
C(5)-S(1)-C(2)-C(10)	-179.37(19)
C(10)-C(2)-C(3)-C(4)	179.3(2)
S(1)-C(2)-C(3)-C(4)	0.2(3)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	-0.3(3)
C(2)-C(3)-C(4)-N(6)	179.1(2)
C(3)-C(4)-C(5)-C(9)	179.5(3)
N(6)-C(4)-C(5)-C(9)	0.1(5)
C(3)-C(4)-C(5)-S(1)	0.2(3)
C(2)-S(1)-C(5)-C(4)	-179.2(2)
C(2)-S(1)-C(5)-C(9)	-0.05(19)
C(5)-C(4)-N(6)-O(7)	-179.4(2)
C(3)-C(4)-N(6)-O(7)	179.2(3)
C(5)-C(4)-N(6)-O(8)	-0.2(5)
C(3)-C(4)-N(6)-O(8)	-0.9(5)
C(3)-C(2)-C(10)-O(11)	179.8(3)
S(1)-C(2)-C(10)-O(11)	-171.6(3)
C(3)-C(2)-C(10)-N(12)	7.4(3)
S(1)-C(2)-C(10)-N(12)	7.9(4)
O(11)-C(10)-N(12)-C(13)	-173.00(18)
C(2)-C(10)-N(12)-C(13)	5.2(4)
C(10)-N(12)-C(13)-C(14)	-174.3(2)
C(10)-N(12)-C(13)-C(17)	-1.4(4)

C(10)-N(12)-C(13)-C(17)	176.7(2)
C(17)-C(13)-C(14)-N(15)	0.4(3)
N(12)-C(13)-C(14)-N(15)	178.8(2)
C(13)-C(14)-N(15)-C(16)	-0.7(3)
C(13)-C(14)-N(15)-C(18)	-174.4(2)
C(14)-N(15)-C(16)-C(17)	0.7(3)
C(18)-N(15)-C(16)-C(17)	174.1(2)
C(14)-N(15)-C(16)-C(19)	-177.8(2)
C(18)-N(15)-C(16)-C(19)	-4.5(4)
N(15)-C(16)-C(17)-C(13)	-0.5(3)
C(19)-C(16)-C(17)-C(13)	178.0(2)
C(14)-C(13)-C(17)-C(16)	0.0(3)
N(12)-C(13)-C(17)-C(16)	-178.4(2)
N(15)-C(16)-C(19)-O(20)	-27.4(4)
C(17)-C(16)-C(19)-O(20)	154.4(3)
N(15)-C(16)-C(19)-N(21)	151.5(2)
C(17)-C(16)-C(19)-N(21)	-26.7(4)
O(20)-C(19)-N(21)-C(22)	-3.1(4)
C(16)-C(19)-N(21)-C(22)	178.0(2)
C(19)-N(21)-C(22)-C(23)	165.5(3)
N(21)-C(22)-C(23)-C(24)	59.5(4)
C(22)-C(23)-C(24)-N(25)	-71.3(4)
C(23)-C(24)-N(25)-C(27)	-77.2(4)
C(23)-C(24)-N(25)-C(26)	161.4(3)

### 10.2.3 Röntgenkristallographische Daten der Verbindung 117



**Abb. 10.3:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung 117; Nummerierung nicht gemäß IUPAC

### 10.2.3.1 Kristalldaten für Verbindung 117

Summenformel:	$(C_{21}H_{32}N_6O_4S) \cdot H_2O$		
Molekulargewicht:	482.6 g/mol		
Absorption:	$\mu = 1.50 \text{ mm}^{-1}$ Korrektur mit Psi-scans		
Transmission:	$T_{\min} = 0.83, T_{\max} = 0.99$		
Kristallgröße:	0.32 x 0.384 x 0.64 mm <sup>3</sup> farbloser Block		
Raumgruppe:	P -1 (triklin)		
Gitterkonstanten:	$a = 10.356(2)\text{\AA}$	$\alpha = 111.70(1)^\circ$	
(berechnet aus 25	$b = 10.816(2)\text{\AA}$	$\beta = 106.24(1)^\circ$	
Reflexen mit	$c = 12.755(2)\text{\AA}$	$\gamma = 92.92(1)^\circ$	
$65^\circ < \theta < 70^\circ$ )	$V = 1255.2(4)\text{\AA}^3$	$z = 2$	$F(000) = 516$
Temperatur:	22°C		
Dichte:	$d_{\text{rön}} = 1.277 \text{ gcm}^{-3}$		

### 10.2.3.2 Datensammlung

Diffraktometer:	Turbo CAD4		
Strahlung:	Cu-K $_{\alpha}$ Graphitmonochromator		
Scan-Typ:	$\omega/2\theta$		
Scan-Breite:	$0.9^\circ + 0.15 \cdot \tan(\theta)$		
Messbereich:	$1.5^\circ \leq \theta \leq 70^\circ$		
	$0 \leq h \leq 12$	$-13 \leq k \leq 13$	$-15 \leq l \leq 14$
Reflexzahl:			
gemessen	5049		
unabhängige	4765 ( $R_{\sigma} = 0.0317$ )		
beobachtete	4423 ( $ F /\sigma(F) > 4.0$ )		

### 10.2.3.3 Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen:	Lorentz- und Polarisationskorrektur
Lösung:	Programm: SIR-97 (Direkte Methoden)

Verfeinerung: Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren), 313 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung:  
 $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0735*P)^2 + 0.40*P]$   
wobei  $P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2*F_o^2)/3$ ;  
Wasserstoffatome lokalisiert und reitend isotrop verfeinert,  
Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert;

Diskrepanzfaktor:  $wR2 = 0.1263$  ( $R1 = 0.0446$  für beobachtete Reflexe, 0.0470 für alle Reflexe)

Fitgüte:  $S = 1.068$

maximale Änderung der Parameter:  $0.001 * \text{e.s.d}$

maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese:  $0.40, -0.41 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$

#### 10.2.3.4 Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter ( $\text{\AA}^2$ )

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i * a_j * a_i a_j$$

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{äq}}$
C1	0.6883(3)	0.2188(3)	-0.6227(3)	0.092(2)
N2	0.5528(2)	0.1398(2)	-0.6807(2)	0.0604(8)
C3	0.5536(4)	0.0061(3)	-0.6780(4)	0.095(2)
C4	0.4934(3)	0.1248(3)	-0.8058(2)	0.069(1)
C5	0.4515(3)	0.2501(3)	-0.8185(2)	0.070(1)
C6	0.3312(2)	0.2924(2)	-0.7774(2)	0.0529(9)
N7	0.3587(2)	0.3083(2)	-0.6542(1)	0.0440(6)
C8	0.2918(2)	0.3761(2)	-0.5833(1)	0.0368(6)
O9	0.1969(1)	0.4344(1)	-0.6154(1)	0.0445(5)
C10	0.3388(2)	0.3790(2)	-0.4624(1)	0.0360(6)
N11	0.2574(1)	0.3945(2)	-0.3916(1)	0.0405(6)
C12	0.3294(2)	0.3885(2)	-0.2873(2)	0.0427(7)
C13	0.4592(2)	0.3711(2)	-0.2896(1)	0.0374(6)
C14	0.4653(2)	0.3645(2)	-0.4002(1)	0.0384(7)
C15	0.1125(2)	0.4036(3)	-0.4232(2)	0.060(1)
N16	0.5710(1)	0.3678(2)	-0.1984(1)	0.0415(6)
C17	0.5607(2)	0.3456(2)	-0.1033(2)	0.0389(7)
O18	0.4525(1)	0.3190(2)	-0.0892(1)	0.0581(7)
C19	0.6940(2)	0.3533(2)	-0.0160(1)	0.0361(6)
C20	0.8067(2)	0.4510(2)	0.0393(1)	0.0351(6)

Atom	X	Y	Z	U <sub>äq</sub>
N21	0.9103(1)	0.4267(1)	0.1214(1)	0.0358(5)
C22	0.8754(2)	0.3113(2)	0.1258(1)	0.0352(6)
S23	0.71398(4)	0.22488(4)	0.03429(3)	0.0394(2)
C24	0.8263(2)	0.5811(2)	0.0260(2)	0.0456(7)
N25	0.9619(2)	0.2652(2)	0.2011(1)	0.0421(6)
C26	0.9403(2)	0.1365(2)	0.1950(2)	0.0433(7)
O27	0.8433(2)	0.0520(2)	0.1242(1)	0.0605(7)
O28	1.0422(1)	0.1234(1)	0.2794(1)	0.0500(6)
C29	1.0580(2)	-0.0118(2)	0.2801(2)	0.0520(9)
C30	0.9374(3)	-0.0714(3)	0.3015(3)	0.067(1)
C31	1.1872(3)	0.0211(3)	0.3855(3)	0.084(1)
C32	1.0784(3)	-0.1001(3)	0.1649(3)	0.075(1)
O1W	0.8251(1)	0.3836(2)	-0.2678(1)	0.0565(6)

### 10.2.3.5 Anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
C1	0.067(2)	0.086(2)	0.102(2)	0.017(1)	0.025(2)	0.016(2)
N2	0.057(1)	0.068(1)	0.066(1)	0.0250(9)	0.0282(9)	0.0301(9)
C3	0.090(2)	0.087(2)	0.133(3)	0.038(2)	0.047(2)	0.061(2)
C4	0.076(2)	0.075(1)	0.060(1)	0.022(1)	0.036(1)	0.020(1)
C5	0.078(2)	0.097(2)	0.056(1)	0.030(1)	0.039(1)	0.039(1)
C6	0.057(1)	0.074(1)	0.0356(9)	0.0197(10)	0.0171(8)	0.0290(9)
N7	0.0422(8)	0.0646(10)	0.0343(7)	0.0195(7)	0.0127(6)	0.0280(7)
C8	0.0317(8)	0.0469(9)	0.0337(8)	0.0082(7)	0.0061(6)	0.0213(7)
O9	0.0399(6)	0.0580(7)	0.0376(6)	0.0165(5)	0.0055(5)	0.0257(6)
C10	0.0304(8)	0.0485(9)	0.0308(8)	0.0100(7)	0.0078(6)	0.0189(7)
N11	0.0290(7)	0.0632(9)	0.0337(7)	0.0175(6)	0.0103(6)	0.0228(7)
C12	0.0334(8)	0.069(1)	0.0319(8)	0.0168(8)	0.0116(7)	0.0248(8)
C13	0.0312(8)	0.0531(10)	0.0319(8)	0.0086(7)	0.0059(6)	0.0217(7)
C14	0.0294(8)	0.058(1)	0.0331(8)	0.0115(7)	0.0099(6)	0.0236(7)
C15	0.0325(9)	0.110(2)	0.049(1)	0.032(1)	0.0157(8)	0.039(1)
N16	0.0266(7)	0.0701(10)	0.0339(7)	0.0100(6)	0.0067(6)	0.0294(7)
C17	0.0305(8)	0.0573(10)	0.0336(8)	0.0100(7)	0.0079(7)	0.0246(7)
O18	0.0307(6)	0.106(1)	0.0534(8)0	0.0108(7)	0.0134(6)	0.0496(8)
C19	0.0298(8)	0.0532(9)	0.0308(8)	0.0093(7)	0.0093(6)	0.0229(7)
C20	0.0320(8)	0.0504(9)	0.0292(7)	0.0120(7)	0.0115(6)	0.0208(7)
N21	0.0299(6)	0.0473(8)	0.0320(7)	0.0086(6)	0.0070(5)	0.0195(6)
C22	0.0307(8)	0.0475(9)	0.0295(7)	0.0099(6)	0.0084(6)	0.0184(7)
S23	0.0310(2)	0.0525(3)	0.0361(2)	0.0035(2)	0.0045(2)	0.0244(2)
C24	0.0451(10)	0.052(1)	0.0442(10)	0.0096(8)	0.0104(8)	0.0273(8)
N25	0.0357(7)	0.0486(8)	0.0406(8)	0.0086(6)	0.0019(6)	0.0237(7)
C26	0.0403(9)	0.0510(10)	0.0435(9)	0.0128(8)	0.0117(8)	0.0250(8)
O27	0.0527(8)	0.0561(8)	0.0646(9)	0.0008(7)	-0.0009(7)	0.0307(7)
O28	0.0490(7)	0.0496(7)	0.0527(8)	0.0151(6)	0.0049(6)	0.0293(6)

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
C29	0.051(1)	0.052(1)	0.067(1)	0.0190(9)	0.0204(10)	0.0376(10)
C30	0.073(2)	0.073(1)	0.081(2)	0.021(1)	0.039(1)	0.048(1)
C31	0.071(2)	0.076(2)	0.112(2)	0.021(1)	0.002(2)	0.065(2)
C32	0.088(2)	0.063(1)	0.099(2)	0.031(1)	0.056(2)	0.039(1)
O1W	0.0446(7)	0.0699(9)	0.0600(9)	0.0037(6)	0.0112(6)	0.0363(7)

### 10.2.3.6 Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (Å<sup>2</sup>)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H1A	0.73389	0.23189	-0.53501	0.103(6)
H1B	0.67869	0.31259	-0.61641	0.103(6)
H1C	0.75360	0.18182	-0.67020	0.103(6)
H3A	0.45940	-0.04237	-0.71130	0.128(8)
H3B	0.61690	-0.04177	-0.72100	0.128(8)
H3C	0.59020	0.01903	-0.58150	0.128(8)
H4A	0.40440	0.04575	-0.85147	0.102(7)
H4B	0.56858	0.09315	-0.85101	0.102(7)
H5A	0.41750	0.22255	-0.91147	0.113(8)
H5B	0.54289	0.34110	-0.76544	0.113(8)
H6A	0.30514	0.37432	-0.78665	0.069(5)
H6B	0.24684	0.22482	-0.83365	0.069(5)
H7	0.41421	0.26707	-0.62560	0.061(7)
H12	0.29350	0.39870	-0.22370	0.056(6)
H14	0.54458	0.35107	-0.42701	0.051(6)
H15A	0.05923	0.33942	-0.49878	0.097(6)
H15B	0.07904	0.39577	-0.36114	0.097(6)
H15C	0.09654	0.49317	-0.42524	0.097(6)
H16	0.65556	0.37811	-0.20318	0.064(7)
H24A	0.75737	0.60121	-0.02327	0.095(6)
H24B	0.86457	0.65901	0.10203	0.095(6)
H24C	0.89347	0.58131	-0.01407	0.095(6)
H25	1.03782	0.32528	0.25611	0.066(7)
H30A	0.95517	-0.15391	0.31174	0.079(5)
H30B	0.85457	-0.09771	0.22994	0.079(5)
H30C	0.93537	-0.00141	0.37594	0.079(5)
H31A	1.20564	-0.05046	0.39666	0.120(7)
H31B	1.26904	0.07334	0.38126	0.120(7)
H31C	1.17154	0.09824	0.46496	0.120(7)
H32A	1.10308	-0.18099	0.17012	0.079(5)
H32B	0.99828	-0.11849	0.09972	0.079(5)
H32C	1.14088	-0.04769	0.14522	0.079(5)
H1W	0.79877	0.41984	-0.32352	0.0848
H2W	0.90196	0.43784	-0.21182	0.0848

### 10.2.3.7 Wasserstoffbrückenbindungen

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	< (DHA)
<b>N(7)-H(7)...N(2)</b>	0.83	2.12	2.787(2)	137.0
<b>N(16)-H(16)...O(1W)</b>	0.90	2.14	3.017(2)	163.6
<b>N(25)-H(25)...O(9)#1</b>	0.91	1.91	2.818(2)	171.3
<b>O(1W)-H(1W)...O(9)#2</b>	0.92	2.00	2.8593(19)	154.4
<b>O(1W)-H(2W)...N(21)#3</b>	0.90	2.11	2.990(2)	164.1

**Tabelle 10.4:** Wasserstoffbrückenbindungen für Verbindung **117**;

Bindungslängen (Å), Winkel (Grad);

Symmetrische Transformation zur Berechnung äquivalenter Atome:

#1  $x+1, y, z+1$ ; #2  $-x+1, -y+1, -z-1$ ; #3  $-x+2, -y+1, -z$

### 10.2.3.8 Bindungslängen [Å]

C(1)-N(2)	1.441(3)
N(2)-C(3)	1.460(3)
N(2)-C(4)	1.483(3)
C(4)-C(5)	1.495(4)
C(5)-C(6)	1.510(3)
C(6)-N(7)	1.457(2)
N(7)-C(8)	1.323(2)
C(8)-O(9)	1.249(2)
C(8)-C(10)	1.469(2)
C(10)-N(11)	1.372(2)
C(10)-C(14)	1.379(2)
N(11)-C(12)	1.358(2)
N(11)-C(15)	1.460(2)
C(12)-C(13)	1.374(2)
C(13)-C(14)	1.405(2)
C(13)-N(16)	1.406(2)
N(16)-C(17)	1.351(2)
C(17)-O(18)	1.220(2)
C(17)-C(19)	1.487(2)
C(19)-C(20)	1.357(2)
C(19)-S(23)	1.7311(17)
C(20)-N(21)	1.386(2)
C(20)-C(24)	1.489(2)
N(21)-C(22)	1.307(2)
C(22)-N(25)	1.376(2)

C(22)-S(23)	1.7242(17)
N(25)-C(26)	1.368(2)
C(26)-O(27)	1.204(2)
C(26)-O(28)	1.336(2)
O(28)-C(29)	1.483(2)
C(29)-C(32)	1.507(3)
C(29)-C(30)	1.512(3)
C(29)-C(31)	1.521(3)

### 10.2.3.9 Bindungswinkel [Grad]

C(1)-N(2)-C(3)	110.2(2)	N(16)-C(17)-C(19)	114.32(14)
C(1)-N(2)-C(4)	113.2(2)	C(20)-C(19)-C(17)	130.62(16)
C(3)-N(2)-C(4)	109.2(2)	C(20)-C(19)-S(23)	110.97(12)
N(2)-C(4)-C(5)	114.3(2)	C(17)-C(19)-S(23)	118.31(13)
C(4)-C(5)-C(6)	114.7(2)	C(19)-C(20)-N(21)	114.42(15)
N(7)-C(6)-C(5)	110.17(17)	C(19)-C(20)-C(24)	127.32(15)
C(8)-N(7)-C(6)	124.64(15)	N(21)-C(20)-C(24)	118.17(15)
O(9)-C(8)-N(7)	123.06(15)	C(22)-N(21)-C(20)	110.68(14)
O(9)-C(8)-C(10)	122.27(15)	N(21)-C(22)-N(25)	121.38(15)
N(7)-C(8)-C(10)	114.67(14)	N(21)-C(22)-S(23)	115.55(12)
N(11)-C(10)-C(14)	107.65(14)	N(25)-C(22)-S(23)	123.05(13)
N(11)-C(10)-C(8)	123.68(14)	C(22)-S(23)-C(19)	88.36(8)
C(14)-C(10)-C(8)	128.66(15)	C(26)-N(25)-C(22)	123.39(15)
C(12)-N(11)-C(10)	109.33(13)	O(27)-C(26)-O(28)	127.28(17)
C(12)-N(11)-C(15)	123.20(15)	O(27)-C(26)-N(25)	123.88(17)
C(10)-N(11)-C(15)	127.24(14)	O(28)-C(26)-N(25)	108.84(15)
N(11)-C(12)-C(13)	108.25(14)	C(26)-O(28)-C(29)	120.34(15)
C(12)-C(13)-C(14)	107.41(14)	O(28)-C(29)-C(32)	108.69(17)
C(12)-C(13)-N(16)	128.20(15)	O(28)-C(29)-C(30)	110.69(17)
C(14)-C(13)-N(16)	124.30(15)	C(32)-C(29)-C(30)	112.8(2)
C(10)-C(14)-C(13)	107.35(14)	O(28)-C(29)-C(31)	102.00(17)
C(17)-N(16)-C(13)	124.36(14)	C(32)-C(29)-C(31)	111.3(2)
O(18)-C(17)-N(16)	123.98(15)	C(30)-C(29)-C(31)	110.8(2)
O(18)-C(17)-C(19)	121.69(15)		

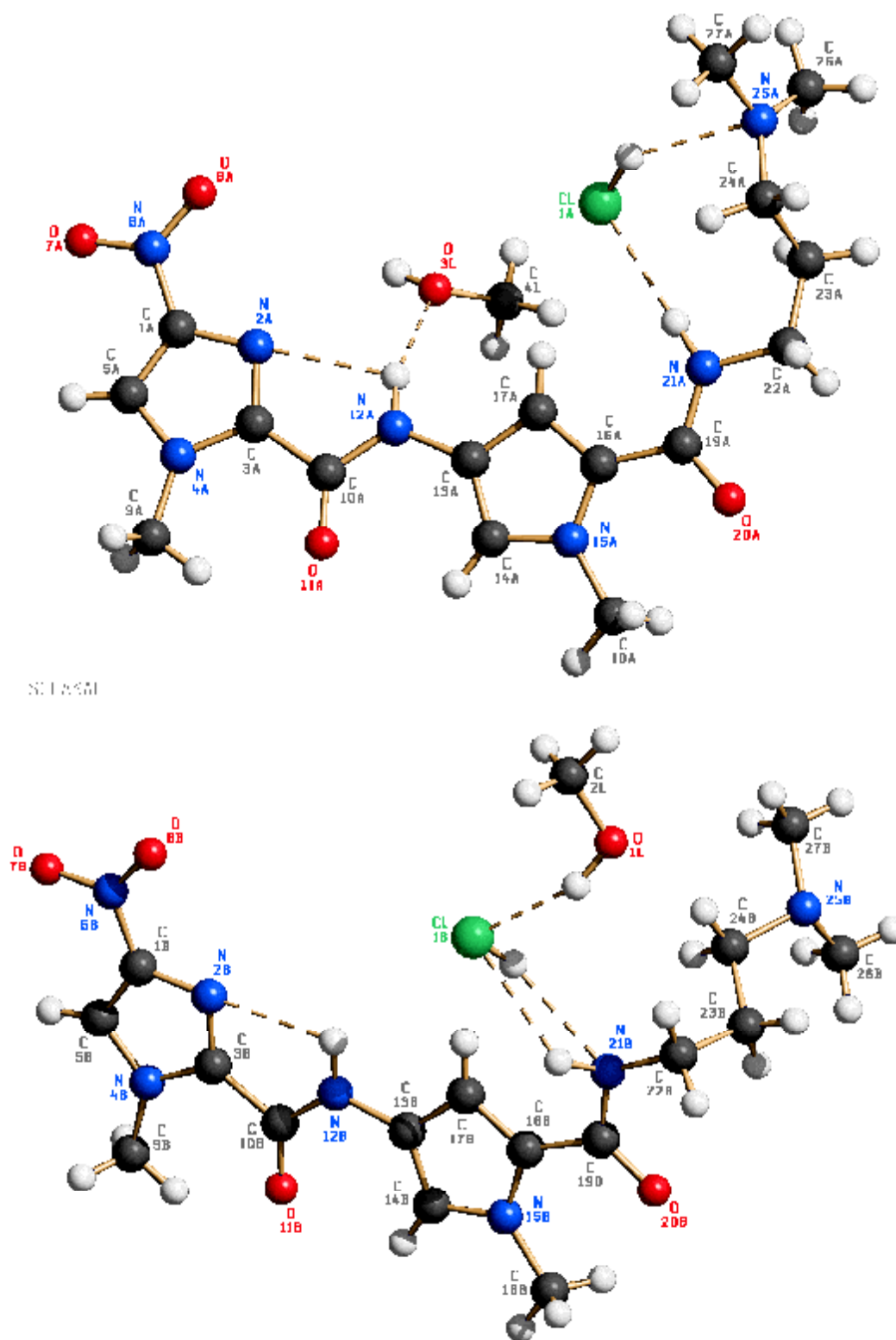
### 10.2.3.10 Torsionswinkel [Grad]

C(1)-N(2)-C(4)-C(5)	-72.8(3)
C(3)-N(2)-C(4)-C(5)	164.0(2)
N(2)-C(4)-C(5)-C(6)	-68.1(3)
C(4)-C(5)-C(6)-N(7)	55.6(3)
C(5)-C(6)-N(7)-C(8)	161.9(2)
C(6)-N(7)-C(8)-O(9)	-0.2(3)



C(6)-N(7)-C(8)-C(10)	-179.50(17)
O(9)-C(8)-C(10)-N(11)	27.0(3)
N(7)-C(8)-C(10)-N(11)	-153.69(17)
O(9)-C(8)-C(10)-C(14)	-154.61(19)
N(7)-C(8)-C(10)-C(14)	24.7(3)
C(14)-C(10)-N(11)-C(12)	-0.7(2)
C(8)-C(10)-N(11)-C(12)	178.03(17)
C(14)-C(10)-N(11)-C(15)	-175.3(2)
C(8)-C(10)-N(11)-C(15)	3.4(3)
C(10)-N(11)-C(12)-C(13)	0.9(2)
C(15)-N(11)-C(12)-C(13)	175.85(19)
N(11)-C(12)-C(13)-C(14)	-0.8(2)
N(11)-C(12)-C(13)-N(16)	175.73(18)
N(11)-C(10)-C(14)-C(13)	0.2(2)
C(8)-C(10)-C(14)-C(13)	-178.46(17)
C(12)-C(13)-C(14)-C(10)	0.4(2)
N(16)-C(13)-C(14)-C(10)	-176.31(17)
C(12)-C(13)-N(16)-C(17)	18.6(3)
C(14)-C(13)-N(16)-C(17)	-165.36(18)
C(13)-N(16)-C(17)-O(18)	3.9(3)
C(13)-N(16)-C(17)-C(19)	-177.28(16)
O(18)-C(17)-C(19)-C(20)	-129.2(16)
N(16)-C(17)-C(19)-C(20)	52.0(3)
O(18)-C(17)-C(19)-S(23)	46.8(2)
N(16)-C(17)-C(19)-S(23)	-132.07(15)
C(17)-C(19)-C(20)-N(21)	176.34(16)
S(23)-C(19)-C(20)-N(21)	0.14(18)
C(17)-C(19)-C(20)-C(24)	0.1(3)
S(23)-C(19)-C(20)-C(24)	-176.13(14)
C(19)-C(20)-N(21)-C(22)	0.8(2)
C(24)-C(20)-N(21)-C(22)	177.47(14)
C(20)-N(21)-C(22)-N(25)	-179.98(14)
C(20)-N(21)-C(22)-S(23)	-1.47(17)
N(21)-C(22)-S(23)-C(19)	1.33(13)
N(25)-C(22)-S(23)-C(19)	179.81(15)
C(20)-C(19)-S(23)-C(22)	-0.77(13)
C(17)-C(19)-S(23)-C(22)	-177.50(13)
N(21)-C(22)-N(25)-C(26)	-168.64(16)
S(23)-C(22)-N(25)-C(26)	13.0(2)
C(22)-N(25)-C(26)-O(27)	-0.8(3)
C(22)-N(25)-C(26)-O(28)	179.75(15)
C(27)-C(26)-O(28)-C(29)	11.2(3)
N(25)-C(26)-O(28)-C(29)	-169.37(15)
C(26)-O(28)-C(29)-C(32)	59.9(2)
C(26)-O(28)-C(29)-C(30)	-64.5(2)
C(26)-O(28)-C(29)-C(31)	177.59(19)

## 10.2.4 Röntgenkristallographische Daten der Verbindung 143



**Abb. 10.4:** SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung 143; Nummerierung nicht gemäß IUPAC; die Struktur enthält zwei unabhängige Moleküle

### 10.2.4.1 Kristalldaten für Verbindung 143

Summenformel:	(C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>7</sub> O <sub>4</sub> ) · HCl · MeOH		
Molekulargewicht:	445.9 g/mol		
Absorption:	$\mu = 1.95 \text{ mm}^{-1}$		
Kristallgröße:	0.096 x 0.16 x 0.32 mm <sup>3</sup> gelbe Platte		
Raumgruppe:	P -1 (triklin)		
Gitterkonstanten:	a = 13.402(6)Å	$\alpha = 63.29(3)^\circ$	
(berechnet aus 25	b = 13.940(6)Å	$\beta = 66.65(3)^\circ$	
Reflexen mit	c = 14.391(4)Å	$\gamma = 89.41(4)^\circ$	
20° < $\theta$ < 26°)	V = 2158(2)Å <sup>3</sup>	z = 4	F(000) = 944
Temperatur:	-80°C		
Dichte:	$d_{\text{rön}} = 1.372 \text{ gcm}^{-3}$		

### 10.2.4.2 Datensammlung

Diffraktometer:	Turbo CAD4		
Strahlung:	Cu-K <sub><math>\alpha</math></sub> Graphitmonochromator		
Scan-Typ:	$\omega/2\theta$		
Scan-Breite:	0.9° + 0.15*tan( $\theta$ )		
Messbereich:	1.5° ≤ $\theta$ ≤ 70°		
	-16 ≤ h ≤ 16	0 ≤ k ≤ 16	-15 ≤ l ≤ 17
Reflexzahl:			
gemessen	8563		
unabhängige	8201 (R <sub><math>\sigma</math></sub> = 0.0749)		
beobachtete	4476 ( F /σ (F) > 4.0)		

### 10.2.4.3 Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen:	Lorentz- und Polarisationskorrektur
Lösung:	Programm: SIR-97 (Direkte Methoden)

Verfeinerung: Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren), 543 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung:  
 $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.1679 \cdot P)^2 + 2.27 \cdot P]$   
wobei  $P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2 \cdot F_o^2)/3$ ;  
Wasserstoffatome geometrisch eingefügt u. reitend isotrop verfeinert, Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert;

Diskrepanzfaktor:  $wR2 = 0.3094$  ( $R1 = 0.0976$  für beobachtete Reflexe,  $0.1777$  für alle Reflexe)

Fitgüte:  $S = 1.029$

maximale Änderung der Parameter:  $0.001 \cdot \text{e.s.d}$

maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese:  $0.70, -0.54 \text{ e}\text{\AA}^{-3}$

Bemerkung: Struktur enthält zwei unabhängige Moleküle

#### 10.2.4.4 Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter ( $\text{\AA}^2$ )

$$U_{\text{äq}} = (1/3) \cdot \sum_{ij} a_i \cdot a_j \cdot a_{ij}$$

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{äq}}$
C1A	0.1583(5)	0.3192(5)	-0.3165(5)	0.032(3)
N2A	0.1612(4)	0.2621(4)	-0.2116(4)	0.035(3)
C3A	0.0587(5)	0.2084(5)	-0.1403(5)	0.026(3)
N4A	-0.0099(4)	0.2306(4)	-0.1950(4)	0.031(2)
C5A	0.0546(5)	0.2997(5)	-0.3077(5)	0.033(3)
N6A	0.2545(5)	0.3900(5)	-0.4203(5)	0.045(3)
O7A	0.2456(4)	0.4281(4)	-0.5115(4)	0.057(3)
O8A	0.3406(4)	0.4080(5)	-0.4151(4)	0.061(3)
C9A	-0.1287(5)	0.1904(6)	-0.1456(6)	0.041(3)
C10A	0.0176(5)	0.1348(5)	-0.0127(5)	0.033(3)
O11A	-0.0795(4)	0.0901(4)	0.0514(4)	0.046(2)
N12A	0.1011(4)	0.1254(4)	0.0193(4)	0.031(2)
C13A	0.0827(5)	0.0641(5)	0.1367(5)	0.030(3)
C14A	-0.0107(5)	-0.0099(5)	0.2294(5)	0.033(3)
N15A	0.0098(4)	-0.0487(4)	0.3256(4)	0.033(2)
C16A	0.1134(5)	-0.0010(5)	0.2933(5)	0.029(3)
C17A	0.1619(5)	0.0697(5)	0.1751(5)	0.030(3)
C18A	-0.0731(5)	-0.1296(5)	0.4412(5)	0.038(3)
C19A	0.1595(5)	-0.0228(5)	0.3775(5)	0.034(3)

Atom	X	Y	Z	U <sub>äq</sub>
O20A	0.1028(4)	-0.0852(4)	0.4823(4)	0.048(2)
N21A	0.2634(4)	0.0283(5)	0.3350(4)	0.039(3)
C22A	0.3158(6)	0.0036(7)	0.4139(6)	0.048(4)
C23A	0.4391(6)	0.0479(6)	0.3480(6)	0.050(4)
C24A	0.4692(6)	0.1726(6)	0.2900(7)	0.048(4)
N25A	0.5793(7)	0.2183(6)	0.1996(8)	0.106(5)
C26A	0.6653(7)	0.1691(8)	0.187(1)	0.090(7)
C27A	0.6064(9)	0.3394(7)	0.1413(8)	0.073(5)
C1B	0.8368(5)	0.6729(5)	-0.1701(5)	0.032(3)
N2B	0.8425(4)	0.6223(4)	-0.0670(4)	0.031(2)
C3B	0.9443(5)	0.6627(5)	-0.0948(5)	0.027(3)
N4B	1.0032(4)	0.7355(4)	-0.2105(4)	0.032(2)
C5B	0.9331(5)	0.7428(5)	-0.2586(5)	0.033(3)
N6B	0.7374(5)	0.6472(5)	-0.1774(5)	0.041(3)
O7B	0.7382(4)	0.6976(4)	-0.2731(4)	0.052(3)
O8B	0.6584(4)	0.5785(5)	-0.0910(5)	0.057(3)
C9B	1.1176(5)	0.7969(6)	-0.2722(5)	0.040(3)
C10B	0.9929(5)	0.6283(5)	-0.0092(5)	0.030(3)
O11B	1.0883(4)	0.6642(4)	-0.0368(4)	0.045(2)
N12B	0.9189(4)	0.5568(4)	0.0969(4)	0.032(2)
C13B	0.9368(5)	0.5096(5)	0.1979(5)	0.033(3)
C14B	1.0336(5)	0.5261(5)	0.2050(5)	0.032(3)
N15B	1.0129(4)	0.4678(4)	0.3183(4)	0.027(2)
C16B	0.9036(5)	0.4134(5)	0.3817(5)	0.028(3)
C17B	0.8554(5)	0.4412(5)	0.3073(5)	0.030(3)
C18B	1.0972(5)	0.4634(6)	0.3599(5)	0.035(3)
C19B	0.8505(5)	0.3414(5)	0.5084(5)	0.027(3)
O20B	0.8996(3)	0.3272(4)	0.5694(3)	0.037(2)
N21B	0.7452(4)	0.2898(4)	0.5532(4)	0.029(2)
C22B	0.6837(5)	0.2142(5)	0.6772(5)	0.035(3)
C23B	0.6388(5)	0.2744(6)	0.7455(5)	0.037(3)
C24B	0.5532(5)	0.3358(5)	0.7185(5)	0.035(3)
N25B	0.4871(4)	0.3655(5)	0.8091(4)	0.037(3)
C26B	0.5556(6)	0.4471(7)	0.8122(7)	0.053(4)
C27B	0.3884(6)	0.4069(7)	0.7950(7)	0.051(4)
O1L	0.4026(5)	0.1460(5)	0.6680(5)	0.067(3)
C2L	0.3210(7)	0.1225(8)	0.6393(9)	0.073(6)
O3L	0.3369(4)	0.1360(5)	-0.1153(4)	0.061(3)
C4L	0.3754(8)	0.0376(7)	-0.0656(7)	0.066(5)
CL1A	0.4529(2)	0.1891(2)	0.0543(1)	0.0540(9)
CL1B	0.5988(2)	0.2602(2)	0.4254(2)	0.060(1)

### 10.2.4.5 Anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	$U_{11}$	$U_{22}$	$U_{33}$	$U_{12}$	$U_{13}$	$U_{23}$
C1A	0.047(4)	0.035(3)	0.020(3)	0.013(3)	-0.024(3)	-0.009(3)
N2A	0.042(3)	0.044(3)	0.024(3)	0.014(3)	-0.024(2)	-0.014(2)
C3A	0.034(3)	0.033(3)	0.023(3)	0.012(3)	-0.022(3)	-0.014(2)
N4A	0.033(3)	0.039(3)	0.024(3)	0.009(2)	-0.017(2)	-0.014(2)
C5A	0.050(4)	0.038(4)	0.026(3)	0.019(3)	-0.030(3)	-0.016(3)
N6A	0.053(4)	0.052(4)	0.027(3)	0.007(3)	-0.023(3)	-0.012(3)
O7A	0.064(3)	0.068(3)	0.019(2)	0.001(3)	-0.024(2)	-0.001(2)
O8A	0.045(3)	0.075(4)	0.041(3)	-0.006(3)	-0.024(2)	-0.007(3)
C9A	0.043(4)	0.052(4)	0.033(3)	0.010(3)	-0.028(3)	-0.015(3)
C10A	0.039(4)	0.037(4)	0.024(3)	0.011(3)	-0.022(3)	-0.009(3)
O11A	0.037(3)	0.065(3)	0.026(2)	0.008(2)	-0.020(2)	-0.009(2)
N12A	0.033(3)	0.041(3)	0.017(2)	0.005(2)	-0.016(2)	-0.007(2)
C13A	0.039(3)	0.041(4)	0.017(3)	0.013(3)	-0.019(3)	-0.013(3)
C14A	0.042(3)	0.039(4)	0.025(3)	0.015(3)	-0.022(3)	-0.015(3)
N15A	0.044(3)	0.039(3)	0.017(2)	0.011(2)	-0.022(2)	-0.008(2)
C16A	0.037(3)	0.036(3)	0.021(3)	0.013(3)	-0.021(3)	-0.012(2)
C17A	0.032(3)	0.040(3)	0.020(3)	0.008(3)	-0.017(2)	-0.012(3)
C18A	0.040(4)	0.046(4)	0.019(3)	0.007(3)	-0.016(3)	-0.007(3)
C19A	0.044(4)	0.043(4)	0.026(3)	0.015(3)	-0.027(3)	-0.016(3)
O20A	0.048(3)	0.067(3)	0.020(2)	0.004(2)	-0.020(2)	-0.008(2)
N21A	0.041(3)	0.057(4)	0.025(3)	0.008(3)	-0.023(2)	-0.017(3)
C22A	0.048(4)	0.073(5)	0.029(3)	0.013(4)	-0.029(3)	-0.020(3)
C23A	0.051(4)	0.067(5)	0.038(4)	0.024(4)	-0.031(3)	-0.020(4)
C24A	0.043(4)	0.070(5)	0.063(5)	0.019(4)	-0.038(4)	-0.045(4)
N25A	0.066(5)	0.042(4)	0.092(6)	0.013(4)	0.011(4)	0.020(4)
C26A	0.040(5)	0.075(7)	0.124(9)	0.014(5)	-0.022(5)	-0.036(7)
C27A	0.098(7)	0.046(5)	0.061(6)	0.012(5)	-0.040(5)	-0.010(4)
C1B	0.038(3)	0.047(4)	0.022(3)	0.018(3)	-0.022(3)	-0.017(3)
N2B	0.038(3)	0.039(3)	0.023(2)	0.013(2)	-0.021(2)	-0.014(2)
C3B	0.034(3)	0.028(3)	0.017(3)	0.010(3)	-0.013(2)	-0.008(2)
N4B	0.035(3)	0.040(3)	0.020(2)	0.014(2)	-0.017(2)	-0.012(2)
C5B	0.047(4)	0.040(4)	0.026(3)	0.017(3)	-0.027(3)	-0.016(3)
N6B	0.049(3)	0.058(4)	0.041(3)	0.027(3)	-0.033(3)	-0.032(3)
O7B	0.060(3)	0.070(3)	0.041(3)	0.024(3)	-0.040(3)	-0.024(3)
O8B	0.046(3)	0.067(4)	0.053(3)	0.000(3)	-0.030(3)	-0.018(3)
C9B	0.046(4)	0.047(4)	0.021(3)	0.009(3)	-0.019(3)	-0.007(3)
C10B	0.041(3)	0.032(3)	0.021(3)	0.012(3)	-0.021(3)	-0.009(2)
O11B	0.041(3)	0.056(3)	0.025(2)	-0.003(2)	-0.021(2)	-0.004(2)
N12B	0.037(3)	0.041(3)	0.019(2)	0.008(2)	-0.017(2)	-0.011(2)
C13B	0.044(4)	0.042(4)	0.020(3)	0.014(3)	-0.022(3)	-0.015(3)
C14B	0.035(3)	0.044(4)	0.017(3)	0.012(3)	-0.014(2)	-0.014(3)
N15B	0.036(3)	0.036(3)	0.018(2)	0.013(2)	-0.020(2)	-0.014(2)
C16B	0.027(3)	0.040(3)	0.021(3)	0.011(3)	-0.014(2)	-0.015(3)
C17B	0.033(3)	0.038(3)	0.025(3)	0.010(3)	-0.021(3)	-0.015(3)
C18B	0.034(3)	0.047(4)	0.029(3)	0.013(3)	-0.022(3)	-0.016(3)

