

Neue Imidazol- und Indolderivate Synthese und biologische *in-vitro* Prüfungen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)
der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV - Chemie und Pharmazie -
der Universität Regensburg



vorgelegt von

Asma Mohamed Eswayah

aus Tripolis/Libyen

2010

Die vorliegende Arbeit entstand von September 2006 bis März 2009 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. S. Mahboobi am Institut für Pharmazeutische Chemie der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV - Chemie und Pharmazie - der Universität Regensburg.

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht im 18.06.2010

Tag der mündlichen Prüfung: 27.07.2010

Prüfungsausschuß:

Vorsitzender: Prof. Dr. Dr. Wolfgang Wiegrebe

Erstgutachter: Prof. Dr. Siavosh Mahboobi

Zweitgutachter: Prof. Dr. Sigurd Elz

Drittprüfer: Prof. Dr. Jörg Heilmann

Zuallererst danke ich Allah für seinen Segen und für seine Unterstützung während meines Studiums in Deutschland.

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Siavosh Mahboobi für die Erteilung des Themas, die anregenden Diskussionen und wertvollen Ratschläge sowie die freundliche Betreuung. Herrn Prof. Dr. Sigurd Elz danke ich für die Möglichkeit, meine Arbeit an seinem Lehrstuhl durchführen zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. Dr. Wolfgang Wiegrebe danke ich für die sehr hilfreichen Diskussionen.

Insbesondere danke ich Herrn Dr. Andreas Sellmer, der mir zu jeder Zeit hilfreich zur Seite stand und dadurch wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Mein Dank gilt auch meine Kolleginnen und Kollegen unseres Arbeitskreises für die angenehme Arbeitsatmosphäre. Dabei möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Emmerich Eichhorn für seine Hilfsbereitschaft bedanken.

Ich danke den Mitarbeitern der analytischen Abteilung der Universität Regensburg für die Aufnahme der Elementaranalysen und Massenspektren.

Herrn Prof. Dr. Frank D. Böhmer und seine Mitarbeitern vom Institut für Molekulare Zellbiologie des Friedrich-Schiller Universitätsklinikums in Jena danke ich für die Durchführung des Tyrosinkinase-Tests der Imidazolderivate.

Frau Dr. Ute Möllmann und ihre Mitarbeitern vom Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung in Jena danke ich für die biologische Testung der Indolderivate.

Auch allen meinen Freundinnen sei an dieser Stelle gedankt, die mir die Zeit in Deutschland angenehm gemacht haben.

Ich danke der libyschen Regierung, dem Ministerium für Höhere Bildung und dem Amt für kulturelle Angelegenheiten der libyschen Botschaft in Deutschland für die Vergabe des Stipendiums und die finanzielle Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinen Geschwistern für ihre unbegrenzte moralische Unterstützung.

*Für meine Eltern,
meinen Bruder Salem
und meine andere Geschwister*

Ein Teil dieser Arbeit wurde bereits publiziert:

Mahboobi, S.; Sellmer, A.; Eswayah, A.; Elz, S.; Uecker, A.; Böhmer, F.D. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2008, 43, 1444-1453.

Posterpräsentation:

Annual Meeting of the GDCh (Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V.), "Frontiers in Medicinal Chemistry", vom 2. bis 5. März 2008 in Regensburg.

Inhibition of PDGFR tyrosine kinase activity by a series of novel N-(3-(4-(pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)phenyl) amides - A SAR study on the bioisosterism of pyrimidine and imidazole

Teil I: Neue Imidazol-Derivate: Synthese und biologische Prüfungen

1	Einleitung	1
1.1	Tumorerkrankungen	1
1.1.1	Definition und Statistische Daten	1
1.1.2	Entstehung von Tumoren	1
1.1.3	Methoden der Krebstherapie	3
1.1.4	Neuartige Therapie Strategien	5
1.2	Signaltransduktion und Krebs	6
1.2.1	Der Zellzyklus	6
1.2.2	Signaltransduktionskaskade der Rezeptor-Tyrosinkinase (RTK)	8
1.2.2.1	Aktivierung der Rezeptor-Tyrosinkinase	8
1.2.2.2	Rezeptor-Tyrosinkinase/RAS/MAP-Signaltransduktionskaskade	9
1.2.2.3	Signaltransduktion über Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase	11
1.2.3	Die Rolle der Wachstumsfaktoren bei Krebs	11
1.2.3.1	PDGF-Wachstumsfaktor	11
1.2.3.2	c-Kit Rezeptor und Stammzell-Faktor (SCF)	12
1.2.3.3	Abelson Tyrosinkinase (c-Abl) und BCR-ABL Gen	12
1.2.3.4	FLT3 (<i>fms-like tyrosine kinase 3</i>)	13
1.3	Wirkstoffsynthese	13
1.3.1	Schwerpunkt dieser Arbeit	13
1.3.2	Protein Tyrosinkinase als Forschungsziel	14
1.3.2.1	Allgemeine Übersicht über Protein Tyrosinkinase Inhibitoren	15
1.3.2.1.1	Bekannte Leitstrukturen zur Hemmung von PTKs	15
1.3.2.1.2	Imatinib mesylate (STI571, Clivec [®])	17
1.3.2.1.3	Problematik der Tyrosinkinase Inhibition und Ausblick	18
2	Synthese neuer Tyrosinkinase Inhibitoren	19
2.1	Zielsetzung der Synthese	19
2.2	Leitstruktur-Definition und Modifikationen	19
2.3	Historischer Hintergrund zur Entwicklung von Imatinib	20
2.4	Literaturbekannte Synthese zur Darstellung von Leitstruktur (Imatinib)	21
2.5	Das Bioisosterie-Konzept und neuartige Tyrosinkinase-Inhibitoren	22
2.5.1	2-Arylamino-Imidazolderivate statt 2-Phenylaminopyrimidinderivat als potente Inhibitoren des PDGF-R	23

2.5.2 Untersuchungen zum Einfluss der „Flag-Methyl Gruppe“	23
2.6 Synthese der Arylamino-Imidazol Derivate	24
2.7 Synthese der Ausgangstoffe	26
2.7.1 Synthese von 2-Brom-1-phenylethanon (112)	26
2.7.2 Synthese von 2-Brom-1-pyridin-3-yl-ethanon Hydrobromid (113) und 2-Brom-1-pyridin-4-yl-ethanon Hydrobromid (114)	26
2.7.3 Synthese von 2-Ethyl-5-nitroanilin (108)	26
2.7.4 Synthese der Verbindungen 115 , 116 und 117	27
2.7.5 Synthese der Guanidinium Salze 118 , 119 und 120	27
2.7.6 Synthese der Verbindung 104	27
2.8 Synthese von substituierten Imidazolen	28
2.8.1 Literatur bekannte Synthese des substituierten Imidazols	28
2.8.2 Synthese von substituierten 2- <i>N</i> -Arylamino-4(5)arylimidazolen (121- 125)	30
2.8.3 Bildung der 2- <i>N</i> -Arylamino-4(5)arylimidazole	31
2.8.3.1 Reaktionsmechanismus	31
2.8.3.2 ¹ H-NMR-Spektroskopische Hinweise für die postulierten 2- <i>N</i> - Arylamino-4(5)arylimidazole	32
2.9 Synthese der Verbindungen 126-130	33
2.10 Synthese der Amide	34
2.10.1 Gruppe 1: Synthese der <i>N</i> -(4-Methyl-3-(4-phenyl-1 <i>H</i> -imidazol-2- ylamino-phenyl)-Amide	36
2.10.2 Gruppe 2: Synthese der <i>N</i> -(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1 <i>H</i> -imidazol-2- ylamino-phenyl)-Amide	36
2.10.3 Gruppe 3: Synthese der <i>N</i> -(3-(4-pyridin-3-yl)-1 <i>H</i> -imidazol-2-ylamino)- phenyl)-benzamide	37
2.10.4 Gruppe 4: <i>N</i> -(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1 <i>H</i> -imidazol-2-ylamino)-phenyl)- benzamide	38
2.10.5 Gruppe 5: <i>N</i> -(4-methyl-3-(4-pyridin-4-yl)-1 <i>H</i> -imidazol-2-ylamino)- phenyl)-benzamid	38
3 Biochemischer Teil	41
3.1 Protein-Tyrosinkinase-Test	41
3.1.1 Bekannte Tyrosinkinaseinhibitoren	41
3.1.2 Beschreibung des Testmodells für PDGF	41

3.1.3	Beschreibung des Testmodells für FLT3	43
3.1.4	Testergebnisse	44
3.1.5	Diskussion	46
4	Zusammenfassung	49
5	Experimenteller Teil	52
5.1	Allgemeine Angaben	52
5.2	Synthesevorschriften und analytische Daten	54
5.2.1	Synthese von 2-Brom-1-phenylethanon (112) aus Acetophenon (109)	54
5.2.2	α -Bromierung von substituierten Acetylpyridinen	54
5.2.2.1	Allgemeine Synthesevorschrift	54
5.2.3	Nitrierung von 2-Etylanilin (107)	55
5.2.4	Synthese von substituierten Nitroanilin Hydrochloriden	56
5.2.4.1	Allgemeine Synthesevorschrift	56
5.2.5	Synthese von N-substituierten (Nitrophenyl)-Guanidinium Nitraten	57
5.2.5.1	Allgemeine Synthesevorschrift	57
5.2.6	Synthese von substituierten 2-N-Arylamino-4(5)arylimidazolen	59
5.2.6.1	Allgemeine Synthesevorschrift	59
5.2.7	Reduktion der Nitro-Gruppe unter katalytischen Bedingungen	61
5.2.7.1	Allgemeine Synthesevorschrift	61
5.2.8	4-(4-Methylpiperazinomethyl)benzoesäure Dihydrochlorid (103)	65
5.2.8.1	4-(4-Methylpiperazinomethyl)benzoesäurechlorid Dihydrochlorid (104)	65
5.2.9	Synthese der Amide 131-156	65
5.2.9.1	Amidierung der Arylamine	66
6	Literaturverzeichnis	82
Teil II: Neue Indol-Derivate: Synthese und biologische Prüfungen		
1	Einleitung	96
1.1	Infektionskrankheiten	96
1.1.1	Definition, Daten und Fakten	96
1.2	Antiinfektiva / antimikrobielle Chemotherapeutika	97
1.2.1	Definitionen und Grundlagen	97

1.3 Bakterien	98
1.3.1 Definition und Stammgeschichte	98
1.3.2 Genereller Aufbau und Lebensweise	99
1.3.3 Gram Färbung	100
1.3.4 Bedeutung in Ökologie und Industrie	102
1.3.5 Pathogene Bakterien	103
1.4 Antibiotika	104
1.4.1 Allgemeines	104
1.4.2 Historischer Hintergrund und Geschichte der Antibiotika	104
1.4.3 Wirkmechanismus der Antibiotika	106
1.4.3.1 Hemmstoffe der Bakterienzellwand-Biosynthese	107
1.4.3.2 Hemmstoffe der Plasmamembran-Funktion	108
1.4.3.3 Hemmstoffe der ribosomalen Proteinbiosynthese	108
1.4.3.3.1 Blockierung der Initiationsphase	108
1.4.3.3.2 Blockierung der Elongationsphase	109
1.4.3.4 Antibiotika mit Wirkung auf Nucleinsäuren	110
1.4.3.5 Hemmstoffe der Folsäure-Biosynthese (Antimetabolite)	111
1.4.4 Antibiotika Resistenz	111
1.4.4.1 Allgemeines	111
1.4.4.2 Mechanismen der Resistenzentwicklung	112
1.4.4.3 Resistenz als Problematik der Antibiotika-Therapie	113
1.4.5 Der dringende Bedarf für neue Antibiotika	114
1.4.6 Strategien für Entdeckung und Entwicklung neuer Antibiotika	114
2 Synthese neuer Indol-Derivate	116
2.1 Leitstrukturübersicht	116
2.2 Einleitung und Problemstellung	117
2.3 Synthesen	118
2.3.1 Syntheseplanung	118
2.3.2 Synthese der Ausgangsstoffe	120
2.3.2.1 Synthese von 2-Brom-1-(4-methoxyphenyl)-1-ethanon (157)	120
2.3.2.2 Synthese von TBS-geschütztem 3,4-Dibromopyrrol-2,5-dion (159)	120
2.3.3 Literaturbekannte Indolsynthesen	120
2.3.3.1 Synthese von 2-(4-Methoxyphenyl)-1 <i>H</i> -Indol (160)	121

2.3.4	Kondensation der 2-substituierten Indole mit 159	122
2.3.5	Entschützung der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide	123
2.3.6	Untersuchungen zum Einfluss der Substitution der Imid-N-Position	123
2.3.7	Substitution von Brom bei Verbindung 162 durch N- oder S-Nucleophile	124
3	Biochemischer Teil	127
3.1	Prüfung auf antimikrobielle Aktivität	127
3.1.1	Resistenzentwicklung	127
3.1.2	Infektionen, verursacht durch einige der untersuchten Bakterien- und Pilzstämmen	127
3.1.2.1	<i>Escherichia Coli</i> -Infektionen	127
3.1.2.2	<i>Pseudomonas</i> -Infektionen	128
3.1.2.3	<i>Staphylococcus aureus</i> -Infektionen	128
3.1.2.4	<i>Enterococcus</i> -Infektionen	128
3.1.2.5	<i>Candida albicans</i> -Infektionen	128
3.1.3	Beschreibung des Testmodells (Agar-Diffusionstest)	129
3.1.4	Testergebnisse	131
3.1.5	Diskussion	135
3.2	Proliferations- / Zytotoxizitätstest	136
3.2.1	Beschreibung des Testmodells	136
3.2.1.1	Proliferationsassay	137
3.2.1.2	Zytotoxizitätsassay	138
3.2.2	Das Prinzip der Assays	138
3.2.2.1	CellTiter-Blue [®] Assay (Cell viability assay)	138
3.2.2.2	Methylenblau Assay	138
3.2.3	Eingesetzte Zelllinien	139
3.2.4	Testergebnisse	140
3.2.5	Diskussion	140
3.3	Prüfung auf antiinflammatorische Aktivität	141
3.3.1	Entzündung	141
3.3.2	Testsysteme	142
3.3.2.1	Xanthin-Oxidase Test	143
3.3.2.2	Horse-Radish Peroxidase Test	144
3.3.2.3	3 α -Hydroxysteroiddehydrogenase Test	144

3.3.3 Ergebnisse und Diskussion	145
4 Zusammenfassung	148
5 Experimenteller Teil	151
5.1 Allgemeine Angaben	151
5.2 Synthesevorschriften und analytische Daten	151
5.2.1 Synthese neuer Indolderivate	151
5.2.1.1 Synthese von 2-Brom-1-(4-methoxyphenyl)-1-ethanon (157) aus 4-Methoxyacetophenon (157a)	151
5.2.1.2 Synthese von 2-(4-Methoxyphenyl)-1 <i>H</i> -Indol (160) aus 157 und Anilin (160a)	151
5.2.1.3 Synthese von 1-(tert-Butyl-dimethyl-silanyl)-3,4-dibrom-2,5- dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-2,5-dion (159)	152
5.2.1.4 Kondensation der 2-substituierten Indole mit 159	153
5.2.1.4.1 Allgemeine Synthesevorschrift	153
5.2.1.5 Entschützung der Silyl-geschützten Indol-maleinimide	155
5.2.1.5.1 Allgemeine Synthesevorschrift	155
5.2.1.6 Substitution der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide	157
5.2.1.6.1 Allgemeine Synthesevorschrift	157
5.2.1.7 Substitution von Brom bei Verbindung 162 durch N- oder S- Nucleophile	171
6 Literaturverzeichnis	181
Abkürzungsverzeichnis	199

Teil-I

Neue Imidazol-Derivate

Synthese und biologische Prüfungen

1 Einleitung

1 Einleitung

1.1 Tumorerkrankungen

1.1.1 Definition und Statistische Daten

Krebs ist eine genetisch bedingte Erkrankung, die sich auf Veränderungen in bestimmten Genen zurückführen lässt.^[1] Diese Erkrankung ist eine führende Todesursache weltweit. Auf diese Krankheit entfielen 7.4 Millionen Todesfälle (rund 13% aller Todesfälle weltweit) im Jahr 2007. Die wichtigsten Arten von Krebs, die hierbei jedes Jahr zur Krebssterblichkeit führen, sind im Einzelnen: Lunge 1.4 Millionen Todesfälle; Magen 866.000; Leber 653.000; Dickdarm 677.000 und Brust 548.000. Über 72% aller Krebs-Todesfälle traten im Jahr 2007 in Ländern mit niedrigen und mittleren Einkommen auf. Nach Einschätzung der WHO werden die Todesfälle durch Krebs weltweit weiter steigen, auf geschätzte 12 Millionen Todesfälle im Jahr 2030. Die häufigsten Arten von Krebs weltweit (in der Reihenfolge der Anzahl der weltweiten Todesfälle) sind: unter Männern: Lunge, Magen, Leber, Dickdarm, Speiseröhre und Prostata; Unter Frauen: Brust, Lungen, Magen, Gebärmutterhals und Dickdarmkrebs.^[2] Nach den Herz- und Kreislauferkrankungen ist Krebs in den Industriestaaten^[3] zur zweit häufigsten Todesursache geworden (Abb. 1).

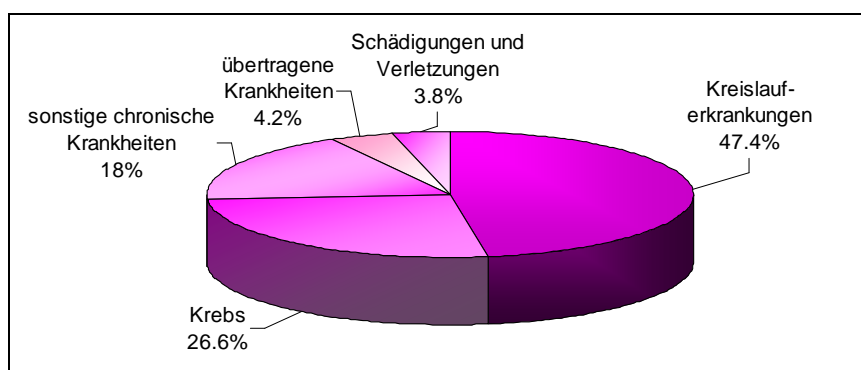


Abb. 1: Häufigste Todesursachen 2005 (geschätzt)

1.1.2 Entstehung von Tumoren

Krebs entsteht aus einer defekten Zelle, die beginnt, sich ungebremst zu teilen. So kommt es zur Tumorbildung und zu schrankenlosem Tumorwachstum, das allmählich das gesunde Gewebe zerstört. Außerdem siedeln die meisten Tumore frühzeitig

Zellen über den Blut- und Lymphweg auch in weit entfernte Organe ab, wo sie Tochtergeschwülste (Metastasen) bilden. Zellteilung findet in jedem Organismus statt. Damit sie kontrolliert abläuft, ist eine Vielzahl von Genen an der Steuerung dieser Vorgänge beteiligt. Stark vereinfacht dargestellt, wird die Zellteilung durch sog. Proto-Onkogene gefördert, durch Tumorsuppressorgene (z. B. p16 und p53, die für negative Wachstumsfaktoren kodieren^[4]) unterdrückt. Beide stehen bei einer Zellteilung in ausgeklügelter Balance. Ist aber einer der beiden Gegenspieler defekt - z.B. kann aus einem Proto-Onkogen durch Mutation ein Onkogen werden -, gerät das System aus der Balance, und die Zelle beginnt, sich ungehemmt zu teilen (Abb. 2 und 3). Derartige genetische Defekte treten sogar relativ häufig auf, werden aber meist durch ein äußerst effektives körpereigenes Reparatursystem, sog. Reparaturgene, wieder korrigiert. Ist dieses nicht in der Lage, den Schaden zu beheben, tritt normalerweise der programmierte Zelltod (Apoptose) ein, d.h., genetische Signale lösen die Vernichtung der defekten Zelle aus. Aber auch diese Sicherungssysteme können geschädigt und verändert werden, so dass sie ihre Wirkung nicht mehr entfalten können. Dann kommt es zur ungebremsten Teilung einer defekten Zelle, zur Tumorbildung^[4-7] (Abb. 3).

Für die beschriebenen Gendefekte, die zur Krebsentstehung führen, sind Mutationen verantwortlich, die die Erbsubstanz in einer Zelle verändern. Solche Mutationen können ohne äußere Ursache bei der normalen Zellteilung auftreten, werden aber in weit größerem Umfang durch verschiedene äußere Einflüsse ausgelöst, die aufgrund ihrer krebserzeugenden Wirkung als Kanzerogene bezeichnet werden. Es lassen sich im Wesentlichen drei Gruppen von Kanzerogenen unterscheiden: chemische Substanzen, Viren und Strahlen^[7] (Abb. 3).

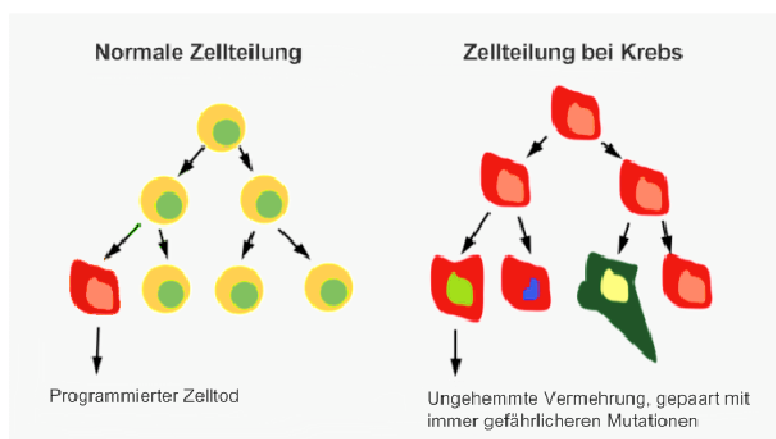


Abb. 2: normale Zellteilung im Gegensatz zu unkontrollierter Zellteilung

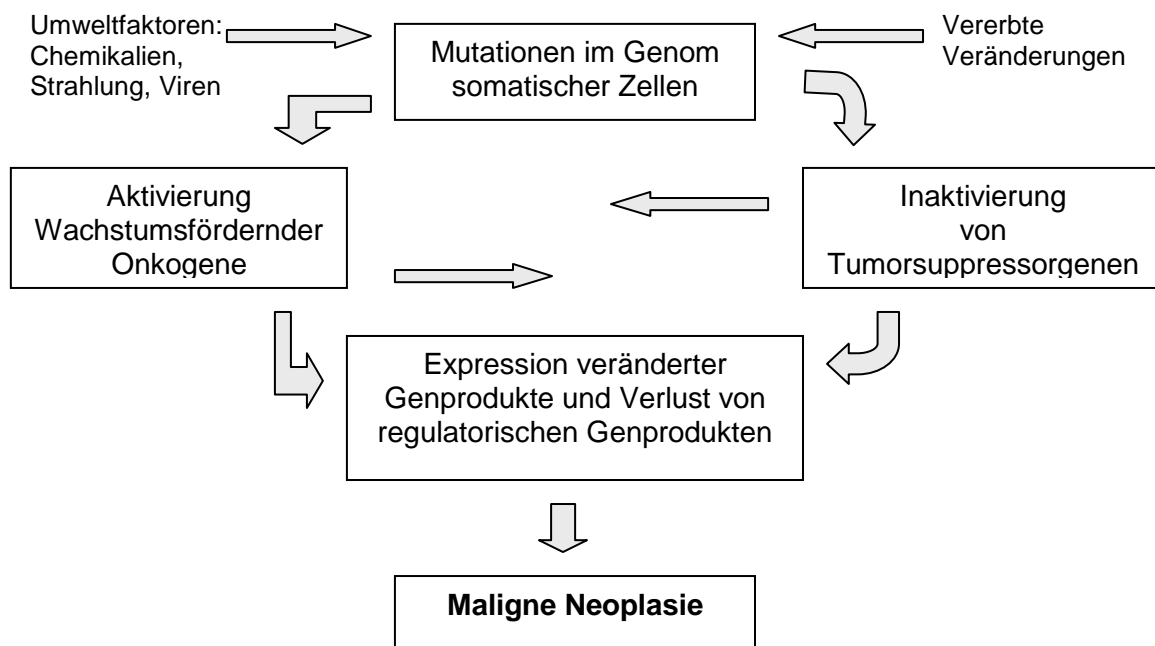


Abb. 3: Rolle von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen für die Entstehung maligner Tumoren

1.1.3 Methoden der Krebstherapie

Die Therapien des Krebs zielen entweder auf die Entfernung oder Zerstörung des gesamten Tumorgewebes (Kurative Therapie) oder, wenn dies nicht mehr möglich ist, auf die Verkleinerung des Tumorgewebes mit dem Ziel, die tumorbedingten Beschwerden zu reduzieren (Palliative Therapie). Die wichtigsten Behandlungsmethoden bei Krebs sind: chirurgische Tumorentfernung, Strahlentherapie, in der das Tumorgewebe mit ionisierender Strahlung zerstört wird, und Chemotherapie mit Zytostatika. Verschiedene Chemotherapeutika können kombiniert werden, und die Kombination aller drei Methoden ist ebenfalls möglich.

Die Chemotherapeutika greifen in grundlegende biochemische Prozesse ein und schädigen neben den Tumorzellen auch gesunde Zellen. Auf Grund hoher Toxizität der Zytostatika kommt es als Folge zu starken Nebenwirkungen an normalen Geweben mit hoher Proliferationsrate wie Alopezie, Leuko- und Thrombopenien und Störung der Ovulation und Spermatogenese. Eine erhöhte Infektionsgefahr durch die Schwächung des Immunsystems und eine Induktion von Sekundärtumoren während der Therapie mit Zytostatika können ebenfalls entstehen. Nach ihrem Wirkmechanismus lassen sich Zytostatika in mehrere Gruppen einteilen. Zusätzlich unterscheidet man nach ihrem Eingriffspunkt in den Zellzyklus zwischen

phasenspezifischen und phasenunspezifischen Chemotherapeutika (s. Kap. 1.2.1).^[8-10]

- 1 Alkylantien:** Alkylantien sind die ältesten Zytostatika. Sie können Alkylgruppen auf die DNA übertragen. Da die Alkylantien mit zwei oder mehr funktionellen Gruppen versehen sind, können sie zwei DNA-Stränge vernetzen und dadurch verhindern, dass diese während der Zellteilung korrekt verdoppelt werden. Die Wirkung beruht also auf einer Hemmung der DNA-Replikation und -Transkription. Ihre Wirkung ist phasenunspezifisch. Alkylantien sind hoch reaktive und häufig bifunktionelle Verbindungen, zu ihnen zählen die *N*-Lost-Derivate (z. B. Cyclophosphamid), *N*-Nitrosoharnstoffderivate (z. B. Carmustin), Aziridine (z. B. Thiotepa), und Pt-Komplexe (z. B. Cisplatin, Carboplatin).
- 2 Antimetabolite:** Antimetabolite besitzen ähnliche Strukturen wie natürliche Stoffwechselbausteine. Aufgrund ihrer Affinität zu Enzymen der Biosynthese von Nukleinsäurebasen werden sie als falsche Bausteine in die DNA und RNA eingebaut oder verhindern den Einbau der korrekten Bausteine und stören so die Zellteilung und den Stoffwechsel. Unterschieden wird zwischen Folsäure- (z.B. Methotrexat), Pyrimidin- (z. B. 5-Fluorouracil) und Purin-Analogen (z. B. Mercaptopurin); die drei Gruppen wirken phasenspezifisch in der S-Phase des Zellzyklus.
- 3 Mitosehemmstoffe:** Zytostatika dieser Gruppe wirken durch Blockade der M-Phase des Zellzyklus, sie binden an Tubulin, ein Eiweißmakromolekül, welches zur Zellteilung notwendig ist, und verhindern den Auf- oder Abbau der Kernspindeln. Dazu gehörende phasenspezifische Zytostatika sind Vinca-Alkaloide und Taxane.
- 4 Zytostatisch wirksame Antibiotika:** Manche Antibiotika mit zytotoxischen Eigenschaften, die nicht in der Therapie von bakteriellen Infektionen eingesetzt werden können, sind die Gruppe der Anthracycline (z. B. Daunorubicin) und auch Actinomycine, Mitomycine und Bleomycin. Sie beeinflussen vor allem die S-Phase des Zellzyklus, und ihre Wirkmechanismen reichen von der Bildung freier Radikale über die DNA-Interkalation bis zur Topoisomerasenhemmung.
- 5 Hormone:** Hierbei handelt es sich nicht um Zytostatika im eigentlichen Sinne. Hormone und deren Antagonisten können mit Erfolg bei solchen Tumoren eingesetzt werden, deren Wachstum hormonabhängig ist, wie z. B. bei Prostata-, Mamma- und Ovarkarzinomen. Besondere Bedeutung haben hier Östrogene und

Antiöstrogene (z. B. Tamoxifen), Gestagene, Antiandrogene und Glucocorticoide. Hormone und ihre Antagonisten werden auch in Kombination mit anderen Zytostatika verabreicht.

- 6 Sonstige Zytostatika:** Zu dieser Gruppe zählen Enzyme (z.B. Asparagenase), Retinoide, Hydroxyharnstoff, Proteasom-Inhibitoren (z. B. Bortezomib) und Tyrosinkinase-Inhibitoren (z. B. Imatinib, Erlotinib).