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
C19B	0.034(3)	0.038(3)	0.016(3)	0.013(3)	-0.017(2)	-0.014(2)
O20B	0.040(2)	0.049(3)	0.025(2)	0.010(2)	-0.025(2)	-0.012(2)
N21B	0.035(3)	0.040(3)	0.016(2)	0.008(2)	-0.014(2)	-0.013(2)
C22B	0.040(3)	0.039(4)	0.020(3)	0.002(3)	-0.014(3)	-0.009(3)
C23B	0.035(3)	0.056(4)	0.017(3)	0.004(3)	-0.011(3)	-0.013(3)
C24B	0.039(3)	0.037(4)	0.027(3)	0.005(3)	-0.017(3)	-0.013(3)
N25B	0.031(3)	0.056(4)	0.029(3)	0.010(3)	-0.016(2)	-0.021(3)
C26B	0.050(4)	0.067(5)	0.060(5)	0.016(4)	-0.029(4)	-0.039(4)
C27B	0.048(4)	0.067(5)	0.051(4)	0.019(4)	-0.030(4)	-0.031(4)
O1L	0.050(3)	0.103(5)	0.042(3)	0.007(3)	-0.019(3)	-0.031(3)
C2L	0.040(4)	0.097(7)	0.085(7)	0.011(5)	-0.035(5)	-0.040(6)
O3L	0.058(3)	0.080(4)	0.040(3)	0.017(3)	-0.024(3)	-0.024(3)
C4L	0.073(6)	0.068(6)	0.044(5)	0.001(5)	-0.015(4)	-0.025(4)
CL1A	0.053(1)	0.073(1)	0.0266(8)	-0.0049(9)	-0.0227(8)	-0.0125(8)
CL1B	0.047(1)	0.089(1)	0.0387(10)	-0.0035(10)	-0.0245(8)	-0.0225(10)

#### 10.2.4.6 Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (Å<sup>2</sup>)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H5A	0.03252	0.32878	-0.36857	0.040
H9A1	-0.15699	0.13968	-0.06246	0.061
H9A2	-0.14247	0.15206	-0.18344	0.061
H9A3	-0.16653	0.25240	-0.15764	0.061
H12A	0.17813	0.14722	-0.03889	0.037
H14A	-0.07716	-0.03057	0.22789	0.039
H17A	0.23486	0.11338	0.12916	0.036
H18A	-0.14020	-0.14964	0.43656	0.057
H18B	-0.09161	-0.09804	0.49313	0.057
H18C	-0.04296	-0.19513	0.47111	0.057
H21A	0.31996	0.06733	0.25256	0.047
H22A	0.30134	-0.07689	0.46359	0.057
H22B	0.28228	0.03626	0.46474	0.057
H23A	0.47043	0.02490	0.28806	0.060
H23B	0.47352	0.01555	0.40179	0.060
H24A	0.41639	0.20420	0.25771	0.057
H24B	0.46069	0.19403	0.34921	0.057
H26A	0.73096	0.22070	0.11752	0.14
H26B	0.64870	0.10549	0.17929	0.14
H26C	0.67987	0.14473	0.25498	0.14
H27A	0.53759	0.36732	0.15731	0.110
H27B	0.64865	0.36843	0.05764	0.110
H27C	0.65096	0.36271	0.17033	0.110
H5B	0.94803	0.78727	-0.33750	0.040

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H9B1	1.15041	0.77744	-0.21778	0.060
H9B2	1.11828	0.87569	-0.30725	0.060
H9B3	1.16075	0.77858	-0.33296	0.060
H12B	0.84309	0.52673	0.11809	0.038
H14B	1.10270	0.57037	0.14209	0.038
H17B	0.77994	0.41752	0.32763	0.035
H18D	1.16717	0.51191	0.29493	0.052
H18E	1.10845	0.38802	0.39417	0.052
H18F	1.07241	0.48740	0.41840	0.052
H21B	0.73724	0.24797	0.50925	0.035
H22C	0.73334	0.16869	0.70513	0.042
H22D	0.62128	0.16462	0.69062	0.042
H23C	0.60574	0.22076	0.82920	0.045
H23D	0.70107	0.32669	0.72873	0.045
H24C	0.59024	0.40349	0.64279	0.041
H24D	0.50266	0.29005	0.71234	0.041
H26D	0.62084	0.41948	0.82042	0.080
H26E	0.51116	0.45828	0.87804	0.080
H26F	0.57971	0.51692	0.74017	0.080
H27D	0.34729	0.42591	0.85566	0.077
H27E	0.34025	0.34976	0.80114	0.077
H27F	0.41275	0.47210	0.71891	0.077
H1L	0.47785	0.16869	0.60452	0.100
H2L1	0.25199	0.08130	0.71003	0.110
H2L2	0.34609	0.07847	0.60032	0.110
H2L3	0.30796	0.19114	0.58764	0.110
H3L	0.35423	0.15522	-0.18490	0.092
H4L1	0.36522	0.02119	0.01170	0.099
H4L2	0.45440	0.04780	-0.11491	0.099
H4L3	0.33307	-0.02341	-0.05975	0.099
H1A	0.50162	0.24375	0.07128	0.081
H1B	0.63567	0.31555	0.44814	0.090



### 10.2.4.7 Wasserstoffbrückenbindungen

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	< (DHA)
N(12A)-H(12A)...O(3L)	0.98	2.01	2.943(7)	158.5
N(21A)-H(21A)...Cl(1A)	1.00	2.42	3.412(6)	170.7
N(21B)-H(21B)...Cl(1B)	1.07	2.55	3.310(5)	127.5
O(1L)-H(1L)...Cl(1B)	0.98	2.16	3.074(6)	153.5
O(3L)-H(3L)...O(1L)#1	0.84	2.02	2.821(8)	159.7
Cl(1A)-H(1A)...N(25A)	1.17	2.36	3.317(12)	137.7
Cl(1B)-H(1B)...N(21B)	1.14	2.41	3.310(5)	133.8

**Tabelle 10.5:** Wasserstoffbrückenbindungen für Verbindung **143**;  
 Bindungslängen (Å), Winkel (Grad);  
 Symmetrische Transformation zur Berechnung äquivalenter Atome:  
 #1 x, y, z-1

### 10.2.4.8 Bindungslängen [Å]

C(1A)-C(5A)	1.364(9)
C(1A)-N(2A)	1.370(7)
C(1A)-N(6A)	1.429(8)
N(2A)-C(3A)	1.309(8)
C(3A)-N(4A)	1.381(7)
C(3A)-C(10A)	1.498(8)
N(4A)-C(5A)	1.344(7)
N(4A)-C(9A)	1.455(8)
N(6A)-O(8A)	1.221(7)
N(6A)-O(7A)	1.231(6)
C(10A)-O(11A)	1.218(7)
C(10A)-N(12A)	1.353(7)
N(12A)-C(13A)	1.423(7)
C(13A)-C(14A)	1.370(9)
C(13A)-C(17A)	1.394(8)
C(14A)-N(15A)	1.382(7)
N(15A)-C(16A)	1.347(8)
N(15A)-C(18A)	1.465(7)
C(16A)-C(17A)	1.385(8)
C(16A)-C(19A)	1.483(7)

C(19A)-O(20A)	1.239(7)
C(19A)-N(21A)	1.332(8)
N(21A)-C(22A)	1.475(7)
C(22A)-C(23A)	1.505(10)
C(23A)-C(24A)	1.526(10)
C(24A)-N(25A)	1.424(10)
N(25A)-C(26A)	1.327(11)
N(25A)-C(27A)	1.478(11)
C(1B)-C(5B)	1.358(9)
C(1B)-N(2B)	1.362(7)
C(1B)-N(6B)	1.438(8)
N(2B)-C(3B)	1.311(7)
C(3B)-N(4B)	1.371(7)
C(3B)-C(10B)	1.507(7)
N(4B)-C(5B)	1.350(7)
N(4B)-C(9B)	1.461(8)
N(6B)-O(8B)	1.221(7)
N(6B)-O(7B)	1.229(7)
C(10B)-O(11B)	1.214(7)
C(10B)-N(12B)	1.326(7)
N(12B)-C(13B)	1.420(7)
C(13B)-C(14B)	1.371(8)
C(13B)-C(17B)	1.374(8)
C(14B)-N(15B)	1.361(7)
N(15B)-C(16B)	1.376(7)
N(15B)-C(18B)	1.463(7)
C(16B)-C(17B)	1.373(7)
C(16B)-C(19B)	1.476(7)
C(19B)-O(20B)	1.242(6)
C(19B)-N(21B)	1.344(7)
N(21B)-C(22B)	1.461(7)
C(22B)-C(23B)	1.515(9)
C(23B)-C(24B)	1.495(9)
C(24B)-N(25B)	1.490(8)
N(25B)-C(27B)	1.488(8)
N(25B)-C(26B)	1.495(9)
O(1L)-C(2L)	1.399(9)
O(3L)-C(4L)	1.433(10)

### 10.2.4.9 Bindungswinkel [Grad]

C(5A)-C(1A)-N(2A)	111.8(5)	C(5B)-C(1B)-N(2B)	112.7(5)
C(5A)-C(1A)-N(6A)	125.8(5)	C(5B)-C(1B)-N(6B)	127.0(5)
N(2A)-C(1A)-N(6A)	122.4(5)	N(2B)-C(1B)-N(6B)	120.3(6)
C(3A)-N(2A)-C(1A)	103.6(5)	C(3B)-N(2B)-C(1B)	102.8(5)
N(2A)-C(3A)-N(4A)	112.4(5)	N(2B)-C(3B)-N(4B)	113.0(5)
N(2A)-C(3A)-C(10A)	124.6(5)	N(2B)-C(3B)-C(10B)	123.2(5)
N(4A)-C(3A)-C(10A)	123.0(5)	N(4B)-C(3B)-C(10B)	123.7(5)
C(5A)-N(4A)-C(3A)	106.6(5)	C(5B)-N(4B)-C(3B)	106.3(5)
C(5A)-N(4A)-C(9A)	124.4(5)	C(5B)-N(4B)-C(9B)	125.3(5)
C(3A)-N(4A)-C(9A)	129.0(5)	C(3B)-N(4B)-C(9B)	128.4(5)
N(4A)-C(5A)-C(1A)	105.6(5)	N(4B)-C(5B)-C(1B)	105.2(5)
O(8A)-N(6A)-O(7A)	123.6(6)	O(8B)-N(6B)-O(7B)	123.8(6)
O(8A)-N(6A)-C(1A)	119.4(5)	O(8B)-N(6B)-C(1B)	119.9(5)
O(7A)-N(6A)-C(1A)	117.0(5)	O(7B)-N(6B)-C(1B)	116.4(6)
O(11A)-C(10A)-N(12A)	126.0(5)	O(11B)-C(10B)-N(12B)	125.7(5)
O(11A)-C(10A)-C(3A)	122.4(5)	O(11B)-C(10B)-C(3B)	122.5(5)
N(12A)-C(10A)-C(3A)	111.6(5)	N(12B)-C(10B)-C(3B)	111.7(5)
C(10A)-N(12A)-C(13A)	122.4(5)	C(10B)-N(12B)-C(13B)	126.2(5)
C(14A)-C(13A)-C(17A)	108.5(5)	C(14B)-C(13B)-C(17B)	108.7(5)
C(14A)-C(13A)-N(12A)	127.8(5)	C(14B)-C(13B)-N(12B)	127.2(6)
C(17A)-C(13A)-N(12A)	123.7(5)	C(17B)-C(13B)-N(12B)	124.1(5)
C(13A)-C(14A)-N(15A)	107.1(5)	N(15B)-C(14B)-C(13B)	107.7(5)
C(16A)-N(15A)-C(14A)	109.2(5)	C(14B)-N(15B)-C(16B)	108.4(5)
C(16A)-N(15A)-C(18A)	128.7(5)	C(14B)-N(15B)-C(18B)	123.7(5)
C(14A)-N(15A)-C(18A)	122.1(5)	C(16B)-N(15B)-C(18B)	127.9(5)
N(15A)-C(16A)-C(17A)	108.6(5)	C(17B)-C(16B)-N(15B)	108.1(5)
N(15A)-C(16A)-C(19A)	122.5(5)	C(17B)-C(16B)-C(19B)	127.8(5)
C(17A)-C(16A)-C(19A)	128.9(6)	N(15B)-C(16B)-C(19B)	124.1(5)
C(16A)-C(17A)-C(13A)	106.6(5)	C(16B)-C(17B)-C(13B)	107.2(5)
O(20A)-C(19A)-N(21A)	122.2(5)	O(20B)-C(19B)-N(21B)	122.1(5)
O(20A)-C(19A)-C(16A)	120.9(6)	O(20B)-C(19B)-C(16B)	122.9(5)
N(21A)-C(19A)-C(16A)	116.9(5)	N(21B)-C(19B)-C(16B)	115.0(5)
C(19A)-N(21A)-C(22A)	119.0(5)	C(19B)-N(21B)-C(22B)	120.6(5)
N(21A)-C(22A)-C(23A)	111.5(5)	N(21B)-C(22B)-C(23B)	111.9(5)
C(22A)-C(23A)-C(24A)	112.9(6)	C(24B)-C(23B)-C(22B)	113.1(5)
N(25A)-C(24A)-C(23A)	113.4(6)	N(25B)-C(24B)-C(23B)	111.7(5)
C(26A)-N(25A)-C(24A)	127.4(7)	C(27B)-N(25B)-C(24B)	111.7(5)
C(26A)-N(25A)-C(27A)	115.9(8)	C(27B)-N(25B)-C(26B)	110.2(6)
C(24A)-N(25A)-C(27A)	113.0(8)	C(24B)-N(25B)-C(26B)	112.2(5)

### 10.2.4.10 Torsionswinkel [Grad]

C(5A)-C(1A)-N(2A)-C(3A)	0.0(7)
N(6A)-C(1A)-N(2A)-C(3A)	179.9(6)
C(1A)-N(2A)-C(3A)-N(4A)	-1.2(7)
C(1A)-N(2A)-C(3A)-C(10A)	-178.5(6)
N(2A)-C(3A)-N(4A)-C(5A)	2.0(7)
C(10A)-C(3A)-N(4A)-C(5A)	179.3(6)
N(2A)-C(3A)-N(4A)-C(9A)	-177.9(6)
C(10A)-C(3A)-N(4A)-C(9A)	-0.5(10)
C(3A)-N(4A)-C(5A)-C(1A)	-1.8(7)
C(9A)-N(4A)-C(5A)-C(1A)	178.1(6)
N(2A)-C(1A)-C(5A)-N(4A)	1.2(7)
N(6A)-C(1A)-C(5A)-N(4A)	-178.7(6)
C(5A)-C(1A)-N(6A)-O(8A)	173.6(7)
N(2A)-C(1A)-N(6A)-O(8A)	-6.3(10)
C(5A)-C(1A)-N(6A)-O(7A)	-7.6(10)
N(2A)-C(1A)-N(6A)-O(7A)	172.5(6)
N(2A)-C(3A)-C(10A)-O(11A)	176.8(6)
N(4A)-C(3A)-C(10A)-O(11A)	-0.2(10)
N(2A)-C(3A)-C(10A)-N(12A)	-3.7(9)
N(4A)-C(3A)-C(10A)-N(12A)	179.3(5)
O(11A)-C(10A)-N(12A)-C(13A)	-3.4(10)
C(3A)-C(10A)-N(12A)-C(13A)	177.0(5)
C(10A)-N(12A)-C(13A)-C(14A)	14.1(10)
C(10A)-N(12A)-C(13A)-C(17A)	-167.2(6)
C(17A)-C(13A)-C(14A)-N(15A)	1.0(7)
N(12A)-C(13A)-C(14A)-N(15A)	179.9(6)
C(13A)-C(14A)-N(15A)-C(16A)	-0.6(7)
C(13A)-C(14A)-N(15A)-C(18A)	179.7(6)
C(14A)-N(15A)-C(16A)-C(17A)	-0.1(7)
C(18A)-N(15A)-C(16A)-C(17A)	179.6(6)
C(14A)-N(15A)-C(16A)-C(19A)	178.0(6)
C(18A)-N(15A)-C(16A)-C(19A)	-2.3(10)
N(15A)-C(16A)-C(17A)-C(13A)	0.8(7)
C(19A)-C(16A)-C(17A)-C(13A)	-177.2(6)
C(14A)-C(13A)-C(17A)-C(16A)	-1.1(7)
N(12A)-C(13A)-C(17A)-C(16A)	180.0(6)
N(15A)-C(16A)-C(19A)-O(20A)	-1.3(10)
C(17A)-C(16A)-C(19A)-O(20A)	176.5(6)
N(15A)-C(16A)-C(19A)-N(21A)	179.3(6)
C(17A)-C(16A)-C(19A)-N(21A)	-3.0(10)
O(20A)-C(19A)-N(21A)-C(22A)	4.8(10)
C(16A)-C(19A)-N(21A)-C(22A)	-175.8(6)
C(19A)-N(21A)-C(22A)-C(23A)	166.9(6)
N(21A)-C(22A)-C(23A)-C(24A)	71.7(8)
C(22A)-C(23A)-C(24A)-N(25A)	-161.3(7)
C(23A)-C(24A)-N(25A)-C(26A)	-24.6(16)

C(23A)-C(24A)-N(25A)-C(27A)	178.0(7)
C(5B)-C(1B)-N(2B)-C(3B)	-0.1(7)
N(6B)-C(1B)-N(2B)-C(3B)	177.8(6)
C(1B)-N(2B)-C(3B)-N(4B)	-0.5(7)
C(1B)-N(2B)-C(3B)-C(10B)	-177.8(6)
N(2B)-C(3B)-N(4B)-C(5B)	1.0(7)
C(10B)-C(3B)-N(4B)-C(5B)	178.2(5)
N(2B)-C(3B)-N(4B)-C(9B)	179.5(6)
C(10B)-C(3B)-N(4B)-C(9B)	-3.3(10)
C(3B)-N(4B)-C(5B)-C(1B)	-1.0(7)
C(9B)-N(4B)-C(5B)-C(1B)	-179.5(6)
N(2B)-C(1B)-C(5B)-N(4B)	0.7(7)
N(6B)-C(1B)-C(5B)-N(4B)	-177.0(6)
C(5B)-C(1B)-N(6B)-O(8B)	176.5(6)
N(2B)-C(1B)-N(6B)-O(8B)	-1.0(9)
C(5B)-C(1B)-N(6B)-O(7B)	-3.5(10)
N(2B)-C(1B)-N(6B)-O(7B)	178.9(6)
N(2B)-C(3B)-C(10B)-O(11B)	178.0(6)
N(4B)-C(3B)-C(10B)-O(11B)	1.0(10)
N(2B)-C(3B)-C(10B)-N(12B)	-2.7(8)
N(4B)-C(3B)-C(10B)-N(12B)	-179.7(5)
O(11B)-C(10B)-N(12B)-C(13B)	0.6(10)
C(3B)-C(10B)-N(12B)-C(13B)	-178.7(5)
C(10B)-N(12B)-C(13B)-C(14B)	-2.0(10)
C(10B)-N(12B)-C(13B)-C(17B)	175.6(6)
C(17B)-C(13B)-C(14B)-N(15B)	0.3(7)
N(12B)-C(13B)-C(14B)-N(15B)	178.2(6)
C(13B)-C(14B)-N(15B)-C(16B)	0.9(7)
C(13B)-C(14B)-N(15B)-C(18B)	178.8(5)
C(14B)-N(15B)-C(16B)-C(17B)	-1.8(7)
C(18B)-N(15B)-C(16B)-C(17B)	-179.6(6)
C(14B)-N(15B)-C(16B)-C(19B)	179.9(6)
C(18B)-N(15B)-C(16B)-C(19B)	2.1(9)
N(15B)-C(16B)-C(17B)-C(13B)	2.0(7)
C(19B)-C(16B)-C(17B)-C(13B)	-179.8(6)
C(14B)-C(13B)-C(17B)-C(16B)	-1.4(7)
N(12B)-C(13B)-C(17B)-C(16B)	-179.4(6)
C(17B)-C(16B)-C(19B)-O(20B)	-174.9(6)
N(15B)-C(16B)-C(19B)-O(20B)	3.0(10)
C(17B)-C(16B)-C(19B)-N(21B)	6.5(9)
N(15B)-C(16B)-C(19B)-N(21B)	-175.6(5)
O(20B)-C(19B)-N(21B)-C(22B)	0.1(9)
C(16B)-C(19B)-N(21B)-C(22B)	178.7(5)
C(19B)-N(21B)-C(22B)-C(23B)	79.6(7)
N(21B)-C(22B)-C(23B)-C(24B)	65.3(7)
C(22B)-C(23B)-C(24B)-N(25B)	163.0(5)
C(23B)-C(24B)-N(25B)-C(27B)	-168.9(6)
C(23B)-C(24B)-N(25B)-C(26B)	66.7(7)

## 10.2.5 Röntgenkristallographische Daten der Verbindung 144

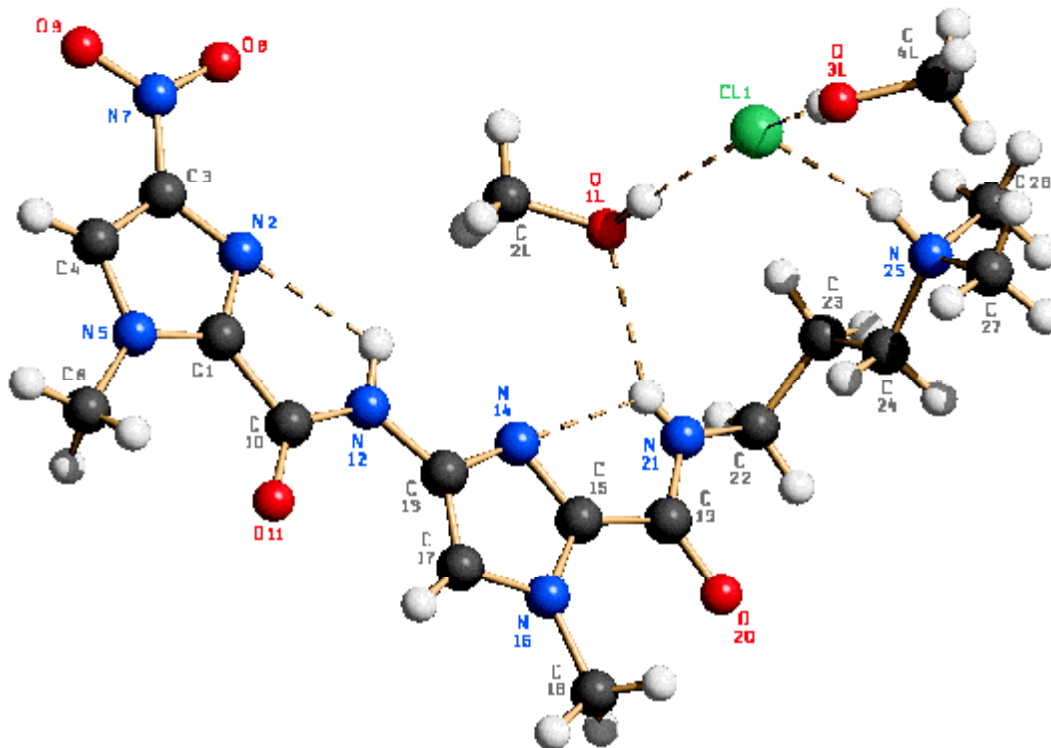


Abb. 10.5: SCHAKAL-Plot der Röntgenkristallstruktur von Verbindung 144; Nummerierung nicht gemäß IUPAC

### 10.2.5.1 Kristalldaten für Verbindung 144

Summenformel:	$(C_{15}H_{22}N_8O_4) \cdot HCl \cdot 2 MeOH$		
Molekulargewicht:	478.95 g/mol		
Absorption:	$\mu = 1.86 \text{ mm}^{-1}$ Korrektur mit Psi-scans		
Transmission:	$T_{\min} = 0.82, T_{\max} = 0.99$		
Kristallgröße:	0.064 x 0.32 x 0.512 mm <sup>3</sup> farblose Platte		
Raumgruppe:	C c (monoklin)		
Gitterkonstanten:	$a = 7.5722(8) \text{ \AA}$		
(berechnet aus 25	$b = 27.324(2) \text{ \AA}$	$\beta = 92.609(5)^\circ$	
Reflexen mit	$c = 11.438(1) \text{ \AA}$		
$35^\circ < \theta < 46^\circ$ )	$V = 2364.2(4) \text{ \AA}^3$	$z = 4$	$F(000) = 1016$
Temperatur:	-80°C		
Dichte:	$d_{\text{rön}} = 1.346 \text{ gcm}^{-3}$		

### 10.2.5.2 Datensammlung

Diffraktometer:	Turbo CAD4		
Strahlung:	Cu-K $\alpha$ Graphitmonochromator		
Scan-Typ:	$\omega/2\theta$		
Scan-Breite:	$0.9^\circ + 0.15 \cdot \tan(\theta)$		
Messbereich:	$1.5^\circ \leq \theta \leq 70^\circ$		
	$-9 \leq h \leq 0$	$0 \leq k \leq 33$	$-13 \leq l \leq 13$
Reflexzahl:			
gemessen	4502 (mit Friedel Paaren)		
unabhängige	4395 ( $R_\sigma = 0.0298$ )		
beobachtete	4174 ( $ F /\sigma(F) > 4.0$ )		

### 10.2.5.3 Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen:	Lorentz- und Polarisationskorrektur
Lösung:	Programm: SIR-97 (Direkte Methoden)
Verfeinerung:	Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren), 308 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: $w = 1/[\sigma^2(F_0^2) + (0.0819 \cdot P)^2 + 0.26 \cdot P]$ wobei $P = (\text{Max}(F_0^2, 0) + 2 \cdot F_0^2)/3$ ; Wasserstoffatome geometrisch eingefügt u. reitend isotrop verfeinert; NH's und OH's lokalisiert; Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert;
Diskrepanzfaktor:	wR2 = 0.1144 (R1 = 0.0417 für beobachtete Reflexe, 0.0442 für alle Reflexe)
Fitgüte:	S = 1.041
Flack Parameter:	x = 0.01(1)
maximale Änderung der Parameter:	0.001 * e.s.d
maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese:	0.35, -0.24 eÅ <sup>-3</sup>

### 10.2.5.4 Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter ( $\text{\AA}^2$ )

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i * a_j * a_i a_j$$

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{äq}}$
CL1	0.82261(8)	0.55018(3)	0.06281(6)	0.0454(2)
C1	0.4713(3)	0.74338(8)	0.5108(2)	0.0268(6)
N2	0.4477(3)	0.69578(7)	0.5164(2)	0.0266(5)
C3	0.2900(3)	0.69150(8)	0.5674(2)	0.0264(6)
C4	0.2185(3)	0.73596(9)	0.5938(2)	0.0283(6)
N5	0.3363(3)	0.76918(7)	0.5562(2)	0.0267(5)
C6	0.3138(4)	0.82245(9)	0.5669(3)	0.0330(7)
N7	0.2148(3)	0.64452(8)	0.5900(2)	0.0335(6)
O8	0.2920(3)	0.60767(7)	0.5622(2)	0.0505(7)
O9	0.0711(3)	0.64427(7)	0.6372(2)	0.0463(7)
C10	0.6299(3)	0.76564(9)	0.4583(2)	0.0278(6)
O11	0.6520(2)	0.80948(6)	0.4490(2)	0.0387(6)
N12	0.7425(3)	0.73106(7)	0.4229(2)	0.0298(6)
C13	0.9025(3)	0.73988(8)	0.3701(2)	0.0262(6)
N14	0.9991(3)	0.70057(7)	0.3407(2)	0.0266(5)
C15	1.1405(3)	0.71957(8)	0.2930(2)	0.0259(6)
N16	1.1361(3)	0.76911(7)	0.2911(2)	0.0271(5)
C17	0.9818(3)	0.78312(8)	0.3406(2)	0.0282(7)
C18	1.2632(3)	0.80366(9)	0.2449(2)	0.0336(7)
C19	1.2890(3)	0.68868(9)	0.2542(2)	0.0274(6)
O20	1.4241(2)	0.70735(7)	0.2164(2)	0.0404(6)
N21	1.2632(3)	0.64126(7)	0.2663(2)	0.0297(6)
C22	1.4010(3)	0.60475(9)	0.2507(2)	0.0327(7)
C23	1.3401(3)	0.56423(9)	0.1669(2)	0.0321(7)
C24	1.3052(3)	0.58406(8)	0.0441(2)	0.0319(7)
N25	1.1994(3)	0.54945(8)	-0.0318(2)	0.0350(6)
C26	1.2817(5)	0.5004(1)	-0.0406(3)	0.0490(10)
C27	1.1636(4)	0.5713(1)	-0.1505(3)	0.0474(9)
O1L	0.9728(3)	0.57183(9)	0.3195(2)	0.0508(7)
C2L	0.8461(4)	0.5776(1)	0.4053(3)	0.054(1)
O3L	0.6161(3)	0.5841(1)	-0.1690(2)	0.0609(8)
C4L	0.6734(5)	0.5595(2)	-0.2694(4)	0.065(1)

### 10.2.5.5 Anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	$U_{11}$	$U_{22}$	$U_{33}$	$U_{12}$	$U_{13}$	$U_{23}$
CL1	0.0427(3)	0.0469(3)	0.0474(4)	-0.0022(3)	0.0119(3)	-0.0020(3)
C1	0.025(1)	0.028(1)	0.027(1)	0.0046(9)	-0.0001(9)	-0.0028(9)
N2	0.0229(9)	0.0269(10)	0.0301(10)	0.0006(7)	0.0009(8)	-0.0037(8)
C3	0.025(1)	0.027(1)	0.027(1)	0.0002(8)	0.0012(9)	-0.0001(9)



Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>12</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>23</sub>
C4	0.026(1)	0.031(1)	0.028(1)	0.0012(9)	0.0019(9)	-0.0004(9)
N5	0.0249(9)	0.0276(9)	0.0278(9)	0.0038(8)	0.0044(7)	-0.0025(8)
C6	0.034(1)	0.026(1)	0.039(1)	0.0072(9)	0.0042(9)	-0.002(1)
N7	0.035(1)	0.032(1)	0.034(1)	-0.0002(9)	0.0040(8)	-0.0005(8)
O8	0.052(1)	0.0266(9)	0.074(1)	0.0014(8)	0.018(1)	-0.0034(9)
O9	0.042(1)	0.042(1)	0.057(1)	-0.0060(8)	0.0225(9)	0.0016(9)
C10	0.023(1)	0.029(1)	0.031(1)	0.0000(8)	-0.0001(9)	-0.0042(9)
O11	0.0316(9)	0.0259(9)	0.059(1)	0.0000(7)	0.0097(8)	-0.0031(8)
N12	0.0235(9)	0.028(1)	0.039(1)	-0.0009(8)	0.0074(8)	-0.0031(8)
C13	0.021(1)	0.030(1)	0.028(1)	-0.0006(8)	0.0017(8)	-0.0021(9)
N14	0.0242(9)	0.0271(9)	0.0287(10)	-0.0016(8)	0.0037(7)	-0.0008(7)
C15	0.025(1)	0.029(1)	0.023(1)	-0.0037(9)	0.0023(8)	-0.0011(8)
N16	0.0267(9)	0.0279(10)	0.0268(9)	-0.0034(8)	0.0014(7)	-0.0003(8)
C17	0.026(1)	0.025(1)	0.033(1)	0.0004(9)	-0.0002(9)	-0.0029(9)
C18	0.033(1)	0.029(1)	0.039(1)	-0.0084(10)	0.005(1)	0.0029(10)
C19	0.026(1)	0.031(1)	0.025(1)	-0.0028(9)	0.0046(9)	-0.0036(9)
O20	0.0324(9)	0.0384(10)	0.052(1)	-0.0069(8)	0.0199(8)	-0.0008(8)
N21	0.0224(10)	0.030(1)	0.037(1)	-0.0017(8)	0.0089(8)	-0.0037(8)
C22	0.026(1)	0.034(1)	0.039(1)	0.0027(9)	0.0048(10)	0.0019(10)
C23	0.030(1)	0.026(1)	0.040(1)	0.0062(9)	0.0057(10)	0.0021(10)
C24	0.039(1)	0.0234(9)	0.034(1)	0.0031(9)	0.0102(10)	0.0003(9)
N25	0.037(1)	0.031(1)	0.037(1)	0.0001(8)	0.0063(9)	0.0023(9)
C26	0.061(2)	0.029(1)	0.057(2)	0.002(1)	0.003(1)	-0.008(1)
C27	0.050(2)	0.057(2)	0.036(1)	0.002(1)	0.001(1)	0.004(1)
O1L	0.038(1)	0.066(1)	0.048(1)	-0.0063(10)	0.0071(9)	0.002(1)
C2L	0.039(1)	0.067(2)	0.058(2)	-0.004(1)	0.011(1)	0.001(2)
O3L	0.054(1)	0.073(2)	0.057(1)	0.012(1)	0.014(1)	0.003(1)
C4L	0.054(2)	0.068(2)	0.073(2)	0.003(2)	0.003(2)	-0.020(2)

### 10.2.5.6 Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (Å<sup>2</sup>)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H4	0.11047	0.74215	0.63021	0.041(8)
H6A	0.19817	0.82950	0.59820	0.066(7)
H6B	0.32106	0.83766	0.48969	0.066(7)
H6C	0.40725	0.83567	0.61998	0.066(7)
H12	0.706(1)	0.699(1)	0.4244(2)	0.026(7)
H17	0.93960	0.81544	0.35189	0.026(7)
H18A	1.22184	0.83719	0.25695	0.066(7)
H18B	1.27421	0.79774	0.16109	0.066(7)
H18C	1.37852	0.79917	0.28591	0.066(7)
H21	1.178(4)	0.6336(4)	0.291(1)	0.033(8)
H22A	1.43585	0.59021	0.32758	0.039(6)

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
H22B	1.50629	0.62097	0.22008	0.039(6)
H23A	1.43205	0.53851	0.16556	0.039(6)
H23B	1.23072	0.54921	0.19470	0.039(6)
H24A	1.24100	0.61552	0.04848	0.041(6)
H24B	1.41945	0.59051	0.00823	0.041(6)
H25	1.087(4)	0.5415(3)	-0.004(1)	0.047(9)
H26A	1.21299	0.48053	-0.09763	0.054(6)
H26B	1.28371	0.48434	0.03605	0.054(6)
H26C	1.40293	0.50394	-0.06603	0.054(6)
H27A	1.27546	0.57593	-0.18884	0.056(6)
H27B	1.10475	0.60300	-0.14254	0.056(6)
H27C	1.08709	0.54930	-0.19770	0.056(6)
H1L	0.91615	0.56876	0.24569	0.043(9)
H2L1	0.90651	0.58176	0.48223	0.11(1)
H2L2	0.77057	0.54846	0.40626	0.11(1)
H2L3	0.77335	0.60646	0.38690	0.11(1)
H3L	0.68598	0.56909	-0.10609	0.06(1)
H4L1	0.79053	0.57164	-0.28828	0.10(1)
H4L2	0.58947	0.56569	-0.33549	0.10(1)
H4L3	0.67982	0.52430	-0.25383	0.10(1)

### 10.2.5.7 Wasserstoffbrückenbindungen

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	< (DHA)
N(21)-H(21)...O(1L)	0.74	2.33	2.988(3)	148.6
N(25)-H(25)...Cl(1)	0.94	2.19	3.097(2)	160.5
O(1L)-H(1L)...Cl(1)	0.93	2.24	3.156(2)	168.4
O(3L)-H(3L)...Cl(1)	0.96	2.21	3.155(3)	165.9
N(12)-H(12)...N(2)	0.91	2.26	2.697(3)	108.7
N(21)-H(21)...N(14)	0.74	2.36	2.739(3)	112.9

**Tabelle 10.6:** Wasserstoffbrückenbindungen für Verbindung **144**;  
Bindungslängen (Å), Winkel (Grad)

**10.2.5.8 Bindungslängen [Å]**

C(1)-N(2)	1.315(3)
C(1)-N(5)	1.364(3)
C(1)-C(10)	1.496(3)
N(2)-C(3)	1.357(3)
C(3)-C(4)	1.369(3)
C(3)-N(7)	1.433(3)
C(4)-N(5)	1.356(3)
N(5)-C(6)	1.471(3)
N(7)-O(8)	1.214(3)
N(7)-O(9)	1.237(3)
C(10)-O(11)	1.215(3)
C(10)-N(12)	1.348(3)
N(12)-C(13)	1.399(3)
C(13)-N(14)	1.351(3)
C(13)-C(17)	1.374(3)
N(14)-C(15)	1.328(3)
C(15)-N(16)	1.354(3)
C(15)-C(19)	1.490(3)
N(16)-C(17)	1.375(3)
N(16)-C(18)	1.464(3)
C(19)-O(20)	1.239(3)
C(19)-N(21)	1.318(3)
N(21)-C(22)	1.460(3)
C(22)-C(23)	1.522(3)
C(23)-C(24)	1.517(3)
C(24)-N(25)	1.492(3)
N(25)-C(26)	1.483(3)
N(25)-C(27)	1.496(4)
O(1L)-C(2L)	1.412(4)
O(3L)-C(4L)	1.415(5)

**10.2.5.9 Bindungswinkel [Grad]**

C(4)-N(5)-C(1)	106.85(19)	N(16)-C(15)-C(19)	125.4(2)
C(4)-N(5)-C(6)	123.8(2)	C(15)-N(16)-C(17)	106.98(19)
C(1)-N(5)-C(6)	129.4(2)	C(15)-N(16)-C(18)	129.4(2)
O(8)-N(7)-O(9)	123.6(2)	C(17)-N(16)-C(18)	123.6(2)
O(8)-N(7)-C(3)	119.7(2)	C(13)-C(17)-N(16)	104.5(2)
O(9)-N(7)-C(3)	116.7(2)	O(20)-C(19)-N(21)	124.7(2)
O(11)-C(10)-N(12)	125.0(2)	O(20)-C(19)-C(15)	121.2(2)
O(11)-C(10)-C(1)	123.5(2)	N(21)-C(19)-C(15)	114.1(2)
N(12)-C(10)-C(1)	111.5(2)	C(19)-N(21)-C(22)	123.3(2)
C(10)-N(12)-C(13)	125.5(2)	N(21)-C(22)-C(23)	112.10(19)
N(14)-C(13)-C(17)	112.0(2)	C(24)-C(23)-C(22)	111.0(2)
N(14)-C(13)-N(12)	117.4(2)	N(25)-C(24)-C(23)	112.24(19)
C(17)-C(13)-N(12)	130.6(2)	C(26)-N(25)-C(24)	113.3(2)
C(15)-N(14)-C(13)	104.3(2)	C(26)-N(25)-C(27)	111.0(2)
N(14)-C(15)-N(16)	112.2(2)	C(24)-N(25)-C(27)	110.2(2)
N(14)-C(15)-C(19)	122.3(2)		

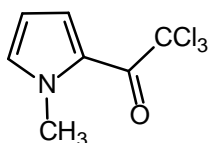
**10.2.5.10 Torsionswinkel [Grad]**

N(5)-C(1)-N(2)-C(3)	0.2(3)
C(10)-C(1)-N(2)-C(3)	-179.1(2)
C(1)-N(2)-C(3)-C(4)	-0.5(3)
C(1)-N(2)-C(3)-N(7)	-179.9(2)
N(2)-C(3)-C(4)-N(5)	0.7(3)
N(7)-C(3)-C(4)-N(5)	180.0(2)
C(3)-C(4)-N(5)-C(1)	-0.5(3)
C(3)-C(4)-N(5)-C(6)	-179.9(2)
N(2)-C(1)-N(5)-C(4)	0.2(3)
C(10)-C(1)-N(5)-C(4)	179.5(2)
N(2)-C(1)-N(5)-C(6)	179.6(2)
C(10)-C(1)-N(5)-C(6)	-1.2(4)
N(2)-C(3)-N(7)-O(8)	-0.7(4)
C(4)-C(3)-N(7)-O(8)	-180.0(3)
N(2)-C(3)-N(7)-O(9)	179.7(2)
C(4)-C(3)-N(7)-O(9)	0.5(4)
N(2)-C(1)-C(10)-O(11)	177.7(2)
N(5)-C(1)-C(10)-O(11)	-1.5(4)
N(2)-C(1)-C(10)-N(12)	-2.1(3)
N(5)-C(1)-C(10)-N(12)	178.7(2)
O(11)-C(10)-N(12)-C(13)	0.1(4)
C(1)-C(10)-N(12)-C(13)	179.8(2)
C(10)-N(12)-C(13)-N(14)	179.8(2)

C(10)-N(12)-C(13)-C(17)	-0.9(4)
C(17)-C(13)-N(14)-C(15)	0.4(3)
N(12)-C(13)-N(14)-C(15)	179.8(2)
C(13)-N(14)-C(15)-N(16)	-0.2(3)
C(13)-N(14)-C(15)-C(19)	176.2(2)
N(14)-C(15)-N(16)-C(17)	0.0(3)
C(19)-C(15)-N(16)-C(17)	-176.34(19)
N(14)-C(15)-N(16)-C(18)	-178.9(2)
C(19)-C(15)-N(16)-C(18)	4.8(4)
N(14)-C(13)-C(17)-N(16)	-0.4(3)
N(12)-C(13)-C(17)-N(16)	-179.7(2)
C(15)-N(16)-C(17)-C(13)	0.3(3)
C(18)-N(16)-C(17)-C(13)	179.2(2)
N(14)-C(15)-C(19)-O(20)	-175.7(2)
N(16)-C(15)-C(19)-O(20)	0.2(4)
N(14)-C(15)-C(19)-N(21)	3.1(3)
N(16)-C(15)-C(19)-N(21)	179.0(2)
O(20)-C(19)-N(21)-C(22)	8.3(4)
C(15)-C(19)-N(21)-C(22)	-170.4(2)
C(19)-N(21)-C(22)-C(23)	-128.7(2)
N(21)-C(22)-C(23)-C(24)	65.3(3)
C(22)-C(23)-C(24)-N(25)	-164.1(2)
C(23)-C(24)-N(25)-C(26)	-56.8(3)
C(23)-C(24)-N(25)-C(27)	178.2(2)

## 10.3 Synthesevorschriften

### 10.3.1 2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-1*H*-2-pyrrolyl)ethanon <sup>[122]</sup> (56)

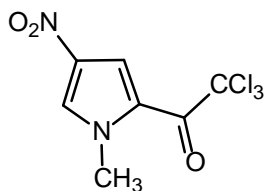


Zu einer Lösung aus 2.03 g (25 mmol) *N*-Methylpyrrol **55** in 10 ml wasserfreiem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> tropft man 4.55 g (28 mmol) Trichloressigsäurechlorid unter Stickstoffatmosphäre bei RT. Nach Zugabe des Säurechlorids färbt sich die Lösung purpurrot bis violett. Man lässt 40 min. rühren. Nach erfolgter Umsetzung (DC-Kontrolle: Kieselgel PE/EE 3:1) entfernt man das LM unter vermindertem Druck.

Den purpurroten Rückstand versetzt man mit 100 ml PE und erhitzt 10 min. unter Rückfluss. Anschließend wird die überstehende gelbe Lösung abfiltriert, das Filtrat 15 h bei +4°C aufbewahrt und die ausgefallenen gelben Kristalle isoliert.

Ausbeute:	2.8 g (12.39 mmol) (49.6 % d. Th.), gelbe Nadeln
Schmelzpunkt:	62°C (Literatur: 62-63°C) <sup>[136]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	3.89 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6.27 (dd, 1H, Pyrrol-H), 7.40 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.6 Hz, Pyrrol-H), 7.42 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H)
(300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	
EI-MS: m/z (%):	226 (100)
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> NOCl <sub>3</sub>
M <sub>r</sub> :	226.48

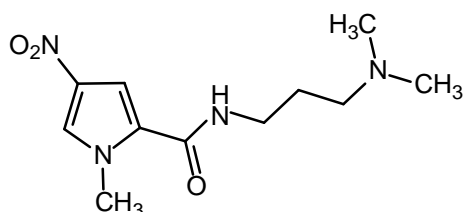
### 10.3.2 2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)ethanon <sup>[122]</sup> (57)



2 g (8.86 mmol) 2-Trichloroacetyl-*N*-methylpyrrol **56** werden in 12 ml Acetanhydrid suspendiert und auf -40°C gekühlt (MeOH/N<sub>2</sub>(l)). Anschließend wird eine Mischung aus 8 ml Acetanhydrid und 1.6 ml HNO<sub>3</sub> (65 %) hinzugegeben. Die Kühlung wird nach 1.5 h entfernt und die entstandene gelbe Lösung weitere 2 h bei RT gerührt. Nach erfolgter DC-Kontrolle (Kieselgel PE/EE 8:1) wird mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert und dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und nachfolgend das LM im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel PE/EE 8:1) gereinigt.

Ausbeute:	1.35 g (4.98 mmol) (56.2 % d. Th.), farblose Kristalle
Schmelzpunkt:	133°C (Literatur: 134-135°C) <sup>[136]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	3.99 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 7.78 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.8 Hz, Pyrrol-H3), 8.57 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5)
	(300 MHz) (DMSO d <sub>6</sub> )
EI-MS: m/z (%):	271 (100)
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>3</sub>
M <sub>r</sub> :	271.48

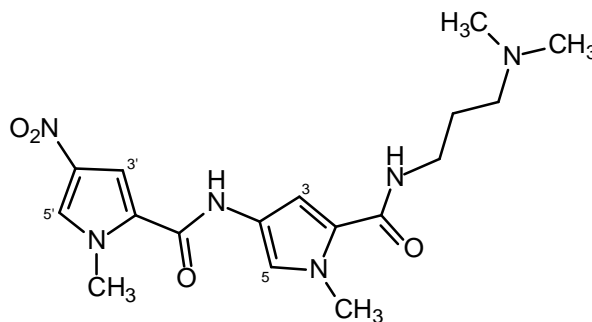
### 10.3.3 *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid <sup>[122]</sup> (58)



1.4 g (5.16 mmol) 2,2,2-Trichlor-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)ethanon **57** werden in 15 ml wasserfreiem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf 0°C (Eis-Kochsalz-Mischung) gekühlt. Man gibt 700 mg (6.86 mmol) *N,N*-Dimethyl-1,3-propandiamin hinzu und lässt 1 h bei RT rühren (DC-Kontrolle: Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3). Anschließend wird das LM unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 1.1 g (4.33 mmol) (83.9 % d. Th.), farblose Nadeln  
 Schmelzpunkt: 125°C (EtOH) (Literatur: 125.5-127°C) [230]  
<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.10 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.21 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.18 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.88 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 7.39 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 8.11 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H5), 8.40 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 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>  
 M<sub>r</sub>: 254.28

#### 10.3.4 ***N*-[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid** [122] (**60**)



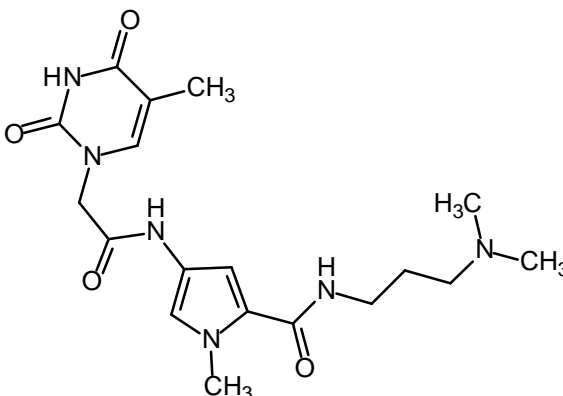
2 g (7.87 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **58** werden in 20 ml absolutem DMF gelöst, mit 800 mg Pd(10 %)/C versetzt und 16 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Reduktion (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid EtOH) filtriert man den Katalysator ab und kühlt die Lösung auf 0°C (Eis-Kochsalz-Mischung). 2 g (7.38 mmol) 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-



pyrrolyl)ethanon **57** werden in 10 ml absolutem DMF gelöst und ebenfalls auf 0°C gekühlt. Diese Lösung wird anschließend zu der des Amins **59** hinzuge tropft und für weitere 24 h bei RT gerührt. Nach erfolgter Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3) wird das LM unter Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3) gereinigt.

Ausbeute:	1.05 g (2.79 mmol) (37.8 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	190°C (MeOH) (Literatur: 191-194°C) <sup>[231]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.61 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.16 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.28 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.18 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.3 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.79 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 3.94 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 6.81 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.4 Hz, Pyrrol-H3), 7.20 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.4 Hz, Pyrrol-H5), 7.57 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3'), 8.13 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.6 Hz, NH), 8.17 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.4 Hz, Pyrrol-H5'), 10.24 (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 (2 CH <sub>3</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>
M <sub>r</sub> :	376.41

**10.3.5 N-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-{[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino}-1H-2-pyrrolicarboxamid <sup>[125]</sup> (**64**)**

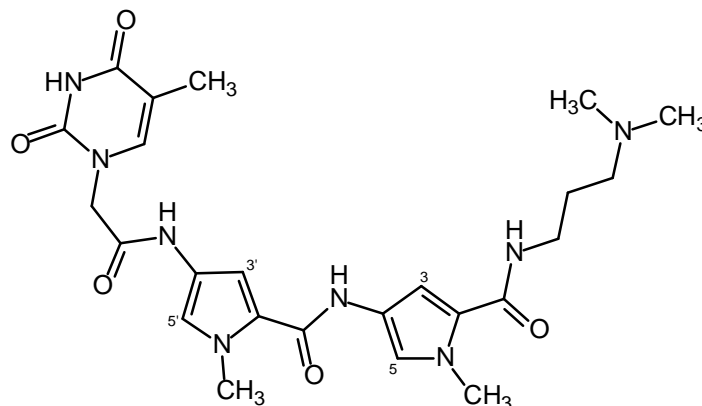


240 mg (1.3 mmol) 2-Thyminessigsäure werden in 20 ml wasserfreiem DMF gelöst und auf  $-20^{\circ}\text{C}$  gekühlt ( $\text{MeOH}/\text{N}_2(l)$ ). Man fügt 0.1 ml (1.2 mmol) Chlorameisensäureethylester hinzu und rührt die Mischung 20 min. bei dieser Temperatur.

254 mg (1 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrol-carboxamid **58** werden in 10 ml absolutem DMF gelöst, mit 200 mg Pd(10 %)/C versetzt und 16 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid EtOH). Anschließend filtriert man den Katalysator ab, fügt 129 mg (1 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin hinzu, gibt diese Mischung zu der Lösung der aktivierten 2-Thyminessigsäure und rührt 24 h lichtgeschützt bei RT. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle: Kieselgel  $\text{MeOH}/\text{NH}_3$  (25 %) 97:3) dampft man zur Trockene ein und isoliert das Endprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel  $\text{MeOH}/\text{NH}_3$  (25 %) 97:3).

Ausbeute:	145 mg (0.37 mmol) (37 % d. Th.), weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	> $280^{\circ}\text{C}$
$^1\text{H-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (300 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ )	1.61 (quint, 2H, $^3\text{J} = 6.9$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 1.75 (s, 3H, Thymin- $\text{CH}_3$ ), 2.2 (s, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 2.33 (t, 2H, $^3\text{J} = 6.9$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 3.16 (q, 2H, $^3\text{J} = 6.7$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 3.76 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 4.41 (s, 2H, $\text{CH}_2$ ), 6.67 (d, 1H, $^4\text{J} = 1.7$ Hz, Pyrrol-H3), 7.07 (d, 1H, $^4\text{J} = 1.7$ Hz, Pyrrol-H5), 7.48 (s, 1H, Thymin-H6), 8.10 (t, 1H, $^3\text{J} = 5.1$ Hz, NH), 10.13 (s, 1H, NH), 11.32 (s, 1H, Thymin-NH)
$^{13}\text{C-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (75 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ )	12.22 ( $\text{CH}_3$ ), 27.00 ( $\text{CH}_2$ ), 36.31 ( $\text{CH}_3$ ), 37.09 ( $\text{CH}_2$ ), 44.97 (2 $\text{CH}_3$ ), 49.82 ( $\text{CH}_2$ ), 56.92 ( $\text{CH}_2$ ), 103.66 (CH), 108.23 ( $\text{C}_q$ ), 117.86 (CH), 121.51 ( $\text{C}_q$ ), 123.47 ( $\text{C}_q$ ), 142.80 (CH), 151.42 (C=O), 161.36 (C=O), 164.32 (C=O), 164.80 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	390.8 (100)
Summenformel:	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4$
$M_r$ :	390.44
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):	3303 (m), 3126 (w), 2812 (w), 1688 (s), 1660 (s), 1644 (s), 1577 (m), 1524 (m), 1463 (m), 1435 (m), 1406 (m), 1346 (m), 1286 (w), 1223 (m), 1144 (m), 1030 (w), 963 (w), 805 (w), 760 (w), 665 (w)

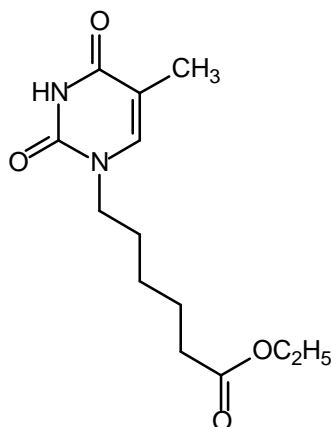
**10.3.6** ***N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[2-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)acetyl]amino}-1*H*-2-pyrrolcarboxamid** <sup>[122, 125]</sup> (**65**)



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.5 (S. 316)
- Einwaage: 376 mg (1 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **60**, 240 mg (1.3 mmol) 2-Thyminessigsäure
- Ausbeute: 210 mg (0.41 mmol) (41 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 206°C
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.61 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.76 (s, 3H, Thymin-CH<sub>3</sub>),  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 2.19 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.31 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 3.81 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.43 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.81 (s, 1H, Pyrrol-H3), 6.90 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.14 (s, 1H, Pyrrol-H3'), 7.17 (s, 1H, Pyrrol-H5'), 7.49 (s, 1H, Thymin-H6), 8.08 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 4.3 Hz, NH), 9.86 (s, 1H, NH), 10.18 (s, 1H, NH), 11.32 (s, 1H, Thymin-NH)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 12.23 (CH<sub>3</sub>), 27.17 (CH<sub>2</sub>), 36.25 (CH<sub>3</sub>), 36.48 (CH<sub>3</sub>), 37.18  
 (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) (CH<sub>2</sub>), 45.13 (2 CH<sub>3</sub>), 49.85 (CH<sub>2</sub>), 57.10 (CH<sub>2</sub>), 104.29 (CH), 104.35 (CH), 108.26 (C<sub>q</sub>), 118.10 (CH), 118.49 (CH), 121.59 (C<sub>q</sub>), 122.28 (C<sub>q</sub>), 123.22 (C<sub>q</sub>), 123.28 (C<sub>q</sub>), 142.80 (CH), 151.42 (C=O), 158.57 (C=O), 161.52 (C=O), 164.40 (C=O), 164.80 (C=O)
- FD-MS: m/z (%): 514 (100)
- Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>

$M_r$ : 511.56  
 IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3294 (s), 2942 (m), 2815 (w), 1672 (s), 1629 (s), 1578 (s), 1527 (s), 1461 (m), 1429 (m), 1406 (w), 1140 (w), 767 (w), 666 (w)

**10.3.7 6-(5-Methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexansäureethylester<sup>[125]</sup> (62)**

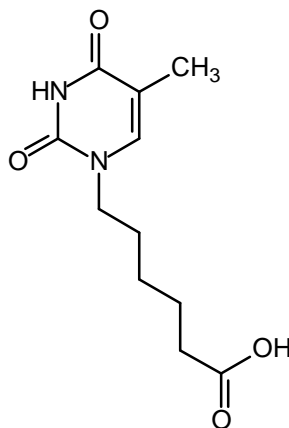


Zu einer Suspension von 2 g (15.9 mmol) Thymin **61** in 160 ml wasserfreiem DMF gibt man 0.4 g (15.9 mmol) Natriumhydrid (95 %) und rührt unter Stickstoffatmosphäre bei RT. Nach einer Stunde werden 7.1 g (31.8 mmol) 6-Bromhexansäureethylester sowie eine Spatelspitze Tetrabutylammoniumiodid hinzugefügt und es wird 48 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: Kieselgel  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  20:1). Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt mittels Säulenchromatographie isoliert (Kieselgel  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  20:1).

Ausbeute: 960 mg (3.58 mmol) (22.5 % d. Th.), farblose Kristalle  
 Schmelzpunkt: 66°C (EtOH)  
 $^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 1.16 (t, 3H,  $^3J = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_3$ ), 1.23 (quint, 2H,  $^3J = 7.9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1.54 (m, 4H, 2  $\text{CH}_2$ ), 1.73 (s, 3H, Thymin- $\text{CH}_3$ ), 2.27 (t, 2H,  $^3J = 7.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.59 (t, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.03 (q, 2H,  $^3J = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 7.52 (s, 1H, Thymin-H6), 11.20 (s, 1H, Thymin-NH)  
 $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 12.23 ( $\text{CH}_3$ ), 14.43 ( $\text{CH}_3$ ), 24.34 ( $\text{CH}_2$ ), 25.50 ( $\text{CH}_2$ ), 28.40 ( $\text{CH}_2$ ), 33.60 ( $\text{CH}_2$ ), 47.20 ( $\text{CH}_2$ ), 59.98 ( $\text{CH}_2$ ), 108.67 ( $\text{C}_q$ ), 141.73 (CH), 151.17 (C=O), 164.59 (C=O), 173.11 (C=O)

EI-MS: m/z (%):	268.5 (100)		
Summenformel:	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>		
M <sub>r</sub> :	268.31		
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3148 (w), 2996 (m), 2951 (m), 2825 (m), 1732 (s), 1682 (s), 1647 (s), 1476 (m), 1419 (m), 1372 (m), 1343 (m), 1248 (m), 1182 (m), 1125 (w), 1026 (w), 897 (w), 764 (w), 681 (w)		
Elementaranalyse: Ber.:	C 58.19	H 7.51	N 10.44
Gef.:	C 58.24	H 7.49	N 10.43

**10.3.8**      **6-(5-Methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexansäure**  
<sup>[125]</sup> **(63)**



1 g (3.73 mmol) 6-(5-Methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexansäure-ethylester **62** werden in 80 ml Ethanol gelöst, mit der 2-fach molaren Menge an 2M NaOH versetzt und 12 h bei RT gerührt. Im Falle einer nicht quantitativen Umsetzung (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid EE/EtOH 4:1) werden 5 ml 2M NaOH ergänzt. Nach vollständiger Hydrolyse säuert man mit 1M HCl an, filtriert den entstandenen Niederschlag ab und kristallisiert aus Ethanol um.

Ausbeute:	890 mg (3.71 mmol) (99.5 % d. Th.), farbloser Feststoff
Schmelzpunkt:	184°C (EtOH)

$^1\text{H-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (300 MHz) (DMSO $d_6$ )	1.23 (quint, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 1.52 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 1.73 (s, 3H, Thymin- $\text{CH}_3$ ), 2.19 (t, 2H, $^3J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 3.59 (t, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 7.53 (s, 1H, Thymin-H6), 11.20 (s, 1H, Thymin-NH), 12.01 (s, 1H, COOH)
$^{13}\text{C-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (75 MHz) (DMSO $d_6$ )	12.23 ( $\text{CH}_3$ ), 24.37 ( $\text{CH}_2$ ), 25.64 ( $\text{CH}_2$ ), 28.50 ( $\text{CH}_2$ ), 33.76 ( $\text{CH}_2$ ), 47.27 ( $\text{CH}_2$ ), 108.67 ( $\text{C}_q$ ), 141.76 (CH), 151.17 (C=O), 164.59 (C=O), 174.69 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	240.6 (100)
Summenformel:	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$
$M_r$ :	240.11
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):	3012 (m), 2942 (m), 1713 (m), 1672 (s), 1648 (s), 1467 (m), 1416 (w), 1362 (m), 1270 (m), 1210 (m), 1128 (w), 929 (w), 900 (w), 850 (w), 758 (w)
Elementaranalyse: Ber.:	C 54.99      H 6.71      N 11.66
Gef.:	C 54.56      H 7.14      N 11.61

### 10.3.9      **Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Amidkupplung mittels der Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)- / 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)-Methode** <sup>[139]</sup>

1) Reduktion zum Amin:

1.58 mmol des entsprechenden Nitrohetarylcarboxamid-Derivates werden in 10 ml absolutem DMF gelöst und mit 290 mg Pd(10 %)/C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert. Nach 12 h Rühren bei RT wird per DC-Kontrolle (Aluminiumoxid EtOH) auf vollständige Reduktion geprüft. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, das Filtrat mit 500  $\mu\text{l}$  Triethylamin versetzt und auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt (Eis-Kochsalz-Mischung).

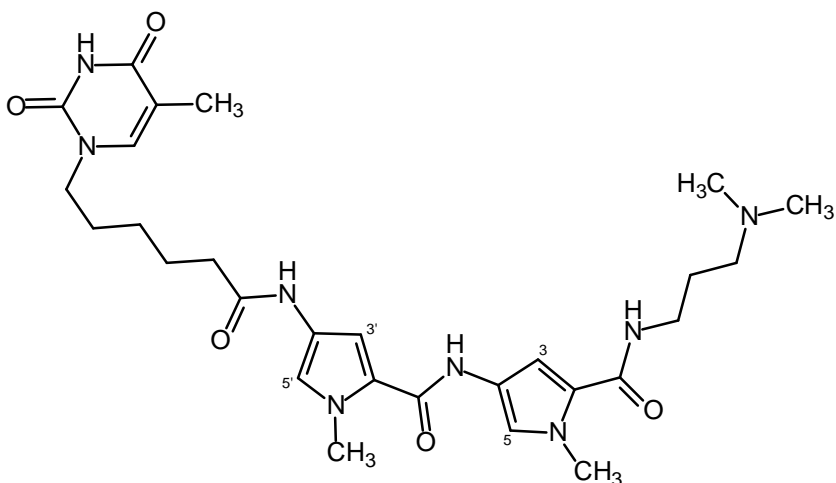
2) Aktivierung der Carbonsäure:

1.58 mmol der Carbonsäure, 0.36 g DCC (1.75 mmol) und 0.27 g HOBt (1.75 mmol) werden in 10 ml wasserfreiem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  suspendiert und 1 h bei  $0^\circ\text{C}$  unter Stickstoffatmosphäre gerührt (Eis-Kochsalz-Mischung).

Die unter 1) hergestellte Aminlösung wird hinzugegeben und das erhaltene Reaktionsgemisch zunächst 2.5 h bei  $0^\circ\text{C}$  und danach lichtgeschützt weitere 24 h unter Stickstoffatmosphäre bei RT gerührt (DC-Kontrolle: Kieselgel MeOH/ $\text{NH}_3$  (25 %) 97:3).

Nach erfolgter Umsetzung filtriert man den Dicyclohexylharnstoff-Niederschlag ab, entfernt das LM unter Vakuum und reinigt den Rückstand säulenchromatographisch auf (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3).

**10.3.10** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[6-(5-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexanoyl]amino}-1*H*-2-pyrrolcarboxamid<sup>[139]</sup> (**66**)



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.9 (S. 321)
- Einwaage: 594 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **60**, 380 mg (1.58 mmol) 6-(5-Methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1-pyrimidinyl)hexansäure **63**
- Ausbeute: 410 mg (0.72 mmol) (45.6 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 80°C
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.24 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.57 (m, 6H, 3 CH<sub>2</sub>), 1.72 (s, 3H, Thymin-CH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.21 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.59 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 3.80 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 6.79 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 6.83 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.14 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3'), 7.16 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, Pyrrol-H5'),
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)

7.51 (s, 1H, Thymin-H6), 8.06 (t, 1H,  $^3J = 5.6$  Hz, NH), 9.76 (s, 1H, NH), 9.84 (s, 1H, NH), 11.20 (s, 1H, Thymin-NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta[\text{ppm}]$ : 12.22 (CH<sub>3</sub>), 25.23 (CH<sub>2</sub>), 25.80 (CH<sub>2</sub>), 27.48 (CH<sub>2</sub>), 28.60 (CH<sub>2</sub>),  
(75 MHz) (DMSO  $d_6$ ) 35.73 (CH<sub>2</sub>), 36.23 (CH<sub>3</sub>), 36.36 (CH<sub>3</sub>), 37.36 (CH<sub>2</sub>), 45.48 (2 CH<sub>3</sub>), 47.31 (CH<sub>2</sub>), 57.39 (CH<sub>2</sub>), 104.20 (CH), 104.26 (CH), 108.68 (C<sub>q</sub>), 118.04 (CH), 118.37 (CH), 122.32 (2 C<sub>q</sub>), 123.03 (C<sub>q</sub>), 123.32 (C<sub>q</sub>), 141.75 (CH), 151.17 (C=O), 158.67 (C=O), 161.48 (C=O), 164.60 (C=O), 169.68 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 569.2 (100)

Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>

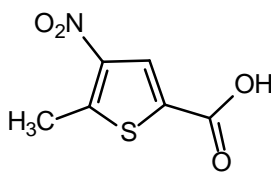
M<sub>r</sub>: 568.68

IR (cm<sup>-1</sup>): 3319 (s), 2946 (w), 1670 (s), 1565 (m), 1527 (m), 1461 (m), 1432 (m), 1407 (m), 1271 (m), 1214 (w), 1150 (w), 1062 (w), 827 (w), 761 (w)

Elementaranalyse: C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub> · 3 H<sub>2</sub>O

Ber.:	C 54.01	H 7.45	N 17.99
Gef.:	C 54.00	H 7.26	N 18.15

### 10.3.11 5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure<sup>[122, 136]</sup> (68)



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.2 (S. 314);  
DC-Kontrolle mittels Kieselgel (PE/HAc 99:1); das Rohprodukt wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel PE/EtOH/HAc 75:25:1) gereinigt

Einwaage: 1.26 g (8.86 mmol) 5-Methyl-2-thiophencarbonsäure **67**

Ausbeute: 1 g (5.34 mmol) (60.3 % d. Th.), gelb-brauner Feststoff

Schmelzpunkt: 179°C (Literatur: 180.5-181.5°C)<sup>[143]</sup>



<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 2.78 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 8.02 (s, 1H, Thiophen-H3)  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 16.03 (CH<sub>3</sub>), 128.38 (CH), 130.20 (C<sub>q</sub>), 143.86 (C<sub>q</sub>), 150.22 (C<sub>q</sub>), 161.82 (C=O)  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)

EI-MS: m/z (%): 186.6 (100)

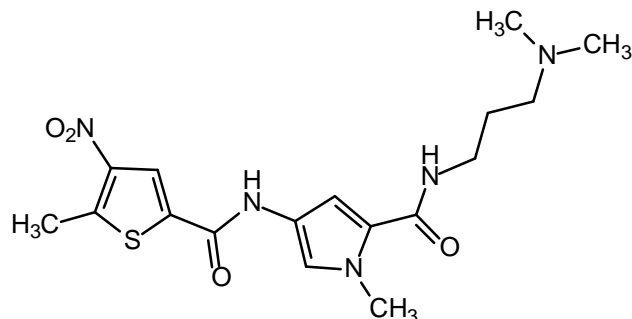
Summenformel: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>4</sub>S

M<sub>r</sub>: 187.17

IR (cm<sup>-1</sup>): 3100 (m), 2853 (w), 2569 (w), 1682 (s), 1508 (s), 1426 (m), 1365 (m), 1299 (s), 1153 (m), 1090 (w), 1039 (w), 887 (w), 770 (w), 745 (m), 663 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 38.50      H 2.69      N 7.48      S 17.13  
Gef.: C 38.46      H 2.77      N 7.32      S 17.00

**10.3.12      N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup> (69)**



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.9 (S. 321)

Einwaage: 402 mg (1.58 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **58**, 296 mg (1.58 mmol) 5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure **68**

Ausbeute: 350 mg (0.89 mmol) (56.3 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 205°C (MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 1.60 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.13 (s, 6H, 2  $\text{CH}_3$ ), 2.23 (t, 2H,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.77 (s, 3H, Thiophen- $\text{CH}_3$ ), 3.18 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.80 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 6.80 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1.7$  Hz, Pyrrol-H3), 7.20 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1.7$  Hz, Pyrrol-H5), 8.14 (t, 1H,  $^3\text{J} = 5.5$  Hz, NH), 8.48 (s, 1H, Thiophen-H3), 10.61 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 15.97 ( $\text{CH}_3$ ), 27.49 ( $\text{CH}_2$ ), 36.38 ( $\text{CH}_3$ ), 37.36 ( $\text{CH}_2$ ), 45.53 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.36 ( $\text{CH}_2$ ), 104.04 (2 CH), 118.34 (CH), 121.26 ( $\text{C}_q$ ), 135.30 ( $\text{C}_q$ ), 143.61 ( $\text{C}_q$ ), 148.83 ( $\text{C}_q$ ), 156.94 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 161.29 ( $\text{C}=\text{O}$ )

FD-MS: m/z (%): 393.7 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$

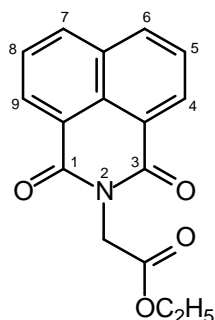
$M_r$ : 393.46

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3272 (w), 3116 (w), 2822 (w), 1644 (s), 1593 (m), 1514 (s), 1441 (m), 1400 (m), 1315 (s), 1201 (w), 1125 (m), 1087 (s), 1033 (m), 777 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 51.90 H 5.89 N 17.80 S 8.15

Gef.: C 51.80 H 6.03 N 17.63 S 8.22

### 10.3.13 2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)essigsäureethylester <sup>[125]</sup> (73)

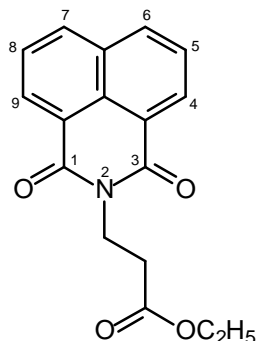


0.6 g (24.24 mmol) Natriumhydrid (97 %) und 2 g (10.14 mmol) Naphthalimid **70** werden 20 min. in 10 ml absolutem DMF bei 0°C (Eis-Kochsalz-Mischung) gerührt. 5.02 g (30.06 mmol) 2-Bromessigsäureethylester werden zugesetzt und die Mischung 24 h bei RT gerührt. DC-Kontrolle erfolgt auf Kieselgel-Platten (PE/EE 3:1).

Nach erfolgter Umsetzung versetzt man die Mischung mit Wasser und extrahiert dreimal mit Diethylether. Die vereinigten Etherphasen werden nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> eingengt und mit 60 ml Ethanol versetzt. Hierbei löst sich Bromessigsäureethylester, das Produkt bleibt jedoch ungelöst und wird abfiltriert.

Ausbeute:	900 mg (3.18 mmol) (31.4 % d. Th.), farblose Kristalle
Schmelzpunkt:	160°C (Isopropanol) (Literatur: 162-163°C) <sup>[148]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.20 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>3</sub> ), 4.15 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 7.1 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.81 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.90 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.52 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	14.34 (CH <sub>3</sub> ), 41.50 (CH <sub>2</sub> ), 61.46 (CH <sub>2</sub> ), 121.70 (2 C <sub>q</sub> ), 127.73 (2 CH), 127.80 (C <sub>q</sub> ), 131.55 (2 CH), 131.72 (C <sub>q</sub> ), 135.31 (2 CH), 163.41 (2 C=O), 168.35 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	283.2 (100)
Summenformel:	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>
M <sub>r</sub> :	283.28
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1742 (m), 1694 (m), 1660 (s), 1590 (m), 1514 (w), 1435 (w), 1388 (m), 1375 (m), 1324 (m), 1239 (m), 1198 (m), 1175 (m), 1011 (w), 963 (m), 846 (w), 779 (s), 745 (w)
Elementaranalyse:	Ber.: C 67.84      H 4.63      N 4.94 Gef.: C 67.91      H 4.61      N 4.83

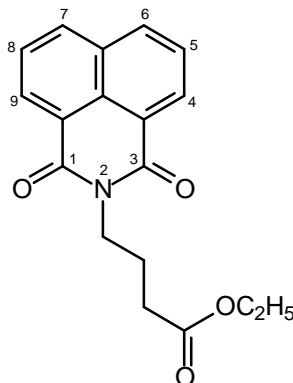
**10.3.14 3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)propionsäureethylester <sup>[125]</sup> (75)**



8.4 g (46.38 mmol) 3-Brompropionsäureethylester werden in 60 ml absolutem DMF gelöst und mit 3.02 g (15.3 mmol) Naphthalimid **70** und 7.05 g (51.09 mmol) wasserfreiem  $K_2CO_3$  versetzt. Die erhaltene Suspension wird 24 h bei 90°C gerührt. Anschließend erfolgt eine DC-Kontrolle (Kieselgel PE/EE 3:1). Man filtriert das überschüssige  $K_2CO_3$  ab und engt das Filtrat am Vakuum ein. Nach 24 h bei 4°C fallen farblose Nadeln aus, die abfiltriert werden.

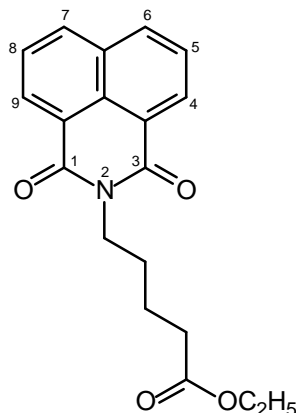
Ausbeute:	3 g (10.09 mmol) (66 % d. Th.), farblose Nadeln
Schmelzpunkt:	93°C (Isopropanol)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.10 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.0 Hz, CH <sub>3</sub> ), 2.65 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.03 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.28 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.86 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.46 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	14.25 (CH <sub>3</sub> ), 32.54 (CH <sub>2</sub> ), 36.01 (CH <sub>2</sub> ), 60.42 (CH <sub>2</sub> ), 122.31 (2 C <sub>q</sub> ), 127.55 (2 CH), 127.69 (C <sub>q</sub> ), 131.07 (2 CH), 131.61 (C <sub>q</sub> ), 134.74 (2 CH), 163.63 (2 C=O), 171.19 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	297.2 (100)
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>
M <sub>r</sub> :	297.31
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1723 (s), 1694 (s), 1656 (s), 1622 (m), 1590 (s), 1477 (w), 1441 (m), 1391 (m), 1343 (s), 1245 (s), 1229 (s), 1150 (w), 1112 (m), 1036 (m), 1020 (m), 938 (w), 874 (m), 843 (w), 773 (s)
Elementaranalyse: Ber.:	C 68.68      H 5.09      N 4.71
Gef.:	C 68.58      H 5.10      N 4.72

**10.3.15 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäureethylester <sup>[125]</sup> (77)**



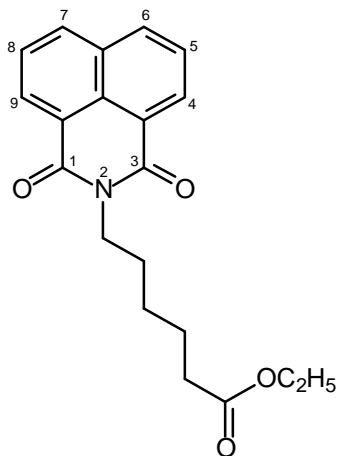
Vorschrift:	analog zu Vorschrift 10.3.13 (S. 325)		
Einwaage:	1 g (5.07 mmol) Naphthalimid <b>70</b> , 2.93 g (15.03 mmol) 4-Brombuttersäureethylester		
Ausbeute:	900 mg (2.9 mmol) (57.2 % d. Th.), farblose Nadeln		
Schmelzpunkt:	92°C		
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.09 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>3</sub> ), 1.92 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.0 Hz, CH <sub>2</sub> ), (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) 2.37 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.3 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.93 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.08 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.86 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.46 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)		
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	14.32 (CH <sub>3</sub> ), 23.18 (CH <sub>2</sub> ), 31.52 (CH <sub>2</sub> ), ein Signal von DMSO (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) überlagert, 60.04 (CH <sub>2</sub> ), 122.43 (2 C <sub>q</sub> ), 127.49 (2 CH), 127.75 (C <sub>q</sub> ), 130.98 (2 CH), 131.60 (C <sub>q</sub> ), 134.56 (2 CH), 163.87 (2 C=O), 172.73 (C=O)		
EI-MS: m/z (%):	311.3 (100)		
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>		
M <sub>r</sub> :	311.33		
IR (cm <sup>-1</sup> ):	2964 (w), 1732 (s), 1691 (s), 1647 (s), 1619 (w), 1584 (m), 1457 (w), 1422 (w), 1391 (w), 1368 (m), 1343 (m), 1270 (m), 1248 (m), 1232 (m), 1163 (m), 1118 (w), 1049 (m), 1023 (w), 893 (w), 849 (w), 783 (m), 741 (w)		
Elementaranalyse:	Ber.: C 69.44	H 5.50	N 4.50
	Gef.: C 69.11	H 5.39	N 4.71

**10.3.16 5-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)pentan-  
säureethylester <sup>[125]</sup> (79)**



- Vorschrift:** analog zu Vorschrift 10.3.13 (S. 325);  
Nach Zugabe von Ethanol zur Etherphase fällt das gewünschte Produkt nicht aus. Das LM wird unter Vakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit Ethanol umkristallisiert.
- Einwaage:** 2 g (10.14 mmol) Naphthalimid **70**, 6.3 g (30.06 mmol) 5-Brompentansäureethylester
- Ausbeute:** 1.2 g (3.7 mmol) (36.5 % d. Th.), farbloser Feststoff
- Schmelzpunkt:** 73°C (Ethanol)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]:** 1.13 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.60 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 2.33 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.02 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 7.86 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.47 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]:** 14.40 (CH<sub>3</sub>), 22.31 (CH<sub>2</sub>), 27.30 (CH<sub>2</sub>), 33.44 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 59.99 (CH<sub>2</sub>), 122.39 (2 C<sub>q</sub>), 127.57 (2 CH), 127.70 (C<sub>q</sub>), 131.07 (2 CH), 131.63 (C<sub>q</sub>), 134.65 (2 CH), 163.78 (2 C=O), 173.00 (C=O)  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%):** 325.3 (100)
- Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>
- M<sub>r</sub>:** 325.36
- IR (cm<sup>-1</sup>):** 2958 (w), 1720 (s), 1691 (s), 1660 (s), 1584 (s), 1460 (w), 1438 (w), 1384 (s), 1343 (s), 1324 (s), 1254 (m), 1232 (m), 1194 (m), 1140 (w), 1058 (m), 1020 (w), 928 (w), 846 (w), 773 (m), 738 (w)
- Elementaranalyse:** Ber.: C 70.14 H 5.89 N 4.30  
Gef.: C 70.24 H 5.81 N 4.14

**10.3.17 6-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)hexansäureethylester <sup>[125]</sup> (81)**

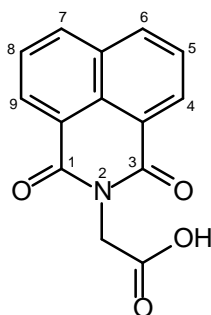


- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.13 (S. 325);
- Einwaage: 2 g (10.14 mmol) Naphthalimid **70**, 6.71 g (30.06 mmol) 6-Bromhexansäureethylester
- Ausbeute: 2 g (5.89 mmol) (58.1 % d. Th.), farblose Kristalle
- Schmelzpunkt: 74°C (Ethanol)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.12 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.34 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.58 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 2.28 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.02 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 7.86 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.47 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 14.39 (CH<sub>3</sub>), 24.50 (CH<sub>2</sub>), 26.19 (CH<sub>2</sub>), 27.48 (CH<sub>2</sub>), 33.63 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 59.95 (CH<sub>2</sub>), 122.38 (2 C<sub>q</sub>), 127.55 (2 CH), 127.69 (C<sub>q</sub>), 131.04 (2 CH), 131.62 (C<sub>q</sub>), 134.62 (2 CH), 163.72 (2 C=O), 173.13 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 339.1 (100)
- Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>
- M<sub>r</sub>: 339.39
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2967 (w), 2939 (w), 2860 (w), 1729 (s), 1691 (s), 1650 (s), 1622 (m), 1587 (s), 1467 (w), 1435 (w), 1381 (m), 1356 (m), 1340 (m), 1232 (s), 1182 (s), 1163 (m), 1068 (w), 1033 (w), 878 (w), 773 (s)
- Elementaranalyse: Ber.: C 70.78      H 6.24      N 4.13  
 Gef.: C 70.75      H 6.47      N 4.33

### 10.3.18 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Naphthalimidalkansäuren durch Hydrolyse ihrer Ester <sup>[125, 148]</sup>

3.5 mmol der Naphthalimidalkansäure werden in 30 ml 15%iger HCl suspendiert und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Nach vollständiger Hydrolyse (DC-Kontrolle: Kieselgel PE/EE 1:1) wird das Produkt abfiltriert und getrocknet.