Mit Chemotherapeutika können viele Krebsarten nur schlecht bekämpft werden, da die Krebsarten gegenüber diesen Wirkstoffen entweder resistent sind oder im Laufe der Therapie resistent werden. Dabei besteht die Resistenz meist gegenüber einer großen Vielzahl von Chemotherapeutika (so genannte Multidrug-Resistenz).^[11] Ein weiteres Problem für die Chemotherapie sind biologische Barrieren. Hirntumore sind beispielsweise aufgrund der Blut-Hirn-Schranke für hydrophile Pharmaka nicht zugänglich.^[12]

1.1.4 Neuartige Therapie Strategien

Der Einsatz der Chemotherapie zur Behandlung von Krebs begann zu Beginn des 20. Jahrhunderts. In der Folge wandelte sich die Chemotherapie, da zunehmend Abweichungen auf molekularer Ebene sowohl zum Screening potentieller neuer Wirkstoffe als auch zur zielgerichteten Therapie herangezogen wurden.^[13]

Mit dem Beginn dieses Jahrhunderts rückten zunehmend die Entdeckung neuer Ziele sowie neue Strategien zur Entwicklung von Arzneimitteln, die eine gezielte Behandlung von Krebs ermöglichen, in den Mittelpunkt des Wissenschaftlichen Interesses. Einerseits, um die Problematik der Nebenwirkungen einzudämmen, und andererseits, um die Effizienz der Behandlung zu erhöhen.

Im Zuge dieser Forschungen wurden einige therapeutische Ziele für die Entwicklung der Krebs-Chemotherapien erforscht. Als exemplarische Targets sind hierbei Protein-Kinasen, die Angiogenese, der Zell-Zyklus einschließlich seiner Phasen (s. Kap. 1.2.1), Apoptose-modulierende Faktoren sowie die Farnesyltransferase zu nennen.^[14, 15]

Andere Strategien, die berücksichtigt werden müssen, sind die Entwicklung von Immuntherapie und Gen-Therapien als Folge der Resistenzen gegen Tumor-Chemotherapie und Strahlung.^[16]

Neuartige Krebstherapien, die direkt gegen molekulare Veränderungen bei Neoplasien gerichtet sind, z. B. *Molecular Optical Imaging of Therapeutic Targets of Cancer*, zeigen signifikante Verbesserungen, sowohl bezüglich der Rückfallraten als auch hinsichtlich einer geringeren Toxizität im Vergleich mit konventionellen Zytostatika, die keine Spezifität für Tumorzellen aufweisen.^[17]

Diese alternativen therapeutischen Ansätze werden intensiv erforscht, weil sie möglicherweise Tumor-spezifischer und besser verträglich als die herkömmlichen Therapien sind.

In den folgenden Kapiteln der Einleitung wird genauer auf die Signaltransduktion eingegangen, da die in dieser Arbeit synthetisierten Aminoimidazol-Derivate entsprechende Aktivitäten aufweisen.

1.2 Signaltransduktion und Krebs

1.2.1 Der Zellzyklus

Während der Entwicklung von Stammzellen eukaryotischer Zellen zu vollständig differenzierten Zellen findet ein stetiger Wechsel zwischen Zellteilung (Mitose) und augenscheinlichem Ruhen der Zellen (Interphase) statt. Diese zyklische Abfolge wird Zellzyklus genannt (Abb. 4).

Der Zeitraum zwischen den Mitosephasen ist die Interphase, in dem sich die inaktiven mitotischen Chromosomen im Kern von einem hoch verdichteten Zustand zu einer locker strukturierten Form lösen. Vor der S-Phase gibt es eine G1-Phase, in der sich die Zelle auf die S-Phase vorbereitet. In der späten G1-Phase existiert ein Restriktionspunkt (R), der als zelleigener Kontrollmechanismus dient und die Proliferation permanent überwacht. Nach Abschluss der S-Phase, in der das Genom vollständig dupliziert wird, schreitet der Zyklus zur zweiten „Lücke“ des Zyklus (G2-Phase) fort, in der sich die Zelle für die Mitose vorbereitet. In der Mitose (M-Phase) verdichtet sich die replizierte DNA zu kompakten Chromosomen, und die Mitose kulminiert in der Trennung der beiden Tochter-Zellen, ein Prozess, der als Cytokinese bezeichnet wird. Beide Tochterzellen leiten dann sofort wieder die G1-Phase ein, so dass der Zellzyklus erneut beginnen kann.^[18, 19]

Wenn die Zelle keine mitogenen Signale von Zytokinen und/oder Wachstumsfaktoren in der frühen G1-Phase erhält, ist der Zyklus gestoppt, und die Zelle befindet sich in einer Ruhephase (G0-Phase), in der keine Zellteilung stattfindet, oder sogar der

spontane Zelltod (Apoptose) induziert werden kann. Ob ein Fortfahren im Zellzyklus anregt wird oder nicht, entscheiden die an der Zelloberfläche befindlichen Rezeptoren, die Zyklus erhaltende, wachstumsfördernde oder –hemmende Signale vermitteln. Diese Signale werden daraufhin durch Übermittlungsproteine in einer Signaltransduktionskaskade zum Zellkern weitergeleitet.

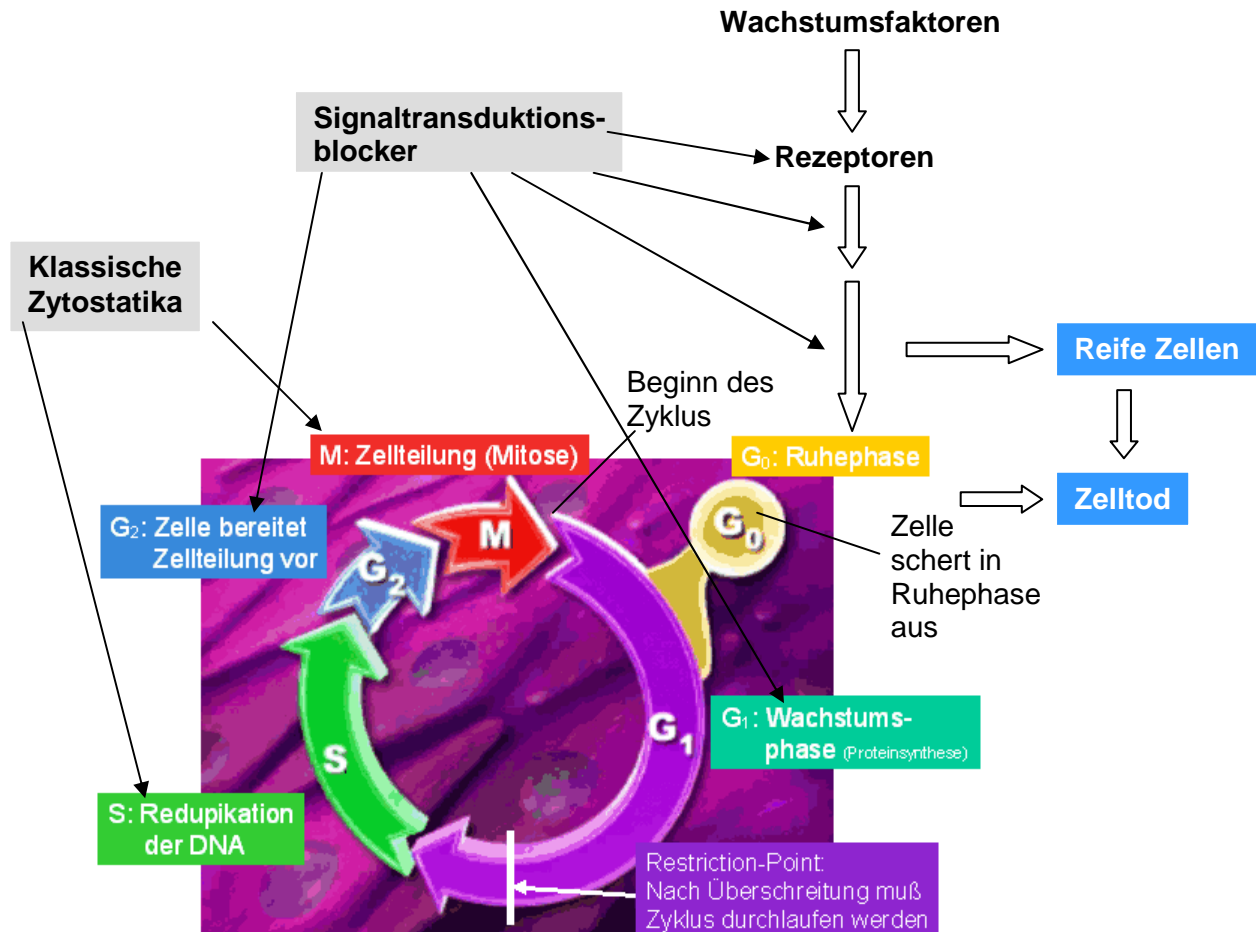


Abb. 4: Zellzyklus eukaryotischer Zellen und mögliche Angriffspunkte
G: gap, M: Mitose, S: Synthese

Dort wird über wechselwirkende Proteine bestimmt, ob die stimulativen oder inhibitorischen Signale überwiegen.^[19] Auch der Eintritt in die einzelnen Phasen des Zyklus wird von der Konzentration bestimmter Proteine, der sog. Cycline und Cyclin-abhängigen Kinasen (CDKs) eingeleitet. Die Cycline selbst werden von Inhibitorproteinen, wie dem Tumorsuppressor p53, überwacht. Dieses Überwachungssystem, das bei korrekter Funktion die Tumorentstehung unterdrückt, ist jedoch wegen der zentralen Kontrolle anfällig für Störungen. Mutationen u. a. der kodierenden Gene (z.B. Tumorsuppressorgen p53) führen zum Verlust der Kontrolle über den Zellzyklus.^[20] Die meisten Onkogene kodieren für Proteine, die bei der Zellteilung besonders wichtig sind. Zu diesen Proteinen zählen Cycline,

Transkriptionsfaktoren, Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren, Tyrosinkinasen sowie Ras-Proteine und Adaptermoleküle. Außer für die Entstehung von Krebs werden Störungen in der zelluläre Überwachung auch für andere Krankheiten im Zusammenhang mit einer Zellhyperproliferation verantwortlich gemacht, wie z. B. Atherosklerose, pulmonale Fibrose und Psoriasis.^[21]

1.2.2 Signaltransduktionskaskade der Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK)

Rezeptor Tyrosinkinasen sind Membranständige Zelloberflächen Rezeptoren, bestehend aus einer extrazellulären Ligand-bindenden Domäne, einer einzigen Transmembran-durchgängigen α -Helix und einer intrazellulären Domäne mit einem Proteinkinase-Kern. Dieser katalysiert die Übertragung der γ -Phosphatgruppe auf die C-terminalen Domänen und die Tyrosin-Reste von exogenen Substraten.^[22, 26, 27] Etwa 20 verschiedene RTK-Klassen wurden identifiziert^[23], die auch als Adressaten für die Entwicklung von Antitumorwirkstoffen eine große Rolle spielen. Auf Grund ihrer strukturellen Eigenschaften und Ligand-Affinität als mögliche Targets eingestuft, sind z. B. die Rezeptoren für den Epidermalen Wachstumsfaktoren (*epidermal growth faktor = EGF*), den Plättchen-stimulierende Wachstumsfaktor (*platelet-derived growth faktor = PDGF*), und den Vaskulären Endothelialen-Wachstumsfaktor (*vascular endothelial growth faktor = VEGF*).

1.2.2.1 Aktivierung der Rezeptor-Tyrosinkinasen

Um Rezeptor-Tyrosinkinasen aktivieren zu können, müssen in der Regel mindestens zwei Rezeptormoleküle durch die Bindung des Liganden in räumliche Nähe zueinander gebracht werden. Die Ligandbindung induziert in den Rezeptormolekülen Konformationsänderungen, die die intrazellulären Tyrosinkinase-Domänen aktivieren, was zunächst zu einer Phosphorylierung der Kinasedomänen an Tyrosinresten führt. Dadurch wird die Tyrosinkinase Aktivität des Rezeptors weiter aktiviert.^[24, 27]

Anschließend werden andere ausgewählte Tyrosinreste der Aktivierungsschleife an der zytoplasmatischen Domäne des Rezeptors phosphoryliert. Die Phosphotyrosinreste können am Rezeptor von Adapter-Proteinen, die selbst keine Signalmoleküle sind, über ihre SH2-Domänen (sarcoma homology 2)^[28] hochspezifisch gebunden und dort selbst an Tyrosinen phosphoryliert werden, so dass sie als *Docking-Partner* für weitere Proteine mit SH2 Domänen dienen können.

Ein solcher Multiprotein-Signalkomplex kann mehrere *Down-stream*-Signalkaskaden aktivieren (Abb. 5 und 6).^[24, 27, 29]

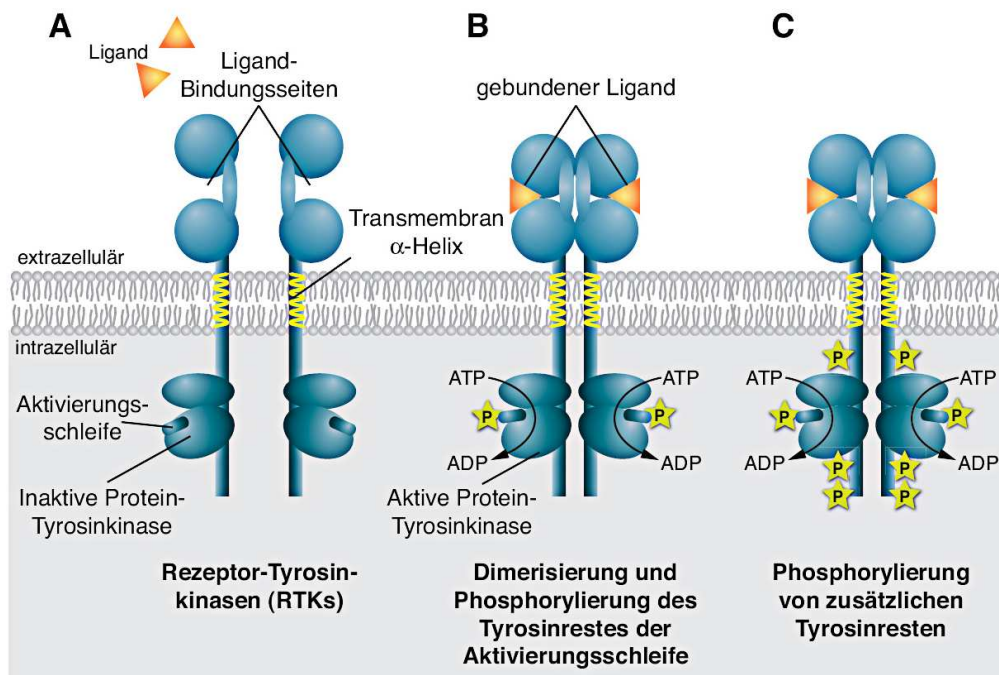


Abb. 5: Aktivierung eines Tyrosinkinase Rezeptors^[39]

1.2.2.2 Rezeptor-Tyrosinkinase / RAS / MAP-Signaltransduktionskaskade

Ein prominentes Beispiel der Signaltransduktionskaskade der Rezeptor-Tyrosinkinasen ist die Aktivierung von Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPKs) durch die GTPase Ras (abgeleitet von rat sarcoma). MAPKs sind die *Downstream-Effektoren* einer aktivierten Rezeptor-Tyrosinkinase, ihre Signalwege können aber auch durch andere Rezeptortypen, z. B. GPCRs aktiviert werden. Jeder MAPK-Weg besteht aus drei jeweils miteinander verwandten, sequenziell arbeitenden Kinasen.^[25] Nach der Phosphorylierung einer Rezeptortyrosinkinase wird das Adapter-Protein Grb2 über seine SH2-Domäne an den Rezeptor gebunden. Grb2 erkennt durch seine zwei SH3 Domänen ferner prolinreiche Sequenzen in einem weiteren Adapter-Protein (Sos). Der Grb2 / Sos-Komplex gilt als Guaninnucleotid-Austauschfaktor (GEF) und wechselwirkt mit der GDP-bindenden Form des membranassoziierten Rasproteins. Ras-GEF beschleunigt den Austausch von GDP gegen GTP an Ras. Aktives Ras-GTP katalysiert die Aktivierung einer Serin / Threonin Proteinkinase (MAPK-Kinase-Kinase) wie z. B. Proteinkinase Raf (Abb. 6). Raf aktiviert MAPK-Kinasen wie z. B. MEK (von MAP und ERK, extracellular signal regulated kinase). MAPKKs sind ungewöhnliche Proteinkinasen,

die Substratproteine sowohl an Threonin (Thr) als auch an Tyrosin (Tyr) phosphorylieren können. Jede MAPKK kann durch mehrere MAPKKK^[24, 29] aktiviert werden, was die Komplexität und den *Crosstalk* zwischen verschiedenen Signalwegen enorm erhöht. MAPKs wie ERK sind wiederum Serin / Threonin-Proteinkinasen und benötigen die gleichzeitige Phosphorylierung an Threonin und Tyrosin für ihre volle Aktivierung. Die aktivierte MAP-Kinase phosphoryliert und aktiviert nun einerseits weitere Kinasen, wie die ribosomalen S6-Kinasen, andererseits diffundiert sie in den Zellkern und phosphoryliert dort Transkriptionsfaktoren, z.B. den ternären Komplexfaktor TCF, die dadurch aktiviert werden und die Expression der entsprechenden Gene auslösen.^[24, 25, 27-29, 32-37, 44]

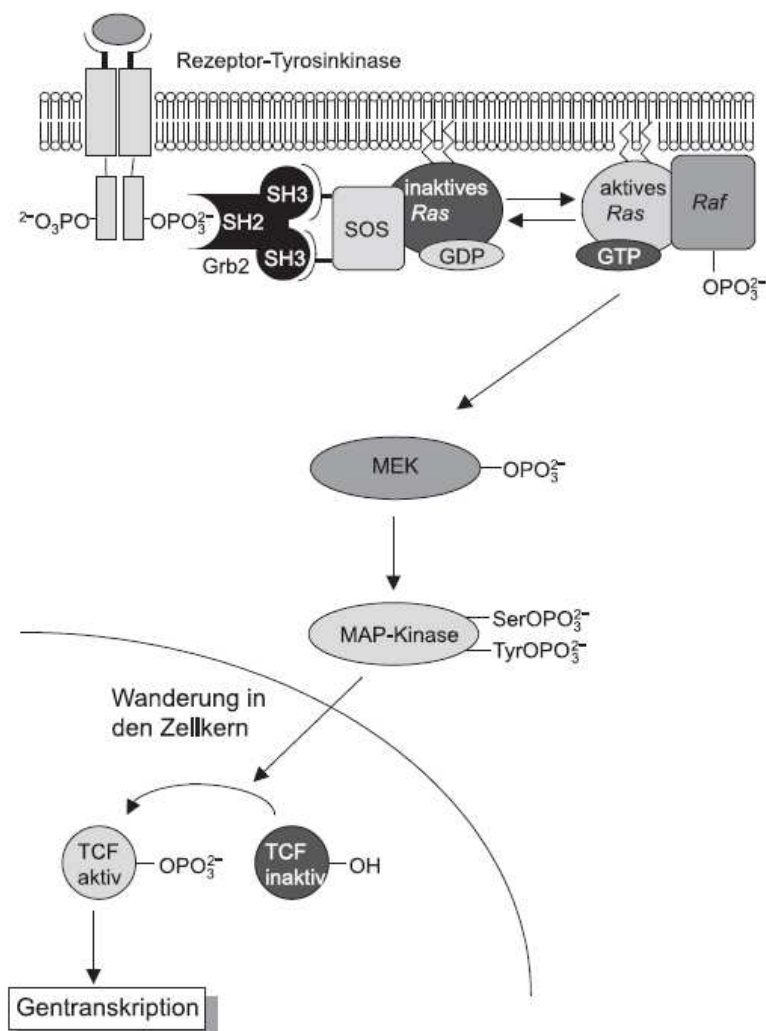


Abb. 6: Signaltransduktion über Rezeptor-Tyrosinkinasen nach Waldmann et al.^[29]
 (Grb2: growth factor receptor binding protein 2; SOS: son of sevenless, benannt nach einer *Drosophila*- Mutante; Raf: zytosolische Serin/Threonin- spezifische Proteinkinase; MEK: von MAP und ERK, extracellular signal regulated kinase)

1.2.2.3 Signaltransduktion über Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen (c-Src)

Die oben erklärte Ras-Kaskade kann auch über Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen (NRTKs)^[32], z. B. c-Src, angeschaltet werden, die an der zytosolischen Seite der Plasmamembran lokalisiert sind und über keine extrazelluläre Domäne verfügen.^[30, 31] So erkennt c-Src über eine SH2-Domäne den durch Autophosphorylierung aktivierten PDGF-Rezeptor, der keine Grb2-Bindungsstelle (vergl. Abb. 6) enthält. c-Src phosphoryliert dann das Adapter-Protein Shc an einem Tyrosinrest und bildet so eine Bindungsstelle für den Grb2/Sos-Komplex (s. Abb. 6), der nachfolgend Ras aktiviert und damit das Signal weiterleitet^[29, 32] (Abb. 7).

Die Ras-Signaltransduktionskaskade (s. Auch Kap. 1.2.2.2) ist physiologisch von außerordentlicher Bedeutung. Besonders wichtig ist sie für die Regulierung von Zellwachstum und -differenzierung, und eine Fehlregulierung dieses Signalpfades kann einer der entscheidenden Schritte bei der Transformation von Zellen sein. Der Ras-Weg ist in verschiedenen Spezies hoch konserviert. Von Einzellern wie Hefepilzen und Säugetieren wie dem Menschen werden seine Elemente nach dem gleichen Muster zur Weiterleitung von Wachstumssignalen benutzt.^[29, 33-37]

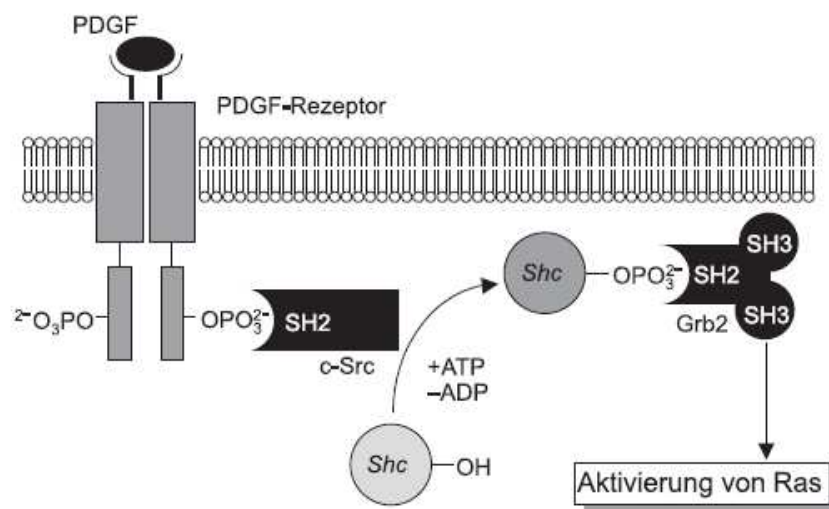


Abb. 7: Signaltransduktion über Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen nach Waldmann et al.^[29]

1.2.3 Die Rolle der Wachstumsfaktoren bei Krebs

1.2.3.1 PDGF-Wachstumsfaktor

PDGF ist ein potenter Stimulator des Zellwachstums und der Motilität für eine Vielzahl von Zellen mesenchymaler Herkunft^[38], wie Fibroblasten, vaskulären glatten

Muskelzellen und Gehirnzellen (Gliazellen) und steht für eine Familie von vier Wachstumsfaktoren (PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C und PDGF-D). Sie alle sind Dimere, die aus zwei durch eine Disulfid-Brücke verknüpften Polypeptid-Ketten aufgebaut sind. Es gibt Homodimere oder Heterodimere.^[39-43] Für die PDGFs liegen PDGF-Rezeptoren (PDGFR- α und PDGFR- β) vor, die zur Klasse III der Rezeptor-Tyrosinkinasen gerechnet werden und zusammen mit ihren Liganden durch Signalweiterleitung (s. Kap. 1.2.2.2) eine wichtige Rolle bei Embryogenese, Zellproliferation, Zellmigration, Wundheilung und Angiogenese spielen.^[21, 39, 54] Eine fehlerhafte PDGF-Rezeptoraktivierung kann folglich zu den verschiedensten Krankheitsbildern führen. Bei Tumorerkrankungen reicht dies von der autokrinen Aktivierung vorhandener PDGF-Rezeptoren durch fehlerhaft exprimiertes PDGF in menschlichen Gliomzellen^[45-48] bis zur ligandunabhängigen Aktivierung des PDGF β -Rezeptors mit dem „TEL-PDGFR *fusion protein*“^[49] in menschlichen Tumorzellen der chronischen myelomonozytischen Leukämie.^[40-52] In anderen Formen menschlicher Krebserkrankungen dürfte vom Tumor freigesetztes PDGF bei der Stimulation von Stromazellen und der Angiogenese beteiligt sein und damit indirekt das Tumorwachstum fördern.^[43, 53-56]

1.2.3.2 c-Kit Rezeptor und Stammzell-Faktor (SCF, *Stem Cell Factor*)

Das Proto-Onkogen c-Kit kodiert für einen Transmembran-Typ-III-Tyrosinkinase-rezeptor (c-KIT, CD117, SCFR), der eine umfangreiche Homologie mit anderen Mitgliedern dieser Tyrosinkinase-Rezeptor Familie, wie z. B. PDGFR zeigt. Kit und sein Ligand, der Stammzell-Faktor (SCF) (auch „*steel factor*“ genannt) sind sehr wichtig für Entwicklung und Erhalt der hämatopoetischen Stammzellen, Mastzellen, Melanozyten und interstitiellen Cajal-Zellen^[57] im Verdauungstrakt, die auf ihrer Oberfläche Kit exprimieren. Überexprimierung und/oder Punkt-Mutationen in der katalytischen Domäne des Tyrosinkinase-Kits führen zur konstitutiven Aktivierung des Kits in Abwesenheit von SCF. Solche Mutationen wurden bei gastrointestinalen Stromatumoren (GISTs)^[58], chronischer myeloischer Leukämie (CML) und in menschlichen Mastzellentumoren identifiziert.^[59-65]

1.2.3.3 Abelson Tyrosinkinase (c-Abl) und BCR-ABL Gen

Abelson Tyrosinkinase (Abl) ist eine Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase, die an Zellwachstum und -proliferation beteiligt sind.

Der zytogenetische Marker der chronischen myeloischen Leukämie ist das Philadelphia Chromosom, das als Resultat der wechselseitigen Translokation und der Konjugation des Bruchstelle Cluster-Region-gens (BCR, *Breakpoint Cluster Region*) auf Chromosom 22 und des Abelson (ABL) Kinase Gens auf Chromosom 9 entsteht.

Die konstitutive aktive Tyrosinkinase Bcr-Abl aktiviert zahlreiche Signaltransduktionswege, die zu unkontrollierter Zellproliferation und schließlich zur Tumorbildung führen.^[67, 68, 80, 93]

1.2.3.4 FLT3 (Flk2*, STK1**)

FLT3 (*fms*^{***}-like tyrosine kinase 3) ist strukturell eng verwandt mit der PDGF-Rezeptor Tyrosinkinase und c-Kit aus der Klasse III der Rezeptor-Tyrosinkinasen.

FLT3 und ihr Ligand (FL) sind Regulatoren der normalen Hämatopoese. FLT3 ist überexprimiert in verschiedenen Arten von Leukämie, wo sie auch als konstitutiv aktivierte Form vorhanden ist.^[69, 70, 79, 81, 144]

Tumor Krankheiten, die aus konstitutiv aktivierten Mutationen der onkogenischen Rezeptor-Tyrosinkinasen und den fehlerhaften Interaktionen mit ihren Liganden und deren „downstream Molekülen“ resultieren, wurden im Kap. 1.2.3 genannt.

Mit Ausnahme derjenigen, die aufgrund von Mutationen des FLT3 entstehen, können diese Krebsformen mit dem bekannten Tyrosinekinase-Hemmstoff Imatinib (STI571, Glivec[®], Gleevec[®]) behandelt werden.^[71-77, 80, 81] Dieser Hemmstoff wurde als Leitstruktur dieser Arbeit ausgewählt (s. Kap. 2.5.1).

1.3 Wirkstoffsynthese

1.3.1 Schwerpunkt dieser Arbeit

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit liegt daher in der Synthese neuer Tyrosinkinase-Inhibitoren durch die Modifizierung des bekannten Tyrosinkinase-Inhibitors Imatinib. Im Rahmen einer Struktur-Wirkungsbeziehung Studie wurde hierbei der Ersatz des zentralen Pyrimidinrings der Imatinib-Leitstruktur gegen einen bioisosteren Imidazolring untersucht (s. Kap. 2.5.1). Um die Selektivität der Hemmwirkung der neu

*Flk2: Fetal liver kinase 2, **STK1: Stem cell kinase 1, ***fms: fibroblast macrophage stimulating factor.

synthetisierten Verbindungen auf die Tyrosinkinase-Aktivität zu beurteilen und bewerten, wurden zwei unterschiedliche Rezeptor-Tyrosinkinasen der Klasse III getestet - PDGFR und FLT-3. (vgl. Kap. 1.2.3).