#### 10.3.18.1 2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)essigsäure <sup>[125]</sup> (**74**)

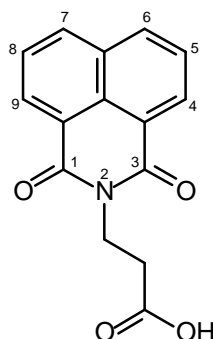


Einwaage:	1 g (3.5 mmol) 2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)essigsäureethylester <b>73</b>
Ausbeute:	850 mg (3.33 mmol) (95.1 % d. Th.), farbloser Feststoff
Schmelzpunkt:	251°C (Literatur: 250°C) <sup>[148]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	4.73 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.89 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) 5+8), 8.50 (m, 4H, Naphthalimid-H <sub>4+6+7+9</sub> )
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	41.48 (CH <sub>2</sub> ), 121.71 (2 C <sub>q</sub> ), 127.63 (C <sub>q</sub> ), 127.70 (2 CH), 131.48 (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) (2 CH), 131.64 (C <sub>q</sub> ), 135.20 (2 CH), 163.45 (2 C=O), 169.69 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	255.2 (100)
Summenformel:	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>
M <sub>r</sub> :	255.23
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3069 (w), 2996 (w), 2948 (w), 1723 (m), 1698 (s), 1653 (s), 1625 (w), 1584 (m), 1435 (m), 1387 (m), 1356 (m), 1318 (m), 1232 (s), 1175 (m), 1150 (w), 1027 (w), 969 (m), 900 (w), 846 (w), 773 (s), 741 (w)



Elementaranalyse: Ber.: C 65.88    H 3.55    N 5.49  
 Gef.: C 66.09    H 3.54    N 5.42

**10.3.18.2    3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)propion-  
 säure <sup>[125]</sup> (76)**



Einwaage:            1.04 g (3.5 mmol) 3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-  
 isochinolin-2-yl)propionsäureethylester **75**

Ausbeute:            940 mg (3.49 mmol) (99.7 % d. Th.), farbloser Feststoff

Schmelzpunkt:      232°C (Literatur: 231-233°C) <sup>[232]</sup>

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]:    2.59 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.25 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>),  
 (300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>)    7.85 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.46 (m, 4H,  
 Naphthalimid-H4+6+7+9), 12.37 (s, 1H, COOH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]:    32.49 (CH<sub>2</sub>), 36.04 (CH<sub>2</sub>), 122.35 (2 C<sub>q</sub>), 127.52 (2 CH), 127.69  
 (75 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>)    (C<sub>q</sub>), 131.03 (2 CH), 131.61 (C<sub>q</sub>), 134.66 (2 CH), 163.62 (2 C=O),  
 172.79 (C=O)

FD-MS: m/z (%):    269.2 (100)

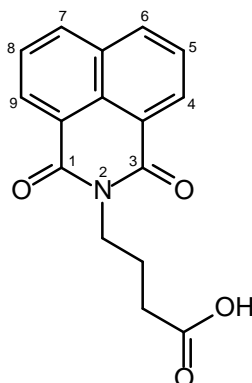
Summenformel:      C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>

M<sub>r</sub>:                    269.26

IR (cm<sup>-1</sup>):            2920 (w), 1698 (s), 1653 (s), 1622 (m), 1584 (m), 1435 (m), 1343  
 (s), 1267 (m), 1223 (s), 1169 (m), 1140 (w), 1033 (w), 925 (w),  
 874 (m), 840 (w), 770 (s)

Elementaranalyse: Ber.: C 66.91    H 4.12    N 5.20  
 Gef.: C 66.93    H 4.11    N 5.16

**10.3.18.3 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäure**  
 [125] **(78)**



Einwaage: 1.1 g (3.5 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäureethylester **77**

Ausbeute: 895 mg (3.16 mmol) (90.3 % d. Th.), farbloser Feststoff

Schmelzpunkt: 185°C

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.87 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.29 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>),  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 4.06 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.82 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz,  
 Naphthalimid-H5+8), 8.41 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 23.30 (CH<sub>2</sub>), 31.64 (CH<sub>2</sub>), 39.43 (CH<sub>2</sub>), 122.39 (2 C<sub>q</sub>), 127.45  
 (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) (2 CH), 127.69 (C<sub>q</sub>), 130.95 (2 CH), 131.55 (C<sub>q</sub>), 134.50 (2 CH),  
 163.83 (2 C=O), 174.29 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 283.4 (100)

Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>

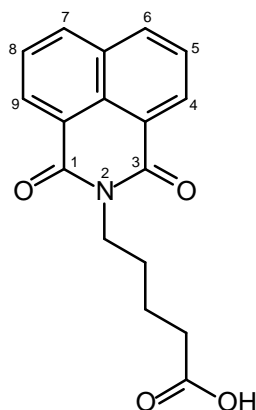
M<sub>r</sub>: 283.28

IR (cm<sup>-1</sup>): 2961 (w), 1691 (s), 1653 (s), 1581 (m), 1438 (m), 1387 (m), 1343  
 (s), 1320 (m), 1235 (m), 1166 (m), 966 (m), 779 (s)

Elementaranalyse: Ber.: C 67.84 H 4.63 N 4.94

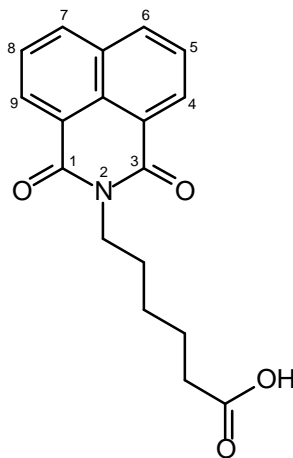
Gef.: C 68.11 H 4.67 N 4.93

**10.3.18.4 5-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)pentan-  
säure <sup>[125]</sup> (80)**



Einwaage:	1.14 g (3.5 mmol) 5-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)pentansäureethylester <b>79</b>
Ausbeute:	1 g (3.36 mmol) (96 % d. Th.), farbloser Feststoff
Schmelzpunkt:	162°C
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.58 (m, 4H, 2 CH <sub>2</sub> ), 2.26 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.02 (t, 2H, (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) <sup>3</sup> J = 6.7 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.83 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.43 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	22.36 (CH <sub>2</sub> ), 27.41 (CH <sub>2</sub> ), 33.60 (CH <sub>2</sub> ), ein Signal von DMSO überlagert, 122.31 (2 C <sub>q</sub> ), 127.51 (2 CH), 127.64 (C <sub>q</sub> ), 131.01 (2 CH), 131.58 (C <sub>q</sub> ), 134.59 (2 CH), 163.71 (2 C=O), 174.59 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	297.3 (100)
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>
M <sub>r</sub> :	297.31
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3160 (w), 2985 (w), 1726 (s), 1691 (s), 1637 (s), 1615 (m), 1590 (m), 1460 (w), 1438 (w), 1387 (m), 1365 (m), 1343 (m), 1239 (s), 1159 (s), 1137 (m), 1058 (m), 922 (w), 855 (w), 783 (s), 741 (w), 662 (w)
Elementaranalyse:	Ber.: C 68.68      H 5.09      N 4.71 Gef.: C 68.67      H 4.98      N 4.72

**10.3.18.5 6-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)hexansäure<sup>[125]</sup> (82)**



Einwaage: 1.19 g (3.5 mmol) 6-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)hexansäureethylester **81**

Ausbeute: 1 g (3.21 mmol) (91.7 % d. Th.), farbloser Feststoff

Schmelzpunkt: 126°C

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.33 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.57 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 2.20 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.00 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.84 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.44 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 24.52 (CH<sub>2</sub>), 26.32 (CH<sub>2</sub>), 27.55 (CH<sub>2</sub>), 33.78 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 122.34 (2 C<sub>q</sub>), 127.51 (2 CH), 127.64 (C<sub>q</sub>), 131.01 (2 CH), 131.58 (C<sub>q</sub>), 134.58 (2 CH), 163.68 (2 C=O), 174.71 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 311.1 (100)

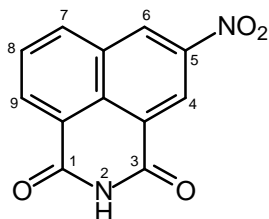
Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>

M<sub>r</sub>: 311.12

IR (cm<sup>-1</sup>): 2939 (w), 2863 (w), 1688 (s), 1653 (s), 1587 (m), 1435 (m), 1384 (m), 1343 (m), 1311 (w), 1254 (m), 1235 (m), 1169 (w), 1071 (w), 957 (w), 938 (w), 843 (w), 776 (m), 735 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 69.44 H 5.50 N 4.50

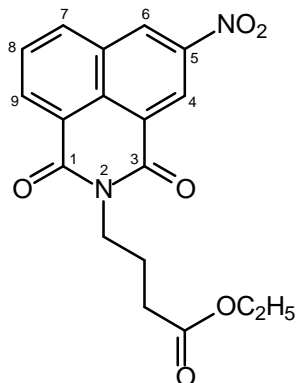
Gef.: C 69.39 H 5.62 N 4.56

**10.3.19 5-Nitro-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-1,3-dion <sup>[125]</sup> (72)**


4.48 g (18.42 mmol) 3-Nitronaphthalsäureanhydrid **71** werden in 75 ml DMF (absolut) suspendiert und anschließend mit 80 ml NH<sub>3</sub> (25 %) versetzt. Das dunkelrot gefärbte Reaktionsgemisch wird 12 h bei 200°C unter Rückfluss erhitzt. DC-Kontrolle erfolgt mittels Kieselgel (PE/EE 3:1). Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert, mit PE nachgewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 3.8 g (15.7 mmol) (85.2 % d. Th.), hautfarbener Feststoff  
 Schmelzpunkt: > 250°C  
<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 7.90 (pt, 1H, Naphthalimid-H8), 8.45 (pd, 1H, Naphthalimid-H9),  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 8.58 (pd, 1H, Naphthalimid-H7), 8.69 (pd, 1H, Naphthalimid-H4),  
 9.27 (pd, 1H, Naphthalimid-H6), 11.93 (s, 1H, NH)  
<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 122.24 (CH), 123.03 (C<sub>q</sub>), 124.46 (C<sub>q</sub>), 129.30 (CH), 129.83  
 (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) (CH), 130.77 (C<sub>q</sub>), 131.22 (C<sub>q</sub>), 133.33 (CH), 136.45 (CH),  
 145.81 (C<sub>q</sub>), 162.91 (C=O), 163.55 (C=O)  
 FD-MS: m/z (%): 242.2 (100)  
 Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>  
 M<sub>r</sub>: 242.19  
 IR (cm<sup>-1</sup>): 3170 (m), 3062 (m), 1704 (m), 1666 (s), 1587 (s), 1533 (s), 1501  
 (m), 1422 (m), 1327 (s), 1264 (s), 1099 (m), 919 (m), 786 (s),  
 669 (w)

**10.3.20 4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)-buttersäureethylester <sup>[125]</sup> (83)**



1.26 g (5 mmol) 5-Nitronaphthalimid **72** und 0.32 g (12.93 mmol) Natriumhydrid (97 %) werden in 20 ml absolutem DMF suspendiert und 30 min. bei RT gerührt. Hierbei färbt sich das Gemisch dunkelrot. Anschließend fügt man 3 g (15.38 mmol) 4-Brombuttersäureethylester hinzu und rührt weitere 24 h bei RT. Nach kompletter Umsetzung (DC-Kontrolle: Kieselgel PE/EE 3:1) wird das LM im Vakuum entfernt und der Rückstand in 40 ml Ethanol aufgenommen. Der ungelöste Anteil wird abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 1.5 g (4.2 mmol) (84 % d. Th.), roter Feststoff

Schmelzpunkt: 157 °C (EtOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.11 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.91 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, CH<sub>2</sub>),  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 2.38 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.95 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>),  
4.07 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 8.01 (pt, 1H, Naphthalimid-H8),  
8.62 (pd, 1H, Naphthalimid-H9), 8.72 (pd, 1H, Naphthalimid-H7),  
8.88 (pd, 1H, Naphthalimid-H4), 9.27 (pd, 1H, Naphthalimid-H6)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 14.34 (CH<sub>3</sub>), 23.05 (CH<sub>2</sub>), 31.43 (CH<sub>2</sub>), 39.63 (CH<sub>2</sub>), 60.06 (CH<sub>2</sub>),  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 122.94 (C<sub>q</sub>), 123.00 (CH), 124.37 (C<sub>q</sub>), 129.50 (CH), 129.87  
(CH), 131.09 (2 C<sub>q</sub>), 134.13 (CH), 136.51 (CH), 146.05 (C<sub>q</sub>),  
162.70 (C=O), 163.21 (C=O), 172.75 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 356.5 (100)

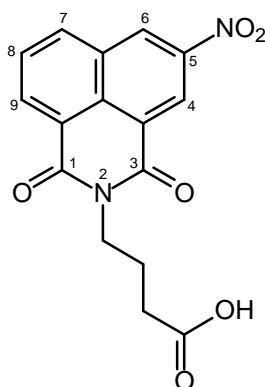
Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

M<sub>r</sub>: 356.33

IR (cm<sup>-1</sup>): 3433 (m), 1723 (m), 1698 (m), 1653 (s), 1593 (m), 1536 (m),  
1416 (w), 1349 (m), 1330 (m), 1242 (m), 1194 (m), 1169 (m),  
1080 (w), 916 (w), 792 (m), 754 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 60.67 H 4.53 N 7.86  
Gef.: C 60.38 H 4.66 N 7.99

**10.3.21 4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)-  
buttersäure** <sup>[125, 149]</sup> **(84)**



1 g (2.81 mmol) 4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)-  
buttersäureethylester **83**, 28 ml THF, 14 ml H<sub>2</sub>O und 142 mg (3.37 mmol) LiOH-  
Monohydrat werden 16 h bei RT gerührt. Nach erfolgter Umsetzung (DC-Kontrolle:  
Kieselgel PE/EE 3:1) wird der Reaktionsansatz zweimal mit Petrolether ausgeschüt-  
telt. Die wässrige Phase wird anschließend mit verdünnter Essigsäure neutralisiert,  
der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit Petrolether gewaschen.

Ausbeute: 920 mg (2.80 mmol) (99.6 % d. Th.), brauner Feststoff

Schmelzpunkt: ab 200°C Zersetzung

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.89 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.31 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>),  
(300 MHz) (DMSO d<sub>6</sub>) 4.09 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 8.03 (pt, 1H, Naphthalimid-H8),  
8.64 (pd, 1H, Naphthalimid-H9), 8.74 (pd, 1H, Naphthalimid-H7),  
8.91 (pd, 1H, Naphthalimid-H4), 9.44 (pd, 1H, Naphthalimid-H6),  
12.03 (s, 1H, COOH)

$^{13}\text{C}$ -NMR,  $\delta$ [ppm]: 23.15 ( $\text{CH}_2$ ), 31.57 ( $\text{CH}_2$ ), ein Signal von DMSO überlagert,  
(75 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ) 123.06 ( $\text{C}_q$ ), 123.08 ( $\text{CH}$ ), 124.45 ( $\text{C}_q$ ), 129.52 ( $\text{CH}$ ), 129.89  
( $\text{CH}$ ), 131.13 (2  $\text{C}_q$ ), 134.16 ( $\text{CH}$ ), 136.51 ( $\text{CH}$ ), 146.11 ( $\text{C}_q$ ),  
162.75 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 163.24 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 174.33 ( $\text{C}=\text{O}$ )

FD-MS: m/z (%): 328.2 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$

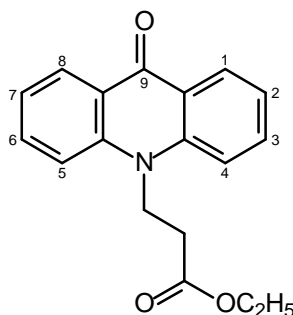
$M_r$ : 328.28

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3069 (w), 1726 (w), 1698 (m), 1656 (s), 1593 (w), 1533 (w), 1438  
(w), 1413 (w), 1324 (m), 1239 (w), 1172 (w), 1150 (w), 1080 (w),  
1055 (w), 925 (w), 786 (m), 754 (m)

Elementaranalyse: Ber.: C 58.54 H 3.68 N 8.53

Gef.: C 58.80 H 3.71 N 8.44

**10.3.22 3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propionsäureethylester <sup>[125]</sup>  
(86)**



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.14 (S. 327);

DC-Kontrolle: Aluminiumoxid PE/EE 2:1; die Reinigung erfolgt  
mittels Säulenchromatographie (Aluminiumoxid PE/EE 2:1)

Einwaage: 1 g (5.1 mmol) Acridon **85**, 2.8 g (15.46 mmol) 3-Brom-  
propionsäureethylester, 2.35 g (17.03 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (wasserfrei)

Ausbeute: 360 mg (1.22 mmol) (23.9 % d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt:  $95^\circ\text{C}$



<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.13 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 2.88 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.05 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.76 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.34 (m, 2H, Acridon-H), 7.83 (pd, 4H, Acridon-H), 8.34 (pd, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, Acridon-H1+8)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 14.25 (CH<sub>3</sub>), 31.91 (CH<sub>2</sub>), 41.54 (CH<sub>2</sub>), 60.65 (CH<sub>2</sub>), 116.02 (2 CH), 121.75 (2 CH), 121.98 (2 C<sub>q</sub>), 127.10 (2 CH), 134.65 (2 CH), 141.69 (2 C<sub>q</sub>), 170.99 (C=O), 176.82 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 295 (100)

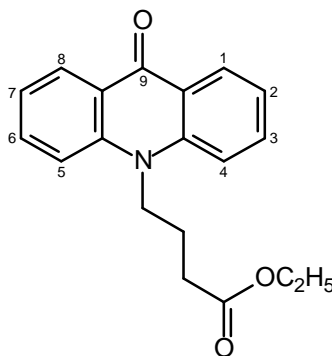
Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

Mr: 295.34

IR (cm<sup>-1</sup>): 3065 (w), 2974 (w), 1726 (s), 1619 (m), 1584 (s), 1479 (s), 1460 (s), 1372 (s), 1302 (m), 1283 (m), 1267 (m), 1172 (s), 1042 (m), 935 (w), 849 (w), 748 (s), 665 (m)

Elementaranalyse: Ber.: C 73.20 H 5.80 N 4.74  
Gef.: C 73.20 H 5.78 N 4.67

### 10.3.23 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäureethylester <sup>[125]</sup> (88)

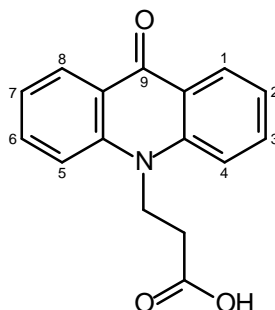


0.15 g (6.06 mmol) Natriumhydrid (97 %) werden in 10 ml absolutem DMF suspendiert. Man gibt eine Suspension von 1 g (5.12 mmol) Acridon **85** in 20 ml DMF (absolut) hinzu und rührt 0.5 h bei RT. Anschließend ergänzt man 3 g (15.38 mmol) 4-Brombuttersäureethylester und eine Spatelspitze Tetrabutylammoniumiodid und rührt 2 h bei 80°C. Nach erfolgter Umsetzung (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid PE/EE 2:1) wird das LM im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie (Aluminiumoxid PE/EE 2:1).

Ausbeute:	300 mg (0.97 mmol) (18.8 % d. Th.), gelbe Kristalle			
Schmelzpunkt:	93°C			
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.21 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>3</sub> ), 2.03 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.5 Hz, CH <sub>2</sub> ), (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) 2.64 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.11 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 4.49 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 8.1 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.34 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.3 Hz, Acridon-H), 7.84 (m, 2H, Acridon-H4+5), 7.93 (pd, 2H, <sup>3</sup> J = 8.5 Hz, Acridon-H), 8.34 (m, 2H, Acridon-H1+8)			
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	14.43 (CH <sub>3</sub> ), 22.02 (CH <sub>2</sub> ), 30.42 (CH <sub>2</sub> ), 44.82 (CH <sub>2</sub> ), 60.44 (CH <sub>2</sub> ), (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) 116.06 (2 CH), 121.62 (2 CH), 121.89 (2 C <sub>q</sub> ), 127.09 (2 CH), 134.56 (2 CH), 141.79 (2 C <sub>q</sub> ), 173.04 (C=O), 176.78 (C=O)			
FD-MS: m/z (%):	309.2 (100)			
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>			
M <sub>r</sub> :	309.36			
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3000 (w), 1720 (s), 1610 (s), 1598 (s), 1500 (s), 1450 (s), 1422 (w), 1370 (s), 1300 (m), 1150 (s), 1080 (w), 960 (w), 890 (w), 800 (s), 650 (m)			
Elementaranalyse:	Ber.:	C 73.77	H 6.19	N 4.53
	Gef.:	C 73.42	H 6.32	N 4.91

### 10.3.24 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridonalkansäuren durch Hydrolyse ihrer Ester <sup>[125]</sup>

Die Acridonalkansäureester werden in Ethanol (20 ml pro mmol) gelöst, mit der 2-fach molaren Menge an 2M NaOH versetzt und 12 h bei RT gerührt. Im Falle einer nicht quantitativen Umsetzung (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid EE/EtOH 2:1) werden weitere 10 ml 2M NaOH hinzugefügt. Nach vollständiger Hydrolyse säuert man mit 1M wässriger HCl an und filtriert den entstandenen Niederschlag ab.

**10.3.24.1 3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propionsäure** <sup>[125]</sup> **(87)**


Einwaage: 1 g (3.38 mmol) 3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propionsäureethylester **86**

Ausbeute: 900 mg (3.37 mmol) (99.7 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: > 250°C

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 2.82 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.72 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.34 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) (m, 2H, Acridon-H), 7.84 (pd, 4H, Acridon-H), 8.35 (pd, 2H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, Acridon-H1+8), 12.22 (s, 1H, COOH)

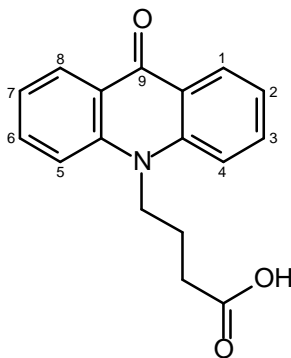
FD-MS: m/z (%): 267 (100)

Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>

M<sub>r</sub>: 267.28

Elementaranalyse: Ber.: C 71.90 H 4.90 N 5.24

Gef.: C 71.86 H 4.93 N 5.16

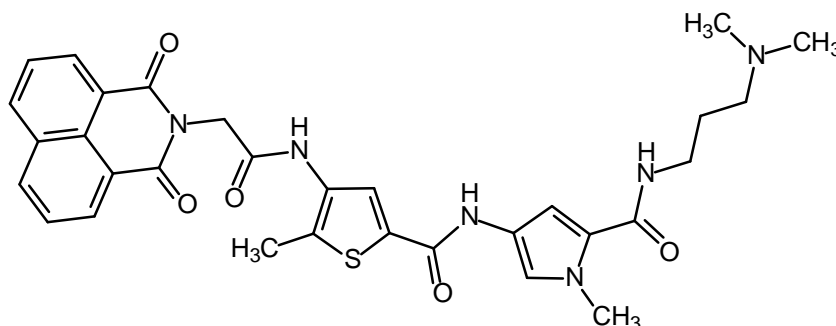
**10.3.24.2 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäure** <sup>[125]</sup> **(89)**


Einwaage:	1.5 g (4.85 mmol) 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäureethylester <b>88</b>
Ausbeute:	1.35 g (4.8 mmol) (99 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	203°C
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.99 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.3 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.57 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> ), (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) 4.48 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 8.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.33 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, Acridon-H), 7.83 (m, 2H, Acridon-H4+5), 7.95 (pd, 2H, <sup>3</sup> J = 8.8 Hz, Acridon-H), 8.35 (m, 2H, Acridon-H1+8)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	22.11 (CH <sub>2</sub> ), 30.50 (CH <sub>2</sub> ), 45.03 (CH <sub>2</sub> ), 116.13 (2 CH), 121.61 (2 CH), 121.89 (2 C <sub>q</sub> ), 127.05 (2 CH), 134.56 (2 CH), 141.81 (2 C <sub>q</sub> ), 174.61 (C=O), 176.79 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	281.2 (100)
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>
M <sub>r</sub> :	281.31
Elementaranalyse:	Ber.: C 72.58      H 5.37      N 4.98 Gef.: C 72.04      H 5.41      N 4.72

### 10.3.25 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und (Nitro-)Naphthalimid-gekoppelten Thiophenpyrrolcarboxamide <sup>[139]</sup>

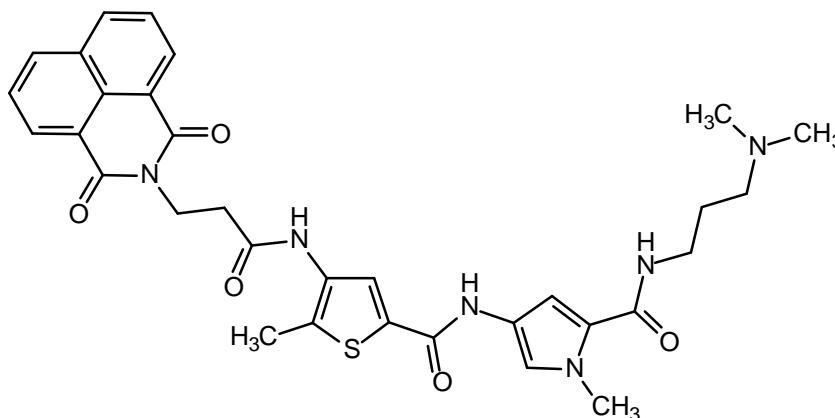
Durchführung analog zu Vorschrift 10.3.9 (S. 321)

#### 10.3.25.1 *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{2-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)acetyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup> (**91**)



Einwaage:	621.6 mg (1.58 mmol) <i>N</i> -[5-({[3-Dimethylamino]propyl}amino)-carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophen-carboxamid <b>69</b> , 402.9 mg (1.58 mmol) 2-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)essigsäure <b>74</b>
Ausbeute:	360 mg (0.599 mmol) (37.9 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	180°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	1.58 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.0 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.12 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.23 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.35 (s, 3H, Thiophen-CH <sub>3</sub> ), 3.15 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.76 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 4.90 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 6.74 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.13 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.90 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.6 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.01 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.11 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.5 Hz, NH), 8.52 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 10.0 (s, 1H, NH), 10.26 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	12.88 (CH <sub>3</sub> ), 27.34 (CH <sub>2</sub> ), 36.25 (CH <sub>3</sub> ), 37.32 (CH <sub>2</sub> ), 42.87 (CH <sub>2</sub> ), 45.39 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.28 (CH <sub>2</sub> ), 104.13 (CH), 118.16 (CH), 121.88 (C <sub>q</sub> ), 122.19 (2 C <sub>q</sub> ), 123.60 (C <sub>q</sub> ), 125.98 (CH), 127.67 (2 CH), 127.82 (C <sub>q</sub> ), 131.27 (2 CH), 131.71 (C <sub>q</sub> ), 132.14 (C <sub>q</sub> ), 132.63 (C <sub>q</sub> ), 134.34 (C <sub>q</sub> ), 135.01 (2 CH), 158.30 (C=O), 161.41 (C=O), 163.74 (2 C=O), 165.82 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	601.5 (100)
Summenformel:	C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub> S
M <sub>r</sub> :	600.69
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3278 (w), 1707 (w), 1656 (s), 1584 (s), 1514 (s), 1438 (m), 1378 (m), 1359 (w), 1286 (w), 1235 (m), 1182 (w), 1147 (w), 963 (w), 843 (w), 776 (m)
Elementaranalyse:	C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub> S · 2 H <sub>2</sub> O
Ber.:	C 58.48      H 5.70      N 13.20      S 5.04
Gef.:	C 58.70      H 5.34      N 13.14      S 5.41

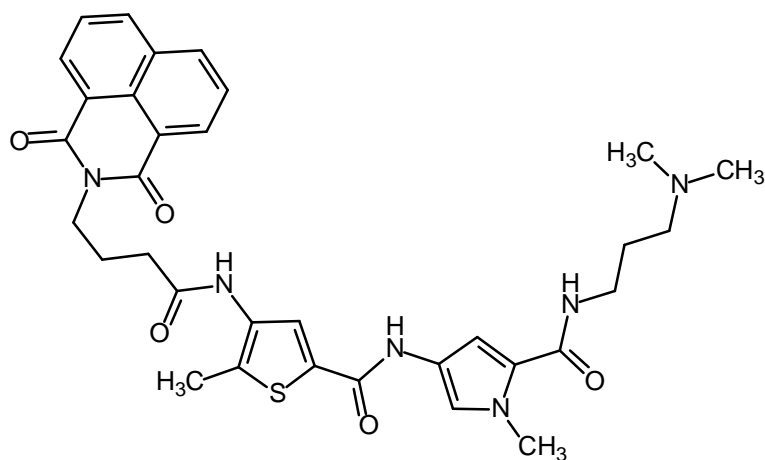
**10.3.25.2** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[3-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)propanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup>  
(92)



- Einwaage: 621.6 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid **69**, 425.4 mg (1.58 mmol) 3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)propionsäure **76**
- Ausbeute: 310 mg (0.5 mmol) (31.6 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 145°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.13 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.24 (t+s, 5H, CH<sub>2</sub> und Thiophen-CH<sub>3</sub>), 2.73 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.37 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.79 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.17 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.88 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.01 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.10 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 8.49 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.67 (s, 1H, NH), 10.26 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 12.73 (CH<sub>3</sub>), 27.43 (CH<sub>2</sub>), 34.14 (CH<sub>2</sub>), 36.28 (CH<sub>3</sub>), 36.76 (CH<sub>2</sub>), 37.35 (CH<sub>2</sub>), 45.46 (2 CH<sub>3</sub>), 57.34 (CH<sub>2</sub>), 104.23 (CH), 118.18 (CH), 121.94 (C<sub>q</sub>), 122.46 (2 C<sub>q</sub>), 123.60 (C<sub>q</sub>), 126.14 (CH), 127.58 (2 CH), 127.75 (C<sub>q</sub>), 131.06 (2 CH), 131.56 (C<sub>q</sub>), 131.65 (C<sub>q</sub>), 133.15 (C<sub>q</sub>), 134.05 (C<sub>q</sub>), 134.69 (2 CH), 158.39 (C=O), 161.43 (C=O), 163.72 (2 C=O), 169.09 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 614.4 (100)

Summenformel:  $C_{32}H_{34}N_6O_5S$   
 Mr: 614.72  
 IR ( $cm^{-1}$ ): 3272 (m), 1644 (s), 1584 (s), 1517 (m), 1435 (m), 1343 (w), 1280 (w), 1232 (w), 1140 (w), 1026 (w), 871 (w), 846 (w), 779 (m)  
 Elementaranalyse:  $C_{32}H_{34}N_6O_5S \cdot 3 H_2O$   
 Ber.: C 57.47    H 6.03    N 12.57    S 4.79  
 Gef.: C 57.60    H 5.98    N 12.88    S 5.06

**10.3.25.3** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup> (**93**)



Einwaage: 621.6 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-Dimethylamino]propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid **69**, 448 mg (1.58 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäure **78**  
 Ausbeute: 330 mg (0.52 mmol) (32.9 % d. Th.), gelber Feststoff  
 Schmelzpunkt: 170°C (MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 1.61 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1.99 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.17 (s, 6H, 2  $\text{CH}_3$ ), 2.29 (t+s, 5H,  $\text{CH}_2$  und Thiophen- $\text{CH}_3$ ), 2.42 (t, 2H,  $^3\text{J} = 7.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.17 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 4.14 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 6.79 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.16 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.86 (pt, 2H,  $^3\text{J} = 7.7$  Hz, Naphthalimid-H5+8), 7.99 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.09 (t, 1H,  $^3\text{J} = 5.6$  Hz, NH), 8.50 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.50 (s, 1H, NH), 10.26 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 12.82 ( $\text{CH}_3$ ), 24.09 ( $\text{CH}_2$ ), 27.38 ( $\text{CH}_2$ ), 33.39 ( $\text{CH}_2$ ), 36.28 ( $\text{CH}_3$ ), 37.30 ( $\text{CH}_2$ ), ein Signal von DMSO überlagert, 45.39 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.29 ( $\text{CH}_2$ ), 104.23 (CH), 118.21 (CH), 121.95 ( $\text{C}_q$ ), 122.45 (2  $\text{C}_q$ ), 123.57 ( $\text{C}_q$ ), 125.99 (CH), 127.52 (2 CH), 127.76 ( $\text{C}_q$ ), 131.07 (2 CH), 131.17 ( $\text{C}_q$ ), 131.63 ( $\text{C}_q$ ), 133.36 ( $\text{C}_q$ ), 134.01 ( $\text{C}_q$ ), 134.62 (2 CH), 158.39 (C=O), 161.43 (C=O), 163.87 (2 C=O), 170.56 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 630.4 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$

$M_r$ : 628.75

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3262 (w), 2948 (w), 1698 (m), 1656 (s), 1587 (s), 1517 (m), 1435 (m), 1387 (w), 1343 (m), 1283 (w), 1251 (w), 1232 (w), 1140 (w), 1049 (w), 779 (s)

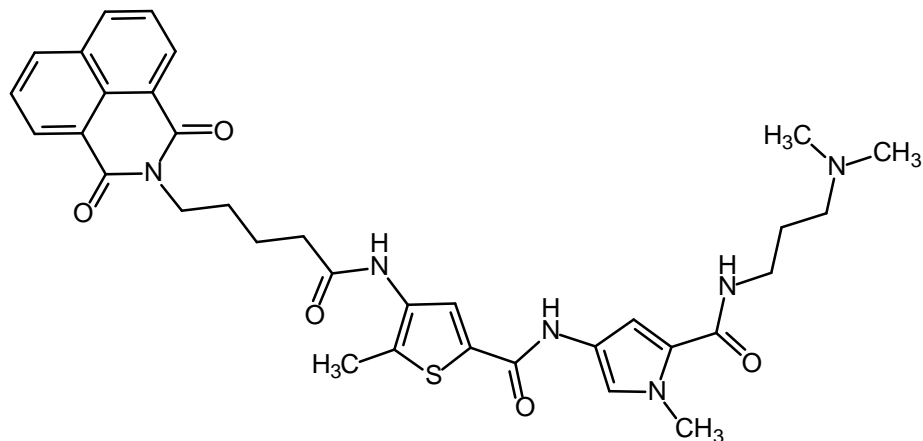
Elementaranalyse:  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5\text{S} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$

Ber.: C 59.62      H 6.06      N 12.64      S 4.82

Gef.: C 59.45      H 5.95      N 12.51      S 4.86



**10.3.25.4** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[5-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)pentanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup>  
(94)



Einwaage: 621.6 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-Dimethylamino]propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophen-carboxamid **69**, 469.8 mg (1.58 mmol) 5-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)pentansäure **80**

Ausbeute: 270 mg (0.42 mmol) (26.6 % d. Th.), gelber Feststoff

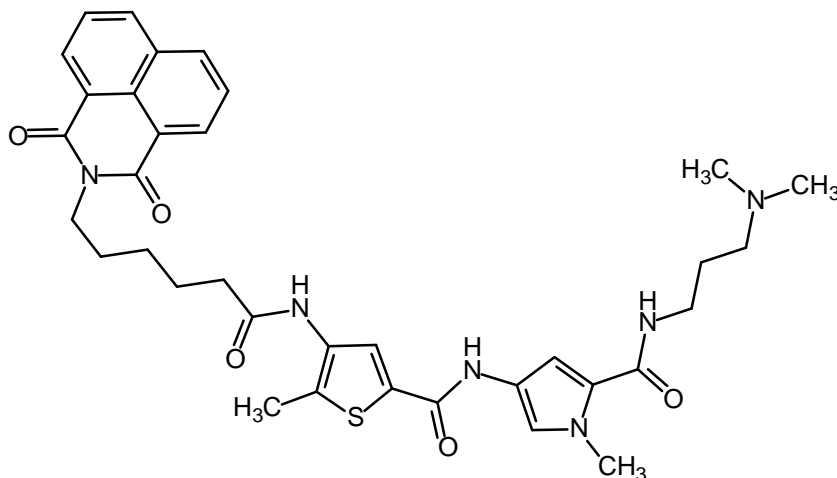
Schmelzpunkt: 191°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.68 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 2.14 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.25 (t+s, 5H, CH<sub>2</sub> und Thiophen-CH<sub>3</sub>), 2.38 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.09 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.78 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.15 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.87 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.02 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.08 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, NH), 8.47 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.50 (s, 1H, NH), 10.25 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 12.79 (CH<sub>3</sub>), 23.22 (CH<sub>2</sub>), 27.40 (CH<sub>2</sub>), 27.61 (CH<sub>2</sub>), 35.43 (CH<sub>2</sub>), 36.27 (CH<sub>3</sub>), 37.33 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 45.42 (2 CH<sub>3</sub>), 57.31 (CH<sub>2</sub>), 104.20 (CH), 118.16 (CH), 121.94 (C<sub>q</sub>), 122.40 (2 C<sub>q</sub>), 123.58 (C<sub>q</sub>), 126.07 (CH), 127.58 (2 CH), 127.72 (C<sub>q</sub>), 131.08 (2 CH), 131.22 (C<sub>q</sub>), 131.64 (C<sub>q</sub>), 133.38 (C<sub>q</sub>), 134.02 (C<sub>q</sub>), 134.68 (2 CH), 158.39 (C=O), 161.43 (C=O), 163.80 (2 C=O), 171.00 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 643.3 (100)  
 Summenformel: C<sub>34</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S  
 M<sub>r</sub>: 642.77  
 IR (cm<sup>-1</sup>): 3271 (w), 2942 (w), 1694 (w), 1647 (s), 1559 (m), 1517 (m), 1467 (w), 1438 (w), 1400 (m), 1387 (m), 1346 (m), 1239 (m), 1201 (w), 1147 (w), 1055 (w), 928 (w), 846 (w), 776 (m)  
 Elementaranalyse: C<sub>34</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S · H<sub>2</sub>O  
 Ber.: C 61.80 H 6.10 N 12.72 S 4.85  
 Gef.: C 61.44 H 5.72 N 12.58 S 5.11