1.3.2 Protein Tyrosinkinase als Forschungsziel

Es wird derzeit an vielen Zielmolekülen gearbeitet. Die prominenteste Rolle spielen ohne Zweifel die Tyrosinkinasen, die bereits in der Embryonalentwicklung eine zentrale Rolle spielen. Sie steuern die Zellteilung und die Zelldifferenzierung. In dieser Familie wurden ferner bislang am häufigsten Zusammenhänge zu Tumorzellen gefunden. Deshalb eignen sich diese Kinasen als wichtige Zielmoleküle für die Entwicklung von Wirkstoffen gegen Tumorerkrankungen und chronische Entzündungen. Jedoch sind bislang lediglich sieben Arzneistoffe auf dem Markt, die auf diese Enzymfamilie Einfluss nehmen^[39, 82] (s. Abb. 8, Tab. 1).

Daher ist die Fragestellung von P. Cohen^[15], ob Proteinkinasen die bedeutendsten Ziele der Wirkstoffentwicklung des 21. Jahrhunderts seien, mehr als berechtigt.^[39,82]

Da Tyrosin-Kinasen an der Entwicklung von mehreren menschlichen Tumoren beteiligt sind, wurden erhebliche Forschungsanstrengungen zur Entwicklung selektiver Inhibitoren dieser Kinasen unternommen.^[21] Ein alternativer Zugang zielt auf Signalwege in der Transduktionskaskade, die durch diese Kinasen aktiviert werden.^[28]

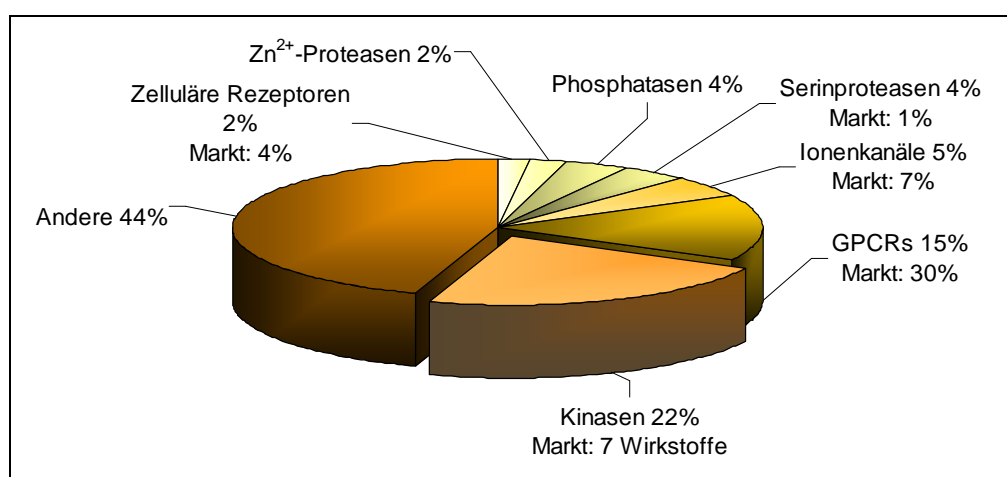
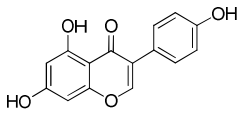
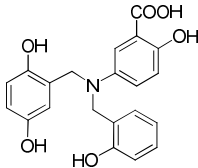
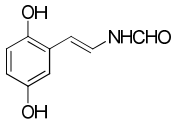
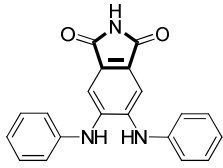
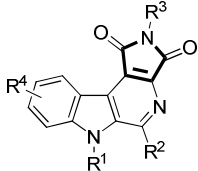
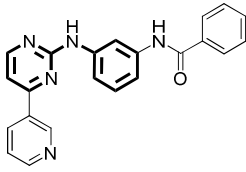


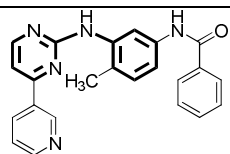
Abb. 8: Anteile verschiedener Proteinfunktionen am Proteom des Menschen^[24]

1.3.2.1 Allgemeine Übersicht über Protein Tyrosinkinase (PTK) Inhibitoren

1.3.2.1.1 Bekannte Leitstrukturen zur Hemmung von PTKs

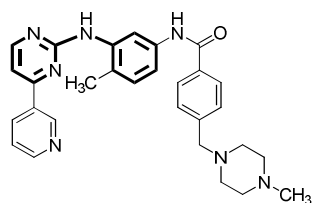
In der folgenden Tabelle sind einige natürlich vorkommende, semisynthetische und synthetische PTK-Inhibitoren zusammengefaßt

Grundstruktur	Wirkmechanismus
<p>1. Natürlich vorkommende PTK-Hemmer</p>  <p>Genistein (1)</p>  <p>Lavendustin (2)</p>  <p>Erbstatin (3)</p>	<p>1, 2 und 3 sind Kompetitive Hemmer der ATP.^[86, 87]</p>
<p>2. Semisynthetische PTK-Hemmer mit pyrrolin-2,5-dion-Partialstruktur</p>  <p>Dianilinophthalimid aus Arcyriaflavin A (4)</p>  <p>Pyrrol[3,4-c]-β-carbolin-dion (5)</p>	<p>(4) ist ein potenter und selektiver Inhibitor des EGF-Rezeptors.^[88]</p> <p>(5) ist ein potenter PDGF-Rezeptor Hemmer mit Imido-β-Carbolin-Grundstruktur mit R¹, R³ = H, R² = Phenyl und R⁴ = OMe.^[89]</p>
<p>3. Synthetische PTK-Hemmer mit Phenyl-Aminopyrimidin-Grundstruktur (s. Kap. 2.2)</p>  <p>(6a)</p>	<p>(6a) ist ein dualer-Hemmer von PKC-α und PDGF-R.^[90]</p>



CGP 53716 (7)

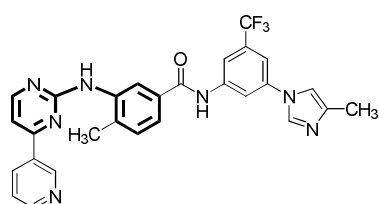
(7) ist ein selektiver PDGF-R Hemmer.^[90]



Imatinib (8)

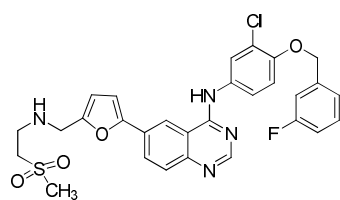
(8) Imatinib, STI571 ist ein potenter Hemmer der Tyrosinkinase-Aktivität von Bcr-Abl, PDGF-Rezeptor und c-Kit.^[24, 69, 75, 76, 80, 91, 92]

4. Synthetische PTK-Hemmer als Imatinib Nachfolger²¹



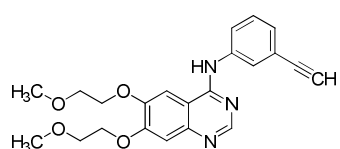
Nilotinib (8a)

(8a) Nilotinib ist ein im Jahr 2008 eingeführter Inhibitor der TK-Aktivität von Bcr-Abl.^[24]



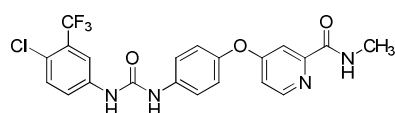
Lapatinib (8b)

(8b) Lapatinib wurde im Juni 2008 zugelassen und inhibiert sowohl die RTK ErbB1 (EGFR1) als auch ErbB2 (HER2).^[24]



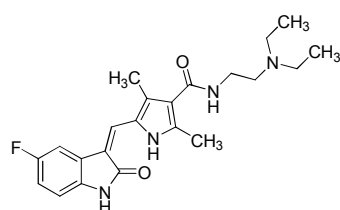
Erlotinib (8c)

(8c) Erlotinib hemmt die TK-Aktivität des EGF-Rezeptors (EGFR1/HER1).^[24]



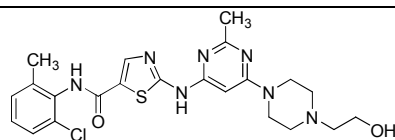
Sorafenib (8d)

(8d) Sorafenib ist ein „Multikinase-Inhibitor“, Sorafenib hemmt u.a. die c-Raf/b-Raf-Kinase und p38 α , sowie die TK des VEGF-2- und VEGF-3-Rezeptors, des PDGF β -Rezeptors und des Stammzellfaktors c-KIT.^[24]



Sunitinib (8e)

(8e) Sunitinib ist wie Sorafenib ein Multikinase-Inhibitor, der u.a. den PDGF α - und PDGF β -Rezeptor, die VEGF-Rezeptoren 1 bis 3 und c-KIT hemmt.^[24]



Dasatinib (8f)

(8f) Dasatinib hemmt die Abl-TK-Aktivität des Bcr-Abl-Proteins sowie u.a. die Tyrosinkinasen der Src-Familie sowie c-KIT und die Tyrosin-kinase des PDGF β -Rezeptors.^[24]

Tabelle 1: Bekannte natürlich vorkommende, semisynthetische und synthetische Protein-Tyrosinkinase-Inhibitoren

1.3.2.1.2 Imatinib mesylate (STI571, Glivec®)

Imatinib ist der Prototyp eines klinisch erfolgreichen Tyrosinkinase-Inhibitors. Das maßgeschneidertes Therapeutikum (Imatinib) hemmt die TK-Aktivität von Bcr-Abl und zusätzlich die TK-Aktivität des PDGF-Rezeptors und des Rezeptors für c-KIT durch die kompetitive Inhibition der Bindestelle der ATP der Kinase (s. Tab. 2).^[73, 74, 110, 111] Imatinib ist seit 2001 zugelassen zur Behandlung von Erwachsenen mit Philadelphia-Chromosom (bcr-abl)-positiver chronischer myeloischer Leukämie (CML) in der chronischen Phase nach Versagen einer Interferon-alpha-Therapie^[24, 65, 69, 76, 80, 91, 92, 104], und im Jahr 2002 wurde es zur Behandlung von GIST (gastrointestinaler Stromatumor) zugelassen.^[95]

Es ist einerseits ein Paradigma für rationales Drug-Design, indem es auf die genetische Mutation der Krankheit zielt, andererseits sind die Resistenzen, die meist durch Mutationen in der Zielstruktur Bcr-Abl hervorgerufen werden, nachteilig bei der Imatinib Therapie.^[96, 97, 101, 104-106]

Aus diesem Grund und basierend auf der Röntgenkristallstruktur eines Komplexes von Imatinib mit Bcr-Abl^[100, 102-104, 107] wurde eine rationale, strukturbasierte Weiterentwicklung dieser Strukturklasse (Phenylaminopyrimidin) möglich und führte zu Entdeckung von Nilotinib^[95-99] und anderer Nachfolger (s. Tab. 1).

Protein Kinase	Substrat Phosphorylierung IC ₅₀ [μM]	Zelluläre Tyrosin Phosphorylierung IC ₅₀ [μM]
v-ABL	0.038	0.1-0.3
P210 ^{BCR-ABL}	0.025	0.25
P185 ^{BCR-ABL}	0.025	0.25
PDGF-Rezeptor (α und β)	0.38 (PDGF-Rβ)	0.1-0.3
Tel-PDGF-Rezeptor	* n. b.	0.15
c-KIT	0.41	0.1

FLT3

>10

>10

Tabelle 2: Profil der Protein-Kinasen-Hemmung durch Imatinib
n. b = nicht bestimmt

1.3.2.1.3 Problematik der Tyrosinkinase Inhibition und Ausblick

Für die Wirkung von PTK-Inhibitoren müssen verschiedene Mechanismen als Angriffspunkte der Wirkstoffe diskutiert werden. Die Inhibitoren sollen die PTK gegenüber anderen Proteinkinasen - speziell Serin / Threonin-Kinasen - selektiv hemmen, aber auch innerhalb der PTK eine Subfamilie oder sogar eine bestimmte Kinase spezifisch hemmen.

Die Tyrosinkinasen des menschlichen Genoms haben einige Gemeinsamkeiten. Sie haben denselben Reaktionsmechanismus, sehr ähnliche Proteinsequenzen und dreidimensionale Strukturen in ihren katalytischen Zentren und binden ATP als Co-Substrat. Es ist aufgrund der hohen strukturellen Konservierung der ATP-Bindestelle im aktiven Zentrum der Proteinkinasen schwierig, aber nicht unmöglich, Kinase-spezifische, ATP-Kompetitive Inhibitoren zu entwickeln, das hat die erfolgreiche Einführung des ersten ATP-kompetitors Imatinib in der Therapie der chronischen myeloischen Leukämie gezeigt.^[24] Die geringen Unterschiede innerhalb der einzelnen Tyrosinkinasen, die derselben Familie angehören, führen zu unselektiver Hemmung der Aktivität der Kinase. Geringe Selektivität bedeutet große Toxizität, da in einem solchen Fall neben der Target-Kinase zahlreiche andere unerwünschte Kinasen gleichfalls gehemmt werden.^[83]

Die Spezifität einer Kinase in der Regulation zellulärer Funktionen wird allerdings letztlich nicht durch die Bindung des Co-Substrates ATP, sondern durch die Spezifität der Bindung an ihren Substratproteinen bestimmt. Deshalb wäre es wünschenswert, Inhibitoren zu entwickeln, die die Bindung einer Proteinkinase an ihr spezielles Substratprotein inhibieren können.^[24, 84, 85]

2 Synthese

2 Synthese neuer Tyrosinkinase Inhibitoren

Um PDGF Aktivität und Selektivität zu optimieren, wurden eine Reihe von neuen *N*-(3-(4-(Pyridin-3yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)phenyl)amid-Derivaten synthetisiert und auf Hemmung der PDGF und FLT3 Autophosphorylierung getestet.

2.1 Zielsetzung der Synthese

- Synthese einer neuen Generation von Tyrosinkinase-Inhibitoren, basierend auf der Grundstruktur des Phenylaminopyrimidins, durch Ersatz / Austausch des Pyrimidin Rings des Leitstruktur Imatinib (STI571, Glivec[®]) durch einen Imidazol Ring.
- Modifikationen unter Beibehaltung der grundlegenden Struktur der ursprünglichen Verbindung.
- Verbesserung der Selektivität.
- Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen, um strukturelle Voraussetzungen zur selektiven Hemmung des PDGF-Rezeptors zu erhalten.

2.2 Leitstruktur-Definition und Modifikationen

Das Pharmakophor von Inhibitoren aus der Klasse der Phenylaminopyrimidine^[111] (Abb. 1) ist wie folgt definiert:

- Essentiell ist ein Phenylaminopyrimidin mit einem Pyridin-Substituenten in 4-Position (**A**).
- Der Phenylamino-Substituent zeichnet sich hierbei durch Substitution in 6-Position durch CH₃ oder Cl sowie eine ggf. substituierte Benzamid-Struktur in Position 3 und freier NH-Gruppe aus (**B**).
- Der Benzamid-Substituent ist vorzugsweise mit einem lipophilen Substituenten in Position 4 ausgestattet.

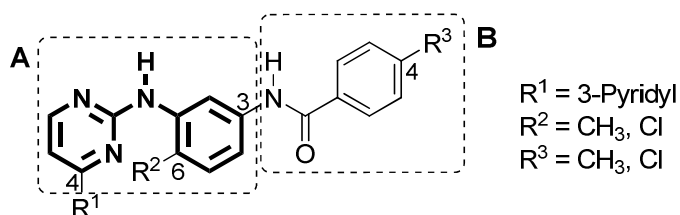


Abb. 1: Das Pharmakophor der Klasse der Phenylaminopyrimidine

Der hoch spezifische Tyrosinkinase Inhibitor Imatinib (STI571, Glivec[®]) (s. Kap. 1.3.2.1.2, Abb. 2) besitzt ein Phenylaminopyrimidin als grundlegende Struktur. Das für die Inhibitoraktivität verantwortliche Pharmakophor ist fett hervorgehoben. Der gezeigte Methyl-Substituent in Position 6 der Phenylamino-Einheit ist hierbei für die gezeigte Vorzugskonformation verantwortlich.

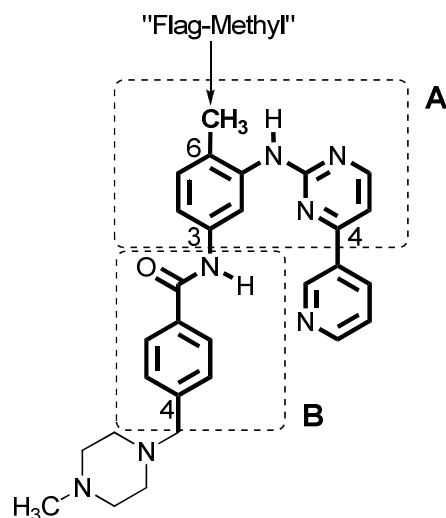


Abb. 2: Struktur von Imatinib, das Phenylaminopyrimidin Grundgerüst ist fett hervorgehoben (A)

2.3 Historischer Hintergrund zur Entwicklung von Imatinib

In den späten 1980er Jahren initiierten Wissenschaftlern bei Ciba Geigy (heute Novartis) unter der Leitung von *N. Lydon* und *A. Matter* Projekte zur Identifizierung von Verbindungen mit hemmender Wirkung gegen Proteinkinasen.^[94] Im Rahmen von Forschungsarbeiten zur Proteinkinase C (PKC) als Target, wurde ein Phenylaminopyrimidin Derivat als Leitstruktur identifiziert.^[42, 90, 108-111] Diese Verbindung (**6**, Abb. 3a) hatte schlechte Spezifität, sie hemmt sowohl Serin-/Threonin- als auch Tyrosin-Kinasen. Von dieser Leitstruktur ausgehend wurde eine Reihe von Derivaten synthetisiert (*Zimmermann et al.*).^[90] Eine 3'-Pyridyl-Gruppe in 4-Position des Pyrimidins verbesserte die zelluläre Aktivität^[111] (Abb. 3a). Weiterhin wurde die Aktivität gegen Tyrosin-Kinasen verbessert durch die Einführung einer Benzamid Gruppe an dem Phenyl-Ring (Abb. 3b). Die Einführung einer „Flag-Methyl Gruppe“ in ortho-Position des Phenylrestes führte zum Verlust der PKC-Hemmung. Interessanterweise wird durch diese Modifikation allerdings die Aktivität gegen Tyrosin-Kinasen beibehalten oder sogar verbessert (Abb. 3c).

Einer der ersten Vertreter dieser Stoffklasse war CGP 53716 (**7**), der zunächst als Hemmstoff der PDGF (*platelet-derived growth factor*) -Rezeptor-Tyrosinkinase mit Antitumoraktivität beschrieben wurde.^[41] Nachteilig waren aber schlechte orale Bioverfügbarkeit und geringe Wasserlöslichkeit. Einführung einer sehr polaren Seitenkette (N-Methylpiperazin) gab die Verbindung (**8**) (STI571, Imatinib), die verbesserte Löslichkeit und orale Bioverfügbarkeit zeigte^[73, 74, 96] (Abb. 3d).

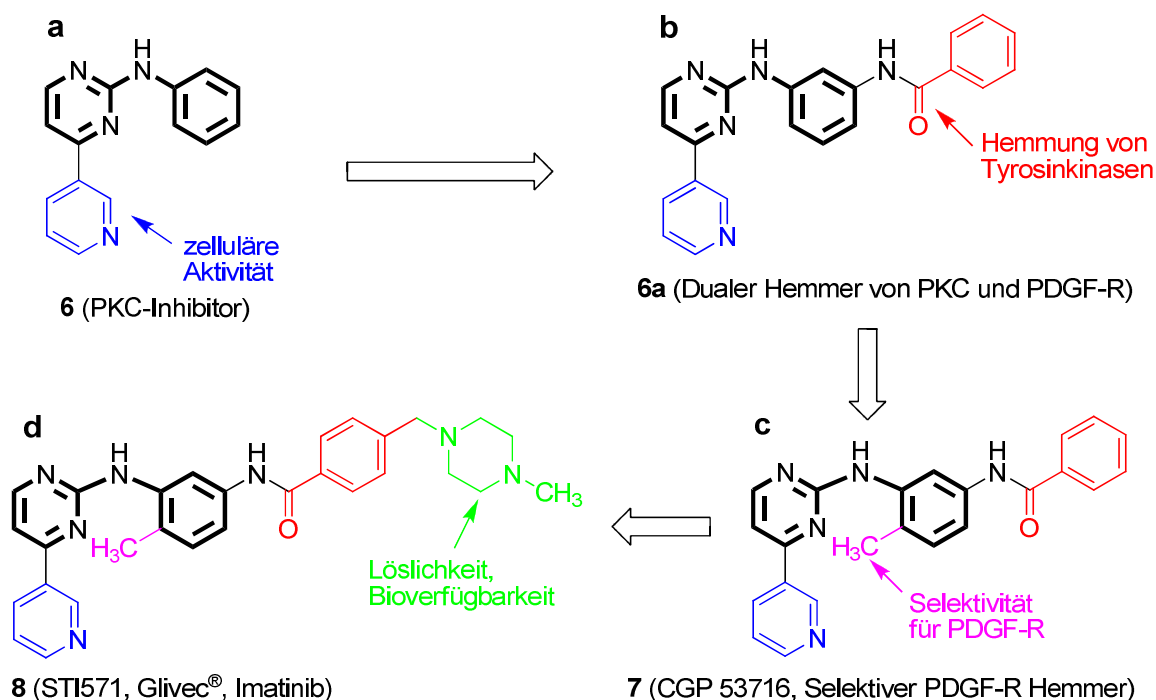


Abb. 3: Imatinib – vom ersten Treffer zur optimierten Verbindung

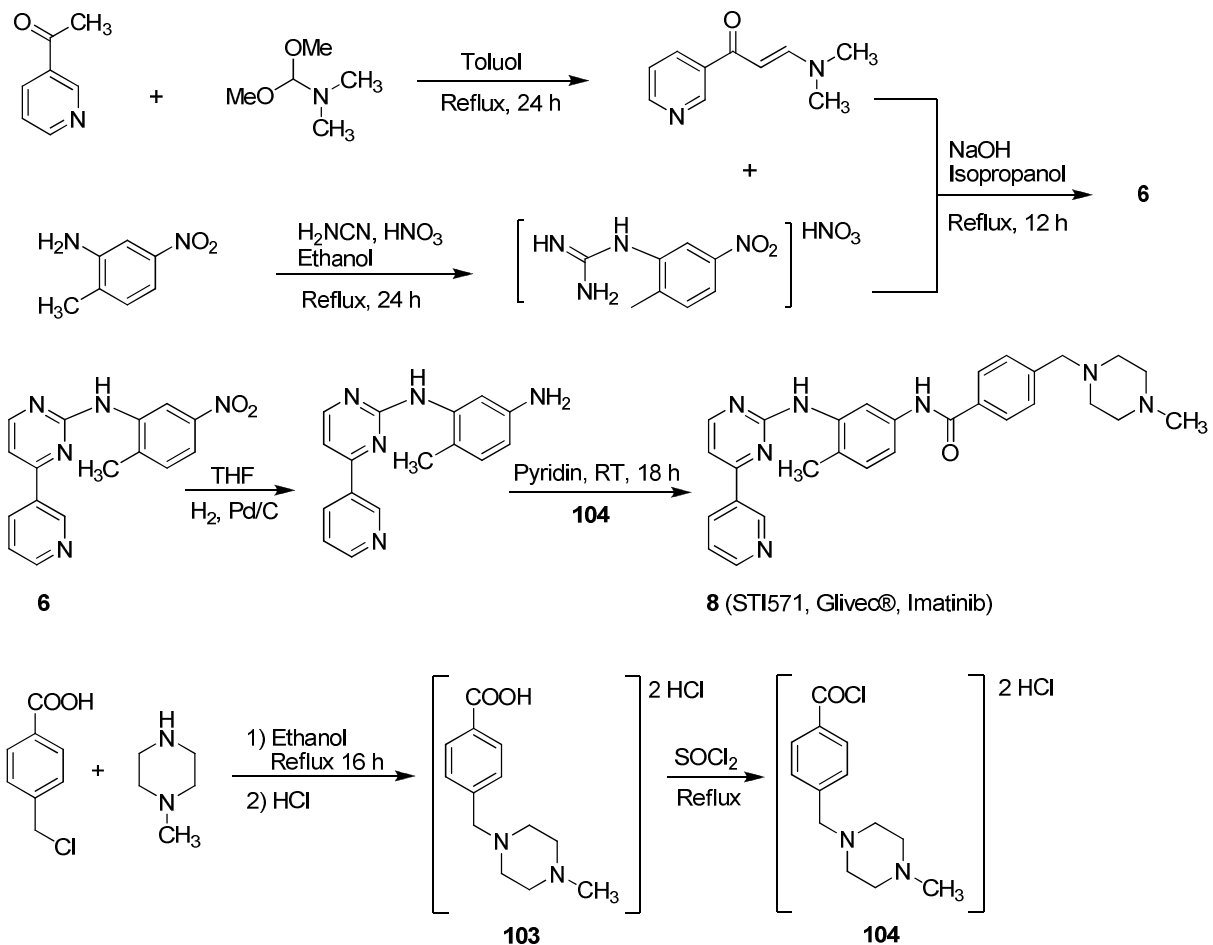
6-8: Einteilung der Substanz-Typen

2.4 Literaturbekannte Synthese zur Darstellung von Leitstruktur (STI571, Glivec[®], Imatinib, **8**)

Die unten schematisch gezeigte Synthese, die von *Zimmermann et al.*^[90, 109] in der Literatur beschrieben und von Novartis patentrechtlich geschützt wurde^[108, 112], zeigt die Darstellung der Phenylaminopyrimidine und ihrer Derivate.

Der Weg zum Phenylaminopyrimidin-Rückgrat beginnt bei der klassischen Route für die Synthese des Pyrimidinring-Systems.^[113] Die 3-Acetylpyridine wurden mit N,N-Dimethylformamid-dimethylacetal zu den Enaminonen umgesetzt, die dann mit dem entsprechenden Guanidin-Salz zu Phenylaminopyrimidinen reagierten. Katalytische Hydrierung der Nitro-Gruppe führte zu den entsprechenden Aminen, die mit den jeweiligen Säurechloriden amidiert wurden. Das Verfahren der Synthese von 4-(4-methylpiperazin-1-yl-methyl)-benzoychlorid-Dihydrochlorid^[130], das zur Amidierung

benutzt wird, wird später in diesem Kapitel ausführlich beschrieben (s. Kap. 2.7.6, Schema 7).



Schema 1: Schematische Illustration zur Synthese von Imatinib

2.5 Das Bioisosterie-Konzept und neuartige Tyrosinkinase-Inhibitoren

Bioisosterie bedeutet gleiche räumliche Ausdehnung bei vergleichbarer Wirkung in biologischen Systemen. Dies beinhaltet neben einer vergleichbaren Raumerfüllung auch vergleichbare Elektronenverteilung. Im Optimalfall kann somit eine Verbesserung der Affinität und möglicherweise der Selektivität eines Wirkmoleküls an einer molekularen physiologischen Struktureinheit erreicht werden. Es ergibt sich die Möglichkeit, die Bindungstasche eines Rezeptors sehr viel genauer auszuloten und auszufüllen.^[115, 116]

Im Folgenden werden die durchgeführten Arbeiten zur bioisosteren Substitution an einem effektiven und selektiven Tyrosinkinase-Inhibitor dargestellt (s. Abb. 4).

2.5.1 2-Arylamino-Imidazolderivate statt 2-Phenylaminopyrimidinderivaten als potente Inhibitoren des PDGF-R

Im Rahmen einer Struktur-Wirkungsbeziehung-Studie wurde hierbei der Ersatz des zentralen Pyrimidinrings der Leitstruktur von Imatinib (**8**) gegen einen bioisosteren Imidazolring untersucht. Das heterocyclische 5-Ring-Analogon zum Phenylaminopyrimidin- hat zudem eine modifizierte Gesamtgeometrie infolge der geänderten Bindungswinkel (Abb. 4).

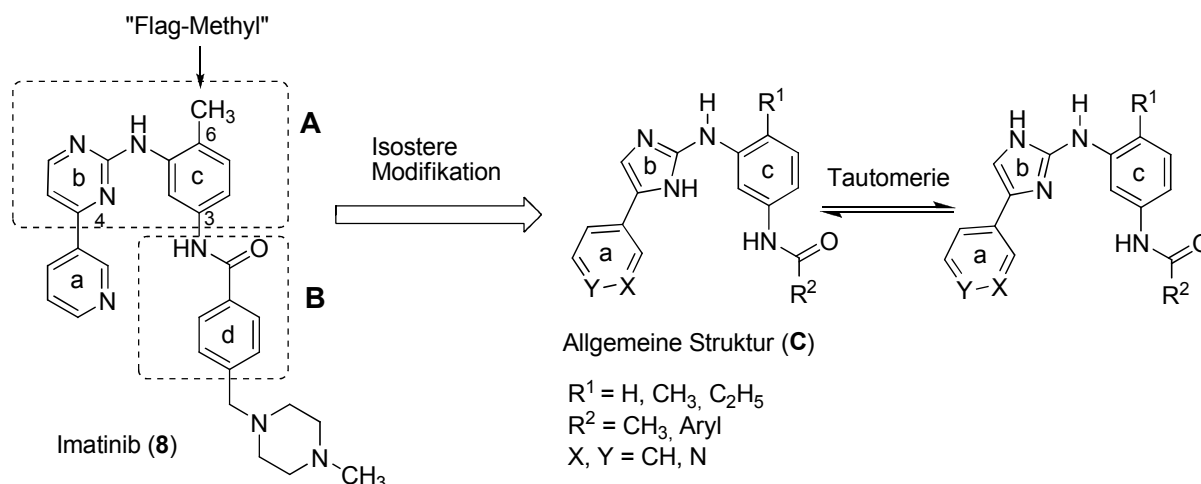


Abb. 4: Struktur von Imatinib (**8**) (links) und allgemeine Struktur (**C**) der isoster modifizierten Imidazolyl Analoga

Um der veränderten Geometrie Rechnung zu tragen, wurden neben dem gezeigten 3-Pyridylsubstituenten in Position 4(5) des Imidazolyl-Gerüsts Derivate mit 4-Pyridyl- bzw. Phenylsubstituent synthetisiert und auf ihre Rezeptorinhibitorwirkung untersucht.^[117] Ferner wurden der Einfluß von Acetamid, substituierter Arylamide und der Einfluß des – insbesondere lipophilen – Substitutionsmusters am Benzamid Substituenten untersucht.

2.5.2 Untersuchungen zum Einfluß der „Flag-Methyl Gruppe“

Der gezeigte Methyl-Substituent in Position 6 der Phenylamino-Einheit (Abb. 2) ist für die gezeigte Vorzugskonformation verantwortlich. Durch diese Konformation wird eine Steigerung der Wirksamkeit sowie Selektivität für den PDGF-Rezeptor erreicht (Abb. 3c). Aus diesem Grund wurden auch im Fall der [4(5)-phenyl-1(3H)imidazol-2-yl]-amine einige Substanzen unter Derivatisierung in dieser Position synthetisiert, d.h. Austausch von CH₃ gegen H und Ethyl (Abb. 5).

Ohne die Substitution durch die eingangs aufgeführte „Flag-Methyl Gruppe“ stellt die Substanzklasse der Phenylaminopyrimidine ebenfalls potente Inhibitoren der PKC-Subtypen α,δ und der c-SRC dar^[109], ohne Selektivität hinsichtlich PDGF-Rezeptor (s. Kap. 2.3).

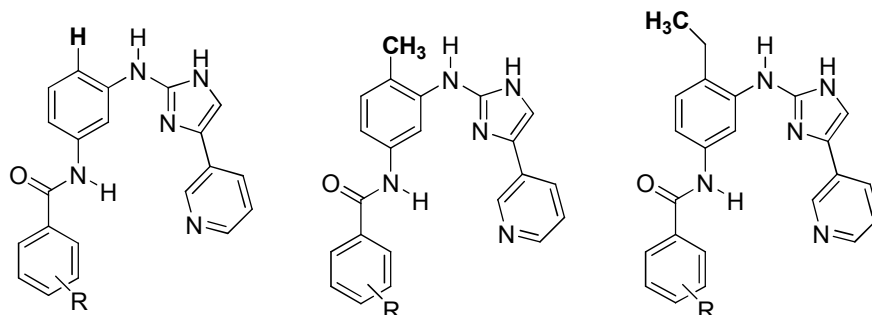


Abb. 5: Austausch von „Flag-Methyl Gruppe“ gegen H und Ethyl

2.6 Synthese der Arylamino-Imidazol Derivate

Es wurden mehrere Derivate von Arylamino-Imidazolen synthetisiert und untersucht. Die Zielstrukturen wurden hierbei in Analogie zu den Phenylaminopyrimidinen - jedoch unter Ersatz des Pyrimidinring-Systems durch ein Imidazolyl-System - gewählt.

Diese Strategie wurde mittlerweile offensichtlich auch von *Ciufolini et al.*^[118] verfolgt. Er beschreibt in seinem Patent Aminoaryl-substituierte fünfgliedrige heterocyclische Verbindungen als Inhibitoren gegenüber Wildtyp- und mutierter c-KIT sowie zur potentiellen Behandlung von Krankheiten. Die Synthese des Imidazol-Rings wurde hierbei in einer ähnlichen Art und Weise durchgeführt (Schema 2).

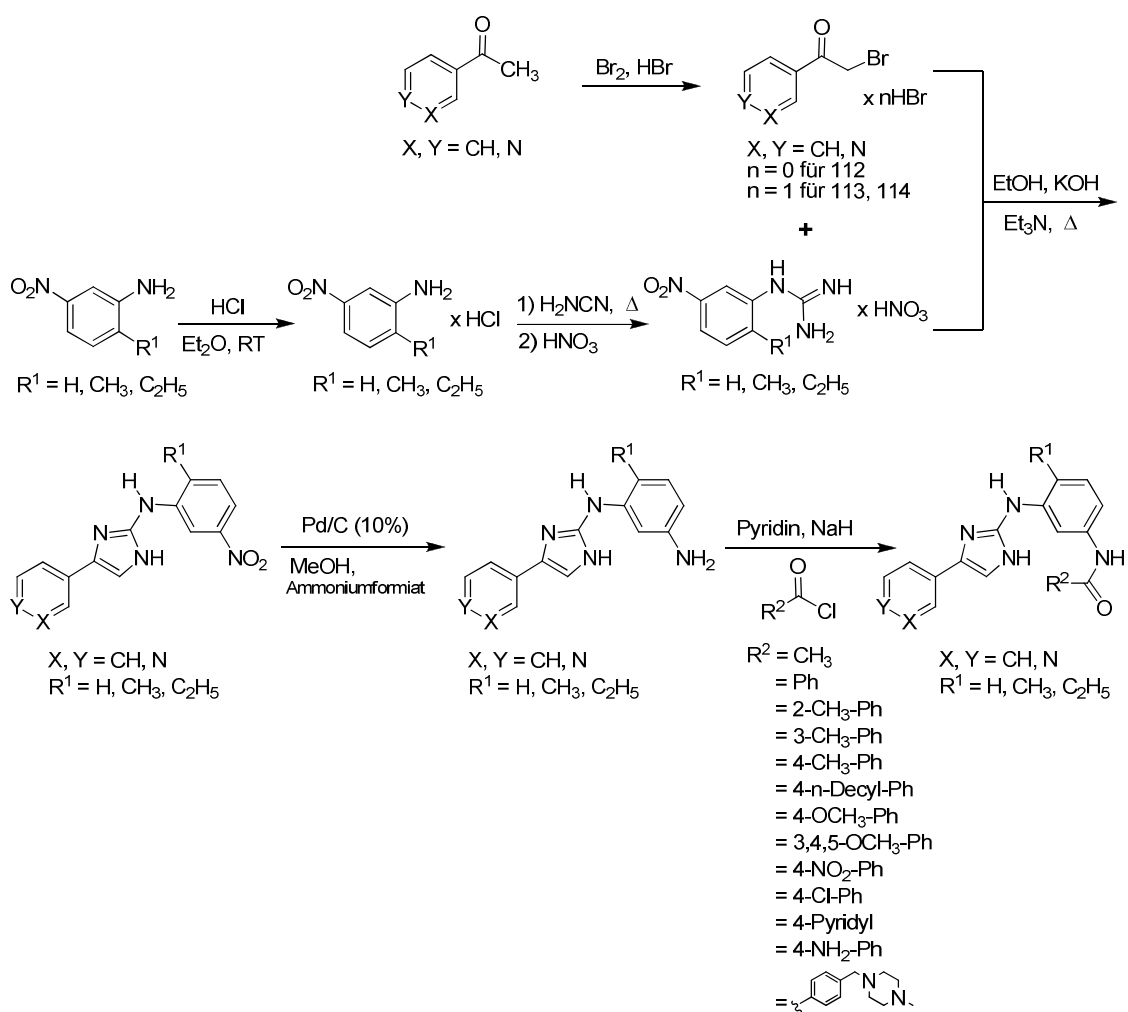
Der wichtigste Schritt dieses experimentellen Ansatzes bestand hierbei in der Synthese der Imidazolyl Isosteren des Imatinib[®] Pharmacophors und eine Reihe von Derivaten, bei denen der 3-Pyridyl-Ring durch einen Phenyl-Ring ausgetauscht wurde. Im Hinblick auf die veränderte geometrische Struktur, die aus dem Austausch eines sechs gliedrigen Ring-System gegen ein fünf Ring-System resultiert, wurde ferner durch die mit Einbeziehung eines 4-Pyridyl Substituenten Rechnung getragen. Chemische Modifikationen wurden ferner durch Ersatz der Benzamid Substruktur in Position 3 oder Änderung dieser Substituenten durchgeführt. Schließlich wurde auch der Einfluss der „Flag-Methyl Gruppe“ in den Imidazolyl-Systemen untersucht (s. Kap. 2.5.2).

Der Syntheseweg (Schema 2) für die Synthese der zu den Phenylaminopyrimidinen strukturell eng verwandten N-(3-(4-(pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)phenyl)-amid-Derivaten, ist durch folgende Schritte charakterisiert:

Ringschluß von 2-Brom-1-phenylethanon (**112**)^[119] bzw. 2-Brom-1-pyridin-3-yl-ethanon Hydrobromid (**113**)^[120] und 2-Brom-1-pyridin-4-yl-ethanon Hydrobromid (**114**)^[118, 121] mit den geeignet substituierten 1-(3-nitrophenyl) Guanidinium-Nitraten **118**^[123, 124], **119**^[125] oder **120**^[125] führt zu den gewünschten substituierten 2-N-Arylamino-4(5)arylimidazolen (**121-125**).^[117]

Die Katalytische Reduktion der Nitro-Gruppe mit Ammonium-Formiat auf Pd/C in methanolischer Lösung führt in der Folge zu den entsprechenden Aminen **126-130**.^[126-128] Diese wurden durch Reaktion mit den Carbonsäurechloriden **90-100** und **104** zu den jeweiligen Amiden (**131-156**)^[117] umgesetzt.

Im Falle von **146** wurde das Arylamid darüber hinaus durch Reduktion der Nitro-Gruppe der Verbindung **142** erhalten (Schema 14).

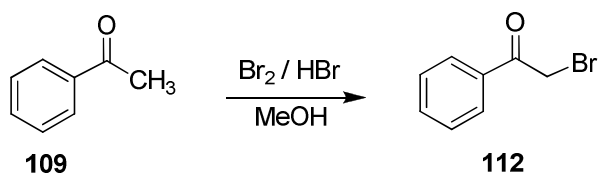


Schema 2: Allgemeines Schema der Synthese der Arylamino-Imidazol Derivate

2.7 Synthese der Ausgangsstoffe

2.7.1 Synthese von 2-Brom-1-phenylethanon (112)

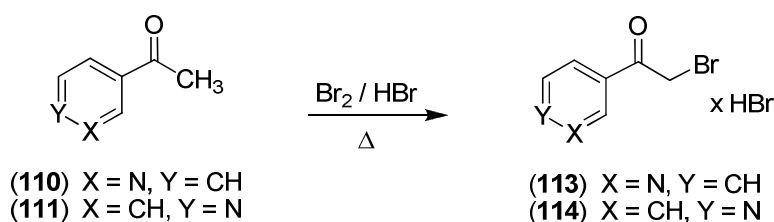
Die bekannte α -Bromierung von Acetophenon wurde nach *Hünig et al.*^[119] mit relativ guten Ausbeuten durchgeführt.



Schema 3: Synthese von 2-Brom-1-phenylethanon (112)

2.7.2 Synthese von 2-Brom-1-pyridin-3-yl-ethanon Hydrobromid^[120] (113) und 2-Brom-1-pyridin-4-yl-ethanon Hydrobromid^[118, 121] (114)

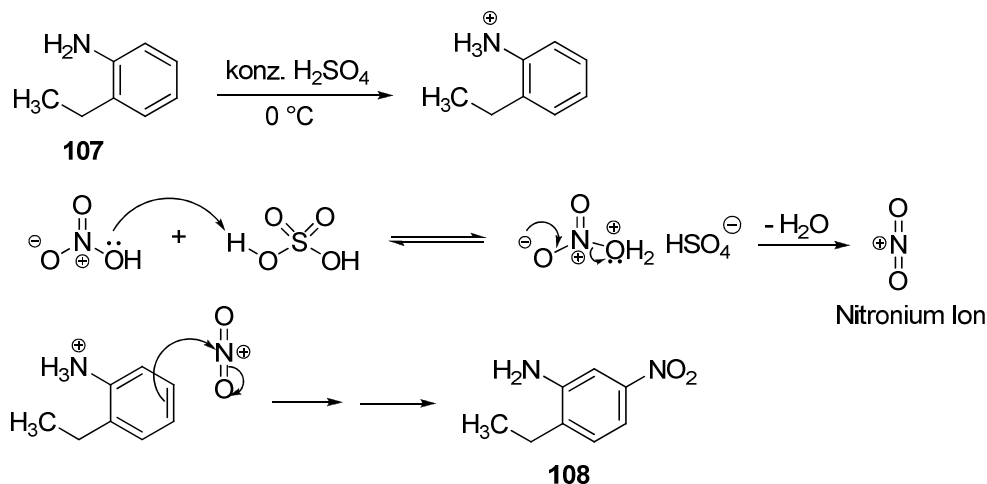
3-Pyridyl- und 4-Pyridyl-ethanon wurden unter verschiedenen Reaktionsbedingungen zu entsprechenden Brompyridinyl-ethanon Hydrobromiden umgesetzt.



Schema 4: Synthese der Verbindungen 113 und 114

2.7.3 Synthese von 2-Ethyl-5-nitroanilin (108)

2-Ethylanilin wurde *nach Kövendr et al.*^[129] durch eine klassische Nitrierung mit $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ in 2-Ethyl-5-nitroanilin (108) überführt. Hierbei wird zunächst die Aminogruppe des Anilins mit Schwefelsäure protoniert, um die *meta*-dirigierende Wirkung der Ammonium-Gruppe auszunützen, bevor mit Nitriersäure bei 0-5 °C umgesetzt wird.



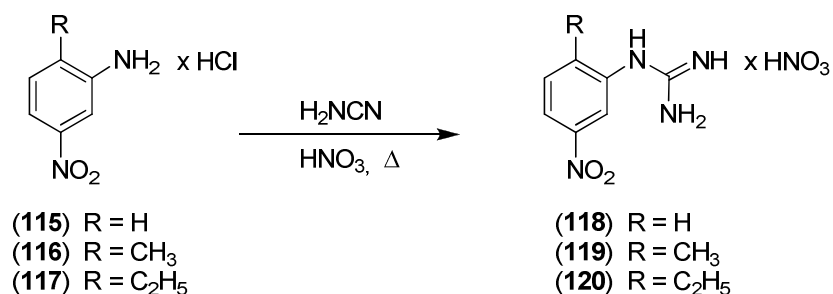
Schema 5: Synthese von 2-Ethyl-5-nitroanilin (108)

2.7.4 Synthese der Verbindungen 115, 116 und 117

Zur Darstellung der Guanidinium Salze wurden die verschiedenen substituierten Aniline **105**, **106** und **108** zunächst in ihre Hydrochloride überführt^[122] (s. Kap. 5.2.4).

2.7.5 Synthese der Guanidinium Salze **118**^[116], **119**^[118] und **120**^[118]

Verschiedene substituierte Anilinhydrochloride wurden durch Cyanamid in der Schmelze zu Guanidinen umgesetzt, die anschließend mit Salpetersäure protoniert wurden. Die Guanidine konnten am besten als gut kristallisierende Nitrate charakterisiert und, nach wässriger Aufarbeitung, direkt aus dem Reaktionsgemisch kristallisiert werden.^[111, 117, 118, 123-125]

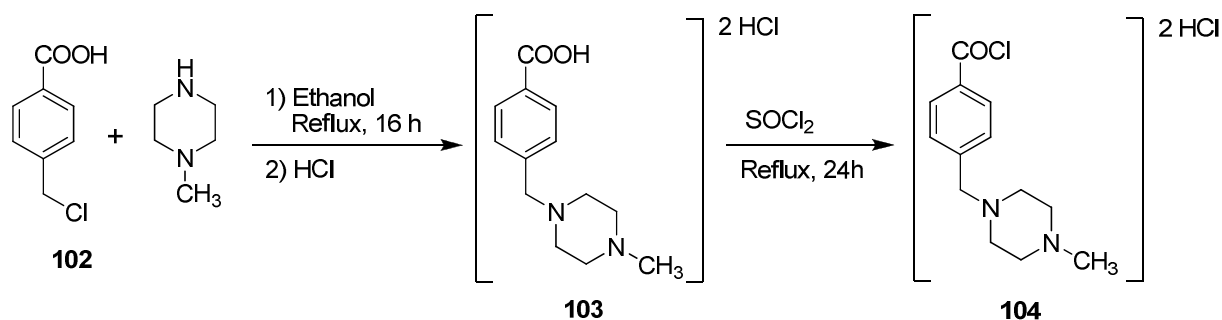


Schema 6: Synthese verschiedener Guanidinium-Nitrate

2.7.6 Synthese der Verbindung 104

Alle Säurechloride, -Hydrochloride und -Dihydrochloride, die für die Amidierung benutzt wurden, waren im Handel erhältlich (**90-100**) mit Ausnahme der Verbindung

104, die nach entsprechenden Lit.-Methoden hergestellt wurde (Schema 7). Sie wurde als Säurechlorid-dihydrochlorid, ausgehend von 4-(Chlormethyl)benzoesäure, N-Methylpiperazin und Thionylchlorid wie von *Lombardino et al.* in seinem offengelegten Patent beschrieben^[130], synthetisiert.

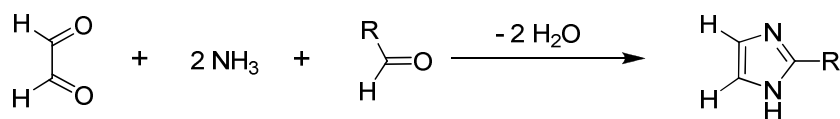


Schema 7: Synthese der Verbindung **104**

2.8 Synthese von substituierten Imidazolen

2.8.1 Literatur bekannte Synthese des substituierten Imidazols

Für die Darstellung von Imidazolen sind aus der Literatur mehrere Wege bekannt. Imidazol wurde erstmals von Heinrich Debus in 1858 synthetisiert, aber verschiedene Imidazol-Derivate wurden bereits um 1840 entdeckt. Seine Synthese, wie unten gezeigt, benutzt Glyoxal und Formaldehyd in Ammoniak zur Darstellung von Imidazol.^[131]



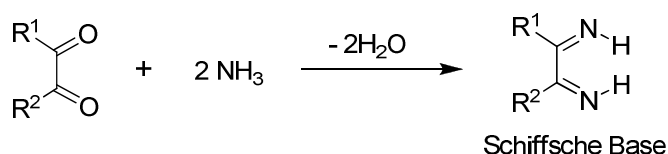
Schema 8: Darstellung des Imidazols nach Debus et al.

Imidazol kann ferner nach der Radziszewski-Synthese dargestellt werden.^[131] Diese Synthese ist nach dem polnischen Chemiker Bronisław Leonard Radziszewski benannt und beschreibt die Darstellung von Imidazol und dessen Derivaten durch Kondensation aus 1,2-Diketon, Ammoniak und einem Aldehyd.

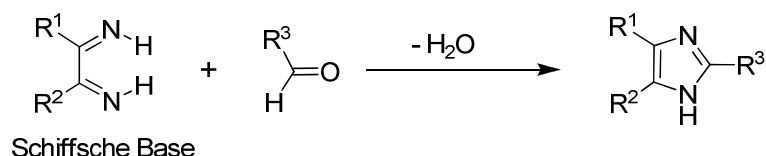
Im ersten Schritt wird je ein Ammoniak-Molekül an je eine Ketogruppe des Diketons angelagert. Es bildet sich an beiden C-Atomen eine Schiffsche Base. Anschließend

erfolgt ein Angriff der Imine auf die Carbonylgruppe, wobei der Ring geschlossen wird^[132] (Schema 9).

1. Schritt

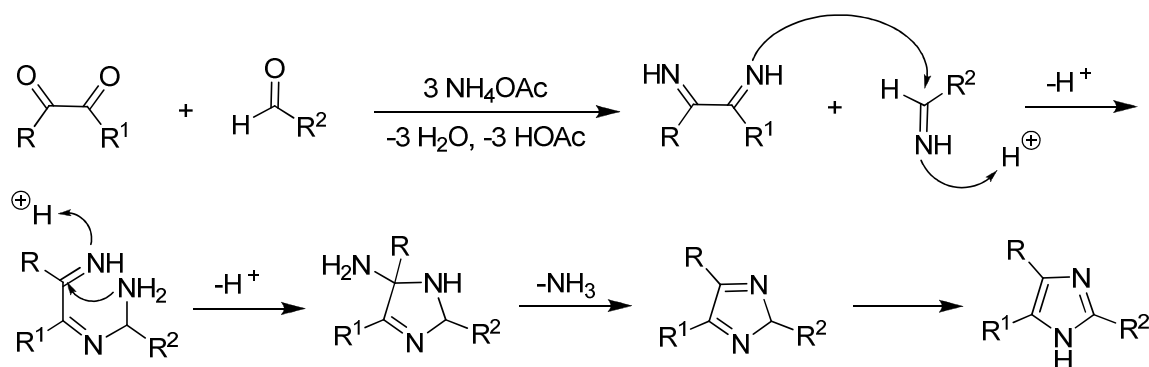


2. Schritt



Schema 9: Radziszewski-Synthese des Imidazols

Die Synthese von Imidazolen kann auch ausgehend von α,β -Diketonen und Aldehyden geschehen. Hierzu werden alle Carbonylfunktionen zunächst mit Ammoniumacetat zu Iminen umgesetzt. Säurekatalysiert läuft nun die Kupplung eines Diimin an den Iminkohlenstoff der früheren Aldehyd-Komponente unter Bildung eines Diiminoamins. Ebenfalls säurekatalysiert folgt der nukleophile Angriff des Aminstickstoffs am 2. Iminkohlenstoff, wobei der Ring geschlossen wird. Die entstandene Aminofunktion wird als Ammoniak abgespalten, wodurch ein Diimin entsteht, welches zum Imidazol tautomerisiert^[133] (Schema 10).

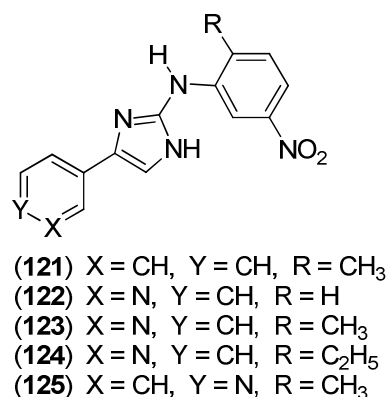
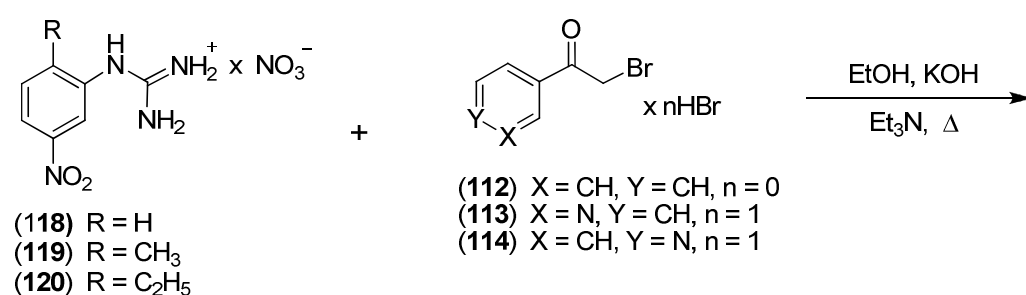


Schema 10: Synthese substituierter Imidazole

In neuerer Zeit sind weitere Wege der Synthese von Imidazolen beschrieben worden.^[134]

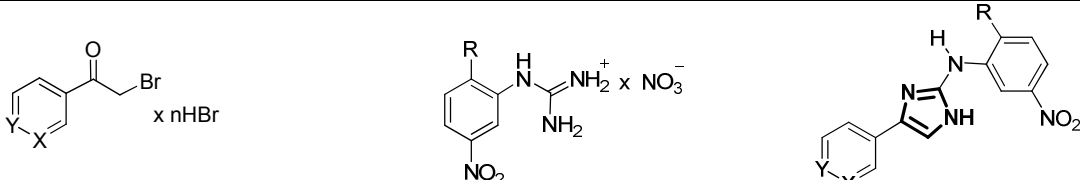
2.8.2 Synthese von substituierten 2-*N*-Arylamino-4(5)arylimidazolen (**121-125**)^[117]

Die Arylamino substituierte Imidazole wurden, wie mittlerweile auch von *Ciufolini et al.*^[118] beschrieben (s. Kap. 2.6, Schemata 2 und 11, Tab. 1), synthetisiert. Die Synthese wurde durch Kondensation von *N*-substituierten (Nitrophenyl)-guanidinium Nitraten (**118-120**) mit einem geeigneten α -Bromacetophenon (**112**) bzw. ω -Halogen Acetylpyridinen ω -Brom-3-Acetyl-Pyridin-Hydrobromid (**113**) und ω -Brom-4-Acetyl-Pyridin-Hydrobromid (**114**) in Anwesenheit einer mineralischen Base (KOH) durchgeführt. Geeignetes Lösungsmittel für diese Synthese ist Ethanol (Schema 11).



Schema 11: Synthese von substituierten 2-*N*-Arylamino-4(5)arylimidazolen (**121-125**)^[117]

Die erhaltenen 2-*N*-Arylamino-4(5)arylimidazole (**121-125**) sind, zusammen mit den jeweiligen Vorstufen, den Guanidinium-Nitraten (**118-120**) in Tab. 1 zusammengefasst.



X	Y	n	Nr.	R	Ausb. %	Nr.	Ausb. %	Nr.
CH	CH	0	112	CH ₃	64	119	56	121
N	CH	1	113	H	78	118	64	122
N	CH	1	113	CH ₃	64	119	50	123
N	CH	1	113	C ₂ H ₅	68	120	41	124
CH	N	1	114	CH ₃	64	119	26	125

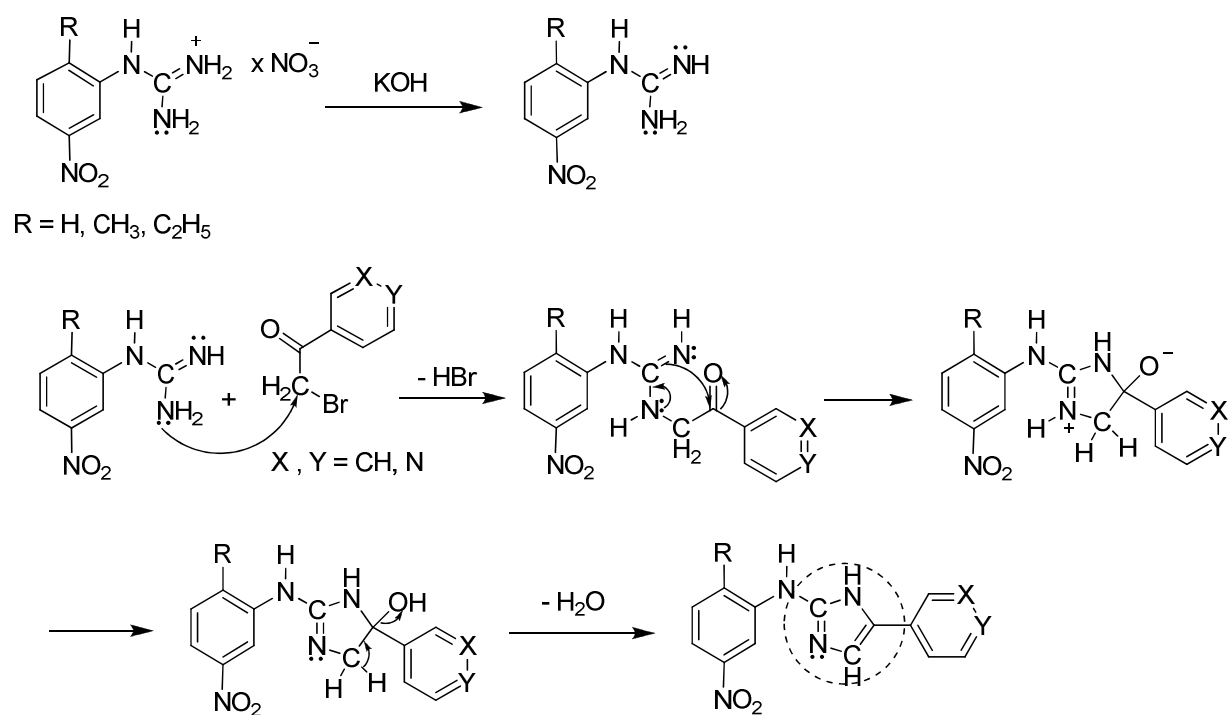
Tabelle 1: Synthetisierte 2-N-Arylamino-4(5)arylimidazole

2.8.3 Bildung der 2-N-Arylamino-4(5)arylimidazole

2.8.3.1 Reaktionsmechanismus

In der Literatur werden nur wenige Beispiele für eine Reaktion, die vom Guanidinium Salz ausgeht und zum substituierten Imidazol führt, gefunden.