**10.3.25.5 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[6-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)hexanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup> (95)**



Einwaage: 621.6 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-Dimethylamino]propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid **69**, 491.9 mg (1.58 mmol) 6-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)hexansäure **82**  
 Ausbeute: 290 mg (0.44 mmol) (27.8 % d. Th.), gelber Feststoff  
 Schmelzpunkt: 120°C (MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 1.40 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 7.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 1.64 (m, 6H, 3  $\text{CH}_2$ ), 2.16 (s, 6H, 2  $\text{CH}_3$ ), 2.30 (2t+s, 7H, 2  $\text{CH}_2$  und Thiophen- $\text{CH}_3$ ), 3.17 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 4.06 (t, 2H,  $^3\text{J} = 7.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 6.79 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1.7$  Hz, Pyrrol-H3), 7.16 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1.7$  Hz, Pyrrol-H5), 7.86 (pt, 2H,  $^3\text{J} = 7.7$  Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.01 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.09 (t, 1H,  $^3\text{J} = 5.6$  Hz, NH), 8.47 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.49 (s, 1H, NH), 10.30 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 12.77 ( $\text{CH}_3$ ), 25.35 ( $\text{CH}_2$ ), 26.52 ( $\text{CH}_2$ ), 27.34 ( $\text{CH}_2$ ), 27.73 ( $\text{CH}_2$ ), 35.52 ( $\text{CH}_2$ ), 36.28 ( $\text{CH}_3$ ), 37.29 ( $\text{CH}_2$ ), ein Signal von DMSO überlagert, 45.36 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.26 ( $\text{CH}_2$ ), 104.23 (CH), 118.19 (CH), 121.95 ( $\text{C}_q$ ), 122.37 (2  $\text{C}_q$ ), 123.57 ( $\text{C}_q$ ), 126.13 (CH), 127.55 (2 CH), 127.69 ( $\text{C}_q$ ), 131.06 (2 CH), 131.25 ( $\text{C}_q$ ), 131.63 ( $\text{C}_q$ ), 133.39 ( $\text{C}_q$ ), 134.04 ( $\text{C}_q$ ), 134.65 (2 CH), 158.39 (C=O), 161.44 (C=O), 163.75 (2 C=O), 171.17 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 656.2 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$

$M_r$ : 656.80

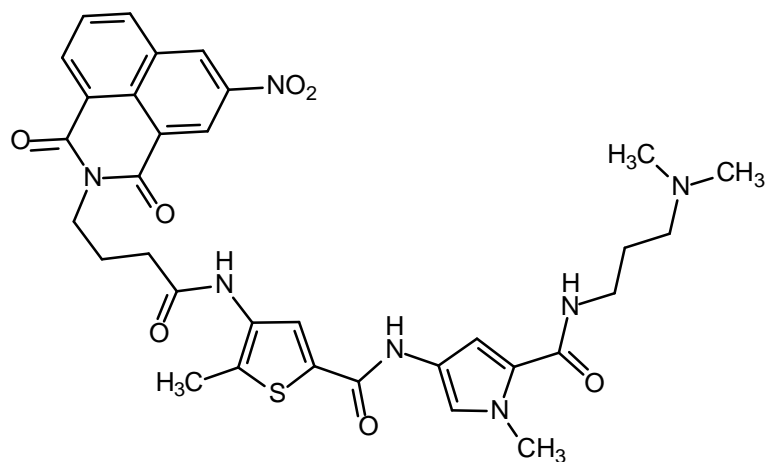
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3265 (w), 2932 (w), 1698 (w), 1653 (s), 1584 (s), 1517 (m), 1435 (m), 1384 (m), 1343 (m), 1283 (w), 1235 (w), 1166 (w), 1068 (w), 776 (s)

Elementaranalyse:  $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_5\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$

Ber.: C 62.30      H 6.27      N 12.45      S 4.75

Gef.: C 62.18      H 6.26      N 12.44      S 4.79

**10.3.25.6** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[4-(5-nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup>  
(96)



Einwaage: 621.6 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-Dimethylamino]propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophen-carboxamid **69**, 518.7 mg (1.58 mmol) 4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäure **84**

Ausbeute: 260 mg (0.39 mmol) (24.7 % d. Th.), rosafarbener Feststoff

Schmelzpunkt: 196°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.64 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.02 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.26 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.28 (s, 3H, Thiophen-CH<sub>3</sub>), 2.42 (2t, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 3.18 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.15 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.80 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.14 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.92 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.02 (pt, 1H, Naphthalimid-H8), 8.10 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, NH), 8.65 (pd, 1H, Naphthalimid-H9), 8.72 (pd, 1H, Naphthalimid-H7), 8.92 (pd, 1H, Naphthalimid-H4), 9.42 (pd, 1H, Naphthalimid-H6), 9.50 (s, 1H, NH), 10.21 (s, 1H, NH)

(300 MHz) (DMSO *d*<sup>6</sup>)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 12.70 (CH<sub>3</sub>), 24.35 (CH<sub>2</sub>), 26.52 (CH<sub>2</sub>), 33.01 (CH<sub>2</sub>), 36.29 (CH<sub>3</sub>),  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 37.09 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 45.12 (2 CH<sub>3</sub>),  
57.26 (CH<sub>2</sub>), 104.23 (CH), 118.03 (CH), 121.95 (C<sub>q</sub>), 122.27 (C<sub>q</sub>),  
123.04 (C<sub>q</sub>), 123.23 (CH), 124.57 (C<sub>q</sub>), 126.02 (CH), 129.94  
(CH), 130.38 (CH), 131.03 (C<sub>q</sub>), 131.31 (C<sub>q</sub>), 133.75 (C<sub>q</sub>), 134.16  
(C<sub>q</sub>), 134.59 (CH), 136.96 (CH), 146.62 (C<sub>q</sub>), 158.35 (C=O),  
161.34 (C=O), 163.17 (C=O), 163.35 (C=O), 170.67 (C=O)

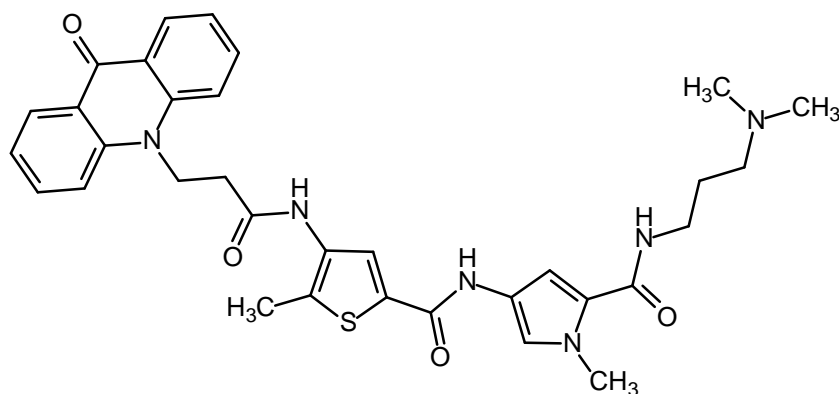
FD-MS: m/z (%): 674.4 (100)

Summenformel: C<sub>33</sub>H<sub>35</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub>S

M<sub>r</sub>: 673.74

IR (cm<sup>-1</sup>): 3274 (w), 2985 (w), 1707 (w), 1650 (s), 1600 (w), 1530 (m), 1432  
(m), 1337 (m), 1254 (m), 1147 (w), 1077 (m), 1026 (m), 789 (m)

**10.3.25.7 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[3-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propa-  
noyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[139]</sup> (97)**



Einwaage: 621.6 mg (1.58 mmol) *N*-[5-({[3-Dimethylamino]propyl]amino}-  
carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophen-  
carboxamid **69**, 422.3 mg (1.58 mmol) 3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-  
acridinyl)propionsäure **87**

Ausbeute: 250 mg (0.408 mmol) (25.8 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 162°C (MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 1.65 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.25 (s, 3H, Thiophen- $\text{CH}_3$ ),  
 (300 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ) 2.26 (s, 6H, 2  $\text{CH}_3$ ), 2.41 (t, 2H,  $^3\text{J} = 7.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.97 (t, 2H,  $^3\text{J}$   
 $= 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.19 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.80 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 4.83 (t, 2H,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 6.84 (s, 1H, Pyrrol-  
 H3), 7.16 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.36 (pt, 2H,  $^3\text{J} = 7.0$  Hz, Acridon-  
 H), 7.88 (m, 4H, Acridon-H), 8.14 (t+s, 2H, Thiophen-H3 und  
 NH), 8.37 (pd, 2H,  $^3\text{J} = 7.9$  Hz, Acridon-H1+8), 9.79 (s, 1H, NH),  
 10.35 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 12.74 ( $\text{CH}_3$ ), 26.03 ( $\text{CH}_2$ ), 33.90 ( $\text{CH}_2$ ), 36.31 ( $\text{CH}_3$ ), 37.03 ( $\text{CH}_2$ ),  
 (75 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ) 42.41 ( $\text{CH}_2$ ), 44.85 (2  $\text{CH}_3$ ), 56.86 ( $\text{CH}_2$ ), 104.35 (CH), 116.03 (2  
 CH), 118.31 (CH), 121.77 (2 CH), 121.97 (2  $\text{C}_q$ ), 122.00 ( $\text{C}_q$ ),  
 123.52 ( $\text{C}_q$ ), 125.84 (CH), 127.16 (2 CH), 131.42 ( $\text{C}_q$ ), 132.97  
 ( $\text{C}_q$ ), 134.26 ( $\text{C}_q$ ), 134.64 (2 CH), 141.81 (2  $\text{C}_q$ ), 158.38 ( $\text{C}=\text{O}$ ),  
 161.52 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 168.89 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 176.85 ( $\text{C}=\text{O}$ )

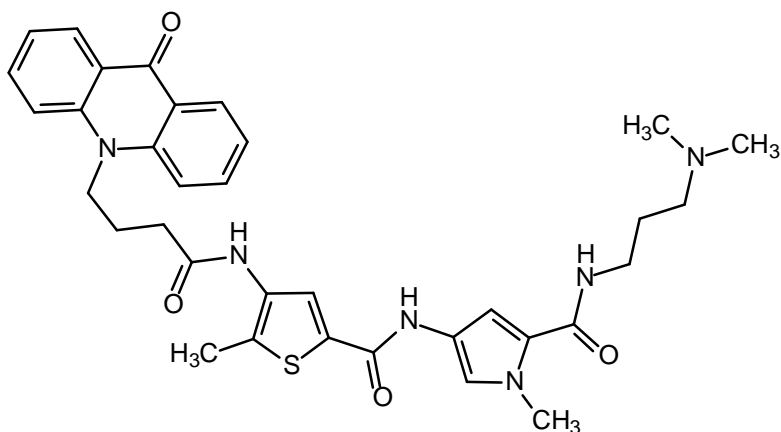
FD-MS:  $m/z$  (%): 612.7 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$

$M_r$ : 612.75

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1631 (s), 1555 (s), 1536 (s), 1489 (m), 1463 (w), 1435 (w), 1397  
 (w), 1375 (w), 1277 (m), 1172 (w), 1058 (w), 748 (s), 665 (m)

**10.3.25.8 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid} <sup>[139]</sup> (98)**



Einwaage:	621.6 mg (1.58 mmol) <i>N</i> -[5-({[3-Dimethylamino]propyl}amino)-carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophen-carboxamid <b>69</b> , 444.5 mg (1.58 mmol) 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäure <b>89</b>
Ausbeute:	190 mg (0.303 mmol) (19.2 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	214°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.12 (m, 8H, 2 CH <sub>3</sub> und CH <sub>2</sub> ), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.34 (s, 3H, Thiophen-CH <sub>3</sub> ), 2.69 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.79 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 4.56 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 6.80 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.18 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.34 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, Acridon-H), 7.85 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.6 Hz, Acridon-H), 7.99 (pd, 2H, <sup>3</sup> J = 8.8 Hz, Acridon-H4+5) 8.09 (t+s, 2H, Thiophen-H3 und NH), 8.36 (m, 2H, Acridon-H1+8), 9.70 (s, 1H, NH), 10.31 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	12.91 (CH <sub>3</sub> ), 22.44 (CH <sub>2</sub> ), 27.44 (CH <sub>2</sub> ), 31.81 (CH <sub>2</sub> ), 36.30 (CH <sub>3</sub> ), 37.35 (CH <sub>2</sub> ), 45.34 (CH <sub>2</sub> ), 45.47 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.34 (CH <sub>2</sub> ), 104.21 (CH), 116.23 (2 CH), 118.18 (CH), 121.64 (2 CH), 121.97 (2 C <sub>q</sub> ), 123.61 (C <sub>q</sub> ), 124.35 (C <sub>q</sub> ), 126.24 (CH), 127.09 (2 CH), 131.78 (C <sub>q</sub> ), 133.22 (C <sub>q</sub> ), 134.17 (C <sub>q</sub> ), 134.61 (2 CH), 141.87 (2 C <sub>q</sub> ), 158.39 (C=O), 161.41 (C=O), 170.94 (C=O), 176.81 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	628.4 (100)
Summenformel:	C <sub>34</sub> H <sub>38</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S
M <sub>r</sub> :	626.77
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3287 (m), 2926 (w), 1647 (s), 1625 (s), 1593 (s), 1495 (s), 1460 (s), 1397 (w), 1375 (w), 1289 (m), 1264 (m), 1204 (w), 1175 (w), 1042 (w), 935 (w), 754 (s), 672 (m)
Elementaranalyse:	C <sub>34</sub> H <sub>38</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S · H <sub>2</sub> O · CH <sub>3</sub> OH
Ber.:	C 62.11      H 6.55      N 12.42      S 4.74
Gef.:	C 62.37      H 6.66      N 12.49      S 4.85

**10.3.26 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Amidkupplung mittels der 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid (EDCI)- / 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)-Methode <sup>[152]</sup>**

1) Reduktion zum Amin:

1.25 mmol des entsprechenden Nitrohetarylcarboxamid-Derivates werden in 10 ml absolutem DMF gelöst und mit 230 mg Pd(10 %)/C unter Wasserstoffatmosphäre reduziert. Nach vollständiger Reduktion (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid EtOH) wird der Katalysator abfiltriert.

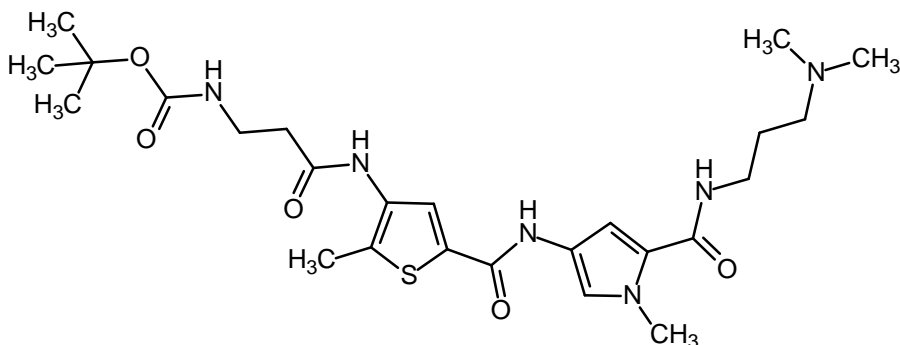
2) Aktivierung der Carbonsäure:

1.05 mmol der Carbonsäure, 141.2 mg HOBt (1.05 mmol) und 0.5 g EDCI (2.6 mmol) werden in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und 30 min. bei RT gerührt.

Anschließend wird die unter 1) hergestellte Aminlösung hinzugetropft und das erhaltene Reaktionsgemisch unter Stickstoffatmosphäre bei RT 24 h gerührt. Die DC-Kontrolle erfolgt auf Kieselgel-Platten (MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3).

Nach erfolgter Umsetzung wird das LM unter Vakuum entfernt und das Endprodukt mittels Säulenchromatographie isoliert (Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3).

**10.3.27 *tert.*-Butyl (3-{{5-({5-({3-(dimethylamino)propyl}amino)carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl}amino)carbonyl)-2-methyl-3-thienyl}amino}-3-oxopropyl)carbamate <sup>[152]</sup> (102)**





Vorschrift:	analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)			
Einwaage:	491.8 mg (1.25 mmol) <i>N</i> -[5-([3-Dimethylamino]propyl)amino]-carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophen-carboxamid <b>69</b> , 197.7 mg (1.05 mmol) Boc- $\beta$ -Alanin <b>101</b>			
Ausbeute:	450 mg (0.84 mmol) (80.4 % d. Th.), gelb-brauner Feststoff			
Schmelzpunkt:	81°C (MeOH)			
$^1\text{H-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (300 MHz) (DMSO $d^6$ )	1.37 (s, 9H, 3 CH <sub>3</sub> ), 1.59 (quint, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.13 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.24 (t, 2H, $^3J = 6.9$ Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.30 (s, 3H, Thiophen-CH <sub>3</sub> ), 2.58 (t, 2H, $^3J = 6.7$ Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.20 (m, 4H, 2 CH <sub>2</sub> ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 6.79 (d, 1H, $^4J = 1.4$ Hz, Pyrrol-H3), 6.88 (t, 1H, $^3J = 5.5$ Hz, NH), 7.16 (d, 1H, $^4J = 1.7$ Hz, Pyrrol-H5), 8.04 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.09 (t, 1H, $^3J = 5.7$ Hz, NH), 9.57 (s, 1H, NH), 10.28 (s, 1H, NH)			
$^{13}\text{C-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (75 MHz) (DMSO $d^6$ )	12.82 (CH <sub>3</sub> ), 27.34 (CH <sub>2</sub> ), 28.56 (3 CH <sub>3</sub> ), 36.12 (CH <sub>2</sub> ), 36.28 (CH <sub>3</sub> ), 37.00 (CH <sub>2</sub> ), 37.30 (CH <sub>2</sub> ), 45.34 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.27 (CH <sub>2</sub> ), 77.96 (C <sub>q</sub> ), 104.23 (CH), 118.21 (CH), 121.93 (C <sub>q</sub> ), 123.58 (C <sub>q</sub> ), 126.07 (CH), 131.29 (C <sub>q</sub> ), 133.23 (C <sub>q</sub> ), 134.00 (C <sub>q</sub> ), 155.84 (C=O), 158.40 (C=O), 161.44 (C=O), 169.38 (C=O)			
FD-MS: <i>m/z</i> (%)	533.9 (100)			
Summenformel:	C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub> S			
M <sub>r</sub> :	534.67			
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1628 (m), 1577 (m), 1514 (s), 1432 (m), 1403 (m), 1365 (w), 1283 (m), 1163 (s)			
Elementaranalyse:	C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub> S · H <sub>2</sub> O			
Ber.:	C 54.33	H 7.29	N 15.21	S 5.80
Gef.:	C 53.97	H 7.18	N 15.29	S 6.07

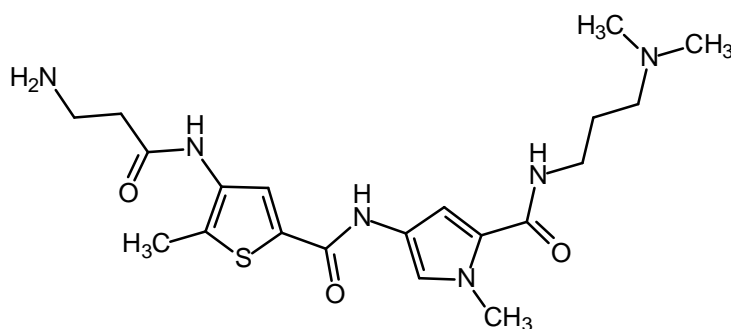
### 10.3.28 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe <sup>[153]</sup>

1 mmol der Boc-geschützten Verbindung wird in 60 ml Ethanol gelöst und unter Eiskühlung mit einem 4.5 molaren Überschuss an 2.3M ethanolischer HCl versetzt. Man rührt die Reaktionsmischung bei 80°C und verfolgt den Reaktionsverlauf per DC-Kontrolle (Kieselgel MeOH-NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3). Im Falle einer nicht vollständigen Umsetzung wird weitere ethanolische HCl ergänzt. Anschließend lässt man auf RT abkühlen und neutralisiert mit 2M wässriger NaOH. Das LM wird im Vakuum entfernt und das Produkt säulenchromatographisch isoliert (Kieselgel MeOH-NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3).

#### Herstellung der 2.3M-ethanolischen HCl:

Man legt 170 ml Ethanol in einem 250 ml Messkolben vor und tropft langsam 41 ml (0.58 mol) Acetylchlorid unter Eiskühlung hinzu. Nach beendeter Zugabe wird 1.5 h bei RT gerührt und anschließend mit Ethanol auf 250 ml aufgefüllt.

### 10.3.29 *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-[(3-aminopropanoyl)amino]-5-methyl-2-thiophencarboxamid <sup>[153]</sup> (103)

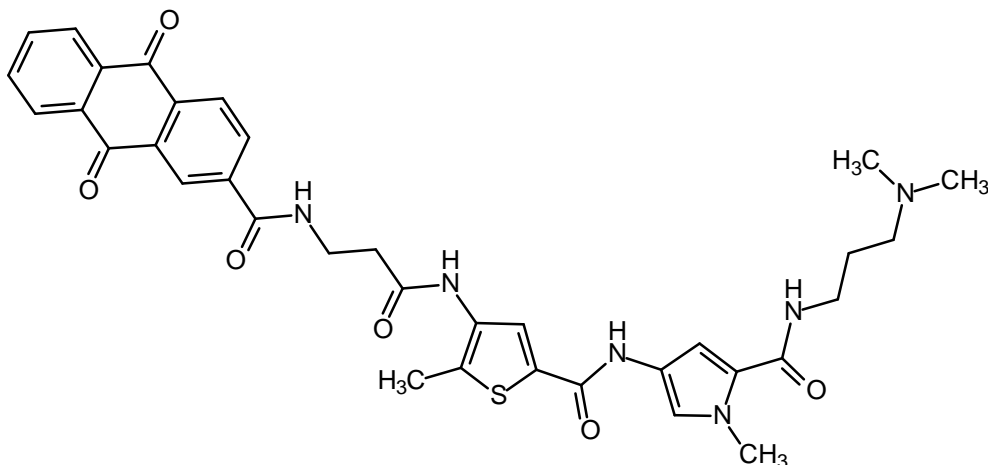


Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.28

Einwaage: 534.7 mg (1 mmol) *tert.*-Butyl (3-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-2-methyl-3-thienyl]amino)-3-oxopropyl)carbamate **102**

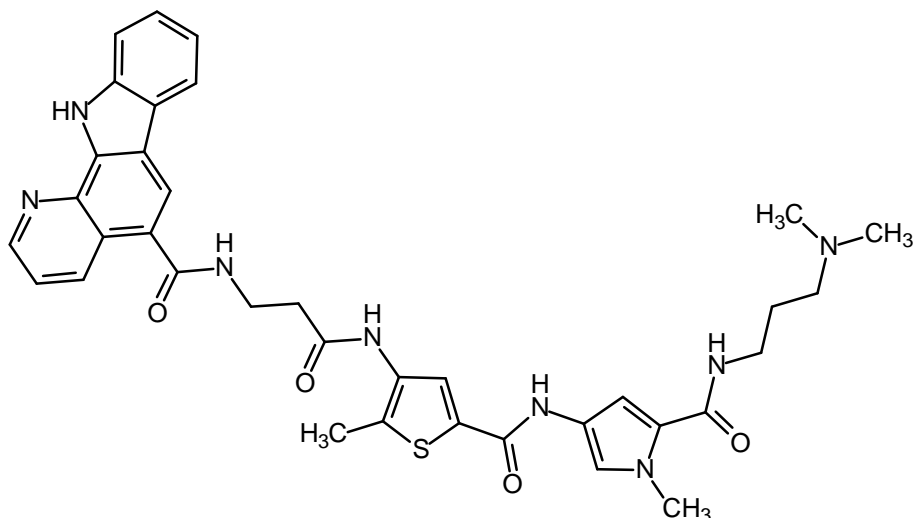
Ausbeute:	400 mg (0.92 mmol) (92 % d. Th.), farbloser Feststoff
Schmelzpunkt:	120°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.11 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.31 (s, 3H, Thiophen-CH <sub>3</sub> ), 2.38 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.3 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.84 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 6.79 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 7.16 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 8.06 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.20 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.2 Hz, NH), 10.12 (s, 1H, NH), 10.41 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	12.82 (CH <sub>3</sub> ), 27.49 (CH <sub>2</sub> ), 36.27 (CH <sub>3</sub> ), 37.39 (CH <sub>2</sub> ), 38.60 (CH <sub>2</sub> ), 39.40 (CH <sub>2</sub> ), 45.54 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.41 (CH <sub>2</sub> ), 104.21 (CH), 118.18 (CH), 121.97 (C <sub>q</sub> ), 123.61 (C <sub>q</sub> ), 125.82 (CH), 130.49 (C <sub>q</sub> ), 133.59 (C <sub>q</sub> ), 134.13 (C <sub>q</sub> ), 158.44 (C=O), 161.42 (C=O), 170.58 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	435 (100)
Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S
M <sub>r</sub> :	434.56
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1634 (m), 1577 (s), 1520 (s), 1463 (m), 1432 (m), 1400 (m), 1280 (s), 1232 (w), 1210 (w), 1156 (w)

**10.3.30** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-[(3-{{(9,10-dioxo-9,10-dihydro-2-anthracenyl)-carbonyl}amino}propanoyl)amino]-2-thiophencarboxamid <sup>[152]</sup>  
**(104)**



Vorschrift:	analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355) Die Reduktion mit Pd/C entfällt. Das Amin <b>103</b> wird in 10 ml DMF (absolut) gelöst und zur Carbonsäurelösung gegeben.
Einwaage:	543.2 (1.25 mmol) <i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-4-[(3-aminopropanoyl)amino]-5-methyl-2-thiophencarboxamid <b>103</b> , 263.6 mg (1.05 mmol) Anthrachinon-2-carbonsäure <b>99</b>
Ausbeute:	240 mg (0.36 mmol) (34.4 % d. Th.), farbloser Feststoff
Schmelzpunkt:	230°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.61 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.19 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.29 (t+s, 5H, CH <sub>2</sub> und Thiophen-CH <sub>3</sub> ), 2.68 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.16 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.61 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.3 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.77 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 6.79 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 7.15 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.95 (m, 2H, Anthrachinon-H6+7) 8.05 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.08 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.5 Hz, NH), 8.23 (m, 2H, Anthrachinon-H5+8), 8.28 (pd, 1H, Anthrachinon-H4), 8.33 (pd, 1H, Anthrachinon-H3), 8.65 (ps, 1H, Anthrachinon-H1), 9.11 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.5 Hz, NH), 9.64 (s, 1H, NH), 10.27 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	12.83 (CH <sub>3</sub> ), 27.18 (CH <sub>2</sub> ), 35.56 (CH <sub>2</sub> ), 36.28 (CH <sub>3</sub> ), 36.68 (CH <sub>2</sub> ), 37.18 (CH <sub>2</sub> ), 45.17 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.11 (CH <sub>2</sub> ), 104.26 (CH), 118.47 (CH), 121.93 (C <sub>q</sub> ), 123.54 (C <sub>q</sub> ), 125.83 (CH), 126.13 (CH), 127.19 (2 CH), 127.43 (CH), 131.49 (C <sub>q</sub> ), 133.14 (CH), 133.23 (C <sub>q</sub> ), 133.42 (C <sub>q</sub> ), 133.45 (2 C <sub>q</sub> ), 134.07 (C <sub>q</sub> ), 134.95 (C <sub>q</sub> ), 135.01 (2 CH), 139.64 (C <sub>q</sub> ), 158.39 (C=O), 161.46 (C=O), 165.11 (C=O), 169.41 (C=O), 182.53 (2 C=O)
FD-MS: m/z (%):	669.3 (100)
Summenformel:	C <sub>35</sub> H <sub>35</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S
M <sub>r</sub> :	667.76
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3262 (w), 1637 (m), 1584 (m), 1514 (m), 1463 (w), 1441 (w), 1400 (w), 1324 (w), 1280 (s), 1156 (w), 1096 (w), 1061 (w), 928 (w), 862 (w), 798 (w), 707 (m)

**10.3.31** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-[(3-{{(11*H*-pyrido[2,3-*a*]-5-carbazolyl)carbonyl]-amino}propanoyl)amino]-2-thiophencarboxamid <sup>[152]</sup> (**105**)



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)  
Die Reduktion mit Pd/C entfällt. Das Amin **103** wird in 10 ml DMF (absolut) gelöst und zur Carbonsäurelösung gegeben.
- Einwaage: 543.2 (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-[(3-aminopropanoyl)amino]-5-methyl-2-thiophencarboxamid **103**, 274 mg (1.05 mmol) 11*H*-pyrido[2,3-*a*]carbazol-5-carbonsäure **100**
- Ausbeute: 210 mg (0.31 mmol) (29.7 % d. Th.), farbloser Feststoff
- Schmelzpunkt: 212°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.14 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.25 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.32 (s, 3H, Thiophen-CH<sub>3</sub>), 2.76 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.68 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 6.79 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 7.17 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.28 (pt, 1H, Pyridocarbazol-H), 7.46 (pt, 1H, Pyridocarbazol-H), 7.64 (m, 2H, Pyridocarbazol-H), 8.09 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, NH), 8.12 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.18 (pd, 1H, Pyridocarbazol-H), 8.55 (ps, 1H, Pyridocarbazol-H), 8.76 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, NH), 8.95 (m, 2H, Pyridocarbazol-H), 9.71 (s, 1H, NH), 10.32 (s, 1H, NH), 12.19 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta[\text{ppm}]$ : 12.87 ( $\text{CH}_3$ ), 27.37 ( $\text{CH}_2$ ), 35.94 ( $\text{CH}_2$ ), 36.28 ( $\text{CH}_3$ ), 36.57 ( $\text{CH}_2$ ),  
 (75 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ) 37.32 ( $\text{CH}_2$ ), 45.39 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.30 ( $\text{CH}_2$ ), 104.23 ( $\text{CH}$ ), 112.57  
 ( $\text{CH}$ ), 118.21 ( $\text{CH}$ ), 118.62 ( $\text{C}_q$ ), 120.13 ( $\text{CH}$ ), 120.35 ( $\text{CH}$ ),  
 120.95 ( $\text{CH}$ ), 121.38 ( $\text{CH}$ ), 121.95 ( $\text{C}_q$ ), 123.33 ( $\text{C}_q$ ), 123.60 ( $\text{C}_q$ ),  
 124.51 ( $\text{C}_q$ ), 124.99 ( $\text{C}_q$ ), 125.85 ( $\text{CH}$ ), 126.10 ( $\text{CH}$ ), 131.22 ( $\text{C}_q$ ),  
 133.33 ( $\text{C}_q$ ), 134.11 ( $\text{C}_q$ ), 135.08 ( $\text{CH}$ ), 136.60 ( $\text{C}_q$ ), 137.23 ( $\text{C}_q$ ),  
 139.79 ( $\text{C}_q$ ), 148.98 ( $\text{CH}$ ), 158.42 ( $\text{C=O}$ ), 161.43 ( $\text{C=O}$ ), 168.79  
 ( $\text{C=O}$ ), 169.59 ( $\text{C=O}$ )

FD-MS:  $m/z$  (%): 678.7 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4\text{S}$

$M_r$ : 678.81

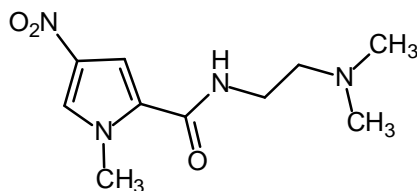
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3268 (s), 2967 (s), 2882 (m), 1644 (s), 1619 (s), 1536 (s), 1514  
 (s), 1457 (m), 1435 (m), 1400 (m), 1347 (m), 1258 (m), 1235 (w),  
 1153 (m), 1077 (w), 969 (w), 738 (m)

Elementaranalyse:  $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4\text{S} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

Ber.: C 59.08 H 5.92 N 15.31 S 4.38

Gef.: C 59.04 H 5.92 N 15.58 S 4.42

### 10.3.32 *N*-[2-(Dimethylamino)ethyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarbox- amid <sup>[122]</sup> (106)



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.3 (S. 314)

Einwaage: 1.4 g (5.16 mmol) 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)ethanon **57**, 604.7 mg (6.86 mmol) *N,N*-Dimethyl-ethylendiamin

Ausbeute: 1 g (4.16 mmol) (80.62 % d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 116°C (Isopropanol) (Literatur: 117-117.5°C) <sup>[233]</sup>

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 2.14 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.34 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.26 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.89 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 7.41 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 8.11 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H5), 8.33 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 37.12 (CH<sub>2</sub>), 37.67 (CH<sub>3</sub>), 45.54 (2 CH<sub>3</sub>), 58.38 (CH<sub>2</sub>), 107.55 (CH), 107.7 (CH), 126.73 (C<sub>q</sub>), 134.05 (C<sub>q</sub>), 160.03 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 240.3 (100)

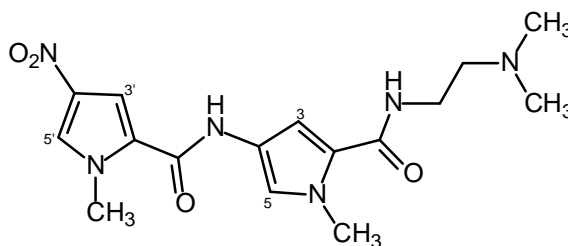
Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>r</sub>: 240.26

IR (cm<sup>-1</sup>): 3281 (w), 3123 (m), 2825 (w), 1650 (s), 1530 (m), 1496 (s), 1413 (m), 1305 (s), 1138 (w), 985 (w), 859 (w), 808 (w), 748 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 49.99 H 6.71 N 23.32  
Gef.: C 50.03 H 6.67 N 23.31

**10.3.33 N-[5-({[2-(Dimethylamino)ethyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1H-2-pyrrolcarboxamid <sup>[122]</sup> (108)**



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.4 (S. 315)

Einwaage: 945 mg (3.93 mmol) *N*-[2-(Dimethylamino)ethyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **106**, 1 g (3.7 mmol) 2,2,2-Trichloro-1-(1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolyl)ethanon **57**

Ausbeute: 650 mg (1.79 mmol) (48.4 % d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 224°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 2.16 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.35 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.25 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 3.94 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 6.82 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 7.20 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.57 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3'), 7.94 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.36 Hz, NH), 8.17 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.65 Hz, Pyrrol-H5'), 10.24 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 36.34 (CH<sub>3</sub>), 36.88 (CH<sub>2</sub>), 37.78 (CH<sub>3</sub>), 45.51 (2 CH<sub>3</sub>), 58.58 (CH<sub>2</sub>), 104.24 (CH), 107.7 (CH), 107.85 (CH), 118.28 (CH), 121.65 (C<sub>q</sub>), 123.48 (C<sub>q</sub>), 126.59 (C<sub>q</sub>), 134.09 (C<sub>q</sub>), 157.15 (C=O), 161.34 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 362.2 (100)

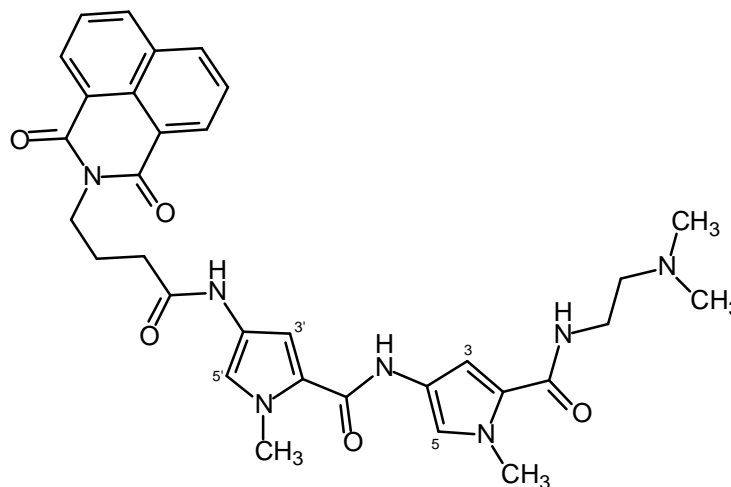
Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

M<sub>r</sub>: 362.39

IR (cm<sup>-1</sup>): 3395 (w), 3312 (w), 3126 (w), 2778 (w), 1619 (m), 1530 (s), 1486 (m), 1378 (m), 1299 (s), 1248 (m), 1188 (w), 1083 (w), 941 (w), 850 (w), 811 (m), 770 (w), 754 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 53.03 H 6.12 N 23.19  
Gef.: C 52.95 H 6.05 N 23.17

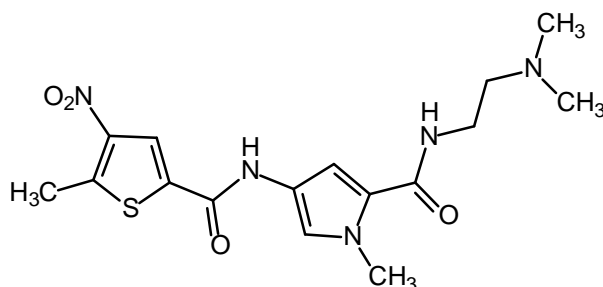
**10.3.34 N-[5-({[2-(Dimethylamino)ethyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d,e]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-1H-2-pyrrolcarboxamid<sup>[152]</sup> (110)**