Der Ring Schluss erfolgt vermutlich nach folgendem Mechanismus: (Schema 12)



Schema 12: Vermutlicher Mechanismus des Ringschluss des Imidazols

2.8.3.2 $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopische Hinweise für die postulierten 2-N-Arylamino-4(5)arylimidazole

Einen interessanten Hinweis auf die Bildung des Imidazolrings lieferte die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Das C-H-Singulett des neu gebildeten Imidazolyl-Systems liegt erfahrungsgemäß im Bereich von 7.0–7.8 ppm in DMSO (Abb. 6). Die NMR-Spektren der dargestellten Imidazole **121-125** und ihre Derivate bestätigen dies.

Ferner weist das N-H Signal des Imidazol-Rings zusammen mit dem N-H der disubstituierten Amineinheit in allen NMR-Spektren der dargestellten Imidazole im Bereich von 5.5–6.5 ppm in DMSO ein breites Singulett auf (Abb. 7), das nach Zugabe von D_2O verschwindet.

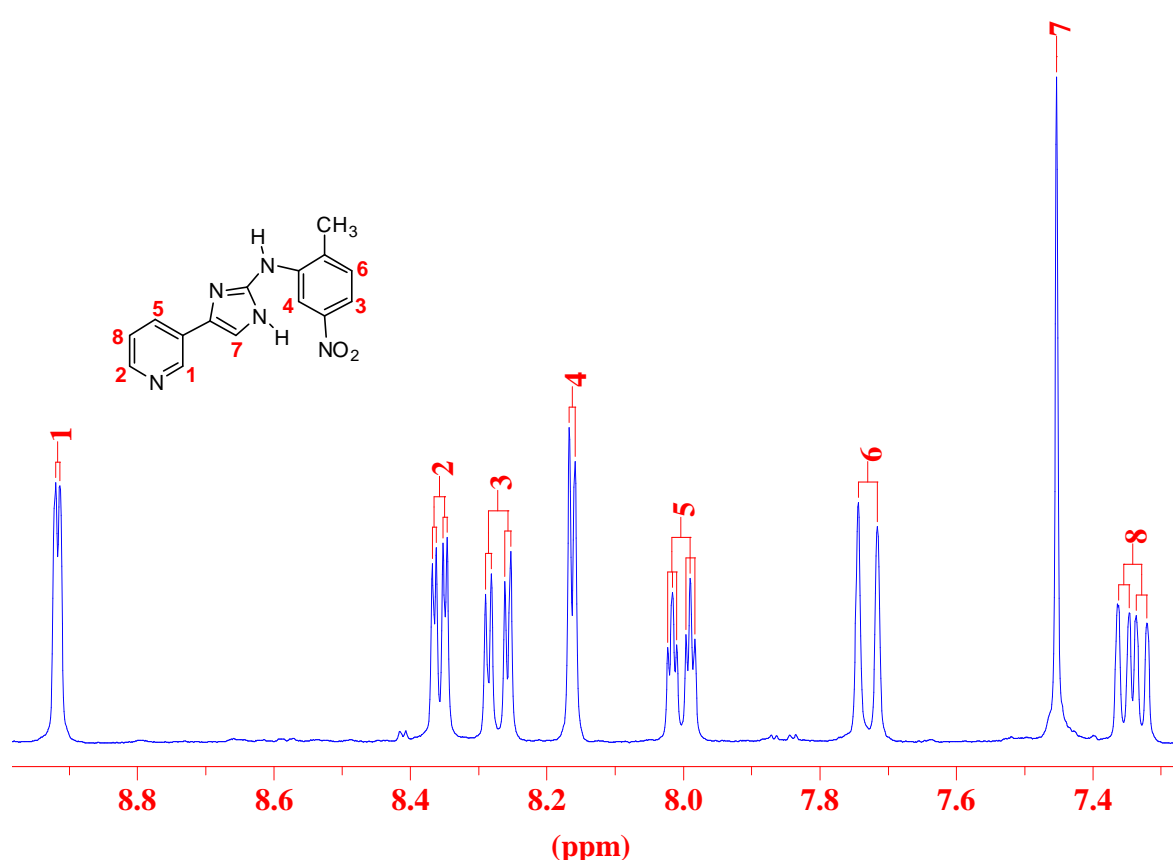


Abb. 6: Struktur und Zuordnung der aromatischen Protonen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **123** in DMSO

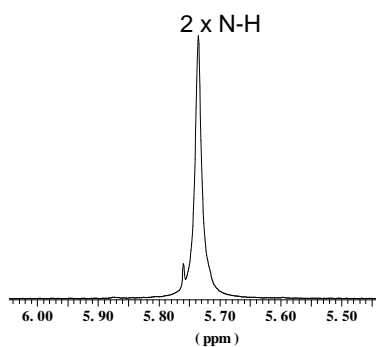
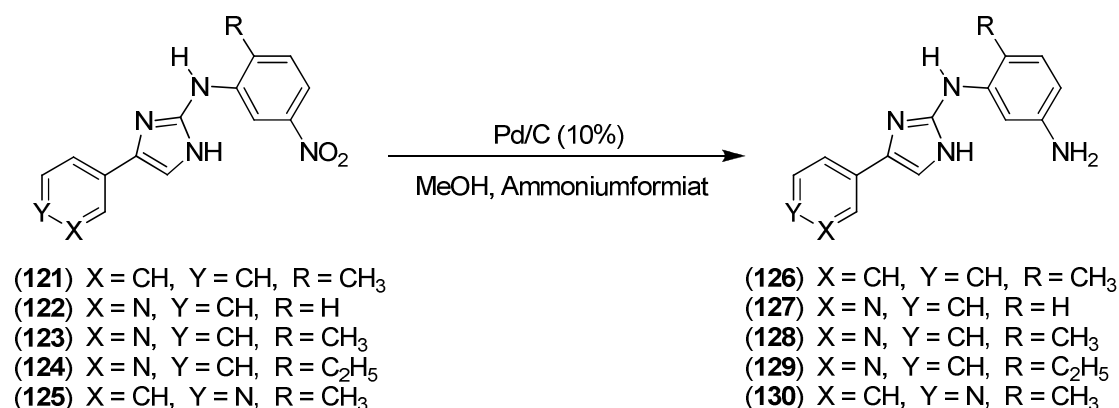


Abb. 7: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **123** in DMSO: Vergrößerung des Bereiches von 5.50-6.00 ppm

2.9 Synthese der Verbindungen 126-130



Schema 13: Synthese der Verbindungen 126-130

Die Verwendung von Ammoniumformiat in der organischen Synthese wurde von *Ram* und *Ehrenkauf* beschrieben.^[126-128] Dieses vielseitige und billige Reagenz wird als Wasserstoff-Quelle für katalytische Hydrierungen benutzt und häufig zur Reduktion verschiedener funktioneller Gruppen (z. B. Azido, Nitro, Cyano und Carbonyl in Aldehyden oder Ketonen) eingesetzt.

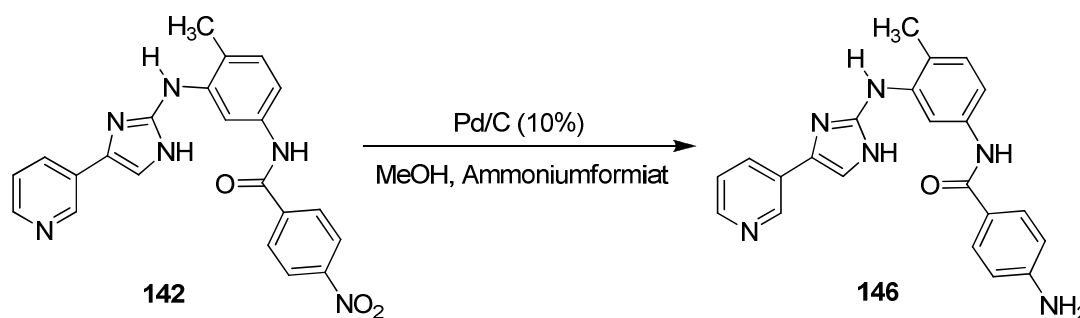
Ammoniumformiat dient auch als Wasserstoff-Donor in Dehalogenierungsreaktionen, reduktiven Aminierungen und zur Entschützung funktioneller Gruppen, insbesondere in der Peptid- und Kohlenhydrat-Chemie. Bei Reduktionen mit Ammoniumformiat wurde häufig Chemoselektivität beobachtet.^[128]

In unserem Fall wurden die Nitroaryl-Verbindungen **121-125** in Methanol unter Rückfluss in Anwesenheit von 10% Pd/C-Katalysator und einem Überschuss an Ammoniumformiat in die entsprechenden Amino-Verbindungen überführt (Schema 13). Methanol ist hierbei das Lösungsmittel der Wahl, denn Reduktionen verlaufen in der Regel schnell, und Löslichkeitsprobleme können in diesem Lösungsmittel meist vermieden werden.^[117, 128]

2.10 Synthese der Amide

Die Diamine 6-methyl-*N*¹-(4-Phenyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzen-1,3-diamin (**126**), substituierte *N*¹-(3-Pyridinyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzen-1,3-diamine (**127-129**) und 6-methyl-*N*¹-(4-Pyridinyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzen-1,3-diamin (**130**) wurden zu den entsprechenden Amiden **131-156** umgesetzt.

Die Amidierung jedes Arylamins / Diamins erfolgte mittels starken Base NaH in Anwesenheit von Carbonsäure-chloriden, die bei Substitution mit basischen funktionellen Gruppen als Hydrochloride oder Dihydrochloride vorlagen (**90-100**, **104**). Die Umsetzungen wurden bei Raumtemperatur in Pyridin als geeignetem Lösungsmittel durchgeführt. Die Verbindung **146** war durch katalytische Reduktion der Nitro-Gruppe der Verbindung **142** zugänglich (Schema 14).

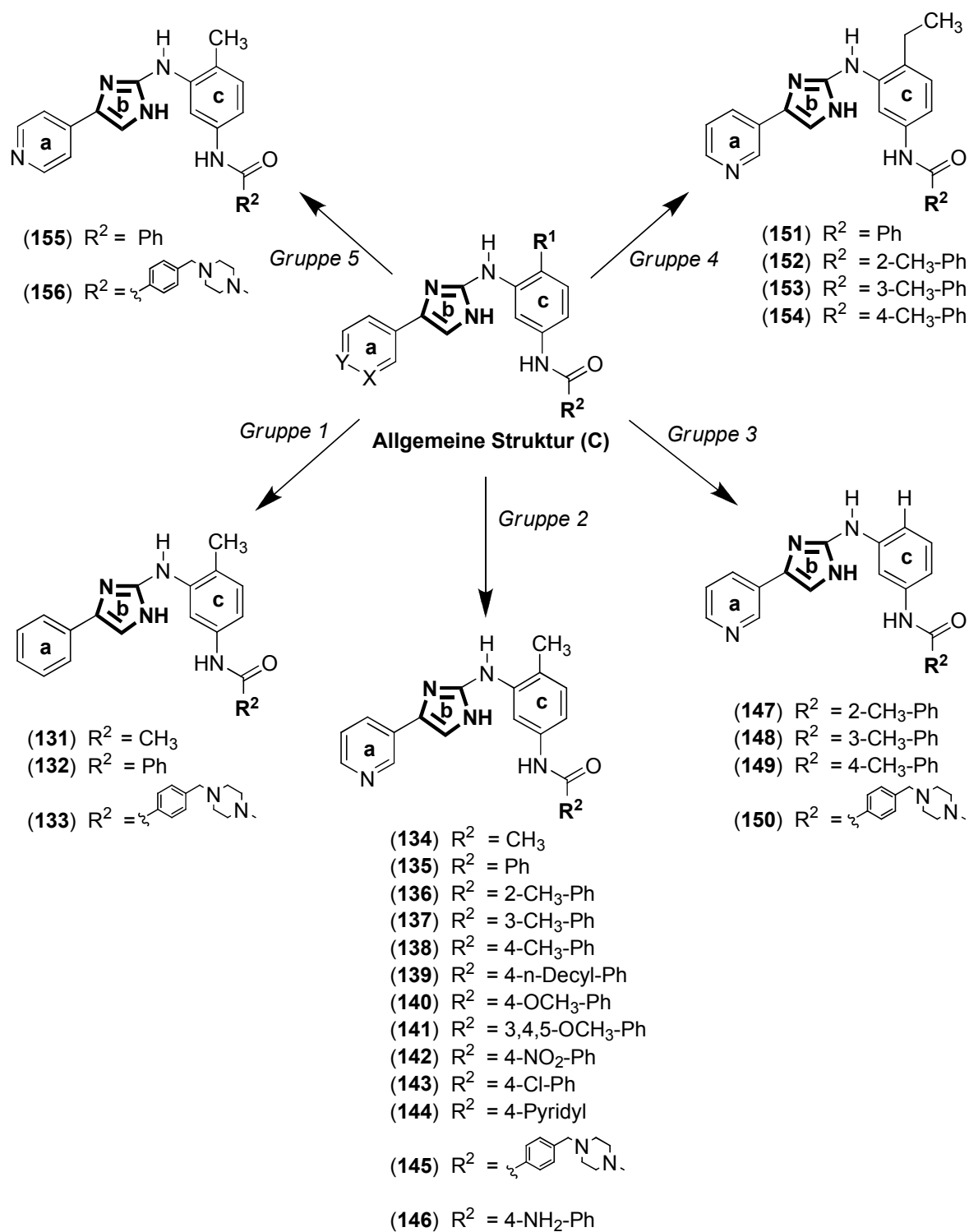


Schema 14: Katalytische Reduktion der Nitro-Gruppe der Verbindung **142**

Es gelang, zahlreiche Acetamid-, einfache Benzamid- bzw. substituierte Benzamid-Substrukturen an den Phenylring in Position 3 des Aminoaryl-Imidazol Grundkörper durch Amidierung einzuführen (Schema 2, S. 25).

Die so, synthetisierten Amidverbindungen wurden nach Ort und Art der Modifikation der allgemeinen Struktur in fünf Gruppen eingeteilt (Schema 15). Der Imidazolring, der in dem Aminoaryl-Imidazol Grundkörper (isoster modifizierte Imidazolyl-Analoga) als Ring **b** bezeichnet wird, wurde als grundlegende Modifikation in allen Gruppen hervorgehoben. Die Modifikationen wurden ferner in anderen Ausschnitten (**a** und **c**) der allgemeinen Struktur und im Bereich der Benzamid-Substruktur, Teil **B** der Leitstruktur (s. Abb. 4, S. 23), durchgeführt. Des weiteren wurde auch die Benzamid-Substruktur modifiziert (s. Schema 15).

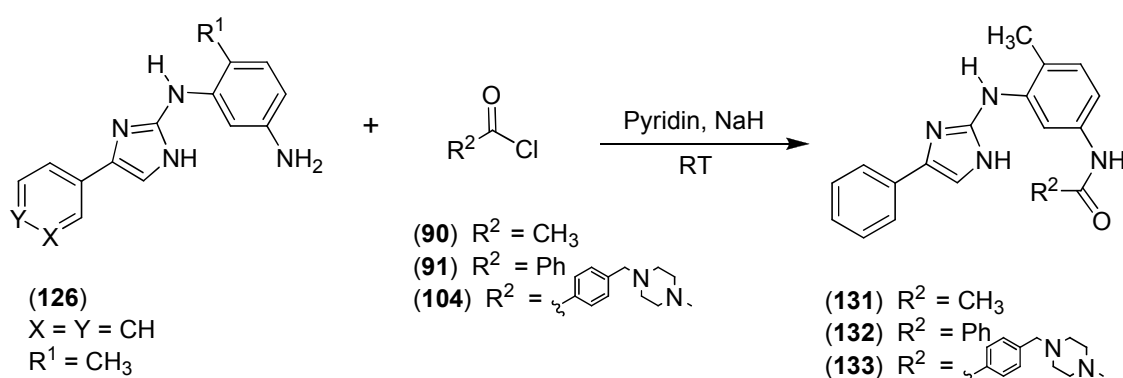
Anschließend wurden die erhaltenen modifizierten Substanzen aller Gruppen auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber PDGF und FLT3 untersucht (s. Kap. 3.1.2 und 3.1.3).



Schema 15: Modifikationen der isoster modifizierten Imidazoly-Analoga des Imatinib

2.10.1 Gruppe 1: Synthese der *N*-(4-Methyl-3-(4-phenyl-1*H*-imidazol-2-ylamino-phenyl)-Amide

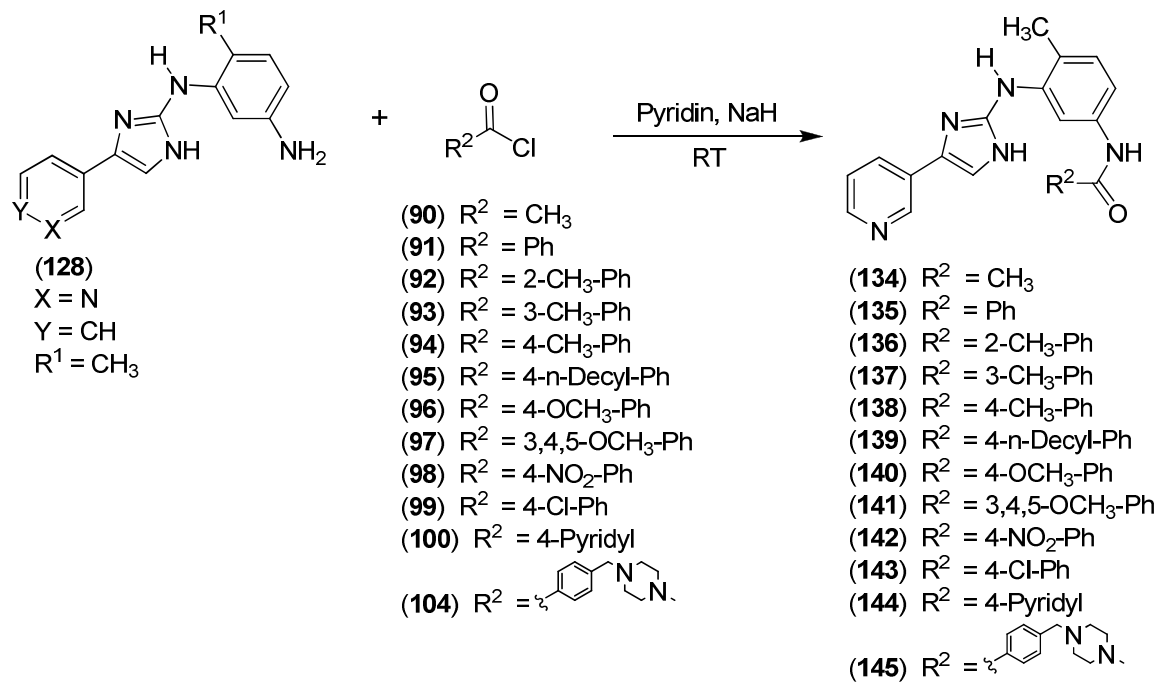
Substanzen dieser Gruppe wurden ausgehend von **126** synthetisiert. Sie enthalten eine Phenyl-Gruppe (Ausschnitt "a" der allgemeine Struktur) in Position 4 des Imidazolrings. Die „Flag-Methyl Gruppe“ in Position 6 des Phenylrings des Imidazolylamin Grundkörpers (Ausschnitt "c" der allgemeinen Struktur) ist beibehalten. Die Modifikationen der Benzamid Substruktur des Ausschnitts "c" führte zu Acetamid **131**, zum unsubstituierten Benzamid **132** bzw. zu 4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzamid (**133**) (Schemata 15 und 16).



Schema 16: Synthese der *N*-(4-Methyl-3-(4-phenyl-1*H*-imidazol-2-ylamino-phenyl)-Amide

2.10.2 Gruppe 2: Synthese der *N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino-phenyl)-Amide

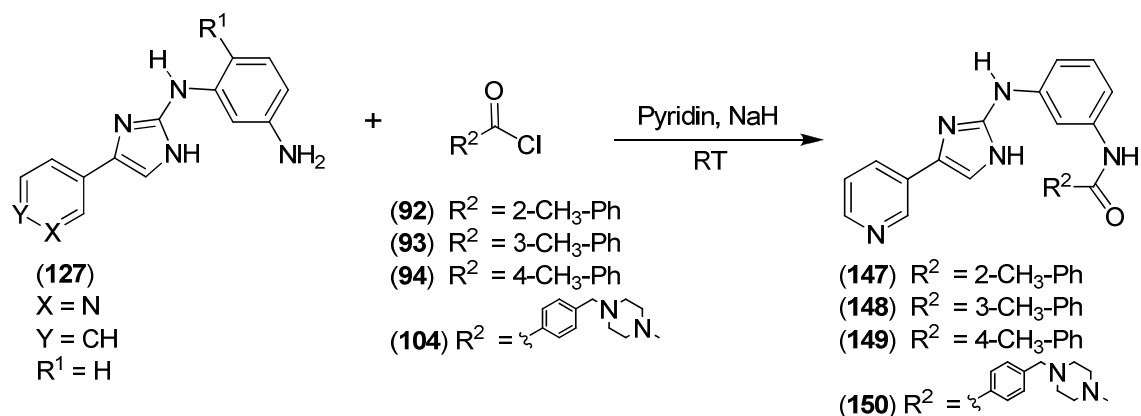
Diese Gruppe unterscheidet sich von der ersten Gruppe durch einen 3-Pyridinyl-Substituenten statt einer Phenyl-Gruppe. Die Benzamid-Substruktur bleibt unverändert (**135**) oder wurde durch Acetamid (**134**), Isonicotinamid (**144**) oder verschiedene substituierte Benzamide ersetzt. Beispiele sind 2-Methylbenzamid (**136**), 3-Methylbenzamid (**137**), 4-Methylbenzamid (**138**), 4-*n*-Decylbenzamid (**139**), 4-Methoxybenzamid (**140**), 3,4,5-Trimethoxybenzamid (**141**), 4-Nitrobenzamid (**142**), 4-Chlorobenzamid (**143**), 4-Aminobenzamid (**146**) und 4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzamid (**145**) (Schemata 15 und 17).



Schema 17: Synthese der *N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)phenyl)-Amide

2.10.3 Gruppe 3: Synthese der *N*-(3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)phenyl)-benzamide

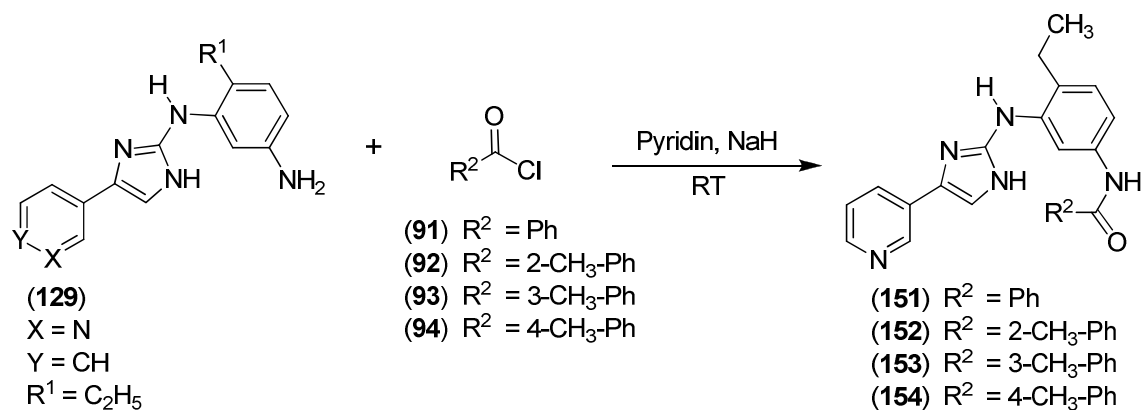
In dieser Gruppe ist das Substitutionsmuster im Ausschnitt "a" identisch mit Gruppe 2, der Unterschied liegt hier im Ausschnitt "c": Es ist keine Methylgruppe in Position 6 des Phenyl-Rings am Imidazolylamin-Grundkörper vorhanden. Die Benzamid-Substruktur wurde durch Verwendung substituierter Benzamide modifiziert. Zu denen zählen 2-Methylbenzamid (**147**), 3-Methylbenzamid (**148**), 4-Methylbenzamid (**149**) und 4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzamid (**150**) (Schemata 15 und 18).



Schema 18: Synthese der *N*-(3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamide

2.10.4 Gruppe 4: *N*-(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamide

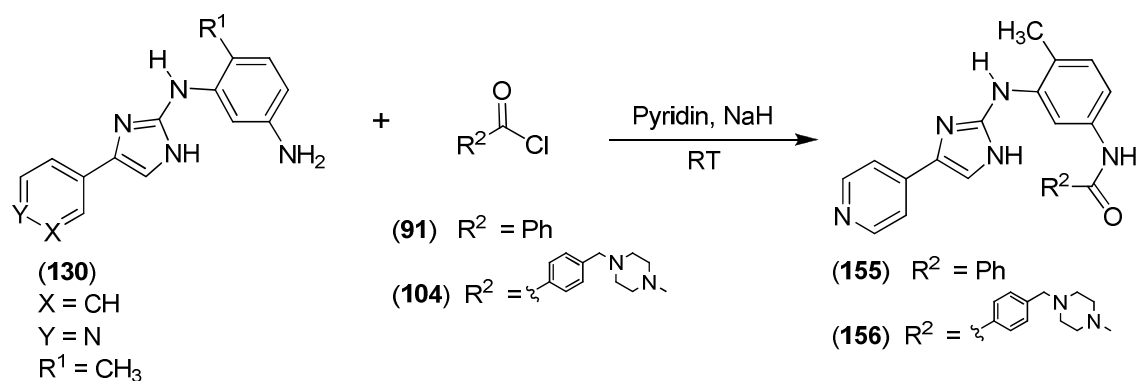
Eine weitere Modifikation im Ausschnitt "c" wurde durch die Einführung einer Ethylgruppe in Position 6 des Phenyl-Rings am Imidazolylamin-Grundkörper bewirkt. Als Benzamidsubstruktur sind in dieser Serie das unsubstituierte Benzamid (**151**), 2-Methylbenzamid (**152**), 3-Methylbenzamid (**153**) und 4-Methylbenzamid (**154**) zu nennen (Schemata 15 und 19).



Schema 19: Synthese der *N*-(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamide

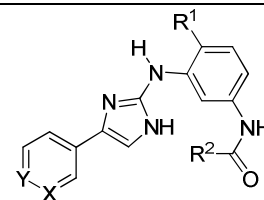
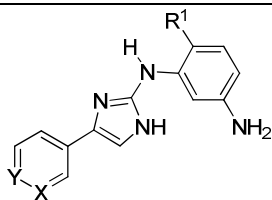
2.10.5 Gruppe 5: *N*-(4-methyl-3-(4-pyridin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid

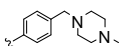
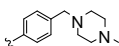
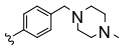
Diese Gruppe unterscheidet sich von der ersten und zweiten Gruppe durch einen 4-Pyridinyl-Substituenten statt einer Phenyl- bzw. 3-Pyridinylgruppe. Als Benzamide sind hier Benzamid (**155**) und 4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzamid (**156**) zu nennen (Schemata 15 und 20).



Schema 20: Synthese der *N*-(4-methyl-3-(4-pyridin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamide

Die erhaltenen Amide **131-156** sind, zusammen mit den jeweiligen Vorstufen, den jeweiligen Arylaminen **126-130** und Carbonsäurechloriden **90-100** und **104** in Tab. 2 zusammengefasst.



X	Y	R ¹	Nr.	R ²	Nr.	Ausb.%	Nr.
CH	CH	CH ₃	126	CH ₃	90	23	131
CH	CH	CH ₃	126	Phenyl	91	37	132
CH	CH	CH ₃	126		104	14	133
N	CH	CH ₃	128	CH ₃	90	30	134
N	CH	CH ₃	128	Phenyl	91	30	135
N	CH	CH ₃	128	2-CH ₃ -Ph	92	69	136
N	CH	CH ₃	128	3-CH ₃ -Ph	93	17	137
N	CH	CH ₃	128	4-CH ₃ -Ph	94	89	138
N	CH	CH ₃	128	4-n-Decyl-Ph	95	66	139
N	CH	CH ₃	128	4-OCH ₃ -Ph	96	60	140
N	CH	CH ₃	128	3,4,5- OCH ₃ -Ph	97	22	141
N	CH	CH ₃	128	4-NO ₂ -Ph	98	90	142
N	CH	CH ₃	128	4-Cl-Ph	99	49	143
N	CH	CH ₃	128	4-Pyridyl	100	53	144
N	CH	CH ₃	128		104	19	145
N	CH	CH ₃	128	4-NH ₂ -Ph		42	146
N	CH	H	127	2-CH ₃ -Ph	92	45	147
N	CH	H	127	3-CH ₃ -Ph	93	22	148
N	CH	H	127	4-CH ₃ -Ph	94	23	149
N	CH	H	127		104	46	150
N	CH	C ₂ H ₅	129	Phenyl	91	63	151
N	CH	C ₂ H ₅	129	2-CH ₃ -Ph	92	62	152
N	CH	C ₂ H ₅	129	3-CH ₃ -Ph	93	59	153
N	CH	C ₂ H ₅	129	4-CH ₃ -Ph	94	52	154
CH	N	CH ₃	130	Phenyl	91	49	155

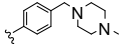
CH	N	CH ₃	130		104	23	156
----	---	-----------------	------------	---	------------	----	------------

Tabelle 2: Synthetisierte isoster modifizierte Imidazolyl-Analoga des Imatinib

3 Biochemischer Teil

3 Biochemischer Teil

Die biologische Aktivität im Hinblick auf potentielle pharmakologische Wirksamkeit der in Kapitel 2 beschriebenen synthetisierten Imidazol-Derivate wurde im Rahmen des Verbundprojekts von unserem Partner, dem Institut für Molekulare Zellbiologie des Friedrich-Schiller Universitätsklinikums in Jena untersucht. Die zur Erarbeitung von Strukturwirkungsbeziehungen verwendeten Testdaten der neu synthetisierten Imidazol Derivate wurden zusammen mit den Vergleichswerten bekannter Verbindungen (in der Regel Imatinib[®], s. Tab. 1) ermittelt.

Um die Selektivität der Hemmwirkung der neu synthetisierten Verbindungen auf die Tyrosinkinase-Aktivität zu beurteilen und zu bewerten, wurden zwei unterschiedliche Rezeptor-Tyrosinkinasen der Klasse III getestet: PDGFR und FLT-3 (s. Kap. 3.1.2 und 3.1.3).

3.1 Protein-Tyrosinkinase-Test

3.1.1 Bekannte Tyrosinkinaseinhibitoren

Im Kapitel 1.3.2.1 wurden verschiedene Protein-Tyrosinkinase Inhibitoren mit verschiedenen Grundstrukturen, natürlich vorkommende, halb synthetische und synthetische Inhibitoren, in tabellarischer Form zusammengefasst. Sie agieren als kompetitive-, duale- oder selektive Hemmstoffe.

Außerdem wurden für die PDGF-Rezeptortyrosinkinase im besonderen mehrere Klassen von direkten Inhibitoren beschrieben, wozu Phenylaminopyrimidine^[42, 90, 135, 136], Chinoxaline^[137-141], Chinoline^[142-147], Pyridopyrimidine^[148] und Phenylbenz-imidazole^[143, 149, 150] sowie Bis(1*H*-2-indolyl)-methanone^[151, 152] zählen. Ein bedeutender Hemmstoff dieser Proteintyrosinkinase ist Imatinib (**8**)^[24], ein verbessertes Phenylaminopyrimidin, das für unsere neu synthetisierten Verbindungen (Arylaminoimidazole)^[117] als attraktive Leitstruktur identifiziert und ausgewählt wurde (s. Kap. 2.5.1).

3.1.2 Beschreibung des Testmodells für PDGF

Das Screening auf die PDGF-Rezeptor-Tyrosinphosphorylierung wurde an intakten Swiss 3T3-Zellen durchgeführt. Der Test für die PDGF-induzierte Tyrosinphosphorylierung besteht aus der Herstellung der Lysate und dem anschließenden

Nachweis der Phosphorylierung des PDGF-Rezeptors. Das gesamte Testprotokoll ist in den Abb. 1 und 2 dargestellt.^[151]

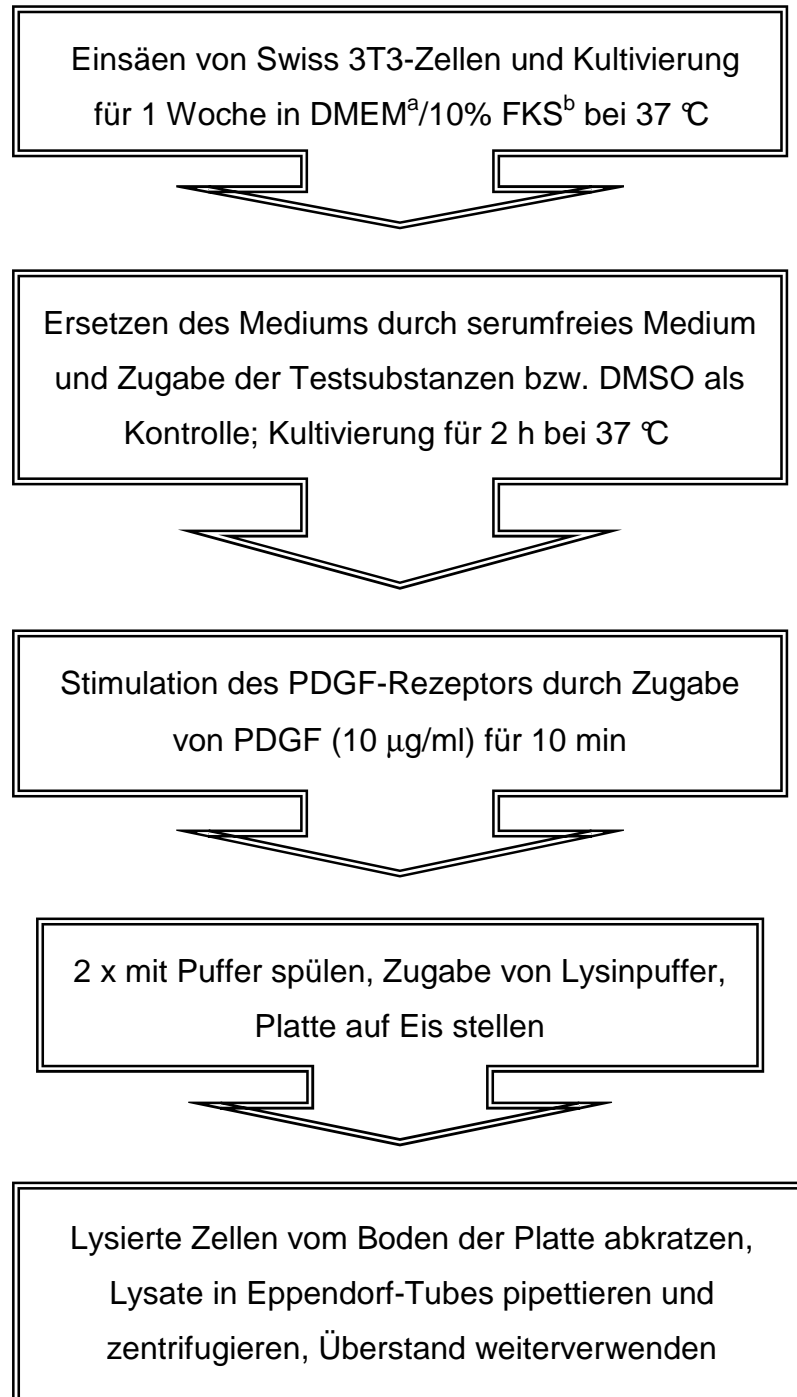


Abb. 1: Herstellung der Lysate

^a DMEM: Dulbecco's modified Eagle Medium; ^b FKS: fötales Kalbserum

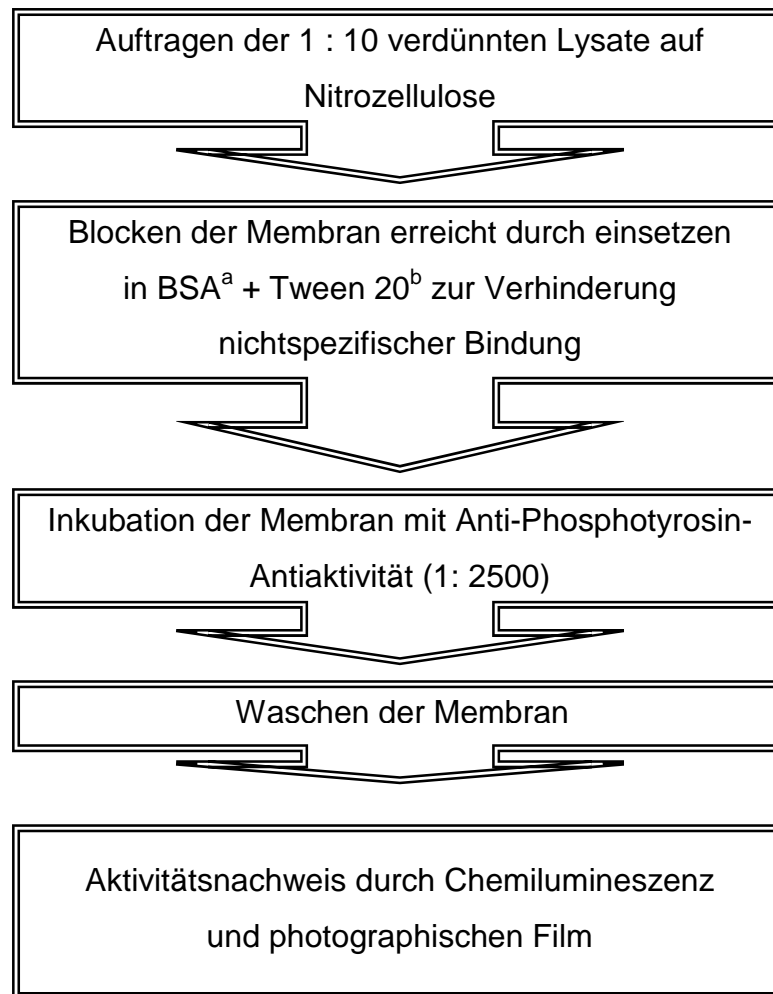


Abb. 2: Nachweis der Phosphorylierung des PDGF-Rezeptors

^aBSA: Bovine Serum Albumin; ^bTween 20: Polysorbat-20

3.1.3 Beschreibung des Testmodells für FLT3 (*fms-like tyrosine kinase 3*)

Neben dem Screening auf die PDGF-Rezeptor-Tyrosinphosphorylierung wurden die Substanzen auch hinsichtlich ihrer Effekte auf die FLT3-Rezeptor-Tyrosinphosphorylierung in EOL-1 Zellen untersucht. Der Test für die FLT3-induzierte Tyrosinphosphorylierung wurde wie folgt durchgeführt:^[152]

1. Für die Messung der Autophosphorylierung des endogenen FLT3-Rezeptors in EOL-1 (*human eosinophilic leukemia cell line*) Zellen^[153] wurden 5×10^6 Zellen pro well in die 12-Well-Platten mit RPMI1640 Medium ohne Serum gesät.
2. Testsubstanzen wurden aus 100-fach konzentrierten Beständen direkt in das Medium (endgültige DMSO-Konzentration 1%) zugegeben, und die Platten wurden bei 37 °C, 5% CO₂ für 1 h inkubiert.

3. Die Stimulation des FLT3-Rezeptors wurde mit FLT3 (50 ng/ml oder mit entsprechendem Lösungsmittel) bei Raumtemperatur für 10 min durchgeführt.
4. Die Zellen wurden auf Eis gekühlt und in 1 ml TX100-enthaltendem Lysin-puffer lysiert.
5. Zell Extrakte wurden mit 15 μ l (1:1 Aufschlammung) von Weizenkeim Agglutinin-Agarose mit End-über-End-Rotation bei 4 °C für 1 h inkubiert.
6. Die Kügelchen/*beads* wurden zweimal mit Lysinpuffer gewaschen und mit SDS-PAGE Puffer bei 50 °C für 20 min extrahiert.
7. Immunoblotting mit Antiphosphotyrosin Antikörper und Bestimmung der IC₅₀-Werte wurden durchgeführt.

3.1.4 Testergebnisse

Im Primärscreening auf PDGF- bzw. FLT3-Rezeptorhemmung wurden alle Substanzen zweifach in der Endkonzentration 10 μ g/ml eingesetzt. Bei aktiven Substanzen erfolgte eine Titration in den Stufen 30 μ M, 10 μ M, 3 μ M, 1 μ M, 0.3 μ M, 0.1 μ M, ebenfalls mindestens in Doppelwerten geprüft. Die IC₅₀-Werte aller Substanzen für die Hemmung des PDGFR sind in den Tabellen 1, 2 und 3 aufgeführt.

Auf der anderen Seite sind die getesteten Substanzen bezüglich FLT3 wirkungslos, da sie IC₅₀-Werte >10 μ g/ml zeigten.

Um der Einfluss der Amid-Substruktur auf die Hemmung des PDGF-Rezeptors sicherzustellen, wurden die Verbindungen **121-125** und **126-130**, die in ihrer Strukturen keine Amid-Substruktur besitzen, untersucht (Daten nicht gezeigt).

Die biologischen Daten für die Hemmung des PDGF-Rezeptors der neu synthetisierten 2-Arylaminoimidazolyl Verbindungen^[117], in denen die Pyridin- und Amid-Substituenten (bzw. Ausschnitt "a" und "c" der Allgemeine Struktur **(C)**, Schema 15 Kap. 2, S. 35) modifiziert sind, sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Um festzustellen, ob die Selektivität der Verbindungen beibehalten wurde, wurde zusätzlich die Aktivität auf FLT3, ein eng verwandtes Mitglied aus der RTK-Familie, bzw. genauer aus der Klasse III der Rezeptor-Tyrosin-Kinasen, getestet (Tab. 1). Keine der untersuchten Verbindungen, die in der Tab. 1 aufgeführt wurden, beeinflussten auch den FLT3-Rezeptor bis zu einer Konzentration von 10 μ g/ml, ein Ergebnis, wie es ebenso für die Leitstruktur Imatinib^[69, 154] gefunden wird.

Für die Verbindungen mit 3-Pyridyl-Substituent, die die stärkste hemmende Wirkung

zeigten, untersuchten wir ferner den Einfluss des Substitutionmusters der Benzamid-Substituenten in diesem System. Die untersuchten Verbindungen sind in Tab. 2 dargestellt. Auch diese Verbindungen beeinflussten FLT3 bis zu einer Konzentration von 10 µg/ml nicht.

Die Auswirkung der „Flag-Methyl Gruppe“ im Imidazolyl System wurde durch Ersatz dieser Gruppe durch Wasserstoff oder einer Ethyl-Substituenten untersucht. Im Hinblick auf die veränderte geometrische Struktur wurden chemische Modifikationen ebenfalls mit verschiedenen Substitutionsmustern im Benzamid System durchgeführt (Tab. 3). Die aufgeführten Substanzen besitzen allerdings ebenfalls nur sehr geringe Inhibitorwirkung gegenüber dem FLT3 Rezeptor.

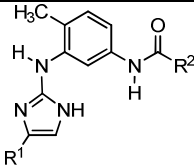
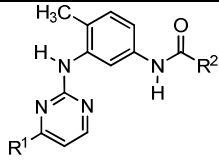
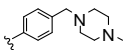
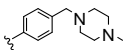
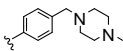
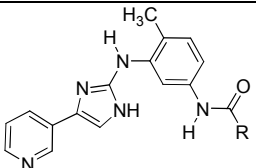
					
R ¹ =	R ² =	Nr.	IC ₅₀ PDGFR (µM)	Nr.	IC ₅₀ PDGFR (µM)
Ph	CH ₃	131	>30		
3-Pyridyl	CH ₃	134	5.9	9	50 ^[90]
Ph	Ph	132	7.1		a
3-Pyridyl	Ph	135	0.3	7 (CGP 53716)	0.1-0.3 ^[90]
4-Pyridyl	Ph	155	>10		a
Ph		133	>10		a
3-Pyridyl		145	>10	Imatinib (8)	0.3 ^b
4-Pyridyl		156	>10		

Tabelle 1: IC₅₀-Werte für die Hemmung der PDGF-stimulierten Tyrosinphosphorylierung mit 2-Arylaminoimidazolyl-Verbindungen durch Modifikationen der Pyridyl- und Amidsstruktur des Leitstruktur Imatinib

^a Keine Daten aus der Literatur; ^b Die Werte für Imatinib als Referenz Verbindung in dem verwendeten Swiss 3T3-Zell Modell

			
R =	Nr.	IC ₅₀ PDGFR (µM)	
Ph	135	0.3	
4-CH ₃ -Ph	138	0.2	

4-n-Decyl-Ph	139	>10
4-OCH ₃ -Ph	140	>30
3,4,5-OCH ₃ -Ph	141	>10
4-NO ₂ -Ph	142	>30
4-Chlor-Ph	143	0.4
4-Pyridyl	144	1.8
4-NH ₂	146	>30

Tabelle 2: IC₅₀-Werte für die Hemmung der PDGF-stimulierten Tyrosinphosphorylierung mit 2-Arylaminoimidazolyl-Verbindungen durch Modifikationen der Amid-Substruktur der Leitstruktur Imatinib

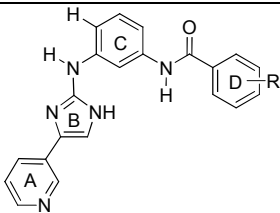
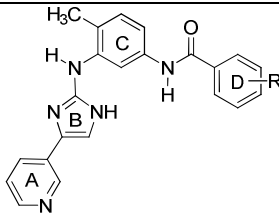
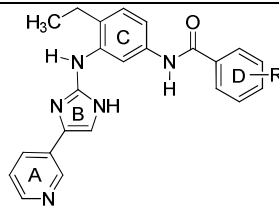

							
R =	Nr.	IC ₅₀ PDGFR (μM)	Nr.	IC ₅₀ PDGFR (μM)	Nr.	IC ₅₀ PDGFR (μM)	
H			135	0.3	151	4.7	
2-CH ₃	147	0.6	136	0.6	152	1.6	
3-CH ₃	148	0.3	137	2.2	153	0.3	
4-CH ₃	149	0.2	138	0.2	154	6.5	
	150	6.5	145	>10			

Tabelle 3: IC₅₀-Werte für die Hemmung der PDGF-stimulierten Tyrosinphosphorylierung mit 2-Arylaminoimidazolyl-Verbindungen durch Modifikationen des c-Ring Systems und der Benzamid-Substruktur der Leitstruktur Imatinib

3.1.5 Diskussion

Das fünfgliedrige Ringsystem des Imidazols besitzt einen zusätzlichen Wasserstoffbrücken-Donor, und weist - im Vergleich zu Pyrimidin - einen Wasserstoffbrücken-Akzeptor weniger auf. Ein Austausch von Donor und Akzeptor ist hierbei durch Tautomerie leicht möglich.^[155] Die heterocyclischen Imidazolyl-Analoga zeigen außerdem eine modifizierte molekulare Geometrie durch die veränderten Bindungswinkel. Daher wurde, wie bereits in Kap. 2.5.1 erwähnt, der 3-Pyridyl-Ring durch einen Phenyl- und durch einen 4-Pyridyl-Substituenten ersetzt, unter Berücksichtigung der veränderten geometrischen Struktur, die aus dem

Austausch eines sechsgliedrigen Ringsystems durch ein fünfgliedriges Ringsystem resultiert.

Wie in Tabelle 1 gezeigt, wird der Austausch des Pyrimidins durch ein Imidazol-System gut toleriert. Im Falle von **134** kann sogar eine Steigerung der Aktivität im Vergleich zu der entsprechenden Pyrimidin-Verbindung **9** beobachtet werden (5.9 μM vs 50 μM). Wie bei der ursprünglichen Verbindung zeigten die 3-Pyridyl-substituierten Derivate **134** und **135** die stärkste hemmende Wirkung. Eine Abnahme der Hemmwirkung wurde durch Ersatz des 3-Pyridyl-Substituenten durch Phenyl **132** und noch erheblicher bei Ersatz durch 4-Pyridyl **155** beobachtet.

Die Amid-Substruktur ist für die Aktivität eine wesentliche Voraussetzung. Alle untersuchten Verbindungen (**121-125** und **126-130**, Schemata 11 und 13, S. 30 bzw. 33), denen dieses strukturelle Merkmal fehlt, hemmen weder PDGFR noch FLT3-R bis zu einer Konzentration von 10 $\mu\text{g/ml}$ (Daten nicht gezeigt).

Wie für die Pyrimidin-Serie berichtet^[90], sind die Benzamide **132** und **135** wirksamer als die entsprechenden Acetamide **131** und **134**. Im Gegensatz zu den Pyrimidin-Serien, ist die Einführung des 1-Methyl-4-benzylpiperazins in der Imidazolyl-Serie abträglich (**145** vs **135**) und führte zu bemerkenswerter Abnahme der Aktivität.

In der Pyrimidin-Serie führte diese Substitution hingegen zu Verbindungen mit sehr guter Aktivität.^[90] Bei den Imidazolyl-Verbindungen in Tabelle 2, lässt sich durch para-Substitution im Phenyl-Ring durch Methyl (**138**) oder Chlor (**143**) die Aktivität nur gering steigern. Die beste hemmende Wirkung zeigt das 4-Methyl-Derivat **138**. Die Einführung von voluminöseren Substituenten, wie die C₁₀-Kette von **139** illustriert, reduziert die Aktivität nicht so stark wie die Einführung von Methoxy-Gruppen (**140**, **141**) oder die Einführung von Nitro- (**142**) oder Amino-Gruppen (**146**). Der 4-Pyridyl-Substituent (**144**) anstelle eines Phenyl-Systems (**135**) ist viel besser tolerierbar.

Die Daten in Tabelle 3 zeigen, dass die höchste hemmende Wirkung innerhalb der Reihe der Verbindungen (**135-138**) und (**147-149**) bei Verbindungen, die eine Methylgruppe in para-Position der Benzamid-Substruktur (Ringsystem D) besitzen, auftritt. Beim Vergleich der Daten von (**135-138**) und (**147-149**) kann jedoch keine signifikante Wirkung durch die Einführung der „Flag-Methyl Gruppe“ in Ringsystem C beobachtet werden, d. h. die Verbindung **138** zeigt eine ähnliche Hemmwirkung wie **149**.

Im Gegensatz dazu, ist die inhibitorische Aktivität für die Reihe (**151-154**) am höchsten für die meta-substituierte Verbindung **153**, die einen IC_{50} -Wert von $0.3 \mu\text{M}$ zeigt. Auch bei Verbindung **150** ist, wie bereits für die Verbindungen **145** und **135** erwähnt, die Einführung der 1-Methylen-4-methylpiperazin-Substruktur für die Aktivität abträglich (s. auch **133**, **145** und **156** aus der Tab. 1).

4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte eine Reihe von neuen *N*-(3-(4-(Pyridin-3yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)phenyl)amid-Derivaten (s. Schema 15, S. 35) synthetisiert werden. Die neu synthetisierten 2-*N*-Arylamino-4(5)arylimidazol Derivate sollten auf ihre inhibitorische Wirkung mittels *in-vitro* Testmodellen an PDGF- und FLT3-Rezeptor-Tyrosinkinase getestet werden. Als Leitstruktur für diese Synthese diente der bekannte Tyrosinkinase Inhibitor Imatinib (**8**) (STI571, Glivec®) (Abb. 1), welcher eine Gruppe von Tyrosinkinasen hemmt. Hierbei sind insbesondere PDGF-R, BCR-ABL und c-Kit zu nennen.

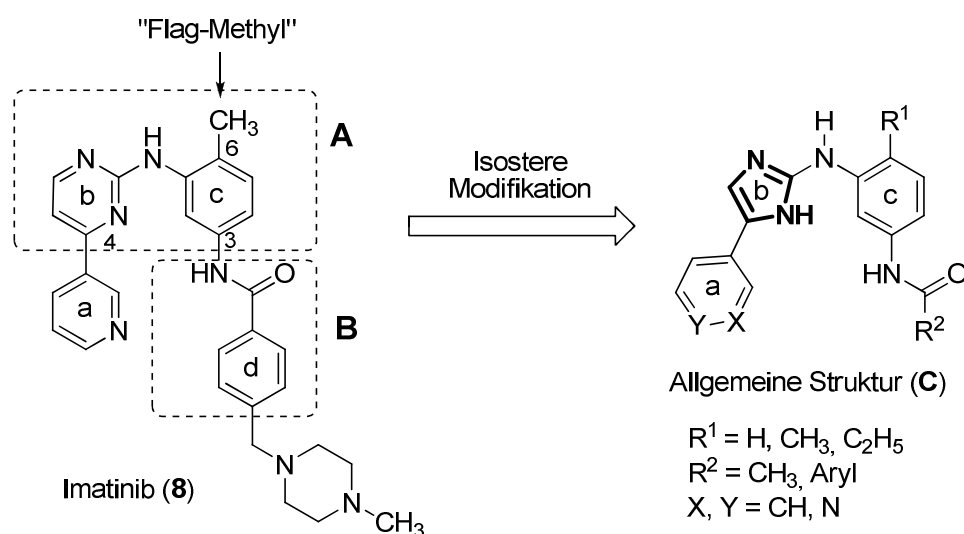


Abb. 1: Struktur von Imatinib (**8**) (links) und allgemeine Struktur (C) der isoster modifizierten Imidazolyl Analoga

Chemisch ist Imatinib ein Phenylaminopyrimidin-Derivat, das in 4-Position mit einem Pyridin Ring substituiert ist. Die Phenylamino-Partialstruktur ist hierbei ferner durch eine Methyl-Gruppe in 6-Position sowie eine Benzamid-Struktureinheit mit freier NH-Gruppe in Position 3 substituiert. Der Benzamid-Substituent ist vorzugsweise mit einem lipophilen Substituenten in Position 4 ausgestattet. Zu Verbesserung der Löslichkeit und der Bioverfügbarkeit ist dieser lipophile Substituent (-CH₂) mit einem 1-Methylpiperazin Substituent verknüpft.

Die neuen Phenylaminoimidazol-Derivate konnten in Anlehnung an die Syntheseroute des Phenylaminopyrimidins, das erstmals von *Zimmermann et al.* synthetisiert wurde, hergestellt werden. Um die strukturellen Voraussetzungen zur selektiven Hemmung des PDGF-Rezeptors zu finden, wurde die Struktur-Wirkungs-Beziehung bei Ersatz des zentralen Pyrimidinrings der Leitstruktur Imatinib gegen einen bioisosteren Imidazolring untersucht.

Die grundlegende Struktur der ursprünglichen Leitstruktur wurde hierbei beibehalten, wobei chemische Modifikationen durchgeführt wurden, um der Veränderung der Geometrie Rechnung zu tragen.

Dabei wurden neben dem 3-Pyridylsubstituenten in Position 4(5) des Imidazolyl-Gerüsts auch Derivate mit 4-Pyridyl- sowie Phenyl-Substituent synthetisiert. Um den Einfluß der „Flag-Methyl Gruppe“ in der Imidazolyl-Serie zu untersuchen, wurde diese Gruppe gegen H und Ethyl ersetzt. Eine wichtige Modifikation bestand hierbei im Ersatz der Benzamid-Struktur in Position 3 durch Acetamid, Arylamide / Isonikotinamid und diverse substituierte Benzamide. Die so erhaltenen Derivate wurden hinsichtlich ihrer Rezeptorinhibitor-Wirkung untersucht. Die Synthese der 2-*N*-Arylamino-4(5)arylimidazol Derivate erfolgte durch Ringschluß diverser 2-Brom-1-phenol-ethanon oder 2-Brom-1-pyridin-yl-Ethanon-Hydrobromide mit den geeignet substituierten Guanidinium-Nitrat. Die entsprechenden Amine waren in der Folge durch katalytische Reduktion der Nitro-Gruppe mit Ammoniumformiat an Pd/C in methanolischer Lösung erhältlich. Diese wurden mit den entsprechenden Carbonsäurechloriden umgesetzt, um schließlich zu den Zielstrukturen zu gelangen (s. Schema 2, S. 25).

Alle neu dargestellten Imidazol-Derivate wurden auf ihre Selektivität gegenüber dem FLT3-Rezeptor, der vom Imatinib nicht inhibiert wird, untersucht. Dabei beeinflusste keine der untersuchten Verbindungen den FLT3-Rezeptor bis zu einer Konzentration von 10 µg/ml, ein Ergebnis, wie es ebenso für die Leitstruktur Imatinib gefunden wird. Daraus lässt sich ableiten, dass die Selektivität konserviert wurde. Im Gegenzug zeigten einige der Imidazol-Derivate, abhängig von ihren strukturellen Modifikationen, starke inhibitorische Wirkung auf den PDGF-Rezeptor, ähnlich wie die Leitstruktur. Beispielsweise hemmte Verbindung **138** die PDGF-Rezeptor Phosphorylierung in intakten Zellen deutlich ($IC_{50} = 0.2 \mu M$). Imatinib im Vergleich weist einen IC_{50} -Wert von 0.3 µM auf.

Die Prüfung der strukturellen Veränderungen auf die Hemmwirkungen der neu synthetisierten Imidazol-Derivate zeigte, dass der Austausch des Pyrimidins durch ein Imidazol-System gut toleriert wird.

Die Derivate mit 3-Pyridyl-Substituenten zeigten die stärkste hemmende Wirkung, wie auch bei der ursprünglichen Verbindung Imatinib. Der Ersatz des 3-Pyridyl-

Substituenten durch Phenyl brachte eine Abnahme der Hemmwirkung, noch erheblicher bei Ersatz durch einen 4-Pyridyl-Substituenten.

Die Verbindungen, die in ihren Strukturen keine Amid-Substruktur besitzen, hemmen weder PDGF-R noch FLT3-R bis zu einer Konzentration von 10 µg/ml. Somit konnte gezeigt werden, dass, wie in der Pyrimidin-Serie, die Amid-Substruktur wesentlich für die Aktivität ist. Im Rahmen dieser Struktur-Modifikation wurde, vergleichbar mit der Pyrimidin-Serie, beobachtet, dass die Benzamide wirksamer als die Verbindungen mit Acetamid-Substruktur sind.

Um weitere Aussagen über den Einfluss der Benzamid-Substruktur auf die Aktivität treffen zu können, wurden zahlreiche substituierte Benzamide dargestellt. Die Aktivität lässt sich durch para-Substitution am Phenyl-Ring des Benzamids durch verschiedene Substituenten beeinflussen. Die höchste Wirksamkeit zeigte Verbindung **138**, die in Position 4 des Benzamids mit einer Methyl-Gruppe substituiert ist, während die para-Chlor-Substitution die Aktivität nur gering steigert.