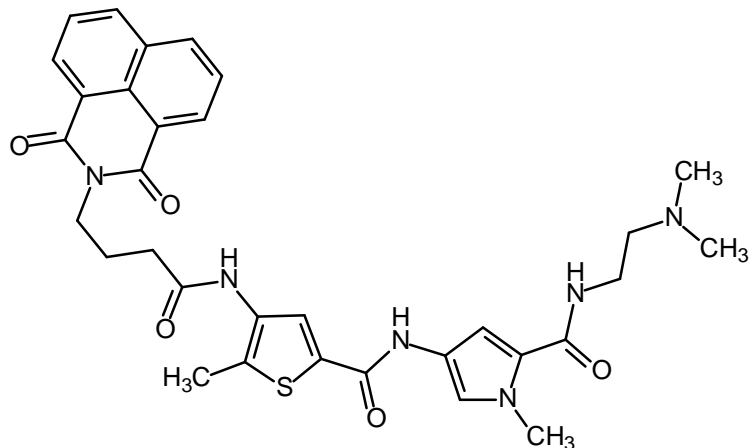
Vorschrift:	analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)	
Einwaage:	453 mg (1.25 mmol) <i>N</i> -[5-({[2-Dimethylamino]ethyl]amino)-carbonyl]-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-pyrrolcarboxamid <b>108</b> , 296 mg (1.05 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)buttersäure <b>78</b>	
Ausbeute:	320 mg (0.54 mmol) (51.4 % d. Th.), gelber Feststoff	
Schmelzpunkt:	130°C (MeOH)	
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	1.96 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.22 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.32 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.42 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.25 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.3 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.75 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 4.11 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.8 Hz, CH <sub>2</sub> ), 6.78 (s, 1H, Pyrrol-H3), 6.82 (s, 1H, Pyrrol-H5), 6.99 (s, 1H, Pyrrol-H3'), 7.16 (s, 1H, Pyrrol-H5'), 7.88 (m, 3H, Naphthalimid-H5+8 und NH), 8.46 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.79 (s, 1H, NH), 9.82 (s, 1H, NH)	
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	24.17 (CH <sub>2</sub> ), 33.68 (CH <sub>2</sub> ), 36.25 (CH <sub>3</sub> ), 36.33 (CH <sub>3</sub> ), 36.58 (CH <sub>2</sub> ), ein Signal von DMSO überlagert, 45.24 (2 CH <sub>3</sub> ), 58.41 (CH <sub>2</sub> ), 104.13 (CH), 104.49 (CH), 118.18 (CH), 118.31 (CH), 122.28 (C <sub>q</sub> ), 122.40 (C <sub>q</sub> ), 122.46 (2 C <sub>q</sub> ), 122.89 (C <sub>q</sub> ), 123.09 (C <sub>q</sub> ), 127.48 (2 CH), 127.76 (C <sub>q</sub> ), 131.03 (2 CH), 131.61 (C <sub>q</sub> ), 134.55 (2 CH), 158.64 (C=O), 161.52 (C=O), 163.85 (2 C=O), 169.10 (C=O)	
FD-MS: m/z (%):	598.3 (100)	
Summenformel:	C <sub>32</sub> H <sub>35</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub>	
M <sub>r</sub> :	597.67	
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3293 (w), 2936 (w), 1691 (w), 1650 (s), 1587 (m), 1546 (m), 1460 (w), 1435 (m), 1400 (w), 1384 (w), 1337 (m), 1251 (w), 1232 (w), 1204 (w), 1137 (w), 1045 (w), 776 (w)	
Elementaranalyse:	C <sub>32</sub> H <sub>35</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	
	Ber.:	C 58.98      H 6.34      N 15.04
	Gef.:	C 59.20      H 6.22      N 15.33

**10.3.35** ***N*-[5-({[2-(Dimethylamino)ethyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid <sup>[152]</sup> (109)**



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)
- Einwaage: 300 mg (1.25 mmol) *N*-[2-(Dimethylamino)ethyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **106**, 196 mg (1.05 mmol) 5-Methyl-4-nitrothiophen-2-carbonsäure **68**
- Ausbeute: 240 mg (0.63 mmol) (60 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 189°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 2.16 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.35 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.78 (s, 3H, Thiophen-CH<sub>3</sub>), 3.25 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.80 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 6.81 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 7.21 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, Pyrrol-H5), 7.96 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 8.47 (s, 1H, Thiophen-H3), 10.62 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 15.99 (CH<sub>3</sub>), 36.40 (CH<sub>3</sub>), 36.90 (CH<sub>2</sub>), 45.51 (2 CH<sub>3</sub>), 58.58 (CH<sub>2</sub>), 104.18 (CH), 118.43 (CH), 121.27 (C<sub>q</sub>), 123.72 (C<sub>q</sub>), 123.88 (CH), 135.28 (C<sub>q</sub>), 143.62 (C<sub>q</sub>), 148.85 (C<sub>q</sub>), 156.93 (C=O), 161.28 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 379.2 (100)
- Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S
- M<sub>r</sub>: 379.43
- IR (cm<sup>-1</sup>): 3382 (s), 3300 (s), 3110 (w), 2936 (w), 2815 (w), 2768 (w), 1647 (m), 1622 (s), 1571 (s), 1546 (m), 1508 (s), 1454 (m), 1432(m), 1368 (s), 1315 (m), 1286 (s), 1204 (w), 1185 (w), 1159 (w), 1134 (w), 1083 (w), 1055 (w), 1036 (w), 852 (w), 814 (w), 776 (m), 729 (w)
- Elementaranalyse: Ber.: C 50.65    H 5.58    N 18.46    S 8.45  
 Gef.: C 50.21    H 5.63    N 18.00    S 8.29

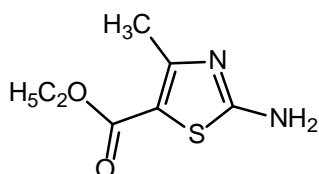
**10.3.36** *N*-[5-({[2-(Dimethylamino)ethyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-2-thiophencarboxamid <sup>[152]</sup> (111)



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)
- Einwaage: 474.3 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[2-(Dimethylamino)ethyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-5-methyl-4-nitro-2-thiophencarboxamid **109**, 296 mg (1.05 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäure **78**
- Ausbeute: 540 mg (0.88 mmol) (83.8 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 211°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.99 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.16 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.28 (s, 3H, Thiophen-CH<sub>3</sub>), 2.38 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 3.24 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.14 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.80 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.16 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.86 (m, 3H, Naphthalimid-H5+8 und NH), 7.99 (s, 1H, Thiophen-H3), 8.48 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.51 (s, 1H, NH), 10.27 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 12.81 (CH<sub>3</sub>), 24.09 (CH<sub>2</sub>), 33.39 (CH<sub>2</sub>), 36.30 (CH<sub>3</sub>), 36.82 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 45.46 (2 CH<sub>3</sub>), 58.54 (CH<sub>2</sub>), 104.35 (CH), 118.31 (CH), 121.97 (C<sub>q</sub>), 122.44 (2 C<sub>q</sub>), 123.42 (C<sub>q</sub>), 126.01 (CH), 127.53 (2 CH), 127.76 (C<sub>q</sub>), 131.07 (2 CH), 131.19 (C<sub>q</sub>), 131.63 (C<sub>q</sub>), 133.36 (C<sub>q</sub>), 133.99 (C<sub>q</sub>), 134.62 (2 CH), 158.39 (C=O), 161.40 (C=O), 163.87 (2 C=O), 170.58 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)

FD-MS: m/z (%):	615.3 (100)			
Summenformel:	C <sub>32</sub> H <sub>34</sub> N <sub>6</sub> O <sub>5</sub> S			
M <sub>r</sub> :	614.72			
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3278 (w), 1698 (w), 1650 (s), 1587 (m), 1508 (m), 1432(m), 1384 (w), 1340 (m), 1251 (w), 1232 (w), 1197 (w), 1159 (w), 1150 (w), 1045 (m), 843 (w), 776 (s)			
Elementaranalyse: Ber.:	C 62.52	H 5.57	N 13.67	S 5.22
Gef.:	C 62.42	H 5.62	N 13.65	S 5.12

### 10.3.37 2-Amino-4-methylthiazol-5-carbonsäureethylester <sup>[154]</sup> (114)

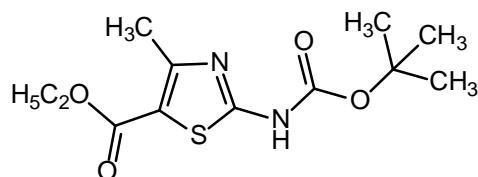


Zu einer Suspension aus 1.3 g (10 mmol) Acetessigsäureethylester **112** und 0.6 g (10 mmol) Harnstoff in 4 ml wasserfreiem DMF tropft man 1.6 g (10 mmol) Brom unter Eiskühlung hinzu. Nachdem eine vollständige Entfärbung des Broms eingetreten ist (nach ca. 10 min.) werden 0.76 g (10 mmol) Thioharnstoff zugefügt. Die Mischung wird 24 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: Kieselgel MeOH-NH<sub>3</sub> (25 % 97:3) und anschließend mit gesättigter K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert. Der dabei ausgefallene Niederschlag der freien Base wird abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O gewaschen.

Ausbeute:	1.64 g (8.8 mmol) (88 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	175°C (EtOH) (Literatur: 174-176°C) <sup>[154]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.21 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>3</sub> ), 2.35 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.12 (q, 2H, (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.71 (s, 2H, NH <sub>2</sub> )
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	14.64 (CH <sub>3</sub> ), 17.41 (CH <sub>3</sub> ), 60.07 (CH <sub>2</sub> ), 107.66 (C <sub>q</sub> ), 159.54 (C <sub>q</sub> ), (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) 162.25 (C <sub>q</sub> ), 170.52 (C=O)
EI-MS: m/z (%):	186.7 (100)
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S
M <sub>r</sub> :	186.23

IR (cm<sup>-1</sup>): 3360 (s), 2974 (m), 1666 (s), 1644(s), 1510 (s), 1467 (m), 1365 (m), 1270 (s), 1115 (m), 1090 (s), 1014 (w), 979 (w), 754 (m)

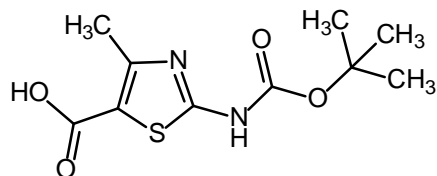
**10.3.38 2-(*tert.*-Butyloxycarbonylamino)-4-methylthiazol-5-carbonsäure-ethylester** <sup>[157]</sup> (**115**)



5.7 g (30 mmol) 2-Amino-4-methylthiazol-5-carbonsäureethylester **114** werden in 45 ml absolutem DMF gelöst und mit 10 g (46 mmol) Di-*tert.*-Butyldicarbonat versetzt. Die Lösung wird 2 h bei einer Temperatur von 150°C gerührt, anschließend erfolgt DC-Kontrolle (Kieselgel PE/EE 3:1). Man kühlt das Gemisch auf RT ab, verdünnt mit 50 ml H<sub>2</sub>O und extrahiert dreimal mit Ethylacetat. Die organischen Phasen werden vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und unter Vakuum eingengt. Das Produkt wird säulenchromatographisch isoliert (Kieselgel PE/EE 3:1).

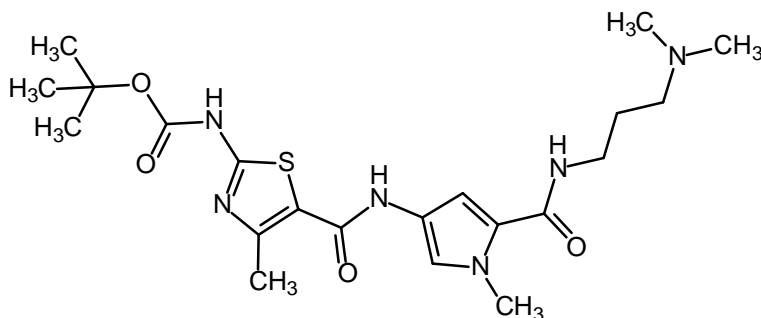
Ausbeute: 3.5 g (12.2 mmol) (40.7 % d. Th.), farbloser Feststoff  
 Schmelzpunkt: 135°C  
<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.25 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.47 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 2.48 (s, 3H, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) CH<sub>3</sub>), 4.20 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 11.86 (s, 1H, NH)  
<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 14.47 (CH<sub>3</sub>), 17.26 (CH<sub>3</sub>), 28.09 (3 CH<sub>3</sub>), 60.69 (CH<sub>2</sub>), 82.30 (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) (C<sub>q</sub>), 113.94 (C<sub>q</sub>), 153.07 (C<sub>q</sub>), 156.95 (C<sub>q</sub>), 161.94 (C=O), 162.35 (C=O)  
 FD-MS: m/z (%): 286.5 (100)  
 Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S  
 Mr: 286.35  
 IR (cm<sup>-1</sup>): 3164 (w), 2983 (w), 1712 (s), 1517 (m), 1368 (m), 1311 (w), 1235 (s), 1144 (s), 1090 (s), 1058 (m), 855 (w), 783 (w), 741 (w)  
 Elementaranalyse: Ber.: C 50.33 H 6.34 N 9.78 S 11.20  
 Gef.: C 50.43 H 6.37 N 9.64 S 11.28

**10.3.39 2-(*tert.*-Butyloxycarbonylamino)-4-methylthiazol-5-carbonsäure** <sup>[125]</sup>  
**(116)**



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.24 (S. 341)  
 DC-Kontrolle: Kieselgel PE/EE 3:1
- Einwaage: 1 g (3.49 mmol) 2-(*tert.*-Butyloxycarbonylamino)-4-methylthiazol-5-carbonsäureethylester **115**
- Ausbeute: 900 mg (3.48 mmol) (99.7 % d. Th.), farbloser Feststoff
- Schmelzpunkt: > 260°C Zersetzung
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.46 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 2.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 11.68 (s, 1H, NH)  
 (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 17.14 (CH<sub>3</sub>), 28.12 (3 CH<sub>3</sub>), 82.13 (C<sub>q</sub>), 115.49 (C<sub>q</sub>), 153.01 (C<sub>q</sub>),  
 (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 155.99 (C<sub>q</sub>), 161.45 (C=O), 163.90 (C=O)
- FD-MS: m/z (%): 258.5 (100)
- Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S
- M<sub>r</sub>: 258.29
- IR (cm<sup>-1</sup>): 3167 (w), 2980 (w), 1720 (s), 1675 (w), 1533 (s), 1365 (w), 1283 (s), 1235 (s), 1150 (s), 1121 (m), 865 (w), 792 (w), 760 (m)
- Elementaranalyse: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S · HCl
- |       |         |        |        |         |
|-------|---------|--------|--------|---------|
| Ber.: | C 40.75 | H 5.13 | N 9.50 | S 10.88 |
| Gef.: | C 40.96 | H 4.95 | N 9.47 | S 11.07 |

**10.3.40** *tert.*-Butyl (5-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-4-methyl-2-thiazolyl)-carbamate <sup>[152]</sup> (**117**)



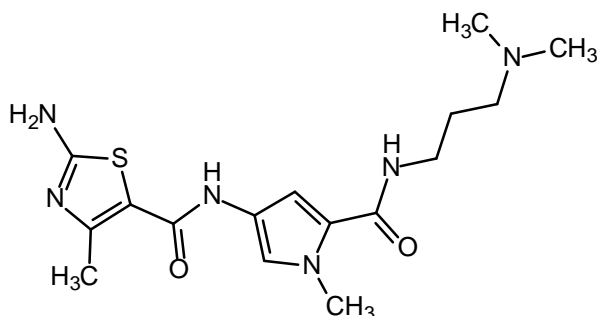
- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)
- Einwaage: 318 mg (1.25 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **58**, 269.6 mg (1.05 mmol) 2-(*tert.*-Butyloxycarbonylamino)-4-methylthiazol-5-carbonsäure **116**
- Ausbeute: 430 mg (0.93 mmol) (88.6 % d. Th.), farbloser Feststoff
- Schmelzpunkt: 143°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.48 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.45 (s, 3H, Thiazol-CH<sub>3</sub>), 3.16 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 6.80 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.17 (s, 1H, Pyrrol-H5), 8.08 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, NH), 9.86 (s, 1H, NH), 11.38 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 17.23 (CH<sub>3</sub>), 27.43 (CH<sub>2</sub>), 28.15 (3 CH<sub>3</sub>), 36.25 (CH<sub>3</sub>), 37.37 (CH<sub>2</sub>), 45.48 (2 CH<sub>3</sub>), 57.37 (CH<sub>2</sub>), 81.95 (C<sub>q</sub>), 104.49 (CH), 118.39 (C<sub>q</sub>), 118.28 (CH), 122.12 (C<sub>q</sub>), 123.46 (C<sub>q</sub>), 151.67 (C<sub>q</sub>), 153.17 (C<sub>q</sub>), 159.12 (C=O), 159.17 (C=O), 161.41 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 464.2 (100)
- Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S
- M<sub>r</sub>: 464.58
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2939 (w), 1717 (m), 1660 (m), 1536 (s), 1454 (m), 1387 (w), 1365 (w), 1299 (w), 1235 (m), 1156 (s), 1096 (m), 1071 (w), 982 (w), 871 (w), 770 (w)

Elementaranalyse:  $C_{21}H_{32}N_6O_4S \cdot H_2O$

Ber.: C 52.27 H 7.10 N 17.41 S 6.64

Gef.: C 52.14 H 6.74 N 17.57 S 6.79

**10.3.41 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid<sup>[153]</sup> (118)**



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.28 (S. 357)

Einwaage: 464.6 mg (1 mmol) *tert.*-Butyl (5-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]-amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-4-methyl-2-thiazolyl)carbammat **117**

Ausbeute: 350 mg (0.96 mmol) (96 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 145°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.74 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.1 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.34 (s, 3H, Thiazol-CH<sub>3</sub>),  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 2.62 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.71 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.19 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.77 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 6.81 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 7.12 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.40 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.11 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, NH), 9.41 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 17.52 (CH<sub>3</sub>), 25.80 (CH<sub>2</sub>), 36.30 (CH<sub>3</sub>), 36.36 (CH<sub>2</sub>), 43.50 (2  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) CH<sub>3</sub>), 55.81 (CH<sub>2</sub>), 104.94 (CH), 112.18 (C<sub>q</sub>), 118.60 (CH), 122.38 (C<sub>q</sub>), 122.99 (C<sub>q</sub>), 154.07 (C<sub>q</sub>), 159.57 (C<sub>q</sub>), 161.70 (C=O), 168.05 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 365.2 (100)

Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S

M<sub>r</sub>: 364.47



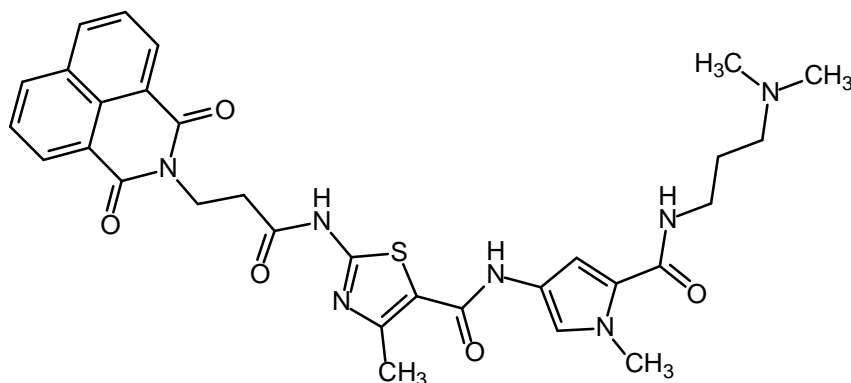
IR (cm<sup>-1</sup>): 3360 (w), 3287 (w), 3189 (w), 1631 (m), 1498 (s), 1463 (m), 1438 (m), 1403 (w), 1391 (w), 1308 (w), 1264 (m), 1201 (w), 1147 (w), 1096 (w), 1026 (w), 1001 (w), 783 (w)

### 10.3.42 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und Naphthalimid-gekoppelten Methylthiazolpyrrolcarboxamide<sup>[152]</sup>

Durchführung analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355).

Die Reduktion mit Pd/C entfällt. Das Amin **118** wird in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und zur Carbonsäurelösung gegeben.

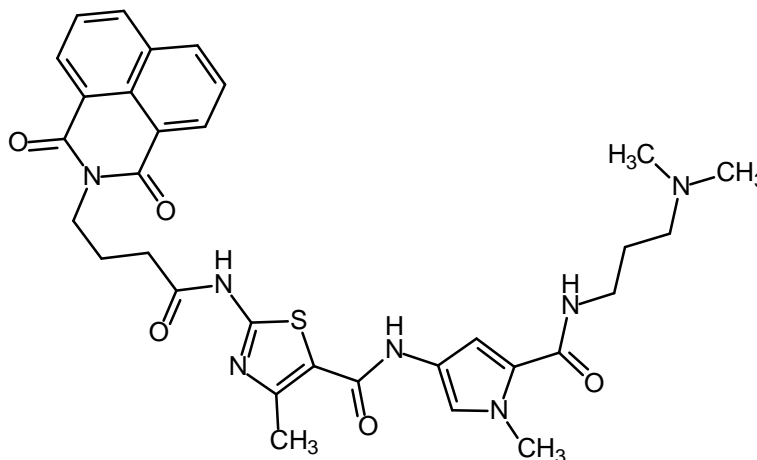
#### 10.3.42.1 *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[3-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)propanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid<sup>[152]</sup> (**119**)



Einwaage: 455.6 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid **118**, 281.4 mg (1.05 mmol) 3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)propionsäure **76**

Ausbeute:	220 mg (0.36 mmol) (34.4 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	195°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.12 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.23 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.7 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.47 (s, 3H, Thiazol-CH <sub>3</sub> ), 2.82 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.16 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 4.38 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 6.80 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.18 (s, 1H, Pyrrol-H5), 7.87 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.9 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.08 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.7 Hz, NH), 8.48 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.94 (s, 1H, NH), 12.20 (s, 1H NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	17.25 (CH <sub>3</sub> ), 27.40 (CH <sub>2</sub> ), 34.11 (CH <sub>2</sub> ), 36.27 (CH <sub>3</sub> ), 36.38 (CH <sub>2</sub> ), 37.33 (CH <sub>2</sub> ), 45.42 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.31 (CH <sub>2</sub> ), 104.52 (CH), 118.40 (CH), 118.61 (C <sub>q</sub> ), 122.09 (C <sub>q</sub> ), 122.43 (2 C <sub>q</sub> ), 123.46 (C <sub>q</sub> ), 127.58 (2 CH), 127.75 (C <sub>q</sub> ), 131.07 (2 CH), 131.64 (C <sub>q</sub> ), 134.71 (2 CH), 151.20 (C <sub>q</sub> ), 156.99 (C <sub>q</sub> ), 159.21 (C=O), 161.43 (C=O), 163.71 (2 C=O), 170.12 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	616.2 (100)
Summenformel:	C <sub>31</sub> H <sub>33</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub> S
Mr:	615.71
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3278 (m), 2945 (w), 1698 (w), 1644 (s), 1622 (s), 1587 (m), 1517 (s), 1432 (m), 1381 (m), 1346 (m), 1308 (m), 1261 (m), 1239 (m), 1185 (m), 1137 (w), 1093 (w), 1026 (w), 1014 (w), 960 (w), 874 (w), 849 (w), 779 (s)
Elementaranalyse:	C <sub>31</sub> H <sub>33</sub> N <sub>7</sub> O <sub>5</sub> S · H <sub>2</sub> O
Ber.:	C 58.75      H 5.57      N 15.47      S 5.06
Gef.:	C 58.46      H 5.72      N 15.63      S 4.90

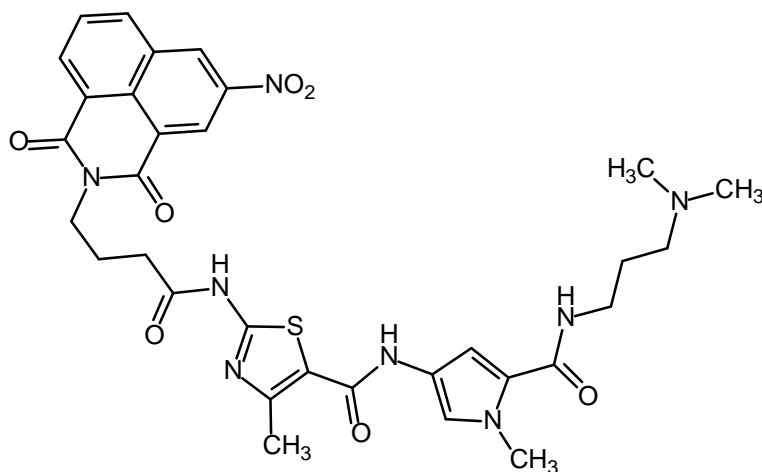
**10.3.42.2** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (**120**)



- Einwaage: 455.6 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid **118**, 296 mg (1.05 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäure **78**
- Ausbeute: 260 mg (0.41 mmol) (39.23 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 222°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.01 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.47 (s, 3H, Thiazol-CH<sub>3</sub>), 2.53 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.16 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.12 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.80 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 7.18 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.85 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.08 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 8.45 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.87 (s, 1H, NH), 12.20 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO *d*<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 17.25 (CH<sub>3</sub>), 23.42 (CH<sub>2</sub>), 27.47 (CH<sub>2</sub>), 32.94 (CH<sub>2</sub>), 36.25 (CH<sub>3</sub>), 37.39 (CH<sub>2</sub>), ein Signal von DMSO überlagert, 45.50 (2 CH<sub>3</sub>), 57.40 (CH<sub>2</sub>), 104.52 (CH), 118.21 (CH), 118.43 (C<sub>q</sub>), 122.10 (C<sub>q</sub>), 122.44 (2 C<sub>q</sub>), 123.46 (C<sub>q</sub>), 127.48 (2 CH), 127.78 (C<sub>q</sub>), 131.04 (2 CH), 131.63 (C<sub>q</sub>), 134.58 (2 CH), 151.19 (C<sub>q</sub>), 156.99 (C<sub>q</sub>), 159.21 (C=O), 161.42 (C=O), 163.90 (2 C=O), 171.51 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO *d*<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 629.1 (100)

Summenformel:  $C_{32}H_{35}N_7O_5S$   
 Mr: 629.74  
 IR ( $cm^{-1}$ ): 3208 (w), 2945 (w), 1691 (w), 1653 (s), 1590 (m), 1517 (s), 1438 (m), 1362 (m), 1305 (w), 1261 (m), 1232 (m), 1178 (m), 1144 (w), 1090 (w), 1026 (w), 843 (w), 779 (m)  
 Elementaranalyse:  $C_{32}H_{35}N_7O_5S \cdot H_2O$   
 Ber.: C 59.34    H 5.76    N 15.14    S 4.95  
 Gef.: C 59.54    H 5.67    N 15.13    S 5.12

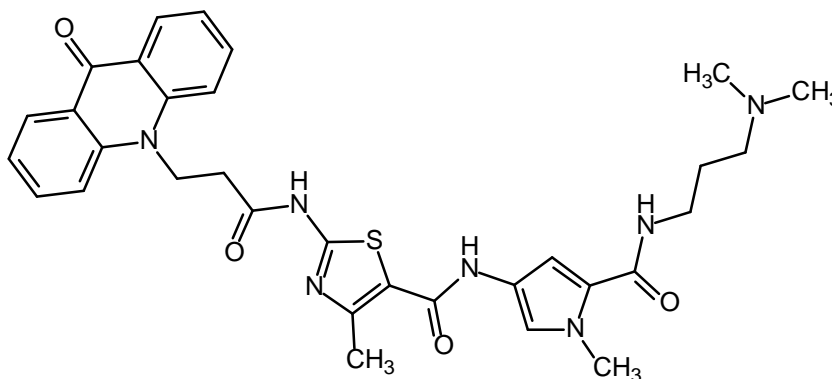
**10.3.42.3** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[4-(5-nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-5-thiazolcarboxamid <sup>[152]</sup>  
**(121)**



Einwaage: 455.6 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid **118**, 343.1 mg (1.05 mmol) 4-(5-Nitro-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)buttersäure **84**  
 Ausbeute: 200 mg (0.3 mmol) (28.3 % d. Th.), rosafarbener Feststoff  
 Schmelzpunkt: > 225°C Zersetzung

$^1\text{H-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (300 MHz) (DMSO $d^6$ )	1.59 (quint, 2H, $^3J = 6.8$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 2.05 (quint, 2H, $^3J = 6.7$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 2.12 (s, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 2.22 (t, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 2.42 (s, 3H, Thiazol- $\text{CH}_3$ ), 2.53 (t, 2H, $^3J = 6.8$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 3.17 (q, 2H, $^3J = 6.3$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 4.14 (t, 2H, $^3J = 6.1$ Hz, $\text{CH}_2$ ), 6.79 (s, 1H, Pyrrol-H3), 7.16 (s, 1H, Pyrrol-H5), 8.01 (pt, 1H, Naphthalimid-H8), 8.07 (t, 1H, $^3J = 5.5$ Hz, NH), 8.63 (pd, 1H, Naphthalimid-H9), 8.69 (pd, 1H, Naphthalimid-H7), 8.90 (pd, 1H, Naphthalimid-H4), 9.40 (ps, 1H, Naphthalimid-H6), 9.77 (s, 1H, NH), 12.21 (s, 1H, NH)
$^{13}\text{C-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (75 MHz) (DMSO $d^6$ )	17.18 ( $\text{CH}_3$ ), 23.05 ( $\text{CH}_2$ ), 27.46 ( $\text{CH}_2$ ), 32.90 ( $\text{CH}_2$ ), 36.27 ( $\text{CH}_3$ ), 37.36 ( $\text{CH}_2$ ), ein Signal von DMSO überlagert, 45.48 (2 $\text{CH}_3$ ), 57.37 ( $\text{CH}_2$ ), 104.53 (CH), 118.36 ( $\text{C}_q$ ), 118.45 (CH), 122.09 ( $\text{C}_q$ ), 122.95 ( $\text{C}_q$ ), 123.12 (CH), 123.45 ( $\text{C}_q$ ), 124.36 ( $\text{C}_q$ ), 129.44 (CH), 129.87 (CH), 129.94 ( $\text{C}_q$ ), 131.13 ( $\text{C}_q$ ), 134.21 (CH), 136.49 (CH), 146.01 ( $\text{C}_q$ ), 151.14 ( $\text{C}_q$ ), 156.89 ( $\text{C}_q$ ), 159.09 (C=O), 161.43 (C=O), 162.79 (C=O), 163.24 (C=O), 171.52 (C=O)
FD-MS: m/z (%)	675.3 (100)
Summenformel:	$\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_7\text{S}$
$M_r$ :	674.74
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):	3281 (m), 2936 (w), 1710 (w), 1685 (w), 1660 (s), 1634 (s), 1596 (w), 1536 (s), 1441 (w), 1346 (m), 1318 (w), 1242 (w), 1150 (w), 1061 (w), 925 (w), 798 (m), 707 (w)
Elementaranalyse:	$\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_7\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$
Ber.:	C 55.48      H 5.24      N 16.18      S 4.63
Gef.:	C 55.22      H 5.13      N 16.20      S 4.85

**10.3.42.4 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[3-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propa-  
noyl]amino}-5-thiazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (122)**



Einwaage: 455.6 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid **118**, 279.3 mg (1.05 mmol) 3-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)propionsäure **87**

Ausbeute: 130 mg (0.21 mmol) (20.1 % d. Th.), gelber Feststoff

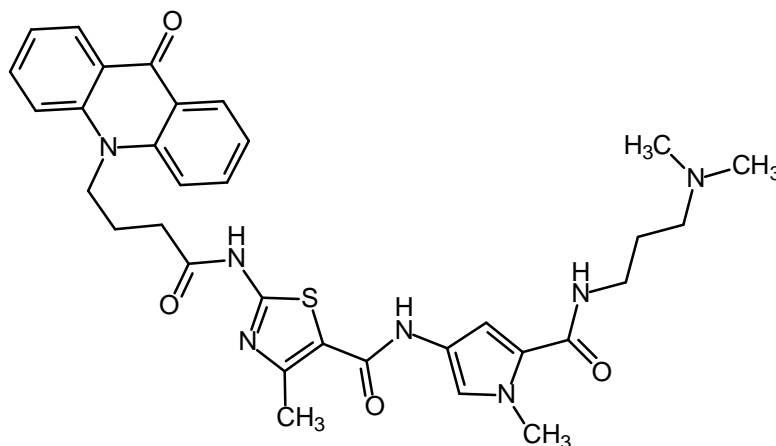
Schmelzpunkt: 221°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.61 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (s, 3H, Thiazol-CH<sub>3</sub>),  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 2.15 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.27 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.05 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.18 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.80 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.84 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.83 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 7.20 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, Pyrrol-H5), 7.35 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, Acridon-H), 7.87 (m, 4H, Acridon-H), 8.10 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 8.35 (pd, 2H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, Acridon-H1+8), 9.98 (s, 1H, NH), 12.38 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 17.31 (CH<sub>3</sub>), 27.37 (CH<sub>2</sub>), 33.36 (CH<sub>2</sub>), 36.30 (CH<sub>3</sub>), 37.32 (CH<sub>2</sub>),  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 41.77 (CH<sub>2</sub>), 45.38 (2 CH<sub>3</sub>), 57.28 (CH<sub>2</sub>), 104.53 (CH), 116.00 (2 CH), 118.83 (CH), 118.96 (C<sub>q</sub>), 121.82 (2 CH), 121.99 (2 C<sub>q</sub>), 122.12 (C<sub>q</sub>), 123.49 (C<sub>q</sub>), 127.15 (2 CH), 134.65 (2 CH), 141.67 (2 C<sub>q</sub>), 151.13 (C<sub>q</sub>), 156.92 (C<sub>q</sub>), 159.18 (C=O), 161.43 (C=O), 169.63 (C=O), 176.84 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 613.9 (100)  
 Summenformel: C<sub>32</sub>H<sub>35</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S  
 M<sub>r</sub>: 613.73  
 IR (cm<sup>-1</sup>): 1631 (m), 1596 (s), 1533 (s), 1498 (m), 1457 (m), 1435 (w), 1264 (s), 1182 (m), 1099 (w), 1030 (w), 935 (w), 757 (s), 675 (m)  
 Elementaranalyse: C<sub>32</sub>H<sub>35</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>S · H<sub>2</sub>O  
 Ber.: C 60.84 H 5.90 N 15.52 S 5.07  
 Gef.: C 60.61 H 5.94 N 15.76 S 4.86

**10.3.42.5 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-4-methyl-2-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]-amino}-5-thiazolcarboxamid<sup>[152]</sup> (123)**



Einwaage: 455.6 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-2-amino-4-methyl-5-thiazolcarboxamid **118**, 294 mg (1.05 mmol) 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäure **89**  
 Ausbeute: 220 mg (0.35 mmol) (33.5 % d. Th.), gelber Feststoff  
 Schmelzpunkt: > 240°C Zersetzung (MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta[\text{ppm}]$ : 1.59 (quint, 2H,  $^3\text{J} = 7.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.12 (s, 8H, 2  $\text{CH}_3$  und  $\text{CH}_2$ ),  
 (300 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ) 2.22 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.51 (s, 3H, Thiazol- $\text{CH}_3$ ), 2.81 (t, 2H,  $^3\text{J} = 6.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.17 (q, 2H,  $^3\text{J} = 6.7$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.79 (s, 3H, Pyrrol- $\text{CH}_3$ ), 4.53 (t, 2H,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 6.82 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1.7$  Hz, Pyrrol-H3), 7.19 (d, 1H,  $^4\text{J} = 1.7$  Hz, Pyrrol-H5), 7.35 (pt, 2H,  $^3\text{J} = 7.4$  Hz, Acridon-H), 7.85 (m, 2H, Acridon-H), 7.97 (pd, 2H,  $^3\text{J} = 8.8$  Hz, Acridon-H4+5) 8.09 (t, 1H,  $^3\text{J} = 5.5$  Hz, NH), 8.35 (m, 2H, Acridon-H1+8), 9.97 (s, 1H, NH), 12.36 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta[\text{ppm}]$ : 17.31 ( $\text{CH}_3$ ), 21.93 ( $\text{CH}_2$ ), 27.43 ( $\text{CH}_2$ ), 31.90 ( $\text{CH}_2$ ), 36.26 ( $\text{CH}_3$ ),  
 (75 MHz) ( $\text{DMSO } d^6$ ) 37.34 ( $\text{CH}_2$ ), 45.09 ( $\text{CH}_2$ ), 45.46 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.34 ( $\text{CH}_2$ ), 104.53 (CH), 116.19 (2 CH), 118.45 (CH), 118.55 ( $\text{C}_q$ ), 121.65 (2 CH), 121.92 (2  $\text{C}_q$ ), 122.10 ( $\text{C}_q$ ), 123.47 ( $\text{C}_q$ ), 127.09 (2 CH), 134.58 (2 CH), 141.82 (2  $\text{C}_q$ ), 151.43 ( $\text{C}_q$ ), 157.04 ( $\text{C}_q$ ), 159.22 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 161.43 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 171.74 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 176.81 ( $\text{C}=\text{O}$ )

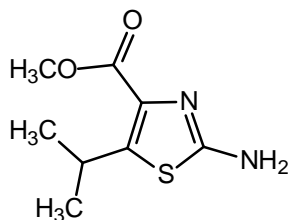
FD-MS: m/z (%): 627.6 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{N}_7\text{O}_4\text{S}$

$M_r$ : 627.76

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3404 (m), 1634 (s), 1593 (s), 1571 (s), 1549 (s), 1501 (s), 1460 (s), 1381 (m), 1289 (m), 1267 (m), 1207 (m), 1178 (m), 1102 (w), 1036 (m), 935 (m), 770 (m), 748 (s), 675 (m)

### 10.3.43 2-Amino-5-isopropylthiazol-4-carbonsäuremethylester <sup>[158]</sup> (130)

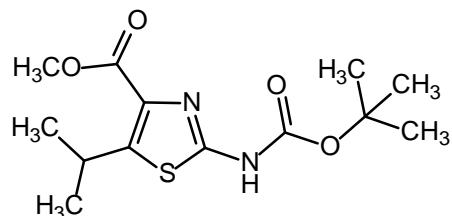




Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung aus 20 g (0.14 mol) Dichloressigsäuremethylester **124** und 11 g (0.15 mol) Isobutyraldehyd **125** in 50 ml wasserfreiem Diethylether tropft man innerhalb von 45 min. eine frisch hergestellte Lösung aus 3 g Natrium und 50 ml wasserfreiem Methanol. Nach erfolgter Zugabe wird 1 h bei 0°C gerührt, wobei eine milchige Suspension entsteht. Anschließend wird die Suspension mit 50 ml Diethylether und 50 ml gesättigter Kochsalz-Lösung versetzt. Man trennt die organische Phase ab, trocknet über MgSO<sub>4</sub> und dampft das LM ab. Der Rückstand wird in 60 ml Methanol aufgenommen und nach Hinzufügen von 8.5 g (0.11 mol) Thioharnstoff **129** 4 h unter Rückfluss erhitzt (DC-Kontrolle: Aluminiumoxid MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3). Man lässt die erhaltene gelbe Lösung auf RT abkühlen und engt am Vakuum ein. Der Rückstand wird mit NH<sub>3</sub> (25 %) neutralisiert und anschließend aus einem Ethanol/H<sub>2</sub>O-Gemisch (1:1) umkristallisiert. Das gewünschte Produkt fällt in Form farbloser Kristalle aus.