Im Gegensatz zu den Pyrimidin-Serien und unabhängig von anderen strukturellen Modifikationen schwächte die Substitution bei den Imidazolyl-Analoga durch einen Substituenten in para-Position der Benzamid-Substruktur (in der Regel 1-Methylpiperazin) die Aktivität deutlich. Die Einführung von voluminöseren Substituenten (C₁₀-Kette) reduziert die Aktivität nicht so stark wie die Einführung von 4-Methoxy-Gruppen oder die Einführung von 4-Nitro- oder 4-Amino-Gruppen. Der 4-Pyridyl-Substituent anstelle eines Phenyl-Systems wird viel besser toleriert.

Bei den Pyrimidin-Serien ist die „Flag-Methyl Gruppe“ ein bedeutsames strukturelles Merkmal. Im Gegensatz dazu wirkt sich die Einführung der „Flag-Methyl Gruppe“ in Position 6 des Ringsystems C der Imidazol-Serien (Abb. 1) nur wenig auf die Aktivität aus. Schema 15 (S. 35) zeigt die Modifikationen der Amid-Struktur C.

Es wurde somit erreicht, potente PDGF-Rezeptor Inhibitoren herzustellen. Die Inhibitoren dieser Klasse zeigen, ebenso wie Imatinib, keine Inhibitorwirkung auf den FLT3-Rezeptor.

5 Experimenteller Teil

5 Experimenteller Teil

5.1. Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte

Büchi B-545 Schmelzpunktapparatur

Die Werte sind nicht korrigiert

Elementaranalysen

Vario EL III

Mikroanalytisches Labor der Universität Regensburg

Massenspektrometrie

CI-MS: SSQ 710A, Finnigan MAT

EI-MS und PI-EIMS: SSQ 710A, Finnigan MAT

MAT 95, Finnigan MAT

ES-MS: TSQ 7000 Thermo Quest, Finnigan

IR-Spektroskopie

Bruker Tensor 27-IR Spektrometer

¹H-NMR- Spektroskopie

Bruker Avance 300 MHz Spektrometer

Interner Standard: Tetramethylsilan (TMS)

Lösungsmittel: DMSO-*d*₆, CDCl₃, CD₃CN

Die Spektren wurden mit dem Programm 1D-WIN-NMR ausgewertet.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Stationäre Phase: SiO₂ Merck Art. 5554 DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm

Mobile Phase: Alle Lösungsmittel wurden destilliert.

Detektion: UV : durch Fluoreszenzindikatorlöschung bei 254 nm

Säulenchromatographie (SC)

Stationäre Phase: SiO₂ Merck Art. 7734 Kieselgel 60 (70 – 230 mesh ASTM)

Mobile Phase: Alle Lösungsmittel wurden destilliert. Die Verhältnisse der Laufmittelkomponenten in Laufmittelgemischen sind in Volumenanteilen angegeben.

Anmerkungen

Die als „absol.“ bezeichneten Lösungsmittel wurden nach Lit.^[156] gereinigt und getrocknet. Alle Reaktionen in nicht-wässrigen Systemen wurden unter N₂ (getrocknet über H₂SO₄, KOH und Blaugel) oder Argon durchgeführt.

Substanzen wurden im Ölpumpenvakuum bei Raumtemperatur (0.5-2.0 Torr) getrocknet.

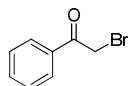
Alle für die Synthese verwendeten kommerziellen erhältlichen Substanzen / Reagenzien wurden von den Firmen Aldrich, Acros, Merck, Alfa Acer bezogen.

Der Experimentelle Teil enthält Synthesevorschriften für neue Verbindungen, aber auch für bekannte Substanzen, die auf einem anderen Weg als in der Lit. Beschrieben, dargestellt wurden oder bei denen die Ausbeuten optimiert werden konnten.

5.2. Synthesevorschriften und analytische Daten

5.2.1 Synthese von 2-Brom-1-phenylethanon^[119] (112) aus Acetophenon (109)

Man löst 24 g (200 mmol) Acetophenon in 200 ml Methanol und gibt 10 Tropfen 33% HBr in Essigsäure zu. Unter Eiskühlung tropft man langsam (Entfärbung) 200 mmol Brom zu, erwärmt langsam auf Raumtemp. und rührt 1 h. Anschließend saugt man den Niederschlag ab und wäscht mit wenig kaltem Methanol.



C_8H_7BrO (199.05)

Ausbeute: 27.0 g (135.6 mmol, 68%), farblose Kristalle

Schmp.: 48 - 49 °C (Lit. ^[119]: 49 - 50 °C)

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3058, 3002, 2952 (CH), 1694 (C=O), 1596, 1580 (C=C)

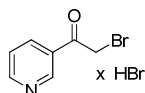
¹H-NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 4.30 (s; 2H), 7.20 - 8.10 (m; 5H, arom.)

5.2.2 α -Bromierung von substituierten Acetylpyridinen

5.2.2.1 Allgemeine Synthesevorschrift^[120]

Man löst 10 g (82.5 mmol) des entsprechenden Acetylpyridins in 50 ml HBr (48%). Die Lösung wird im Ölbad auf 60 °C erwärmt und tropfenweise das Brom (4.2 ml) zugegeben, so dass sich die Lösung jeweils immer wieder vollständig entfärbt. Nach beendeter Zugabe wird der Reaktionsansatz auf Raumtemp. abgekühlt und die Kristallisation des Produkts unter Rühren im Eisbad vervollständigt. Das Produkt wird abgesaugt und im Exsikkator i. Vak. über KOH getrocknet.

2-Brom-1-pyridin-3-yl-ethanon Hydrobromid (113) aus 1-Pyridin-3-yl-ethanon (110)

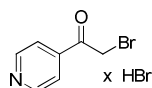


$C_7H_7Br_2NO$ (280.94)

Ausbeute: 19.48 g (69.3 mmol, 84%), weiße Kristalle

Schmp.: 197 °C (Lit. ^[120]: 198 °C)

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 2982 (CH), 1706 (C=O), 1642 (C=N), 1607, 1630 (C=C)

2-Brom-1-pyridin-4-yl-ethanon Hydrobromid^[118, 121] (114) aus 1-Pyridin-4-yl-ethanon (111)C₇H₇Br₂NO (280.94)

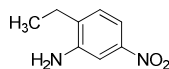
Ausbeute: 21.3 g (75.93 mmol, 92%), weiße Kristalle

Schmp.: 199.9 - 204 °C (Lit. ^[118, 121]: keine Angaben)IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 2867 (CH), 1725 (C=O), 1663 (C=N), 1588 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5.17 (s; 2H), 8.32 (dd; *J* = 6.1 Hz, *J* = 1.6 Hz, 2H, arom.), 9.12 (dd; *J* = 6.1 Hz, *J* = 1.6 Hz, 2H, arom.), 12.51 (br. s; 1H)

5.2.3 Nitrierung von 2-Ethylanilin^[129] (107)

115 g (62.8 ml) konz. Schwefelsäure werden in einem Eisbad auf 0 - 5 °C abgekühlt und 10.0 g (82.5 mmol; 10.17 ml) 2-Ethylanilin unter Rühren tropfenweise zugegeben, so dass die Temperatur 10 °C nicht überschreitet. Nach vollständiger Zugabe kühlt man auf -5 °C ab und gibt tropfenweise ein Gemisch aus 5.8 g (3.83 ml) rauchender Salpetersäure und 9.0 ml konz. Schwefelsäure zu, so dass die Temperatur -5 - 0 °C nicht überschreitet. Nach beendeter Zugabe rührt man für weitere 30 min bei dieser Temperatur und gießt anschließend vorsichtig auf Eis. Das so erhaltene Gemisch wird unter Rühren mit konz. Ammoniak auf pH = 8 eingestellt. Bei ca. 10 °C scheidet sich das gewünschte Produkt aus der wässrigen Phase ab. Man saugt ab, wäscht mit wenig Eiswasser und kristallisiert aus Methanol um.

C₈H₁₀N₂O₂ (166.18)

Ausbeute: 13.11 g (78.9 mmol, 96%), gelbe Nadeln

Schmp.: 60.8 - 61 °C (Lit. ^[129]: 63 - 64 °C)IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3426 (NH), 3076, 2977, 2890 (CH), 1887, 1752, 1640 (C=C), 1517 (N=O), 1382 (C-N)

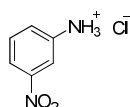
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.15 (t; 3H, *J* = 7.5 Hz), 2.54 (m; 2H), 5.59 (br. s; 2H), 7.16 (d; 1H, *J* = 8.2 Hz, arom.), 7.33 (m; 1H, arom.), 7.45 (d; 1H, *J* = 2.5 Hz, arom.)

5.2.4 Synthese von substituierten Nitroanilin Hydrochloriden

5.2.4.1 Allgemeine Synthesevorschrift^[122]

Man löst 100 mmol des entsprechenden Nitroanilins in 350 ml Diethylether. Die Lösung wird unter Rühren tropfenweise mit 20 ml HCl (5-6N in ⁱProp.) versetzt. Das Produkt fällt als farbloser Niederschlag aus und wird abgesaugt, mit ca. 30 ml Diethylether gewaschen und über KOH im Exsikkator getrocknet.

3-Nitroanilin Hydrochlorid (115)



C₆H₇ClN₂O₂ (174.58)

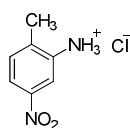
Ausbeute: 15.2 g (87.06 mmol, 87%), weiße Kristalle aus 13.8 g 3-Nitroanilin (**105**)

Schmp.: 177.3 - 177.4 °C

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3442 (NH), 2860 (CH), 1770, 1617 (C=C), 1513 (N=O), 1345 (C-N)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5.70 (br. s; 3H), 7.34 (dd; 1H, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.2 Hz, aromat.), 7.50 (t; 1H, *J* = 8.1 Hz, aromat.), 7.71 (dd; 1H, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.4 Hz, aromat.), 7.77 (t; 1H, *J* = 2.2 Hz, aromat.)

2-Methyl-5-Nitroanilin Hydrochlorid (116)



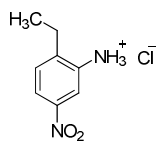
C₇H₉ClN₂O₂ (188.61)

Ausbeute: 17.81 g (94.4 mmol, 94%), gelbe Kristalle aus 15.2 g 2-Methyl-5-Nitroanilin (**106**)

Schmp.: 197.7 - 197.8 °C

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3391 (NH), 1730, 1714, 1700, 1684 (C=C), 1461 (N=O), 1382 (C-N)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.33 (s; 3H), 5.83 (br. s; 3H), 7.40 (d; 1H, *J* = 8.2 Hz, aromat.), 7.74 (dd; 1H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 8.2 Hz, aromat.), 7.95 (d; 1H, *J* = 1.9 Hz)

2-Ethyl-5-Nitroanilin Hydrochlorid (117)

$C_8H_{11}ClN_2O_2$ (202.64)

Ausbeute: 17.74 g (87.54 mmol, 88%), beige Kristalle aus 16.6 g
2-Ethyl-5-Nitroanilin (**108**)

Schmp.: 194.3 - 194.6 °C

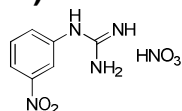
IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3443 (NH), 2739 (CH), 1784, 1750, 1714, 1624
(C=C), 1493 (N=O), 1385 (C-N)

1H -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.18 (t; 3H, J = 7.5 Hz), 2.63 (q; 2H, J = 7.5 Hz),
(300 MHz) 4.54 (br. s; 3H), 7.32 (d; 1H, J = 8.5 Hz, aromat.), 7.61 (dd;
1H, J = 2.3 Hz, J = 8.4 Hz, aromat.), 7.76 (d; 1H, J = 2.5 Hz,
aromat.)

5.2.5 Synthese von N-substituierten (Nitrophenyl)-Guanidinium Nitraten Lit.^[111, 117, 118, 123-125]

5.2.5.1 Allgemeine Synthesevorschrift

In einem 250 ml Dreihalsrundkolben mit aufgesetztem Rückflusskühler und Innenthermometer werden 150 mmol Cyanamid und 100 mmol des substituierten Nitroanilin Hydrochlorids gemischt und auf dem Ölbad langsam auf 140 °C erhitzt. Die Schmelze wird 30 min bei dieser Temperatur gehalten, abgekühlt und in 150 ml Wasser suspendiert. Die Suspension wird abfiltriert und das Filtrat mit 80 ml Toluol extrahiert. Die org. Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase mit konz. HNO_3 angesäuert (pH = 1) und im Eisbad abgekühlt. Das ausfallende Produkt wird abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und über KOH im Exsikkator getrocknet.

3-Nitrophenyl-guanidin x HNO_3 (118)

$C_7H_9N_5O_5$ (243.18)

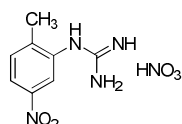
Ausbeute: 16.42 g (67.29 mmol, 78%) weiße Kristalle aus 17.5 g (**115**)

Schmp.: 180 - 182 °C (Lit.^[123, 124]: keine Angaben)

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3417 (NH), 1799, 1666 (C=C), 1524 (N=O), 1382

(C-N)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7.67 (br. s; 4H), 7.70 (t; 1H, $J = 1.9$ Hz, arom.) 7.73 (s; 1H, arom.), 8.12 (ddd; 1H, $J = 2.1$ Hz, $J = 4.1$ Hz, $J = 8.6$ Hz, arom.), 9.95 (s; 1H).

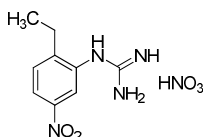
N-(2-Methyl-5-nitrophenyl)-guanidin x HNO₃ (119)^[118] $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_5$ (257.20)

Ausbeute: 15.46 g (60.12 mmol, 64%), weiße Kristalle aus 18.9 g (**116**)

Schmp.: 206.3 - 206.4 °C (Lit. ^[125]: keine Angaben)

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3476 (NH), 3158 (CH), 1764, 1621 (C=C), 1514 (N=O), 1331 (C-N)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.33 (s; 3H), 7.45 (s; 4H), 7.64 (d; 1H, $J = 8.5$ Hz, arom.), 8.10 (d; 1H, $J = 2.5$ Hz, arom.), 8.16 (dd; 1H, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.5$ Hz, arom.), 9.55 (s; 1H).

N-(2-Ethyl-5-nitrophenyl)-guanidin x HNO₃ (120)^[125] $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_5$ (271.23)

Ausbeute: 16 g (59.35 mmol, 68%) beige Kristalle aus 20.3 g (**117**)

Schmp.: 153 - 153.2 °C (Lit. ^[125]: keine Angaben)

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3233 (NH), 1615 (C=C), 1527 (N=O), 1339 (C-N)

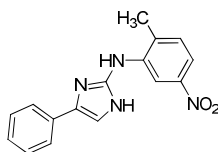
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.18 (t; 1H, $J = 7.5$ Hz), 2.67 (q; 2H, $J = 7.5$ Hz), 7.39 (s; 4H), 7.66 (d; 1H, $J = 8.6$ Hz, arom.), 8.11 (d; 1H, 2.4 Hz, arom.), 8.21 (dd; 1H, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.5$ Hz, arom.), 9.46 (s; 1H).

5.2.6 Synthese von substituierten 2-*N*-Arylamino-4(5)arylimidazolen

5.2.6.1 Allgemeine Synthesevorschrift^[117, 118]

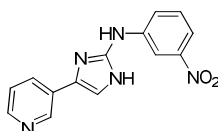
Eine Suspension des entsprechenden Guanidiniumsalzes (23.4 mmol) in 300 ml Ethanol wird mit gepulverter KOH (23.4 mmol; 1.31 g) versetzt und auf dem Ölbad bis zum gelinden Rückfluss erhitzt. Diese Mischung wird während 1 h mit einer Lösung des α -Brom-acetoaryl Derivats (23.4 mmol) in Ethanol (150 ml) und Triethylamin (47.0 mmol) tropfenweise unter Rühren versetzt. Anschließend wird die Mischung für weitere 5 h bei dieser Temperatur gerührt und dann über Nacht auf R.T. unter Rühren abgekühlt. Das Solvens wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 100 ml verd. Ammoniak aufgenommen und mit CH_2Cl_2 (3 x 250 ml) extrahiert. Die org. Phasen werden abgetrennt und über Na_2SO_4 getrocknet und vom Trockenmittel abgesaugt, das mit wenig CH_2Cl_2 gewaschen wird. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Das Produkt wird sc (SiO_2 , CH_2Cl_2 /Methanol 10:1) gereinigt und aus Ethylacetat umkristallisiert.

N-(2-Methyl-5-nitrophenyl)-4-phenyl-1*H*-imidazol-2-amin (121)



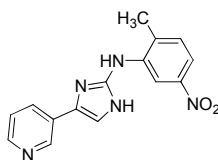
Ausbeute:	3.84 g (13.05 mmol, 56%), gelbe Kristalle
Schmp.:	186.8 - 187.1 °C
$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O}$	Ber. C 64.31 H 4.89 N 18.75
(298.81)	Gef. C 64.46 H 4.78 N 18.91
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3405 (NH), 3082 (CH), 1652 (C=C), 1516 (N=O)
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$):	δ (ppm) = 2.26 (s; 3H), 5.61 (s; 2H, austauschbar), 7.11-7.19 (m; 1H, arom.), 7.27 - 7.37 (m; 3H, arom.), 7.66-7.75 (m; 3H, arom.), 8.14 (d; 1H, $J = 2.3$ Hz, arom.), 8.26 (dd; 1H; $J = 2.3$ Hz, $J = 8.5$ Hz)
EI-MS (70 eV):	m/z (%) = 294 (100) $[\text{M}]^{+*}$, 264 (5), 248 (6)

N-(3-nitrophenyl)-4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-amin (122)



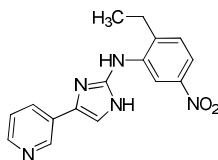
Ausbeute:	4.22 g (15 mmol, 64%), gelbe Kristalle
Schmp.:	191.8 - 192 °C
$C_{14}H_{11}N_5O_2 \cdot \frac{1}{2} H_2O$	Ber. C 57.93 H 4.17 N 24.13
(290.27)	Gef. C 58.09 H 4.05 N 24.07
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3406 (NH), 3099 (CH), 1600 (C=C), 1526 (N=O)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ (ppm) = 6.00 (br. s; 2H, austauschbar), 7.37 (dd; 1H, <i>J</i> = 7.8 Hz, <i>J</i> = 4.9 Hz, arom.), 7.73 (s; 1H, arom.), 7.79 - 7.86 (m; 1H, arom.), 8.00 - 8.06 (m; 2H, arom.), 8.23 (ddd; 1H, <i>J</i> = 8.2 Hz, <i>J</i> = 2.2 Hz, <i>J</i> = 0.8 Hz, arom.), 8.93 (m; 2H, arom.), 8.95 (d; 1H, <i>J</i> = 1.7 Hz, arom.)
CI-MS (NH ₃):	<i>m/z</i> (%) = 282 (25) [MH] ⁺ , 252 (100) [MH ⁺ - NO] ⁺

N-(2-Methyl-5-nitrophenyl)-4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-amin (123)



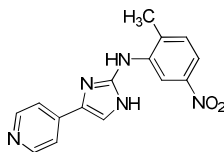
Ausbeute:	3.45 g (11.68 mmol, 50%), gelbe Kristalle
Schmp.:	153 - 154 °C
$C_{15}H_{13}N_5O_2$ (295.30)	Ber. C 61.01 H 4.44 N 23.72
	Gef. C 60.73 H 4.42 N 23.39
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3432 (NH), 3084 (CH), 1629 (C=C), 1522 (N=O)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ (ppm) = 2.27 (s; 3H), 5.74 (s; 2H, austauschbar), 7.34 (dd; 1H, <i>J</i> = 7.7 Hz, <i>J</i> = 4.7 Hz, arom.), 7.45 (s; 1H, arom.) 7.73 (d; 1H, <i>J</i> = 2.5 Hz, arom.), 7.98 - 8.03 (m; 1H, arom.) 8.16 (d; 1H, <i>J</i> = 2.5 Hz, arom.), 8.27 (dd; 1H, <i>J</i> = 8.5 Hz, <i>J</i> = 2.5 Hz, arom.), 8.36 (dd; 1H, <i>J</i> = 4.7 Hz, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.), 8.91 (d; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.)
EI-MS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 295 (100) [M] ⁺ , 265 (5) [M - NO] ⁺ , 249 (6) [M - NO ₂] ⁺

N-(2-Ethyl-5-nitrophenyl)-4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-amin (124)



Ausbeute:	2.93 g (9.47 mmol, 41%), gelbe Kristalle
Schmp.:	166 - 167 °C
$C_{16}H_{15}N_5O_2 \cdot \frac{1}{4} H_2O$	Ber. C 61.23 H 4.98 N 22.32
(313.82)	Gef. C 61.14 H 4.91 N 22.12
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3301 (NH), 3129, 2973, 2877 (CH), 1635 (C=C), 1521 (N=O)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.12 (t; 3H, $J = 7.5$ Hz), 2.59 (q; 2H, $J = 7.5$ Hz), 5.71 (s; 2H, austauschbar), 7.34 (dd; 1H, $J = 7.9$ Hz, $J = 4.7$ Hz, arom.), 7.45 (s; 1H, arom.), 7.75 (d; 1H, $J = 8.8$ Hz, arom.), 7.97 - 8.02 (m; 1H, arom.), 8.14 (d; 1H, $J = 2.5$ Hz, arom.), 8.30 - 8.38 (m; 2H, arom.) 8.91 (d; 1H, $J =$ 1.4 Hz, arom.)
CI-MS (NH ₃):	m/z (%) = 310 (27) [MH] ⁺ , 280 (100) [MH - NO] ⁺

N-(2-Methyl-5-nitrophenyl)-4-(pyridin-4-yl)-1H-imidazol-2-amin^[118] (125)



Ausbeute:	1.82 g (6.16 mmol, 26%), gelbe Kristalle
Schmp.:	273.4 – 274.9 °C (Lit. ^[118] : >260°C)
$C_{15}H_{13}N_5O_2 \cdot \frac{1}{5} H_2O$	Ber. C 60.27 H 4.52 N 23.43
(298.90)	Gef. C 59.89 H 4.56 N 23.33
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3252 (NH), 3107 (CH), 1665 (C=C), 1521 (N=O)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.26 (s; 3H), 5.78 (s; 2H, austauschbar), 7.60 (d, 2H, $J = 6.1$ Hz, arom.) 7.62 (s; 1H, arom.), 7.74 (d; 1H, $J = 8.5$ Hz, arom.), 8.18 (d; 1H, $J = 2.5$ Hz, arom.), 8.28 (dd; 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.5$ Hz, arom.), 8.46 (d, 2H, $J =$ 6.1 Hz, arom.)

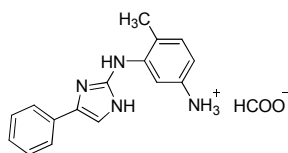
5.2.7 Reduktion der Nitro-Gruppe unter katalytischen Bedingungen

5.2.7.1 Allgemeine Synthesevorschrift^[117, 126-128]

Die entsprechende Nitroaryl-Verbindung (5.0 mmol) wird in Methanol (100 ml) mit Ammoniumformiat (50.0 mmol, 3.15 g) und Pd (10% auf Aktivkohle, 0.5 g) versetzt

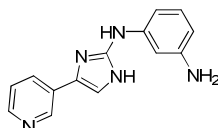
und erhitzt (60 °C), bis eine heftige Gasentwicklung (H₂) zu beobachten ist. Anschließend wird weitere 30 min bis 1 h erhitzt und die Lösung unter Rühren auf Raumtemp. abgekühlt. Man gießt den Ansatz in einen Büchnertrichter, in dem sich als Filtrierhilfe eine ca. 1-2 cm dicke Schicht aus Natriumsulfat befindet, und saugt ab. Der Rückstand wird mit Methanol gewaschen. Die klare Lösung wird zur Trockne eingeeengt, in CH₂Cl₂ (100 ml) aufgenommen und mit verd. Ammoniak Lösung (100 ml) ausgeschüttelt. Die org. Phase wird abgetrennt, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Produkt wird sc (SiO₂, CH₂Cl₂/Methanol 10:1) gereinigt und aus CH₂Cl₂/PE (Sdp. 40-60 °C) umkristallisiert. Abhängig vom Substitutionsmuster des jeweiligen [4(5)-Aryl-1(3*H*)imidazol-2-yl]-amins wurde das Formamidinium Salz oder das freie Diamin isoliert.

4-Methyl-*N*³-(4-phenyl-1*H*-imidazol-2-yl)-benzen-1,3-diamin Formiat (126)



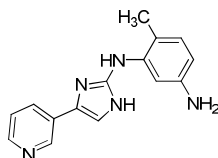
Ausbeute:	1.08 g (4.1 mmol, 82%), farbloses Pulver
Schmp.:	156.6 - 160 °C
C ₁₆ H ₁₆ N ₄ • HCOOH (264.33)	Ber. C 65.79 H 5.85 N 18.05 Gef. C 65.68 H 5.83 N 17.94
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3459 (NH), 3197, 2790 (CH), 1670 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.94 (s; 3H), 5.30 (br. s; 2H, austauschbar), 5.46 (s; 3H, austauschbar), 6.49 (d; 1H, <i>J</i> = 2.4 Hz, aromat.), 6.59 (dd; 1H, <i>J</i> = 8.2 Hz, <i>J</i> = 2.4 Hz, aromat.), 7.02 (d; 1H, <i>J</i> = 8.2 Hz, aromat.), 7.15 - 7.16 (m; 1H, aromat.), 7.17 (s; 1H, aromat.), 7.28-7.32 (m; 2H, aromat.), 7.66-7.67 (m; 2H, aromat.), 8.18 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃):	<i>m/z</i> (%) = 264 (100) [M] ⁺⁺ , 221 (13), 161 (26), 146 (28), 132 (17)

N-(4-pyridin-3-yl-1*H*-imidazol-2-yl)-benzen-1,3-diamin (127)

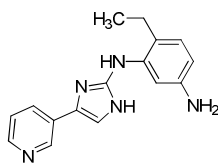


Ausbeute:	1.03 g (4.1 mmol, 82%), gelbe Kristalle
Schmp.:	129.5 - 129.6 °C
$C_{14}H_{13}N_5 \cdot \frac{1}{4} H_2O$ (255.79)	Ber. C 65.74 H 5.32 N 27.38 Gef. C 65.50 H 5.41 N 27.58
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3386 (NH), 3091 (CH), 1601 (C=C)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 5.39 (s; 2H), 5.55 (s; 2H), 6.57 (dd; 2H, $J = 1.1$ Hz, $J = 7.9$ Hz, arom.), 6.65 (d; 1H, $J = 2.0$ Hz, arom.), 7.11 - 7.17 (m; 1H, arom.), 7.32 (dd; 1H, $J = 4.7$ Hz, $J = 7.9$ Hz, arom.), 7.45 (s; 1H, arom.), 7.97 - 8.02 (m; 1H, arom.), 8.33 (dd; 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 4.7$ Hz, arom.), 8.91 (d; 1H, $J = 1.6$ Hz, arom.)
CI-MS (NH ₃):	m/z (%) = 252 (100) [MH] ⁺

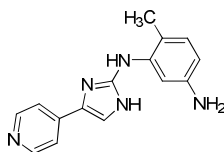
4-Methyl-*N*³-(4-pyridin-3-yl-1*H*-imidazol-2-yl)-benzen-1,3-diamin (128)



Ausbeute:	1.06 g (3.99 mmol, 80%), farblose Kristalle
Schmp.:	121.9 - 122.4 °C
$C_{15}H_{15}N_5 \cdot H_2O$ (283.31)	Ber. C 63.59 H 6.05 N 24.72 Gef. C 63.30 H 5.80 N 24.69
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3340 (NH), 3217 (CH), 1619 (C=C)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.94 (s; 3H), 5.17 (br. s; 2H, austauschbar), 5.32 (s; 2H, austauschbar), 6.49 (d; 1H, $J = 2.4$ Hz, arom.), 6.59 (dd; 1H, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, arom.), 7.02 (d; 1H, $J = 8.2$ Hz, arom.), 7.30 (s; 1H, arom.), 7.33 (d; 1H, $J = 5.5$ Hz, arom.), 7.96 - 8.01 (m, 1H, arom.), 8.32 (dd; 1H, $J = 4.8$ Hz, $J = 1.7$ Hz, arom.), 8.90 (d; 1H, $J = 1.6$ Hz, arom.)
CI-MS (NH ₃):	m/z (%) = 266 (100) [MH] ⁺

4-Ethyl-*N*³-(4-pyridin-3-yl-1*H*-imidazol-2-yl)-benzen-1,3-diamin (129)

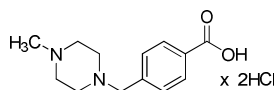
Ausbeute:	1.31 g (4.69 mmol, 94%), farblose Kristalle
Schmp.:	162.6 - 162.8 °C
$C_{16}H_{17}N_5 \cdot \frac{1}{4} H_2O$	Ber. C 67.70 H 6.21 N 24.67
(283.84)	Gef. C 67.69 H 6.09 N 24.69
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3462, 3346 (NH), 3127, 2963, 2929, 2871 (CH), 1601 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 0.99 (t; 3H, <i>J</i> = 7.5 Hz), 2.28 (br. q; 2H, <i>J</i> = 8.6 Hz.), 5.19 (br. s; 2H), 5.28 (br. s; 2H), 6.45 (d; 1H, <i>J</i> = 2.2 Hz, aromat.), 6.63 (dd; 1H, <i>J</i> = 8.2 Hz, <i>J</i> = 2.2 Hz, aromat.) 7.05 (d; 1H, <i>J</i> = 8.2 Hz, aromat.), 7.30 (m; 2H, aromat.), 7.96 - 8.00 (m; 1H, aromat.), 8.31 (dd; 1H, <i>J</i> = 4.7 Hz, <i>J</i> = 1.6 Hz, aromat.), 8.89 (d; 1H, <i>J</i> = 1.4 Hz, aromat.)
CI-MS (NH ₃):	<i>m/z</i> (%) = 280 (100) [MH] ⁺

4-Methyl-*N*³-(4-pyridin-4-yl-1*H*-imidazol-2-yl)-benzen-1,3-diamin^[118] (130)

Ausbeute:	1.29 g (4.86 mmol, 97%), farbloses Pulver
Schmp.:	207.3 - 207.4 °C (Lit. ^[118] : 202 °C)
$C_{15}H_{15}N_5$ (265.31)	Ber. C 67.91 H 5.70 N 26.40
	Gef. C 67.53 H 5.58 N 26.02
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3425, 3353 (NH), 3129 (CH), 1601 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.93 (s; 3H), 5.19 (s; 2H, austauschbar), 5.37 (s; 2H, austauschbar), 6.48 (d; 1H, <i>J</i> = 2.4 Hz.), 6.60 (dd; 1H, <i>J</i> = 2.4 Hz, <i>J</i> = 8.2 Hz, aromat.), 7.03 (d; 1H, <i>J</i> = 8.2 Hz, aromat.), 7.46 (s; 1H, aromat.), 7.59 (dd; 2H, <i>J</i> = 1.5 Hz, <i>J</i> = 4.5 Hz, aromat.), 8.43 (dd; 2H, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 4.7 Hz, aromat.)
EI-MS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 265 (100) [M] ⁺ , 222 (14), 161 (17), 132 (17)

5.2.8 4-(4-Methylpiperazinomethyl)benzoesäure Dihydrochlorid^[130] (103)

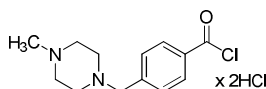
Eine Suspension aus 17.1 g (0.10 mol) 4-Chloromethyl-benzoesäure in 150 ml absol. Ethanol wird unter N₂ bei Raumtemp. (~ 20 °C) gerührt. Tropfenweise wird eine Lösung von 44.1 g (0.44 mol) N-Methylpiperazin in 50 ml Ethanol zugegeben und 16 h refluxiert. Nach dem Abkühlen auf Raumtemp. wird die Reaktionsmischung i. Vak. eingeengt und mit je 100 ml Diethylether und 3N NaOH aufgenommen. Die wässrige Phase wird 3 mal mit 100 ml Diethylether ausgeschüttelt, im Eisbad gekühlt und mit konz. HCl angesäuert. Das ausfallende Produkt wird mit 150 ml kochendem Isopropanol 2 min gerührt, warm filtriert und an der Luft getrocknet.