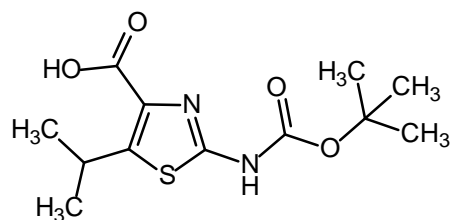
Ausbeute:	19.5 g (97.4 mmol) (88.5 % d. Th.), farblose Kristalle				
Schmelzpunkt:	150°C (EtOH/H <sub>2</sub> O) (Literatur: 150-151°C) <sup>[158]</sup>				
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.16 (d, 6H, <sup>3</sup> J = 6.7 Hz, 2 CH <sub>3</sub> ), 3.70 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.87 (se, 1H, (300 MHz) (DMSO d <sub>6</sub> ))				
	<sup>3</sup> J = 6.8 Hz, CH), 6.97 (s, 2H, NH <sub>2</sub> )				
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	25.05 (2 CH <sub>3</sub> ), 27.16 (CH), 51.53 (CH <sub>3</sub> ), 134.71 (C <sub>q</sub> ), 146.41 (75 MHz) (DMSO d <sub>6</sub> )				
	(C <sub>q</sub> ), 162.87(C <sub>q</sub> ), 164.06 (C=O)				
FD-MS: m/z (%):	200.2 (100)				
Summenformel:	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S				
M <sub>r</sub> :	200.26				
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3420 (s), 3119 (m), 2961 (m), 1691 (s), 1619 (s), 1546 (s), 1432 (m), 1324 (s), 1213 (s), 1099 (w), 1049 (m), 979 (w), 767 (w)				
Elementaranalyse:	Ber.:	C 47.98	H 6.04	N 13.99	S 16.01
	Gef.:	C 47.95	H 6.34	N 14.04	S 16.18

**10.3.44 2-(*tert*-Butyloxycarbonylamino)-5-isopropylthiazol-4-carbonsäuremethylester <sup>[157]</sup> (131)**



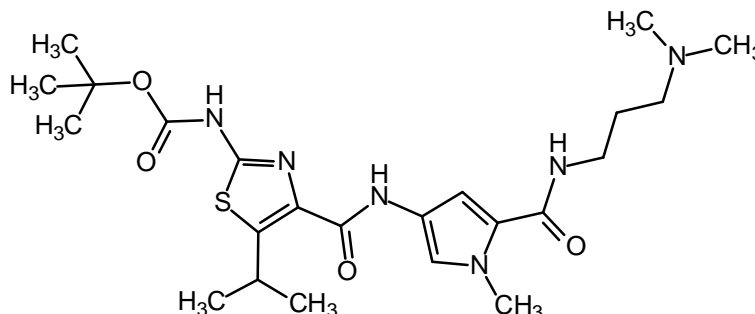
Vorschrift:	analog zu Vorschrift 10.3.38 (S. 368)				
Einwaage:	6 g (30 mmol) 2-Amino-5-isopropylthiazol-4-carbonsäuremethylester <b>130</b>				
Ausbeute:	3 g (9.99 mmol) (33.3 % d. Th.), farblose Kristalle				
Schmelzpunkt:	187°C (MeOH)				
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.24 (d, 6H, <sup>3</sup> J = 6.8 Hz, 2 CH <sub>3</sub> ), 1.45 (s, 9H, 3 CH <sub>3</sub> ), 3.75 (s, 3H, (300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) CH <sub>3</sub> ), 3.94 (se, 1H, <sup>3</sup> J = 6.6 Hz, CH), 11.60 (s, 1H, NH)				
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	24.90 (2 CH <sub>3</sub> ), 27.18 (CH), 28.14 (3 CH <sub>3</sub> ), 51.80 (CH <sub>3</sub> ), 81.71 (75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> ) (C <sub>q</sub> ), 134.11 (C <sub>q</sub> ), 150.68 (C <sub>q</sub> ), 153.41 (C <sub>q</sub> ), 155.69 (C=O), 162.70 (C=O)				
FD-MS: m/z (%):	300.3 (100)				
Summenformel:	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S				
M <sub>r</sub> :	300.37				
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3363 (m), 2967 (m), 1713 (m), 1704 (s), 1552 (s), 1454 (w), 1362 (s), 1321 (m), 1245 (m), 1204 (s), 1147 (s), 1068 (w), 1052 (m), 795 (w), 767 (w)				
Elementaranalyse:	Ber.:	C 51.98	H 6.71	N 9.33	S 10.67
	Gef.:	C 51.93	H 6.72	N 9.43	S 10.68

**10.3.45 2-(*tert*-Butyloxycarbonylamino)-5-isopropylthiazol-4-carbonsäure**  
 [125] **(132)**



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.24 (S. 341)  
 DC-Kontrolle: Kieselgel PE/EE 3:1
- Einwaage: 2 g (6.66 mmol) 2-(*tert*-Butyloxycarbonylamino)-5-isopropylthiazol-4-carbonsäuremethylester **131**
- Ausbeute: 1.8 g (6.29 mmol) (94.4 % d. Th.), farbloser Feststoff
- Schmelzpunkt: 210°C
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.23 (d, 6H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, 2 CH<sub>3</sub>), 1.45 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 3.97 (se, (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>) 1H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH), 11.52 (s, 1H, NH)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 25.02 (2 CH<sub>3</sub>), 27.15 (CH), 28.15 (3 CH<sub>3</sub>), 81.71 (C<sub>q</sub>), 135.35 (C<sub>q</sub>), 149.78 (C<sub>q</sub>), 153.37 (C<sub>q</sub>), 155.32 (C=O), 163.83 (C=O)
- FD-MS: m/z (%): 286.2 (100)
- Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S
- M<sub>r</sub>: 286.35
- IR (cm<sup>-1</sup>): 3179 (w), 2961 (m), 1713 (s), 1663 (s), 1558 (s), 1467 (w), 1457 (w), 1391 (w), 1368 (w), 1296 (s), 1239 (m), 1223 (m), 1159 (s), 1068 (m), 1023 (w), 865 (w), 798 (w), 722 (s)
- Elementaranalyse: C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S · HCl
- |       |         |        |        |         |
|-------|---------|--------|--------|---------|
| Ber.: | C 44.65 | H 5.93 | N 8.68 | S 9.93  |
| Gef.: | C 44.67 | H 5.82 | N 8.85 | S 10.12 |

**10.3.46** *tert.*-Butyl (4-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-5-isopropyl-2-thiazolyl)-carbamate <sup>[152]</sup> (**133**)



- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)
- Einwaage: 318 mg (1.25 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **58**, 298.9 mg (1.05 mmol) 2-(*tert.*-Butyloxycarbonylamino)-5-isopropylthiazol-4-carbonsäure **132**
- Ausbeute: 355 mg (0.72 mmol) (68.9 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 113°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.25 (d, 6H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, 2 CH<sub>3</sub>), 1.48 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 1.60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.15 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.26 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.14 (se, 1H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH), 6.83 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 7.23 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, Pyrrol-H5), 8.07 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 9.42 (s, 1H, NH), 11.44 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 24.99 (2 CH<sub>3</sub>), 26.64 (CH), 27.49 (CH<sub>2</sub>), 28.18 (3 CH<sub>3</sub>), 36.34 (CH<sub>3</sub>), 37.37 (CH<sub>2</sub>), 45.48 (2 CH<sub>3</sub>), 57.36 (CH<sub>2</sub>), 81.76 (C<sub>q</sub>), 104.02 (CH), 118.01 (CH), 121.35 (C<sub>q</sub>), 123.64 (C<sub>q</sub>), 136.73 (C<sub>q</sub>), 145.51 (C<sub>q</sub>), 153.34 (C<sub>q</sub>), 155.57 (C=O), 159.36 (C=O), 161.33 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 492.3 (100)
- Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S
- M<sub>r</sub>: 492.64

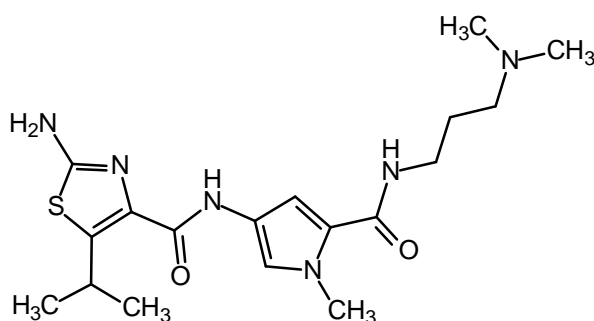
IR (cm<sup>-1</sup>): 3490 (w), 2967 (w), 1713 (w), 1628 (s), 1653 (m), 1558 (s), 1536 (s), 1460 (m), 1403 (w), 1368 (w), 1289 (s), 1251 (m), 1153 (s), 1071 (w), 1042 (w), 811 (w), 773 (m), 697 (w)

Elementaranalyse: C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S · H<sub>2</sub>O

Ber.: C 54.10 H 7.50 N 16.46 S 6.28

Gef.: C 54.22 H 7.50 N 16.39 S 6.32

**10.3.47 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-2-amino-5-isopropyl-4-thiazolcarboxamid<sup>[153]</sup> (134)**



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.28 (S. 357)

Einwaage: 492.6 mg (1 mmol) *tert.*-Butyl (4-({[5-({[3-(dimethylamino)propyl]-amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]amino}carbonyl)-5-isopropyl-2-thiazolyl)carbammat **133**

Ausbeute: 376.8 mg (0.96 mmol) (96 % d. Th.), farbloser Feststoff

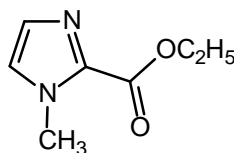
Schmelzpunkt: 90°C (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.57 (d, 6H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2 CH<sub>3</sub>), 1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.16 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.77 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.15 (se, 1H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, CH), 6.86 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 6.91 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.20 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 8.03 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 9.45 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 25.11 (2 CH<sub>3</sub>), 26.59 (CH), 27.49 (CH<sub>2</sub>), 36.28 (CH<sub>3</sub>), 37.42 (CH<sub>2</sub>), 45.52 (2 CH<sub>3</sub>), 57.43 (CH<sub>2</sub>), 104.13 (CH), 117.90 (CH), 121.71 (C<sub>q</sub>), 123.52 (C<sub>q</sub>), 137.12 (C<sub>q</sub>), 141.35 (C<sub>q</sub>), 159.50 (C<sub>q</sub>), 161.38 (C=O), 164.05 (C=O)

FD-MS: m/z (%):	392.0 (100)			
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S			
M <sub>r</sub> :	392.52			
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3312 (m), 2945 (w), 1631 (s), 1520 (s), 1460 (m), 1435 (w), 1397 (w), 1286 (w), 1213 (w), 1153 (w), 1045 (w), 773 (w)			
Elementaranalyse:	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S · H <sub>2</sub> O			
Ber.:	C 52.66	H 7.37	N 20.47	S 7.81
Gef.:	C 52.46	H 7.04	N 20.38	S 7.72

### 10.3.48 1-Methyl-1*H*-imidazol-2-carbonsäureethylester <sup>[173]</sup> (**138**)

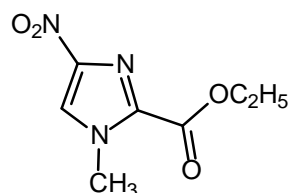


Eine Lösung aus 3.2 ml (40 mmol) 1-Methylimidazol **135** in 20 ml wasserfreiem Acetonitril und 10 ml Triethylamin wird auf -30°C gekühlt (MeOH/N<sub>2(l)</sub>). Hierzu gibt man rasch eine Mischung aus 7 ml (66 mmol) Chlorameisensäureethylester in 10 ml wasserfreiem Acetonitril, wobei die Temperatur 10°C nicht überschreiten soll. Die entstandene gelbe Suspension wird 12 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: Kieselgel EE), anschließend filtriert man den ausgefallenen Triethylamin-HCl-Niederschlag ab und engt die Lösung zur Trockene ein. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie isoliert (Kieselgel EE).

Ausbeute:	3.9 g (25.3 mmol) (63.3 % d. Th.), farblose Kristalle			
Schmelzpunkt:	44°C (EE) (Literatur: 44°C) <sup>[173]</sup>			
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.28 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>3</sub> ), 3.90 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.26 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.04 (s, 1H, Imidazol-H4), 7.44 (s, 1H, Imidazol-H5)			
(300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )				
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	14.40 (CH <sub>3</sub> ), 37.79 (CH <sub>3</sub> ), 60.83 (CH <sub>2</sub> ), 127.55 (CH), 128.89 (CH), 136.35 (C <sub>q</sub> ), 159.06 (C=O)			
(75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )				

EI-MS: m/z (%):	154.6 (100)
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
M <sub>r</sub> :	154.17
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1698 (s), 1508 (w), 1473 (m), 1416 (s), 1403 (s), 1387 (s), 1349 (s), 1283 (m), 1258 (m), 1140 (m), 1083 (w), 1045 (m), 1017 (m), 916 (w), 846 (w), 805 (m), 767 (w), 659 (m)
Elementaranalyse: Ber.:	C 54.54      H 6.54      N 18.17
Gef.:	C 54.36      H 6.50      N 17.95

### 10.3.49      1-Methyl-4-nitro-1*H*-imidazol-2-carbonsäureethylester <sup>[174]</sup> (139)

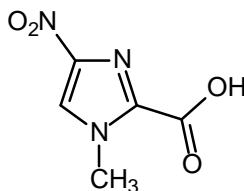


Man löst 5 g (32.4 mmol) 1-Methyl-1*H*-imidazol-2-carbonsäureethylester **138** unter Eiskühlung in 20 ml konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Vorsichtig tropft man 20 ml rauchende HNO<sub>3</sub> (100 %) hinzu und erwärmt die Lösung 1 h unter Rückfluss (DC-Kontrolle: Kieselgel MeOH/NH<sub>3</sub> (25 %) 97:3). Die noch heiße Lösung wird auf Eis gegossen; hierbei entsteht eine Blaufärbung. Nachdem das Eis vollständig geschmolzen ist, extrahiert man dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> und engt im Vakuum ein. Der erhaltene Rückstand wird mit Isopropanol zum Sieden erhitzt und heiß über Aktivkohle filtriert. Das Produkt fällt nach 15 h bei +4°C in Form farbloser Kristallnadeln aus.

Ausbeute:	2 g (10 mmol) (30.9 % d. Th.), farblose Kristallnadeln
Schmelzpunkt:	130°C (Isopropanol) (Literatur: 130-131°C) <sup>[173]</sup>
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	1.31 (t, 3H, <sup>3</sup> J = 7.0 Hz, CH <sub>3</sub> ), 3.97 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.33 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 7.0 Hz, CH <sub>2</sub> ), 8.62 (s, 1H, Imidazol-H5)
(300 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]:	14.25 (CH <sub>3</sub> ), 37.10 (CH <sub>3</sub> ), 61.36 (CH <sub>2</sub> ), 128.03 (CH), 135.55 (C <sub>q</sub> ), 145.24 (C <sub>q</sub> ), 159.05 (C=O)
(75 MHz) (DMSO d <sup>6</sup> )	
EI-MS: m/z (%):	200.1 (100)

Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>		
M <sub>r</sub> :	199.17		
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1720 (s), 1536 (s), 1495 (s), 1441 (m), 1375 (s), 1305 (s), 1254 (s), 1172 (m), 1147 (m), 1118 (s), 1007 (m), 988 (m), 855 (w), 827 (m)		
Elementaranalyse: Ber.:	C 42.21	H 4.55	N 21.10
Gef.:	C 42.19	H 4.48	N 21.21

### 10.3.50 1-Methyl-4-nitro-1*H*-imidazol-2-carbonsäure<sup>[173]</sup> (140)

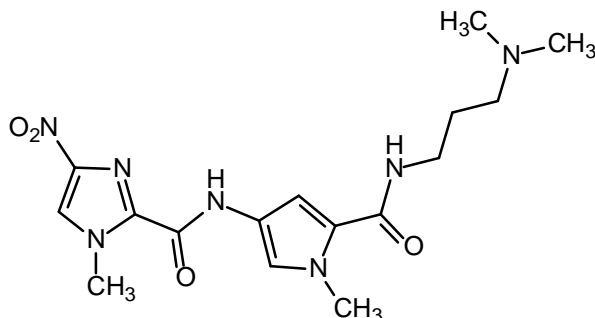


5.6 g (28 mmol) 1-Methyl-4-nitro-1*H*-imidazol-2-carbonsäureethylester **139** werden in 100 ml Isopropanol gelöst und mit der 2-fach molaren Menge an 2M wässriger NaOH versetzt. Die Lösung wird 2 h auf 200°C erhitzt. Nach erfolgter Hydrolyse (DC-Kontrolle: Kieselgel PE/EE 3:1) filtriert man den entstandenen gelben Niederschlag ab, bei dem es sich um das Natriumsalz des gewünschten Produktes handelt. Nachdem der Niederschlag in H<sub>2</sub>O gelöst wurde, säuert man mit 1M HCl an. Das Produkt fällt dabei als farbloser Feststoff aus.

Ausbeute:	4.6 g (26.9 mmol) (96.1 % d. Th.), farbloser Feststoff		
Schmelzpunkt:	135°C (Literatur: 138°C) <sup>[173]</sup>		
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]:	3.96 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 8.58 (s, 1H, Imidazol-H5)		
	(300 MHz) (DMSO d <sub>6</sub> )		
EI-MS: m/z (%):	171.4 (100)		
Summenformel:	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>		
M <sub>r</sub> :	171.11		
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1723 (s), 1546 (s), 1501 (s), 1460 (w), 1387 (s), 1299 (s), 1201 (m), 1153 (m), 1134 (m), 1071 (w), 1011 (m), 840 (m), 827 (m), 751 (m), 697 (m)		



**10.3.51** *N*-[5-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (**143**)

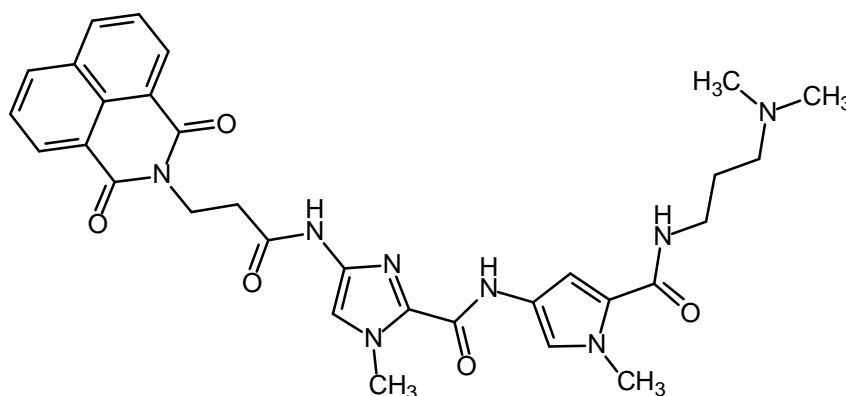


- Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)
- Einwaage: 318 mg (1.25 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-pyrrolcarboxamid **58**, 178.7 mg (1.05 mmol) 1-Methyl-4-nitro-1*H*-imidazol-2-carbonsäure **140**
- Ausbeute: 250 mg (0.66 mmol) (63.2 % d. Th.), gelber Feststoff
- Schmelzpunkt: 120°C (MeOH)
- <sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.13 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.24 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 4.03 (s, 3H, Imidazol-CH<sub>3</sub>), 6.96 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, Pyrrol-H3), 7.25 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, Pyrrol-H5), 8.15 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH), 8.60 (s, 1H, Imidazol-H5), 10.82 (s, 1H, NH)
- (300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- <sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 27.26 (CH<sub>2</sub>), 36.35 (CH<sub>3</sub>), 36.81 (CH<sub>3</sub>), 37.44 (CH<sub>2</sub>), 45.37 (2 CH<sub>3</sub>), 57.37 (CH<sub>2</sub>), 104.70 (2 CH), 118.75 (CH), 121.21 (C<sub>q</sub>), 123.73 (C<sub>q</sub>), 138.19 (C<sub>q</sub>), 144.62 (C<sub>q</sub>), 154.94 (C=O), 161.38 (C=O)
- (75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)
- FD-MS: m/z (%): 377.2 (100)
- Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>
- M<sub>r</sub>: 377.40
- IR (cm<sup>-1</sup>): 3113 (w), 1685 (w), 1641 (s), 1533 (s), 1432 (m), 1384 (m), 1305 (s), 1258 (w), 1201 (w), 1150 (w), 1115 (w), 1001 (w), 827 (m), 773 (w)
- Elementaranalyse: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O
- |       |         |        |         |
|-------|---------|--------|---------|
| Ber.: | C 48.60 | H 6.37 | N 24.80 |
| Gef.: | C 48.34 | H 6.36 | N 24.94 |

### 10.3.52 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und Naphthalimid-gekoppelten Imidazolpyrrolcarboxamide <sup>[152]</sup>

Durchführung analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)

#### 10.3.52.1 *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[3-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)propanoyl]amino}-1*H*-2-imidazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (145)



Einwaage: 471.8 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarboxamid **143**, 281.4 mg (1.05 mmol) 3-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]isochinolin-2-yl)propionsäure **76**

Ausbeute: 350 mg (0.585 mmol) (56 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 155°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.71 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 3.92 (s, 3H, Imidazol-CH<sub>3</sub>), 4.32 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.87 (s, 1H, Pyrrol-H<sub>3</sub>), 7.20 (s, 1H, Pyrrol-H<sub>5</sub>), 7.42 (s, 1H, Imidazol-H<sub>5</sub>), 7.85 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, Naphthalimid-H<sub>5+8</sub>), 8.11 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, NH), 8.45 (m, 4H, Naphthalimid-H<sub>4+6+7+9</sub>), 9.93 (s, 1H, NH), 10.38 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta[\text{ppm}]$ : 27.39 ( $\text{CH}_2$ ), 33.79 ( $\text{CH}_2$ ), 35.20 ( $\text{CH}_3$ ), 36.33 ( $\text{CH}_3$ ), 36.66 ( $\text{CH}_2$ ),  
 (75 MHz) ( $\text{DMSO } d_6$ ) 37.50 ( $\text{CH}_2$ ), 45.46 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.46 ( $\text{CH}_2$ ), 104.32 (2 CH), 118.20  
 (CH), 121.45 ( $\text{C}_q$ ), 122.37 (2  $\text{C}_q$ ), 123.63 ( $\text{C}_q$ ), 127.52 (2 CH),  
 127.68 ( $\text{C}_q$ ), 131.03 (2 CH), 131.61 ( $\text{C}_q$ ), 134.33 ( $\text{C}_q$ ), 134.64 (2  
 CH), 136.19 ( $\text{C}_q$ ), 156.02 ( $\text{C=O}$ ), 161.36 ( $\text{C=O}$ ), 163.62 (2  $\text{C=O}$ ),  
 168.27 ( $\text{C=O}$ )

FD-MS:  $m/z$  (%): 597.9 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_5$

$M_r$ : 598.66

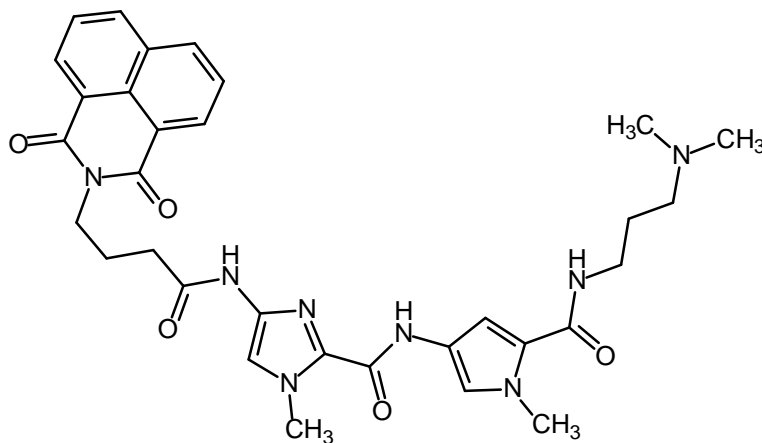
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1698 (m), 1656 (s), 1587 (m), 1536 (s), 1435 (m), 1343 (m), 1289  
 (w), 1242 (m), 1169 (w), 1140 (w), 1106 (w), 1004 (w), 874 (w),  
 843 (w), 776 (m)

Elementaranalyse:  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Ber.: C 60.38 H 5.88 N 18.17

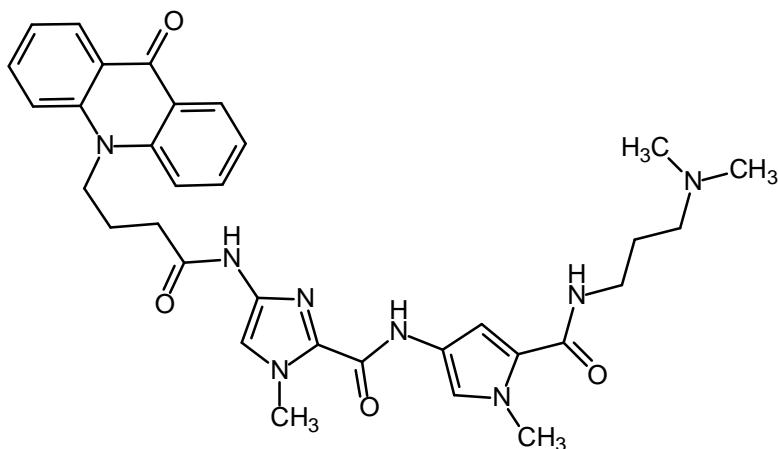
Gef.: C 60.07 H 5.85 N 17.93

**10.3.52.2 N-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1H-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d,e]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-1H-2-imidazolcarboxamid} <sup>[152]</sup>  
 (146)**



Einwaage:	471.8 mg (1.25 mmol) <i>N</i> -[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-imidazol-carboxamid <b>143</b> , 296.03 mg (1.05 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)buttersäure <b>78</b>
Ausbeute:	520 mg (0.85 mmol) (81.3 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	125°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	1.59 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> ), 1.96 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.12 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ) 2.39 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.6 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.17 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH <sub>3</sub> ), 3.86 (s, 3H, Imidazol-CH <sub>3</sub> ), 4.11 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.7 Hz, CH <sub>2</sub> ), 6.87 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.9 Hz, Pyrrol-H3), 7.20 (d, 1H, <sup>4</sup> J = 1.7 Hz, Pyrrol-H5), 7.24 (s, 1H, Imidazol-H5), 7.85 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 8.1 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.10 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 5.2 Hz, NH), 8.47 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.90 (s, 1H, NH), 10.20 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	24.12 (CH <sub>2</sub> ), 27.42 (CH <sub>2</sub> ), 33.33 (CH <sub>2</sub> ), 35.11 (CH <sub>3</sub> ), 36.33 (CH <sub>3</sub> ), 37.51 (CH <sub>2</sub> ), ein Signal von DMSO überlagert, 45.49 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.48 (CH <sub>2</sub> ), 104.32 (2 CH), 118.42 (CH), 121.46 (C <sub>q</sub> ), 122.52 (2 C <sub>q</sub> ), 123.63 (C <sub>q</sub> ), 127.48 (2 CH), 127.79 (C <sub>q</sub> ), 131.01 (2 CH), 131.61 (C <sub>q</sub> ), 134.17 (C <sub>q</sub> ), 134.50 (2 CH), 136.31 (C <sub>q</sub> ), 156.00 (C=O), 161.35 (C=O), 163.87 (2 C=O), 169.87 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	613.0 (100)
Summenformel:	C <sub>32</sub> H <sub>36</sub> N <sub>8</sub> O <sub>5</sub>
M <sub>r</sub> :	612.69
IR (cm <sup>-1</sup> ):	3439 (w), 3306 (w), 1701 (w), 1660 (s), 1628 (w), 1568 (w), 1527 (s), 1457 (w), 1435 (w), 1349 (m), 1305 (w), 1254 (m), 1232 (m), 1204 (w), 1140 (w), 1023 (w), 893 (w), 779 (s)
Elementaranalyse:	C <sub>32</sub> H <sub>36</sub> N <sub>8</sub> O <sub>5</sub> · H <sub>2</sub> O
Ber.:	C 60.94      H 6.07      N 17.77
Gef.:	C 61.09      H 5.93      N 17.72

**10.3.52.3** *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-1*H*-2-imidazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (**148**)



Einwaage: 471.8 mg (1.25 mmol) *N*-[5-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-3-pyrrolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarboxamid **143**, 293.6 mg (1.05 mmol) 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäure **89**

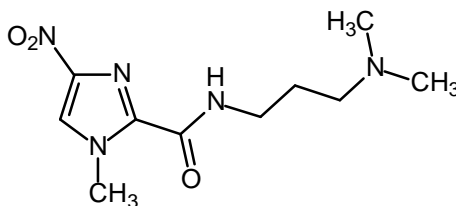
Ausbeute: 160 mg (0.26 mmol) (24.9 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 200°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.60 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (m, 8H, 2 CH<sub>3</sub> und CH<sub>2</sub>), 2.26 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.71 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.16 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 3H, Pyrrol-CH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, Imidazol-CH<sub>3</sub>), 4.52 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.00 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, Pyrrol-H3), 7.23 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.9 Hz, Pyrrol-H5), 7.33 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, Acridon-H), 7.82 (s, 1H, Imidazol-H5), 7.83 (m, 2H, Acridon-H), 7.98 (pd, 2H, <sup>3</sup>J = 9.1 Hz, Acridon-H4+5) 8.24 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, NH), 8.34 (m, 2H, Acridon-H1+8), 9.91 (s, 1H, NH), 10.45 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ , $\delta$ [ppm]: (75 MHz) (DMSO $d_6$ )	24.80 ( $\text{CH}_2$ ), 25.60 ( $\text{CH}_2$ ), 34.42 ( $\text{CH}_2$ ), 35.25 ( $\text{CH}_3$ ), 36.43 ( $\text{CH}_3$ ), 36.50 ( $\text{CH}_2$ ), 42.35 (2 $\text{CH}_3$ ), 45.36 ( $\text{CH}_2$ ), 54.87 ( $\text{CH}_2$ ), 104.79 (2 CH), 116.20 (2 CH), 118.19 (CH), 121.60 (2 CH), 121.90 (2 $\text{C}_q$ ), 123.21 ( $\text{C}_q$ ), 127.06 (2 CH), 134.32 ( $\text{C}_q$ ), 134.58 (2 CH), 136.22 ( $\text{C}_q$ ), 141.84 (2 $\text{C}_q$ ), 156.01 ( $\text{C}_q$ ), 158.69 (C=O), 161.70 (C=O), 170.13 (C=O), 176.81 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	610.0 (100)
Summenformel:	$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4$
$M_r$ :	610.72
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ):	2955 (w), 1622 (m), 1539 (s), 1489 (w), 1463 (m), 1435 (m), 1378 (w), 1289 (w), 1207 (m), 1175 (m), 1156 (w), 1039 (w), 938 (w), 754 (s), 675 (w)

**10.3.53** ***N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarbox-  
amid<sup>[152]</sup> (141)**



Vorschrift:	Durchführung analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355) Die Reduktion mit Pd/C entfällt. <i>N,N</i> -Dimethylaminopropylamin wird in 5 ml absolutem DMF gelöst und zur Carbonsäurelösung gegeben.
Einwaage:	127.7 mg (1.25 mmol) <i>N,N</i> -Dimethylaminopropylamin, 178.7 mg (1.05 mmol) 1-Methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-2-carbonsäure <b>140</b>
Ausbeute:	167 mg (0.65 mmol) (62.2 % d. Th.), farblose Kristallnadeln
Schmelzpunkt:	132°C (EE) (Literatur: 132°C) <sup>[84]</sup>

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.62 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.10 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.21 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.22 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.99 (s, 3H, Imidazol-CH<sub>3</sub>), 8.55 (s, 1H, Imidazol-H5), 8.90 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, NH)  
(300 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 27.16 (CH<sub>2</sub>), 36.73 (CH<sub>3</sub>), 37.64 (CH<sub>2</sub>), 45.47 (2 CH<sub>3</sub>), 57.19 (CH<sub>2</sub>), 126.64 (CH), 138.05 (C<sub>q</sub>), 144.57 (C<sub>q</sub>), 157.79 (C=O)  
(75 MHz) (DMSO d<sup>6</sup>)

FD-MS: m/z (%): 255.1 (100)

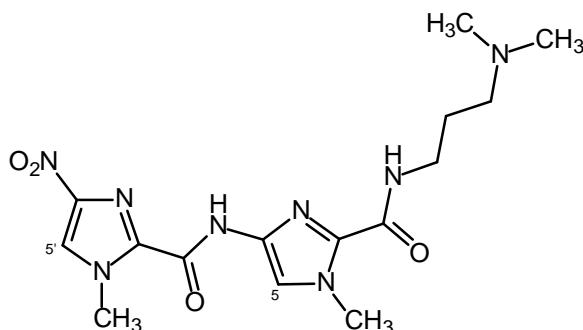
Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Mr: 255.28

IR (cm<sup>-1</sup>): 3138 (s), 2945 (w), 2863 (w), 1653 (s), 1524 (s), 1457 (m), 1381 (s), 1299 (s), 1261 (w), 1182 (w), 1156 (w), 995 (w), 843 (m), 757 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 47.05      H 6.71      N 27.43  
Gef.: C 47.01      H 6.64      N 27.36

**10.3.54**      ***N*-[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-4-imidazolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarboxamid** <sup>[152]</sup> (**144**)



Vorschrift: analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)

Einwaage: 319 mg (1.25 mmol) *N*-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarboxamid **141**, 178.7 mg (1.05 mmol) 1-Methyl-4-nitro-1*H*-imidazol-2-carbonsäure **140**

Ausbeute: 200 mg (0.53 mmol) (50.7 % d. Th.), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 168°C (MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 1.61 (quint, 2H,  $^3J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.12 (s, 6H, 2  $\text{CH}_3$ ), 2.22 (t, 2H,  $^3J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.23 (q, 2H,  $^3J = 6.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.94 (s, 3H, Imidazol- $\text{CH}_3$ ), 4.03 (s, 3H, Imidazol- $\text{CH}_3$ ), 7.52 (s, 1H, Imidazol- $\text{H}5$ ), 8.33 (t, 1H,  $^3J = 5.5$  Hz, NH), 8.63 (s, 1H, Imidazol- $\text{H}5'$ ), 10.29 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ,  $\delta$ [ppm]: 27.34 ( $\text{CH}_2$ ), 35.41 ( $\text{CH}_3$ ), 36.65 ( $\text{CH}_3$ ), 37.36 ( $\text{CH}_2$ ), 45.51 (2  $\text{CH}_3$ ), 57.27 ( $\text{CH}_2$ ), 127.13 (CH), 134.50 (2  $\text{C}_q$ ), 135.02 (CH), 137.34 ( $\text{C}_q$ ), 144.64 ( $\text{C}_q$ ), 155.19 (C=O), 158.64 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 378.0 (100)

Summenformel:  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{O}_4$

$M_r$ : 378.39

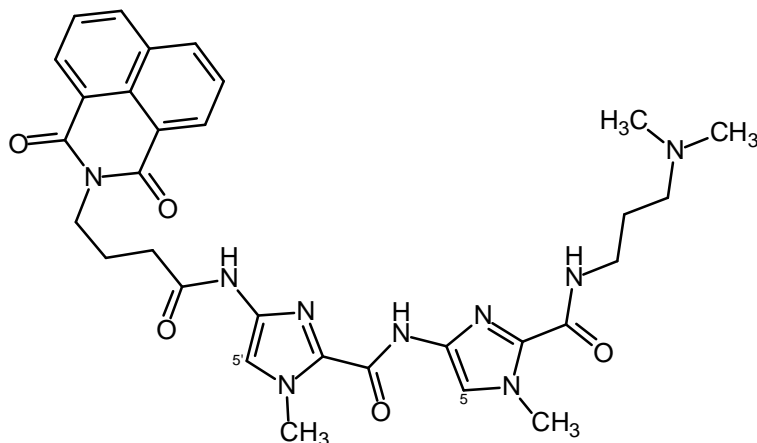
IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1669 (m), 1530 (s), 1470 (m), 1375 (m), 1296 (m), 1210 (w), 1182 (w), 1118 (w), 995 (w), 821 (m), 748 (w)

Elementaranalyse: Ber.: C 47.61 H 5.86 N 29.61  
Gef.: C 47.69 H 5.91 N 29.57

### 10.3.55 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Acridon- und Naphthalimid-gekoppelten Bisimidazolcarboxamide <sup>[152]</sup>

Durchführung analog zu Vorschrift 10.3.26 (S. 355)

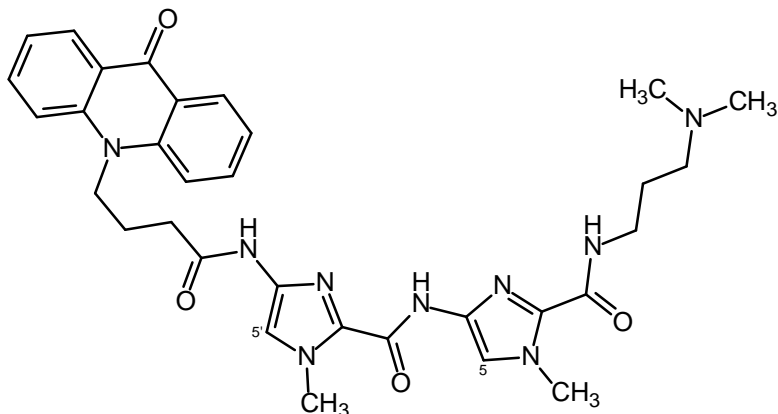
#### 10.3.55.1 *N*-[2-([3-(Dimethylamino)propyl]amino)carbonyl]-1-methyl-1*H*-4-imidazolyl]-1-methyl-4-[4-(1,3-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d,e*]-isochinolin-2-yl)butanoyl]amino}-1*H*-2-imidazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (147)





Einwaage:	473 mg (1.25 mmol) <i>N</i> -[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}-carbonyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -4-imidazolyl]-1-methyl-4-nitro-1 <i>H</i> -2-imidazolcarboxamid <b>144</b> , 296.03 mg (1.05 mmol) 4-(1,3-Dioxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d,e</i> ]isochinolin-2-yl)buttersäure <b>78</b>
Ausbeute:	320 mg (0.52 mmol) (49.8 % d. Th.), gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	160°C (MeOH)
<sup>1</sup> H-NMR, δ[ppm]: (300 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	1.61 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 1.96 (quint, 2H, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.11 (s, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 2.22 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 2.39 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.22 (q, 2H, <sup>3</sup> J = 6.9 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.87 (s, 3H, Imidazol-CH <sub>3</sub> ), 3.93 (s, 3H, Imidazol-CH <sub>3</sub> ), 4.11 (t, 2H, <sup>3</sup> J = 6.7 Hz, CH <sub>2</sub> ), 7.27 (s, 1H, Imidazol-H5), 7.48 (s, 1H, Imidazol-H5'), 7.84 (pt, 2H, <sup>3</sup> J = 7.4 Hz, Naphthalimid-H5+8), 8.35 (t, 1H, <sup>3</sup> J = 6.2 Hz, NH), 8.44 (m, 4H, Naphthalimid-H4+6+7+9), 9.28 (s, 1H, NH), 10.28 (s, 1H, NH)
<sup>13</sup> C-NMR, δ[ppm]: (75 MHz) (DMSO <i>d</i> <sup>6</sup> )	23.90 (CH <sub>2</sub> ), 27.34 (CH <sub>2</sub> ), 33.27 (CH <sub>2</sub> ), 35.22 (CH <sub>3</sub> ), 35.41 (CH <sub>3</sub> ), 37.39 (CH <sub>2</sub> ), ein Signal von DMSO überlagert, 45.51 (2 CH <sub>3</sub> ), 57.30 (CH <sub>2</sub> ), 122.47 (2 C <sub>q</sub> ), 127.43 (2 CH), 127.76 (C <sub>q</sub> ), 131.00 (2 CH), 131.58 (C <sub>q</sub> ), 132.79 (C <sub>q</sub> ), 134.47 (2 CH), 134.75 (C <sub>q</sub> ), 134.81 (C <sub>q</sub> ), 136.69 (C <sub>q</sub> ), 155.51 (C=O), 158.63 (C=O), 163.86 (2 C=O), 169.82 (C=O)
FD-MS: m/z (%):	613.0 (100)
Summenformel:	C <sub>31</sub> H <sub>35</sub> N <sub>9</sub> O <sub>5</sub>
M <sub>r</sub> :	613.68
IR (cm <sup>-1</sup> ):	1647 (s), 1530 (s), 1457 (w), 1337 (m), 1245 (w), 1093 (w), 1042 (w), 890 (m), 779 (s)
Elementaranalyse:	C <sub>31</sub> H <sub>35</sub> N <sub>9</sub> O <sub>5</sub> · H <sub>2</sub> O
Ber.:	C 58.94      H 5.90      N 19.96
Gef.:	C 58.68      H 5.78      N 19.64

**10.3.55.2** *N*-[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-4-imidazolyl]-1-methyl-4-{{[4-(9-oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)butanoyl]amino}-1*H*-2-imidazolcarboxamid <sup>[152]</sup> (149)



Einwaage: 473 mg (1.25 mmol) *N*-[2-({[3-(Dimethylamino)propyl]amino}carbonyl)-1-methyl-1*H*-4-imidazolyl]-1-methyl-4-nitro-1*H*-2-imidazolcarboxamid **144**, 293.6 mg (1.05 mmol) 4-(9-Oxo-9,10-dihydro-10-acridinyl)buttersäure **89**

Ausbeute: 150 mg (0.25 mmol) (23.9 % d. Th.), gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 155°C (MeOH)

<sup>1</sup>H-NMR, δ[ppm]: 1.62 (quint, 2H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.12 (m, 8H, 2 CH<sub>3</sub> und CH<sub>2</sub>), 2.23 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.68 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.23 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.94 (s, 3H, Imidazol-CH<sub>3</sub>), 3.99 (s, 3H, Imidazol-CH<sub>3</sub>), 4.52 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.34 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, Acridon-H), 7.51 (s, 1H, Imidazol-H<sub>5</sub>), 7.61 (s, 1H, Imidazol-H<sub>5</sub>'), 7.85 (pt, 2H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, Acridon-H), 7.98 (pd, 2H, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, Acridon-H<sub>4</sub>+<sub>5</sub>), 8.35 (m, 3H, Acridon-H<sub>1</sub>+<sub>8</sub> und NH), 9.36 (s, 1H, NH), 10.54 (s, 1H, NH)

<sup>13</sup>C-NMR, δ[ppm]: 22.40 (CH<sub>2</sub>), 27.33 (CH<sub>2</sub>), 31.86 (CH<sub>2</sub>), 35.36 (CH<sub>3</sub>), 35.43 (CH<sub>3</sub>), 37.39 (CH<sub>2</sub>), 45.35 (CH<sub>2</sub>), 45.49 (2 CH<sub>3</sub>), 57.28 (CH<sub>2</sub>), 116.21 (2 CH), 121.60 (2 CH), 121.90 (2 C<sub>q</sub>), 127.06 (2 CH), 133.08 (C<sub>q</sub>), 134.58 (2 CH), 134.79 (C<sub>q</sub>), 134.81 (C<sub>q</sub>), 136.66 (C<sub>q</sub>), 141.85 (2 C<sub>q</sub>), 155.58 (C=O), 158.63 (C=O), 170.06 (C=O), 176.81 (C=O)

FD-MS: m/z (%): 612.0 (100)

Summenformel:  $C_{32}H_{37}N_9O_4$

$M_r$ : 611.7

IR ( $cm^{-1}$ ): 1672 (m), 1637 (w), 1603 (w), 1568 (m), 1530 (s), 1495 (m),  
1460 (m), 1381 (w), 1292 (w), 1267 (w), 1178 (w), 1045 (w),  
1020 (w), 935 (w), 751 (m), 672 (w)

Elementaranalyse:  $C_{32}H_{37}N_9O_4 \cdot 2 H_2O$

Ber.: C 59.34      H 6.38      N 19.46

Gef.: C 59.66      H 6.18      N 19.50

## Literaturverzeichnis

- [1] Zhong, H.; Bowen, P. *Curr. Med. Chem.*, **2006**, 13, 849-862
- [2] Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, **2005**, [www.destatis.de](http://www.destatis.de)
- [3] Nosse, B. *Chem. Unserer Zeit*, **2006**, 40, 164-172
- [4] Zündorf, I.; Dingermann, T. *Deutsche Apotheker Zeitung*, **2005**, 16, 50
- [5] Heyn, G. *Pharm. Ztg.*, **2006**, 15
- [6] Pindur, U.; Jansen, M.; Lemster, T. *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12, 2805-2847
- [7] Hurley, L. H. *Nature Reviews/Cancer*, **2002**, 2, 188-200
- [8] Bischoff, G.; Hoffmann, S. *Curr. Med. Chem.*, **2002**, 9, 321-348
- [9] Bourdouxhe-Housiaux, C.; Colson, P.; Houssier, C.; Waring, M. J.; Bailly, C. *Biochemistry*, **1996**, 35, No. 13, 4251-4264
- [10] Stryer, L.; Tymoczko, J. L.; Berg, J. M. *Biochemie*, **2003**, 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg · Berlin
- [11] Kopka, M. L.; Larsen, T. A. *Nucleic Acid Targeted Drug Design*, **1992**, New York
- [12] Pindur, U.; Fischer, G. *Curr. Med. Chem.*, **1996**, 3, 379-406
- [13] Pućkowska, A.; Bielawski, K.; Bielawska, A.; Midura-Nowaczek, K. *Eur. Med. Chem.*, **2004**, 39, 99-105
- [14] Cunningham, A. P.; Love, W. K.; Zhang, R. W.; Andrews, L. G.; Tollefsbol, T. O. *Curr. Med. Chem.*, **2006**, 13, 2875-2888
- [15] Gniazdowski, M.; Czyz, M. *Acta Biochimica Polonica*, **1999**, 46, No. 2, 255-262
- [16] Ghosh, D.; Papavassiliou, A. G. *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12, 691-701
- [17] Gniazdowski, M.; Denny, W. A.; Nelson, S. M.; Czyz, M. *Curr. Med. Chem.*, **2003**, 10, 909-924
- [18] Hamilton, L. D.; Fuller, W.; Reich, E. *Nature*, **1963**, 198, 538
- [19] Roth, H. J.; Fenner, H. *Arzneistoffe*, **2000**, 3. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
- [20] Silverman, R. B. *Medizinische Chemie*, **1995**, Academic Press, Wiley-VCH, Weinheim
- [21] Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavec, M.; Roth, H. J. *Medizinische Chemie*, **2005**, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
- [22] Lerman, L. S. *J. Mol. Biol.*, **1961**, 3, 18-30
- [23] Lerman, L. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1963**, 49, 94-102
- [24] Lerman, L. S. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **1964**, 64, Suppl. 1, 1-18
- [25] Chaires, J. B. *Biopolymers*, **1997**, 44, 201-215; Chaires, J. B. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2006**, 453, 24-29
- [26] Pindur, U.; Haber, M.; Sattler, K. *Pharm. Unserer Zeit*, **1992**, 21. Jahrg., No. 1, 21-36
- [27] Braña, M. F.; Cacho, M.; Gradillas, A.; Pascual-Teresa B.; Ramos, A. *Curr. Pharm. Des.*, **2001**, 7, 1745-1780
- [28] Martínez, R.; Chacón-García, L. *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12, 127-151
- [29] Chaires, J. B. *Biophys. Chem.*, **1990**, 35, 191-202
- [30] Denny, W. A.; Wakelin, L. P. G. *Cancer Res.*, **1986**, 46, 1717-1721
- [31] Denny, W. A.; Wakelin, L. P. G. *Anticancer Drug Des.*, **1990**, 5, 189-200
- [32] Wilson, W. D.; Tanius, F. A. *Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Interactions*, **1994**, 2, 243-269
- [33] Chaires, J. B.; Leng, F.; Przewloka, T.; Fokt, I.; Ling, Y. H.; Perez-Soler, R.; Preibe, W. *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 261-266
- [34] Chaires, J. B. *Curr. Op. Struct. Biol.*, **1998**, 8, 314-320
- [35] Denny, W. A.; Atwell, G. J.; Baguley, B. C.; Wakelin, L. P. G. *J. Med. Chem.*, **1985**, 28, 1568-1574
- [36] Zhang, Z.; Herdewijn, P. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 517-531
- [37] Haq, I. *Arch. Biochem. Biophys.*, **2002**, 403, 1
- [38] Graves, D. E.; Velea, L. M. *Curr. Org. Chem.*, **2000**, 4, 915
- [39] Holden, J. A. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2001**, 1, 1
- [40] Gao, Y.; Robinson, H.; Wijsman, E. R.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; Wang, A. H.-J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 1496-1497
- [41] Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Schäfer-Korting, M. *Arzneimittelwirkungen*, **2001**, 8. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft (WVG) mbH, Stuttgart
- [42] Zhang, G.; Fang, L.; Zhu, L.; Zhong, Y.; Wang, P. G.; Sun, D. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 1792-1799
- [43] Portugal, J.; Cashman, D. J.; Trent, J. O.; Ferrer-Miralles, N.; Przewloka, T.; Fokt, I.; Priebe, W.; Chaires, J. B. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 8209-8219

- [44] a) Kratz, F.; Warnecke, A.; Schmid, B.; Chung, D.-E.; Gitzel, M. *Curr. Med. Chem.*, **2006**, *13*, 477-523  
b) Tietze, L. F.; Major, F.; Schuberth, I. *Angew. Chem.*, **2006**, *118*, 6724-6727; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, 6574-6577  
c) Tietze, L. F.; Feuerstein, T. *Aust. J. Chem.*, **2003**, *56*, 841-854
- [45] Asche, C.; Frank, W.; Albert, A.; Kucklaender, U. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 819-837
- [46] Garbett, N. C.; Graves, D. E. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2004**, *4*, 149-172
- [47] Pierré, A.; Atassi, G.; Devissaguet, M.; Bisagni, E. *Drugs of the Future*, **1997**, *22*, *1*, 53-59
- [48] Harding, M. M.; Grummitt, A. R. *Mini Reviews in Med. Chem.*, **2003**, *3*, 67-76
- [49] Mastalarz, H.; Jaszold-Howorko, R.; Rulko, F.; Croisy, A.; Carrez, D. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **2004**, *337*, 434-439
- [50] Braña, M. F.; Ramos, A. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2001**, *1*, 237-255
- [51] Hsiang, Y.-H.; Jiang, J. B.; Liu, L. F. *Molecular Pharmacology*, **1989**, *36*, 371-376
- [52] Bailly, C.; Braña, M. F.; Waring, M. J. *Eur. J. Biochem.*, **1996**, *240*, 195-208
- [53] Braña, M. F.; Gradillas, A.; Gómez, A.; Acero, N.; Llinares, F.; Muñoz-Mingarro, D.; Abradelo, C.; Rey-Stolle, F.; Yuste, M.; Campos, J.; Gallo, M. Á.; Espinosa, A. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 2236-2242
- [54] Hung, D. T.; Shakhnovich, E. A.; Pierson, E.; Mekalanos, J. J. *Science*, **2005**, *310*, 670-674
- [55] Holzgrabe, U. *Pharm. Unserer Zeit*, **2006**, *35*, *2*, 99
- [56] Fryer, R. I.; Grunberg, E. (Hoffmann-La Roche) *United States Patent*, **1972**, *3*, 681, 360
- [57] Cholody, W. M.; Kosakowska-Cholody, T.; Hollingshead, M. G.; Hariprakash, H. K.; Michejda, C. J. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 4474-4481
- [58] Cholody, W. M.; Martelli, S.; Paradziej-Lukowicz, J.; Konopa, J. *J. Med. Chem.*, **1990**, *33*, 49-52
- [59] Cholody, W. M.; Martelli, S.; Konopa, J. *J. Med. Chem.*, **1990**, *33*, 2852-2856
- [60] Cholody, W. M.; Martelli, S.; Konopa, J. *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 378-382
- [61] Hernandez, L.; Cholody, W. M.; Hudson, E. A.; Resau, J. H.; Pauly, G.; Michejda, C. J. *Cancer Res.*, **1995**, *55*, 2338-2345
- [62] Hegde, R.; Thimmaiah, P.; Yerigeri, M. C.; Krishnegowda, G.; Thimmaiah, K. N.; Houghton, P. J. *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, *39*, 161-177
- [63] Nguyen, B.; Hamelberg, D.; Bailly, C.; Colson, P.; Stanek, J.; Brun, R.; Neidle, S.; Wilson, W. D. *Biophysical Journal*, **2004**, *86*, 1028-1041
- [64] Kopka M. L.; Yoon, C.; Goodsell, D.; Pjura, P.; Dickerson, R. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1985**, *82*, 1376-1380
- [65] Marky, L. A.; Breslauer, K. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, *84*, 4359-4363
- [66] Demeunynck, M.; Bailly, C.; Wilson, W. D. *Small Molecule DNA and RNA Binders-From Synthesis to Nucleic Acid Complexes*, **2003**, *2*, 337-711, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [67] Ryabinin, V. A. *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, *35*, 989-1000
- [68] Inase, A.; Kodama, T. S.; Sharif, J.; Xu, Y.; Ayame, H.; Sugiyama, H.; Iwai, S. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 11017-11023
- [69] Goodsell, D. S.; Kopka, M. L.; Dickerson, R. E. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 4983-4993
- [70] van Hecke, K.; Nam, P. C.; Nguyen, M. T.; Meervelt, L. V. *FEBS Journal*, **2005**, *272*, 3531-3541
- [71] Patel, D. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1982**, *79*, 6424-6428
- [72] Patel, D. J.; Shapiro, L. *J. Biol. Chem.*, **1986**, *261*, 1230-1240
- [73] Jacquemard, U.; Routier, S.; Dias, N.; Lansiaux, A.; Goossens, J.-F.; Bailly, C.; Mérour, J.-Y. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 1087-1095
- [74] Dias, N.; Jacquemard, U.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Goossens, J.-F.; Bailly, C.; Routier, S.; Mérour, J.-Y. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 1206-1213
- [75] Evans, D. A.; Neidle, S. *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 4232-4238
- [76] Turner, P. R.; Denny, W. A. *Curr. Drug Targets*, **2000**, *1*, 1-14
- [77] Khalaf, A. I.; Waigh, R. D.; Drummond, A. J.; Pringle, B.; McGroarty, I.; Skellern, G. G.; Suckling, C. J. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 2133-2156
- [78] Bailly, C.; Chaires, J. B. *Bioconjugate Chemistry*, **1998**, *9*, 513-537
- [79] Dwyer, T. J.; Geierstanger, B. H.; Bathini, Y.; Lown, J. W.; Wemmer, D. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 5911-5919
- [80] Goodsell, D. S. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, *8*, 509-516
- [81] Pelton, J. G.; Wemmer, D. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1989**, *86*, 5723
- [82] Vázquez, M. E.; Caamaño, A. M.; Mascareñas, J. L. *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, *32*, 338-349

- [83] Reddy, B. S. P.; Sharma, S. K.; Lown, J. W. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 475-508
- [84] Sharma, S. K.; Tandon, M.; Lown, J. W. *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, 2095-2103
- [85] Sharma, S. K.; Tandon, M.; Lown, J. W. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 1030-1034
- [86] Dervan, P. B. *Bioorg. Med. Chem.*, **2001**, 9, 2215-2235
- [87] Dervan, P. B. *Science*, **1986**, 232, 464-471
- [88] Trauger, J. W.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Nature*, **1996**, 382, 559-561
- [89] Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 6141-6146
- [90] Gottesfeld, J. M.; Neely, L.; Trauger, J. W.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Nature*, **1997**, 387, 202-205
- [91] Hawkins, C. A.; Peláez de Clairac, R.; Dominey, R. N.; Baird, E. E.; White, S.; Dervan, P. B.; Wemmer, D. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 5235-5243
- [92] Marques, M. A.; Doss, R. M.; Urbach, A. R.; Dervan, P. B. *Helvetica Chimica Acta*, **2002**, 85, 4485-4517
- [93] Foister, S.; Marques, M. A.; Doss, R. M.; Dervan, P. B. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 4333-4340
- [94] White, S.; Szewczyk, J. W.; Turner, J. M.; Baird, E. E.; Dervan, P. B. *Nature*, **1998**, 391, 468
- [95] Anthony, N. G.; Johnston, B. F.; Khalaf, A. I.; MacKay, S. P.; Parkinson, J. A.; Suckling, C. J.; Waigh, R. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 11338-11349
- [96] Anthony, N. G.; Fox, K. R.; Johnston, B. F.; Khalaf, A. I.; Mackay, S. P.; McGroarty, I. S.; Parkinson, J. A.; Skellern, G. G.; Suckling, C. J.; Waigh, R. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 1353-1356
- [97] Fechter, E. J.; Olenyuk, B.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 16685-16691
- [98] Kaizerman, J. A.; Gross, M. I.; Ge, Y.; White, S.; Hu, W.; Duan, J. X.; Baird, E. E.; Johnson, K. W.; Tanaka, R. D.; Moser, H. E.; Bürli, R. W. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 3914-3929
- [99] Hu, W.; Bürli, R. W.; Kaizerman, J. A.; Johnson, K. W.; Gross, M. I.; Iwamoto, M.; Jones, P.; Lofland, D.; Difuntorum, S.; Chen, H.; Bozdogan, B.; Appelbaum, P. C.; Moser, H. E. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 4352-4355
- [100] Hansen, M.; Lee, S.-J.; Cassady, J. M.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 5553-5561
- [101] Sondhi, S. M.; Reddy, B. S. P.; Lown, J. W. *Curr. Med. Chem.*, **1997**, 4, 313-358
- [102] Denny, W. A. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 533-544
- [103] Beria, I.; Baraldi, P. G.; Cozzi, P.; Caldarelli, M.; Geroni, C.; Marchini, S.; Mongelli, N.; Romagnoli, R. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 2611-2623
- [104] Baraldi, P. G.; Romagnoli, R.; Bianchi, N.; Gambari, R. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 2381-2388
- [105] Baraldi, P. G.; Romagnoli, R.; Guadix, A. E.; Pineda de las Infantas, M. J.; Gallo, M. A.; Espinosa, A.; Martinez, A.; Bingham, J. P.; Hartley, J. A. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3630-3638
- [106] Kumar, R.; Lown, J. W. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, 40, 641-654
- [107] Wells, G.; Martin, C. R. H.; Howard, P. W.; Sands, Z. A.; Laughton, C. A.; Tiberghien, A.; Woo, C. K.; Masterson, L. A.; Stephenson, M. J.; Hartley, J. A.; Jenkins, T. C.; Shnyder, S. D.; Loadman, P. M.; Waring, M. J.; Thurston, D. E. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 5442-5461
- [108] Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Iaconinoto, M. A.; Carrion, M. D.; Tabrizi, M. A.; Gambari, R.; Borgatti, M.; Heilmann, J. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, 40, 1123-1128
- [109] Cozzi, P.; Beria, I.; Caldarelli, M.; Capolongo, L.; Geroni, C.; Mongelli, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, 1269-1272
- [110] Cozzi, P.; Beria, I.; Caldarelli, M.; Geroni, C.; Mongelli, N.; Pennella, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, 1273-1276
- [111] Zündorf, I.; Vollmar, A.; Dingermann, T. *Pharm. Unserer Zeit*, **2005**, 4, 283-295
- [112] Jeffrey, S. C.; Torgov, M. Y.; Andreyka, J. B.; Boddington, L.; Cervený, C. G.; Denny, W. A.; Gordon, K. A.; Gustin, D.; Haugen, J.; Kline, T.; Nguyen, M. T.; Senter, P. D. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 1344-1358
- [113] Walker, S.; Murnick, J.; Kahne, D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 7954-7961
- [114] Nielsen, P. E. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 545-550
- [115] Nielsen, P. E. *Chem. Eur. J.*, **1997**, 3, 505-507
- [116] Wittung, P.; Nielsen, P. E.; Noden, B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 7049-7054
- [117] Nielsen, P. E.; Egholm, M.; Berg, R. H.; Buchardt, O. *Science*, **1991**, 254, 1497
- [118] Uhlmann, E.; Peyman, A.; Breipohl, G.; Will, D. W. *Angew. Chem.*, **1998**, 110, 2954-2983
- [119] Porcheddu, A.; Giacomelli, G. *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12, 2561-2599
- [120] Da Ros, T.; Spalluto, G.; Prato, M.; Saison-Behmoaras, T.; Boutorine, A.; Cacciari, B. *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12, 71-88

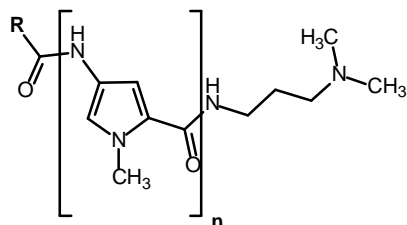
- [121] Uhlmann, E. *Chem. Unserer Zeit*, **1998**, 3, 150-160
- [122] Hotzel, C. *Dissertation „Design und Synthese von Oligopyrrolcarboxamiden als neue DNA-Liganden mit potentieller Antitumoraktivität“*, **2003**
- [123] Hotzel, C.; Marotto, A.; Pindur, U. *Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, 37, 367-378
- [124] Hotzel, C.; Marotto, A.; Pindur, U. *Eur. J. Med. Chem.*, **2003**, 38, 189-197
- [125] Keuser, C. *Dissertation „Design, Synthese und biologische Evaluierung von Pyrrolcarboxamiden mit Nucleobasen- oder tricyclischer Aromaten-Funktion“*, **2005**
- [126] Keuser, C.; Pindur, U. *Pharmazie*, **2006**, 61, 261-268
- [127] David-Cordonnier, M.-H.; Hildebrand, M.-P.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Keuser, C.; Benzschawel, K.; Lemster, T.; Pindur, U. *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, 42, 752-771
- [128] Rao, K. E.; Bathini, Y.; Lown, J. W. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 728-737
- [129] Sharma, S. K.; Tandon, M.; Lown, J. W. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 1102-1107
- [130] Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Res.*, **1997**, 23, 3-25
- [131] Buckert, D. *Dissertation in Bearbeitung: „Etablierung und Validierung von in vitro- und in silico-Methoden zur Untersuchung der DNA-bindenden Eigenschaften neuer Nucleobasen-gekoppelter Pyrrolcarboxamide, Combilexine und Hetaren[a]carbazol-Derivate“*
- [132] Berman, H. M.; Neidle, S.; Zimmer, C.; Thrum, H. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1979**, 561, 124-131
- [133] Böhm, H.-J.; Klebe, G.; Kubinyi, H. *Wirkstoffdesign*, **2002**, Spektrum akademischer Verlag, Heidelberg
- [134] Baraldi, P. G.; Nunez, M. C.; Tabrizi, M. A.; Clercq, E.; Balzarini, J.; Bermejo, J.; Estévez, F.; Romagnoli, R. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 2877-2886
- [135] Lemster, T.; Pindur, U. *Rec. Res. Devel. Org. Bioorg. Chem.*, **2002**, 5, 99-115
- [136] Nishiwaki, E.; Tanaka, S.; Lee, H.; Shibuya, M. *Heterocycles*, **1988**, 27, 1945-1952
- [137] Hisatome, M.; Maruyama, N.; Ikeda, K.; Furutera, T.; Ishikawa, T.; Yanakawa, K. *Chem. Pharm. Bull.*, **1996**, 44, 1801-1811
- [138] Jones, J. *Synthese von Aminosäuren und Peptiden*, **1999**, Wiley-VCH-Verlag
- [139] Bailly, C.; Pommeroy, N.; Houssin, R.; Henichart, J.-P. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1989**, 78, 910-917
- [140] Kuhn, J.; Olah, G. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 4564-4571
- [141] Rinkes, I. *Rec. trav. chim.*, **1932**, 51, 1134
- [142] Fu, M.; Nikolic, D.; Van Breemen, R. B.; Silverman, R. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 7751-7759
- [143] Campaigne, E.; Grose, G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 3812
- [144] Carpino, L. A.; Imazumi, H.; El Faham, A.; Ferrer, F. J. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 442-445
- [145] Barlos, K.; Papaionnou, D.; Theodoropoulos, D. *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1984, 23, 300
- [146] Bald, E.; Saig, K.; Mukaiyama, T. *Chemistry Letters*, **1975**, 4, 1163-1166
- [147] Alexiou, M.; Tyman, J.; Wilson, I. *Tetrahedron Letters*, **1981**, 22, 2303-2306
- [148] Takahashi, Y.; Miyashi, T.; Yoon, U. C.; Oh, S. W.; Mancheno, M.; Su, Z.; Falvey, D. F.; Mariano, P. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 3926-3932
- [149] Patel, D. V.; Van Middlesworth, F.; Donaubaue, J.; Gannett, P.; Sih, C. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 4603-4614
- [150] Schmolka, S. J.; Zimmer, H. *Synthesis*, **1984**, 29-31
- [151] Zav'yalov, S. I.; Kravchenko, N. E. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1983**, 6, 1453
- [152] Kumar, R.; Lown, J. W. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, 40, 641-654
- [153] Jansen, M. *Dissertation „Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors“*, **2001**
- [154] Zav'yalov, S. I.; Dorofeeva, O. V.; Rummyantseva, E. E.; Kulikova, L. B.; Ezhova, G. I.; Kravchenko, N. E.; Zavozin, A. G. *Pharm. Chem. J.*, **2001**, 35, 96-98
- [155] Zav'yalov, S. I.; Kravchenko, N. E. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, **1984**, 2, 454-456
- [156] Tietze, L. F. et al. *Angew. Chem.*, **1993**, 105, 137; Dominoreaktionen, *Nachr. Chem. Tech. Lab.*, **1997**, 45, 1181
- [157] Carrasco, C.; Helissey, P.; Haroun, M.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Colson, P.; Houssier, C.; Giorgi-Renault, S.; Bailly, C. *Chem. Biochem.*, **2003**, 4, 50-61
- [158] Barton, A.; Breukelman, S. P.; Kaye, P. T.; Meakins, G. D.; Morgan, D. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1982**, 159-164
- [159] Laue, T.; Plagens, A. *Namen- und Schlagwort-Reaktionen der Organischen Chemie*, **2004**, 4. Auflage, Teubner Verlag

- [160] Kennedy, A. R.; Khalaf, A. I.; Suckling, C. J.; Waigh, R. D. *Acta Crystallographica Section E*, **2004**, E 60, 1510-1512
- [161] Meyer, K. *Dissertation „Synthese und Charakterisierung neuer funktionalisierter Mono- und Bis-tetrahydropyrrolo[3,4-b]carbazole als potentielle DNA-Liganden“*, **2000**
- [162] Staab, H. A. *Angew. Chemie*, **1962**, 74, 407-423
- [163] Albericio, F.; Bofill, J. M.; El-Faham, A.; Kates, S. A. *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 9678-9683
- [164] Coste, J.; Le-Ngyuyen, D.; Castro, B. *Tetrahedron Letters*, **1990**, 31, 205-208
- [165] Evin, G.; Devin, J.; Castro, B.; Menard, J.; Corvol, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1984**, 81, 48-52
- [166] Wolf, M.; Bauder-Wüst, U.; Mohammed, A.; Schönsiegel, F.; Mier, W.; Haberkorn, U.; Eisenhut, M. *Melanoma Research*, **2004**, 14, 353-360
- [167] Dewar, M. J. S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 3902-3909
- [168] Dewar, M. J. S.; Yuan, Y.-C. *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 3881-3890
- [169] Kunz, R. W. *Molecular Modelling für Anwender*, **1997**, 2. Auflage, Teubner Verlag, Stuttgart
- [170] Fleming, I. *Grenzorbitale und Reaktionen organischer Verbindungen*, **1988**, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- [171] SPARTAN `04 Version 1.0.1, Wavefunction, Inc. Irvine, CA
- [172] Autorenkollektiv, *Organikum Organisch chemisches Grundpraktikum*, **1999**, 20. Auflage, Wiley-VCH
- [173] Krowicki, K.; Lown, W. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 3493-3501
- [174] Baird, E. E.; Dervan, P. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 6141-6146
- [175] Marotto, A. *Dissertation „Etablierung und Anwendung von biophysikalischen und molekularbiologischen Methoden zur Untersuchung von Wirkmechanismen neuer Indol-, Carbazol- und Oligopyrrolcarboxamid-Derivate als potentielle antitumoraktive Stoffe“*, **2001**
- [176] Charmantray, F.; Demeunynck, M.; Carrez, D.; Croisy, A.; Lansiaux, A.; Bailly, C.; Colson, P. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 967-977
- [177] Spink, C. H.; Wellman, S. E. *Methods Enzymol.*, **2001**, 340, 193-211
- [178] Voet, D.; Voet, J. G. *Biochemie*, **1994**, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- [179] Wilson, W.D.; Tanious, F. A.; Fernandez-Saiz, M.; Rigl, C. T. in Fox, K. R. (Editor) *Drug-DNA Interaction Protocols*, **1997**, Humana Press, Totowa, USA
- [180] Zimmer, C.; Wahnert, U. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **1986**, 47, 31-112
- [181] Prado, S.; Michel, S.; Tillequin, F.; Koch, M.; Pfeiffer, B.; Pierré, A.; Léonce, S.; Colson, P.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Bailly, C. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 3943-3953
- [182] Facompré, M.; Baldeyrou, B.; Bailly, C.; Anizon, F.; Marminon, C.; Prudhomme, M.; Colson, P.; Houssier, C. *Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, 37, 925-932
- [183] Tan, J.-H.; Zhang, Q.-X.; Huang, Z.-S.; Chen, Y.; Wang, X.-D.; Gu, L.-Q.; Wu, J. Y. *Eur. J. Med. Chem.*, **2006**, 41, 1041-1047
- [184] Kluzza, J.; Baldeyrou, B.; Colson, P.; Rasoanaivo, P.; Mambu, L.; Frappier, F.; Bailly, C. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2003**, 20, 383-391
- [185] Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, **2002**, 6. Auflage, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart
- [186] Rücker, G.; Neugebauer, M.; Willems, G. G. *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*, **2001**, 3. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
- [187] Arafa, R. K.; Brun, R.; Wenzler, T.; Tanious, F. A.; Wilson, W. D.; Stephens, C. E.; Boykin, D. W. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 5480-5488
- [188] Wilson, W. D.; Tanious, F. A.; Ding, D.; Kumar, A.; Boykin, D. W.; Colson, P.; Houssier, C.; Bailly, C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 10310-10321
- [189] Henichart, J.-P.; Waring, M. J.; Riou, J.-F.; Denny, W. A.; C. Bailly *Mol. Pharmacol.*, **1997**, 51, 448-461
- [190] Bailly, C. *Methods Enzymol.*, **2001**, 340, 610-623
- [191] Bailly, C. *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 39-58
- [192] Nagarajan, M.; Morrell, A.; Antony, S.; Kohlhagen, G.; Agama, K.; Pommier, Y.; Ragazzon, P. A.; Garbett, N. C.; Chaires, J. B.; Hollingshead, M.; Cushman, M. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 5129-5140
- [193] Pindur, U.; Lemster, T. *Pharmazie*, **1998**, 53, 79-86
- [194] Meresse, P.; Dechaux, E.; Monneret, C.; Bertounesque, E. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11, 2443-2466
- [195] Saenger, W. *Principles of Nucleic Acid Structure*, **1983**, Springer Press, New York, USA

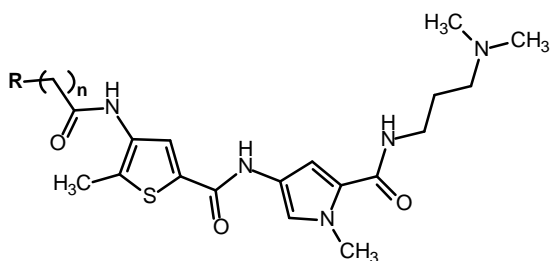


- [196] Mayer, C.; Ruhr-Universität Bochum, *Inaugural-Dissertation "Untersuchung der Bedeutung der Phosphatidylinositol-3'-Kinase und der Calcium-abhängigen Proteinkinase II d<sub>2</sub> in INS-1 Insulinom-Zellen und daraus entwickelten gentechnisch modifizierten Zellklonen für die Insulinsekretion"*, **2000**
- [197] NCI-Homepage: <http://dtp.nci.nih.gov>
- [198] Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1991**, 83, 757-766
- [199] Dyatkina, N. B.; Roberts, C. D.; Keicher, J. D.; Dai, Y.; Nadherny, J. P.; Zhang, W.; Schmitz, U.; Kongpachith, A.; Fung, K.; Novikov, A. A.; Lou, L.; Velligan, M.; Khorlin, A. A.; Chen, M. S. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 805-817
- [200] Catoen-Chackal, S.; Facompré, M.; Houssin, R.; Pommery, N.; Goossens, J.-F.; Colson, P.; Bailly, C.; Hénichart, J.-P. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 3665-3673
- [201] Khan, Q. A.; Barbieri, C. M.; Srinivasan, A. R.; Wang, Y.-H.; LaVoie, E. J.; Pilch, D. S. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 5245-5251
- [202] Massa, W. *Kristallstrukturbestimmung*, **2005**, 4. Auflage, Teubner Verlag Wiesbaden
- [203] McPherson, A. *Preparation and Analysis of protein crystals*, **1989**, R. E. Krieger Publishing Co., Inc. Malabar, Florida
- [204] Liping, L.; Miaoli, Z.; Jianfeng, L.; Pin, Y. *Acta Cryst.*, **2003**, E 59 0417-0419
- [205] Breitmaier, E.; Jung, G. *Organische Chemie*, **2005**, 5. Auflage, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart
- [206] [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)
- [207] Metropolis, N.; Rosenbluth, A. W.; Rosenbluth, M. N.; Teller, A. H.; Teller, E. J. *The Journal of Chemical Physics*, **1953**, 21, 1087-1092
- [208] Stewart, J. J. P. *Journal of Computer-aided Molecular Design*, **1990**, 4, 1-105
- [209] Halgren, T. A. *J. Comp. Chem.*, **1996**, 17, 490-641
- [210] Halgren, T. A. *J. Comp. Chem.*, **1999**, 20, 720-748
- [211] Rehn, C. *Dissertation „Theoretische Studien zur DNA-Interkalation von Anthrachinon-, 9-Aminoacridin-, Isochinolin- und Pyrrolocarbazol-1,2-dion-Derivaten sowie Synthese von Pyrrolocarbazol-1,2-dionen“*, **1995**
- [212] HYPERCHEM RELEASE 7.5, Hypercube, Inc. Gainesville, FL
- [213] Bailly, C.; Hénichart, J.-P. *Bioconjugate Chemistry*, **1991**, 2, 379-393
- [214] SPARTAN '04 Windows - Tutorial and User's Guide, Wavefunction Inc.
- [215] Sliifkin, M. A. *Charge Transfer Interactions of Biomolecules*, Acad. Press, London, **1971**
- [216] Jendretzki, U. K.; Elz, S.; Höltje, H.-D. *Archiv der Pharmazie*, **1993**, 326, 674
- [217] Mulliken, R. S. *Recueil Trav. Chim. Pays-Bas*, **1956**, 75, 845
- [218] Fairley, T. A.; Tidwell, R. R.; Donkor, I.; Naiman, N. A.; Ohemeng, K. A.; Lombardy, R. J.; Bentley, J. A.; Cory, M. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 1746-1753
- [219] Han, X.; Gao, X. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 551-581
- [220] Patel, D. J. *Acc. Chem. Res.*, **1979**, 12, 118-125
- [221] Feigon, J.; Denny, W. A.; Leupin, W.; Kearns, D. R. *J. Med. Chem.*, **1984**, 27, 450-465
- [222] Patel, D. J.; Pardi, A.; Itakura, K. *Science*, **1982**, 216, 581-590
- [223] Wüthrich, K. *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, **1986**, Wiley Interscience, N. Y., USA
- [224] Friebolin, H. *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, **2006**, 4. Auflage, Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [225] ICM-PRO v 3.3-02a, Molsoft, L.L.C., La Jolla, CA
- [226] Abagyan, R.; Totrov, M.; Kuznetsov, D. *J. Comp. Chem.*, **1994**, 15, 488-506
- [227] van Gunsteren, W. F.; Berendsen, H. J. C. *Angew. Chem.*, **1990**, 102, 1020-1055
- [228] Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S.; Weiner, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 765-784
- [229] Malinina, L.; Soler-Lopez, M.; Aymami, J.; Subirana, J. A. *Biochemistry*, **2002**, 41, 9341-9348
- [230] He, G.-X.; Browne, K. A.; Groppe, J. C.; Blasko, A.; Mei, H. Y.; Bruice, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 7061-7071
- [231] Glibin et al. *J. Org. Chem. USSR*, **1977**, 13, 2082
- [232] Hall, I.; Chapman, J.; Voorstad, P.; Cocolas, G. *J. Pharm. Sci.*, **1984**, 73, 956-961
- [233] *Chem. Abstr.*, EN, **1961**, 55, 10470e

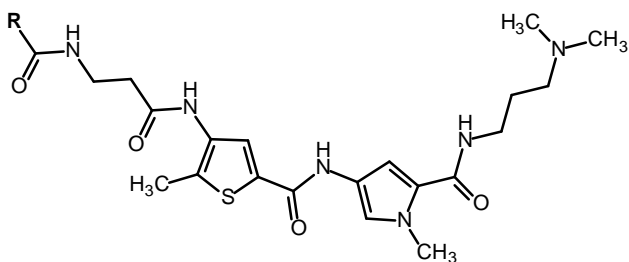
## Formeltafel



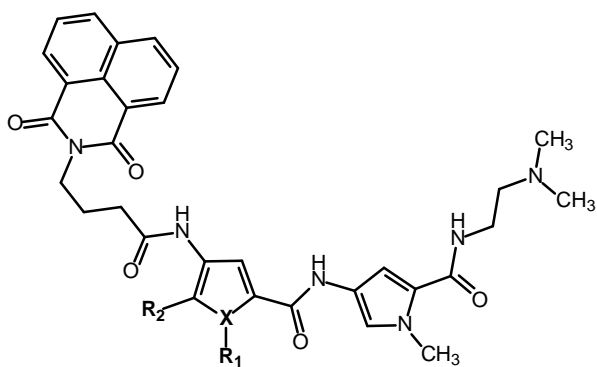
R	n	Verbindung Nr.
	1	<b>64</b>
	2	<b>65</b>
	2	<b>66</b>



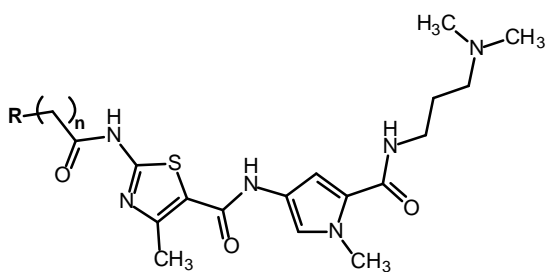
R	n	Verbindung Nr.
	1	<b>91</b>
	2	<b>92</b>
	3	<b>93</b>
	4	<b>94</b>
	5	<b>95</b>
	3	<b>96</b>
	2	<b>97</b>
	3	<b>98</b>



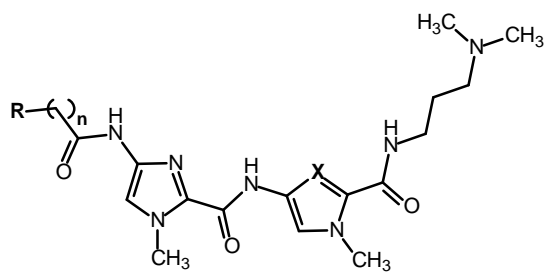
R	Verbindung Nr.
	104
	105



X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Verbindung Nr.
N	CH <sub>3</sub>	H	110
S	-	CH <sub>3</sub>	111



R	n	Verbindung Nr.
	2	119
	3	120
	3	121
	2	122
	3	123



R	n	X	Verbindung Nr.
	2	CH	145
	3	CH	146
	3	N	147
	3	CH	148
	3	N	149