Ausbeute:	26 g (0.085 mol, 85%), beige Kristalle
Schmp.:	307.7 - 309.3 °C (Lit. ^[130] : 310-312 °C)
C ₁₃ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₂ • ½	Ber. C 49.37 H 6.69 N 8.86
H ₂ O (316.22)	Gef. C 49.41 H 6.37 N 8.70
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3391 (OH), 2978 (CH), 1713 (C=O), 1616 (C=C)

5.2.8.1 4-(4-Methylpiperazinomethyl)benzoesäure Chlorid Dihydrochlorid^[130] (104)

119 ml Thionylchlorid (194.0 g, 1.625 mol) werden unter N₂ zu 20 g (0.065 mol) (103) gegeben. Die beige-weiße Suspension wird 24 h refluxiert, bei Raumtemp. langsam abgekühlt, filtriert und das erhaltende Produkt mit Diethylether gewaschen.



C ₁₃ H ₁₉ Cl ₃ N ₂ O (325.66)	
Ausbeute:	14.94 g (0.045 mol, 69%), weiße Kristalle
Schmp.:	257.4-258.3 °C (Lit. ^[130] : 260-263 °C)
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 2970 (CH), 1733 (C=O), 1607 (C=C)

5.2.9 Synthese der Amide 131-156^[117]

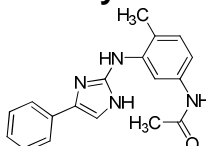
Die Amidierungen der jeweiligen Arylamine **126-130** werden mit den entsprechenden freien Basen durchgeführt. Im Falle der Verbindung **126** wird diese aus dem Formamidinium-Salz durch folgendes Verfahren hergestellt: Das Salz wird in CH₂Cl₂

aufgelöst und mit verdünntem wässrigem Ammoniak alkalisiert. Die org. Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt.

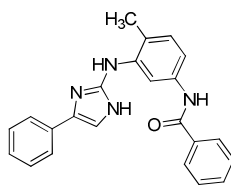
5.2.9.1 Amidierung der Arylamine^[117]

Zu einer gerührten Lösung der entsprechenden Arylamine (2.0 mmol) in Pyridin (20.0 ml) wird das entsprechende Carbonsäurechlorid (**90-100, 104**), bzw. das entsprechende Säurechlorid Hydrochlorid oder -dihydrochlorid (2.2 mmol) gegeben und die Mischung für 1-2 h bei Raumtemp. gerührt. NaH (2.2 mmol) wird zugefügt und die Mischung für weitere 12 h gerührt. Wenn Carbonsäurechlorid Hydrochloride zur Amidierung benutzt werden, werden zusätzliche 2.2 Äquivalente NaH für jedes Hydrochlorid-Äquivalent zugegeben. Das Lösungsmittel wird entfernt, der Rückstand mit verdünnter wässriger Ammoniak Lösung (30 ml) aufgenommen und mit CH₂Cl₂ (3 x 50 ml) extrahiert. Die org. Phase wird abgetrennt, durch Zugabe von Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Produkte (**133, 145, 150, 156**) werden sc (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ konz. 3:1:0.01; alle andere Verbindungen: CH₂Cl₂/MeOH/NH₃ konz. 10:1:0.01) gereinigt und aus CH₂Cl₂/Ether umkristallisiert. Die gewünschten Amide werden als farbloses Pulver oder farblose Kristalle erhalten.

***N*-(4-Methyl-3-(4-phenyl-1-*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-acetamid (131)**



Ausbeute:	0.14 g (0.46 mmol, 23%), farblose Kristalle aus 0.52 g, 2 mmol 126 und 0.156 ml, 2.2 mmol Acetylchlorid (90)
Schmp.:	191.6 - 192.9 °C (Zers.)
C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O • 1/3 H ₂ O	Ber. C 69.21 H 6.02 N 17.94
(312.36)	Gef. C 69.54 H 6.12 N 17.52
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3311 (NH), 3032 (CH), 1681 (C=O), 1604 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ (ppm) = 2.05 (s; 3H), 2.07 (s; 3H), 5.37 (s; 2H), 7.10 - 7.16 (m; 1H, arom.), 7.19 (s; 1H, arom.), 7.26.- 7.32 (m, 3H, arom.), 7.54 (dd; 1H, <i>J</i> = 2.0Hz, <i>J</i> = 8.2 Hz, arom.), 7.60 (d; 1H, <i>J</i> = 2.0 Hz, arom.), 7.68 (d; 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz, arom.), 10.08 (s; 1H)
PI-EIMS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 306 (100) [M] ⁺ , 160 (39)

***N*-(4-Methyl-3-(4-phenyl-1-*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (132)**

Ausbeute: 0.27 g (0.73 mmol, 37%), farblose Kristalle aus 0.52 g, 2 mmol **126** und 0.256 ml, 2.2 mmol Benzoylchlorid (**91**)

Schmp.: 191.4 - 193 °C

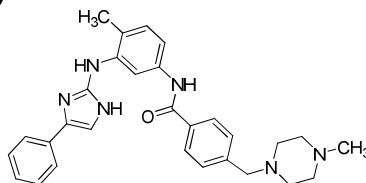
C₂₃H₂₀N₄O • 1/2 H₂O Ber. C 73.19 H 5.61 N 14.84

(377.43) Gef. C 73.21 H 5.24 N 14.94

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3380 (NH), 3058, 2922 (CH), 1650 (C=O), 1615 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.12 (s; 3H), 5.40 (s; 2H), 7.10 - 7.16 (m; 1H, arom.), 7.23 (s; 1H), 7.28 - 7.33 (m; 2H, arom.), 7.38 (d; 1H, *J* = 9.0 Hz, arom.), 7.50 - 7.69 (m; 3H, arom.), 7.70 (d; 2H, *J* = 7.2 Hz, arom.), 7.82 (dd; 2H, *J* = 2.2 Hz, *J* = 4.2 Hz, arom.), 7.95 (d; 2H, *J* = 6.7 Hz, arom.), 10.39 (s; 1H)

PI-EIMS (70 eV): *m/z* (%) = 368 (100) [M]⁺

***N*-(4-Methyl-3-(4-phenyl-1-*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-benzamid (133)**

Ausbeute: 0.13 g (0.27 mmol, 14%), farblose Kristalle aus 0.52 g, 2 mmol **126** und 0.7 g, 2.2 mmol 4-(4-methylpiperazinomethyl)benzoylchlorid Dihydrochlorid^[130] (**104**)

Schmp.: 129 - 131 °C

C₂₉H₃₂N₆O • 3 H₂O Ber. C 65.14 H 7.16 N 15.72

(534.60) Gef. C 64.93 H 6.76 N 15.61

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3325 (NH), 2940, 2805 (CH), 1659 (C=O), 1599 (C=C)

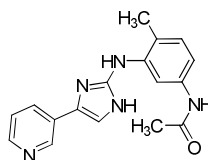
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.11 (s; 3H), 2.18 (s; 3H), 2.39 (s; br. 8H), 3.54

(300 MHz) (s; 2H), 5.37 (s; 2H, austauschbar), 7.13 - 7.19 (m; 1H, arom.), 7.22 (s; 1H, arom.), 7.29 - 7.35 (m; 2H, arom.), 7.38 - 7.40 (m; 1H, arom.), 7.46 (d; 2H, $J = 8.2$ Hz, arom.), 7.68 - 7.72 (m; 2H, arom.), 7.78 - 7.82 (m; 1H, arom.), 7.90 (d; 2H, $J = 8.2$ Hz, arom.), 10.33 (s; 1H, austauschbar)

ESI-MS ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} + 10 \text{ mmol/l}$ NH_4OAc): m/z (%) = 481 (100) $[\text{MH}]^+$

NH_4OAc :

***N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-acetamid (134)**



Ausbeute: 0.18 g (0.59 mmol, 30%), farblose Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.156 ml, 2.2 mmol Acetylchlorid (**90**)

Schmp.: 144.9 - 146.2 °C

$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O} \times 2/3 \text{ H}_2\text{O}$ Ber. C 63.94 H 5.79 N 21.93

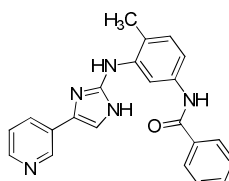
(319.35) Gef. C 63.98 H 5.45 N 21.60

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3305 (NH), 2365 (CH), 1671 (C=O), 1601 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 2.05 (s; 3H), 2.07 (s; 3H), 5.48 (s; 2H), 7.54 (dd; 1H, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.4$ Hz, arom.), 7.26 (d; 1H, $J = 2.1$ Hz, arom.), 7.30 - 7.37 (m; 3H, arom.), 7.97 - 8.01 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 8.4$ Hz, arom.), 8.91 (d; 1H, $J = 1.7$ Hz, arom.), 10.07 (s; 1H)

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 307 (100) $[\text{M}]^{+}$, 160 (44)

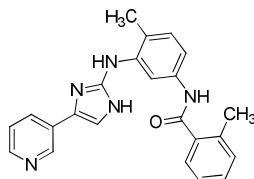
***N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (135)**



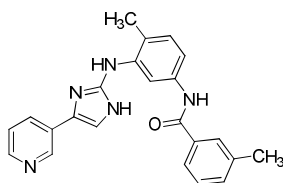
Ausbeute: 0.22 g (0.60 mmol, 30%), farblose Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.256 ml, 2.2 mmol Benzoylchlorid (**91**)

Schmp.:	240.2 - 240.9 °C
C ₂₂ H ₁₉ N ₅ O • H ₂ O (387.42)	Ber. C 68.20 H 5.46 N 18.08 Gef. C 68.21 H 5.52 N 17.68
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3435 (NH), 2924, 2854 (CH), 1668 (C=O), 1604 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.12 (s; 3H), 5.53 (s; 2H), 7.33 (dd; 1H, <i>J</i> = 4.8 Hz, <i>J</i> = 7.3 Hz, arom.), 7.38 (d; 2H, <i>J</i> = 5.0 Hz, arom.), 7.51 - 7.63 (m; 3H), 7.82 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.0 Hz, <i>J</i> = 7.0 Hz, arom.), 7.95 (dd; 2H, <i>J</i> = 1.5 Hz, <i>J</i> = 8.1 Hz, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 4.7 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, <i>J</i> = 1.7 Hz, arom.), 10.39 (s; 1H)
PI-EIMS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 369 (100) [M] ⁺⁺ , 105 (56), 77 (30), 160 (15)

2-Methyl-*N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (136)



Ausbeute:	0.45 g (1.17 mmol, 69%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol 128 und 0.288 ml, 2.2 mmol 2-Methylbenzoylchlorid (92)
Schmp.:	117.6 - 118.2 °C
C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O • 1/2 H ₂ O (392.45)	Ber. C 70.39 H 5.65 N 17.85 Gef. C 70.01 H 5.44 N 17.50
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3432 (NH), 2924 (CH), 1669 (C=O), 1616 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.10 (s; 3H), 2.38 (s; 3H), 5.53 (s; 2H), 7.25 - 7.47 (m; 7H, arom.), 7.76 (ddd; 2H, <i>J</i> = 8.1 Hz, arom. <i>J</i> = 8.1 Hz, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, <i>J</i> = 1.4 Hz, <i>J</i> = 4.7 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.), 10.47 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃):	<i>m/z</i> (%) = 384 (100) [MH] ⁺

3-Methyl-N-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (137)

Ausbeute: 0.13 g (0.34 mmol, 17%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.29 ml, 2.2 mmol 3-Methylbenzoylchlorid (**93**)

Schmp.: 151.9 - 153.2 °C

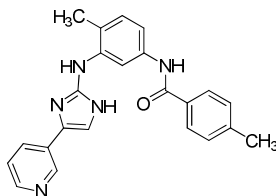
C₂₃H₂₁N₅O • 1/3 H₂O Ber. C 70.53 H 5.61 N 17.98

(389.45) Gef. C 70.58 H 5.83 N 17.54

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3322 (NH), 2921 (CH), 1663 (C=O), 1599 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.12 (s; 3H), 2.40 (s; 3H), 5.53 (s; 2H), 7.26 - 7.47 (m; 5H, arom.), 7.71 - 7.86 (m; 4H, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, *J* = 1.4 Hz, *J* = 4.7 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, *J* = 2.0 Hz, arom.), 10.34 (s; 1H)

CI-MS (NH₃): *m/z* (%) = 384 (100) [MH]⁺

4-Methyl-N-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (138)

Ausbeute: 0.68 g (1.77 mmol, 89%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.292 ml, 2.2 mmol 4-Methylbenzoylchlorid (**94**)

Schmp.: 202.6 - 202.7 °C

C₂₃H₂₁N₅O (383.45) Ber. C 72.04 H 5.52 N 18.26

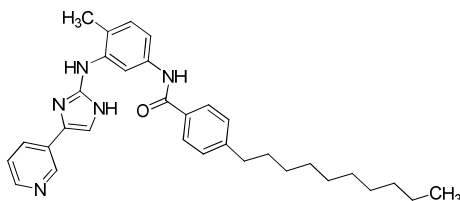
Gef. C 71.93 H 5.62 N 17.96

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3424 (NH), 1653 (C=O), 1610 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.11 (s; 3H), 2.93 (s; 3H), 5.51 (s; 2H), 7.30 - 7.40 (m; 5H, arom.), 7.80 - 7.90 (m; 4H, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, *J* = 1.6 Hz, *J* = 4.7 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, *J* = 1.6 Hz, arom.), 10.30 (s; 1H)

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 383 (71) $[M]^{+}$, 160 (13), 119 (100), 91 (42)

4-Decyl-*N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (139)



Ausbeute: 0.68 g (1.33 mmol, 66%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.41 ml, 2.2 mmol 4-Decylbenzoylchlorid (**95**)

Schmp.: 109.3 - 109.8 °C

$C_{32}H_{39}N_5O \cdot \frac{1}{4}$ Ether Ber. C 75.04 H 7.92 N 13.26

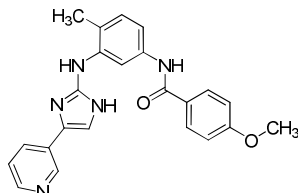
(528.19) Gef. C 74.81 H 7.83 N 13.45

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3442 (NH), 2925, 2854 (CH), 1671 (C=O), 1611 (C=C)

1H -NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.85 (t; 3H, J = 6.7 Hz.), 1.24 (br. s; 14H), 1.59 (s; 2H), 2.11 (s; 3H), 2.65 (t; 2H, J = 7.5 Hz), 5.50 (s; 2H), 7.30 - 7.42 (m; 5H, arom.) 7.79 - 7.91 (m; 4H, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, J = 1.3 Hz, J = 4.6 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, J = 1.7 Hz, arom.), 10.41 (s; 1H)

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 509 (100) $[M]^{+}$

4-Methoxy-*N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (140)



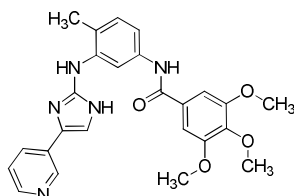
Ausbeute: 0.48 g (1.20 mmol, 60%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.41 ml, 2.2 mmol 4-Methoxybenzoylchlorid (**96**)

Schmp.: 196.1 - 198.8 °C

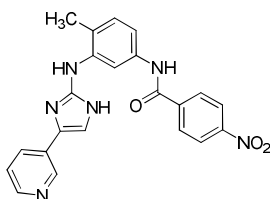
$C_{23}H_{21}N_5O_2 \cdot \frac{1}{4}$ Ether Ber. C 68.96 H 5.67 N 16.75

(417.95)	Gef. C 68.46 H 5.65 N 16.98
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3433 (NH), 2838 (CH), 1659 (C=O), 1605 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.11 (s; 3H), 3.84 (s; 3H), 5.50 (s; 2H), 7.07 (d; 2H, <i>J</i> = 9.0 Hz, arom.), 7.30 - 7.40 (m; 3H, arom.), 7.81 - 7.84 (m; 2H, arom.), 7.93 - 8.03 (m; 3H, arom.), 8.34 (dd; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 4.7 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, <i>J</i> = 1.7 Hz, arom.), 10.23 (s; 1H)
PI-EIMS (70 eV):	<i>m/z</i> (%): 399 (100) [M] ⁺ , 135 (95)

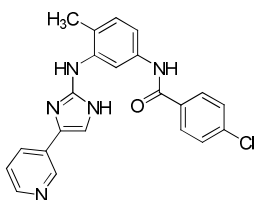
3,4,5-Trimethoxy-*N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (141)



Ausbeute:	0.24 g (0.52 mmol, 22%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol 128 und 0.51 g, 2.2 mmol 3,4,5-Trimethoxybenzoylchlorid (97)
Schmp.:	221.7 - 222.8 °C
C ₂₅ H ₂₅ N ₅ O ₄ • ¼ H ₂ O	Ber. C 64.71 H 5.54 N 15.09
(464.01)	Gef. C 64.87 H 5.63 N 14.72
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3451 (NH), 1653 (C=O), 1616 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.12 (s; 3H), 3.73 (s; 3H), 3.87 (s; 6H), 5.51 (s; 2H), 7.28 (s; 2H, arom.), 7.33 (dd; 2H, <i>J</i> = 4.5 Hz, <i>J</i> = 8.2 Hz, arom.), 7.41 (d; 2H, <i>J</i> = 7.3 Hz, arom.), 7.76 (d; 1H, <i>J</i> = 2.1 Hz, arom.), 7.84 (dd; 1H, <i>J</i> = 2.1 Hz, <i>J</i> = 8.3 Hz, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 4.8 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.), 10.23 (s; 1H)
EI-MS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 459 (50) [M] ⁺ , 195 (100)

***N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-4-nitrobenzamid (142)**

Ausbeute:	0.74 g (1.8 mmol, 90%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol 128 und 0.29 ml, 2.2 mmol 4-Nitrobenzoylchlorid (98)
Schmp.:	191.6 - 195.7 °C
C ₂₂ H ₁₈ N ₆ O ₃ • H ₂ O (432.43)	Ber. C 61.11 H 4.66 N 19.43 Gef. C 61.34 H 4.67 N 19.10
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3383 (NH), 2923, 2795 (CH), 1664 (C=O), 1600 (C=C), (N=O) 1519
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.13 (s; 3H), 5.53 (s; 2H), 7.33 (dd; 1H, <i>J</i> = 4.8 Hz, <i>J</i> = 8.0 Hz, arom.), 7.39 - 7.45 (m; 2H, arom.), 7.82 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.1 Hz, <i>J</i> = 6.4 Hz, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.19 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 8.33 - 8.42 (m; 3H), 8.92 (d; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.), 10.71 (s; 1H)
PI-EIMS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 414 (100) [M] ⁺⁺

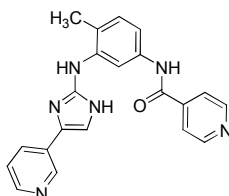
***N*-(4-Chloro-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (143)**

Ausbeute:	0.39 g (0.97 mmol, 49%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol 128 und 0.28 ml, 2.2 mmol 4-Chlorbenzoylchlorid (99)
Schmp.:	241.8 - 243.5 °C
C ₂₂ H ₁₈ ClN ₅ O • ¼ EtOAc (425.87)	Ber. C 64.86 H 4.73 N 16.44 Gef. C 64.57 H 4.75 N 16.49
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3424 (NH), 1649 (C=O), 1602 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.12 (s; 3H), 5.55 (s; 2H), 7.31 - 7.42 (m; 3H, arom.), 7.63 (d; 2H, <i>J</i> = 8.6 Hz, arom.), 7.81 (d; 2H, <i>J</i> =

6.6 Hz, arom.), 7.96 - 8.03 (m; 3H), 8.34 (dd; 1H, $J = 1.5$ Hz, $J = 4.7$ Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, $J = 1.7$ Hz, arom.), 10.46 (s; 1H)

EI-MS (70 eV): m/z (%) = 403 (96) $[M]^{+}$, ^{35}Cl ; 139 (100), ^{35}Cl

***N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-isonikotinamid (144)**



Ausbeute: 0.39 g (1.05 mmol, 53%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.39 g, 2.2 mmol 4-Isonikotinsäurechlorid Hydrochlorid (**100**)

Schmp.: 261.5 - 262.9 °C

$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O} \cdot \frac{1}{4} \text{EtOAc}$ Ber. C 67.33 H 5.14 N 21.41

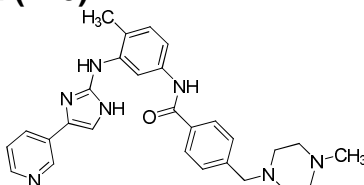
(392.88) Gef. C 67.44 H 5.14 N 21.42

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3404 (NH), 1666 (C=O), 1603 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 2.13 (s; 3H), 5.53 (s; 2H), 7.33 (dd; 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 7.5$ Hz, arom.), 7.39 - 7.44 (m; 2H, arom.), 7.79 - 7.89 (m; 4H, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 4.7$ Hz, arom.), 8.80 (dd; 2H, $J = 1.6$ Hz, $J = 4.4$ Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, $J = 1.6$ Hz, arom.), 10.64 (s; 1H)

PI-EIMS (70 eV): m/z (%) = 370 (100) $[M]^{+}$, 106 (14), 78 (16)

***N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-benzamid (145)**



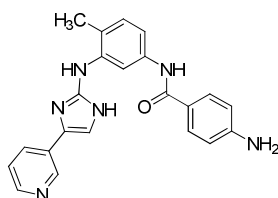
Ausbeute: 0.18 g (0.37 mmol, 19%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **128** und 0.7 g, 2.2 mmol 4-(4-methylpiperazinomethyl)benzoylchlorid Dihydrochlorid^[130] (**104**)

Schmp.: 230.1 - 232.0 °C

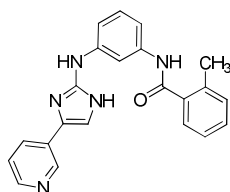
$C_{28}H_{31}N_7O \cdot 2 H_2O$	Ber. C 64.97 H 6.82 N 18.94
(517.59)	Gef. C 64.89 H 6.47 N 18.54
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 2945 (NH), 2809 (CH), 1639 (C=O)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.11 (s; 3H), 2.15 (s; 3H), 2.35 (s; br. 8H), 3.53 (s; 2H), 5.50 (s; 2H, austauschbar), 7.31 - 7.40 (m; 2H, arom.), 7.39 (s; 1H, arom.), 7.45 (d; 2H, $J = 8.2$ Hz, arom.), 7.80 - 7.83 (m; 2H, arom.), 7.91 (d; 2H, $J = 8.2$ Hz, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.33 - 8.35 (m; 1H, arom.), 8.92 - 8.93 (m; 1H, arom.), 10.36 (s; 1H, austauschbar)
EI-MS (70 eV):	m/z (%) = 481 (17) $[M]^{+}$, 466 (10), 425 (21), 411 (94), 383 (100), 118 (79), 99 (52), 90 (78)

4-Amino-*N*-(4-Methyl-3-(4-(pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (146)

Ausgehend von **142** wurde durch katalytische Reduktion der Nitro-Gruppe nach den Allgemeinen Synthesevorschriften^[126-128] (s. Kap. 5.2.7) die Verbindung **146** hergestellt.



Ausbeute:	0.16 g (0.42 mmol, 42%), weiße Kristalle aus 0.41 g, 1 mmol 142
Schmp.:	161.9 - 167.9 °C
$C_{21}H_{18}N_6O \cdot 1/3$	Ber. C 67.73 H 5.52 N 20.31
EtOAc (413.73)	Gef. C 67.35 H 5.50 N 20.66
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3442 (NH), 1658 (CH), 1603 (C=O)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.10 (s; 3H), 5.51 (s; 2H), 5.79 (s; 2H), 6.66 (d; 2H, $J = 8.6$ Hz, arom.), 7.30 - 7.40 (m; 3H), 7.71 (d; 2H, $J = 8.8$ Hz, arom.), 7.80 (d; 2H, $J = 7.4$ Hz, arom.), 7.99 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, $J = 1.5$ Hz, $J = 4.7$ Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, $J = 1.6$ Hz, arom.), 9.91 (s; 1H)
PI-EIMS (70 eV):	m/z (%) = 384 (87) $[M]^{+}$, 120 (100)

2-Methyl-N-(3-(4-pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (147)

Ausbeute: 0.33 g (0.89 mmol, 45%), weiße Kristalle aus 0.50 g, 2 mmol **127** und 0.288 ml, 2.2 mmol 2-Methylbenzoylchlorid (**92**)

Schmp.: 116.1 - 116.3 °C

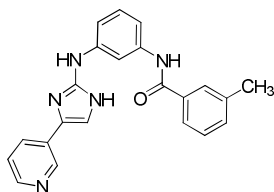
C₂₂H₁₉N₅O • 3/4 H₂O Ber. C 69.00 H 5.40 N 18.29

(382.92) Gef. C 69.03 H 5.41 N 17.72

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3425 (NH), 2958, 2928 (CH), 1665 (C=O), 1601 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.40 (s; 3H), 5.72 (s; 2H), 7.23 - 7.55 (m; 8H, arom.), 7.76 (d; 1H, *J* = 7.4 Hz, arom.), 7.95 (s; br., 1H, arom.), 8.00 - 8.04 (m; 1H, arom.), 8.35 (dd; 1H, *J* = 4.8 Hz, *J* = 1.5 Hz, arom.), 8.93 (d; 1H, *J* = 1.6 Hz, arom.), 10.53 (s; 1H)

CI-MS (NH₃): *m/z* (%) = 370 (100) [MH]⁺

3-Methyl-N-(3-(4-pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (148)

Ausbeute: 0.16 g (0.43 mmol, 22%), weiße Kristalle aus 0.50 g, 2 mmol **127** und 0.29 ml, 2.2 mmol 3-Methylbenzoylchlorid (**93**)

Schmp.: 120.3 - 120.6 °C

C₂₂H₁₉N₅O • H₂O Ber. C 68.20 H 5.46 N 18.08

(387.42) Gef. C 67.96 H 5.58 N 18.19

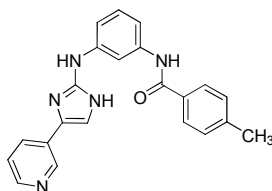
IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3422 (NH), 3065 (CH), 1652 (C=O), 1603 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.41 (s; 3H), 5.74 (s; 2H), 7.23 (dd; 1H, *J* = 7.7 Hz, *J* = 1.6 Hz, arom.), 7.35 (dd; 1H, *J* = 7.9 Hz, *J* = 4.9

Hz, arom.), 7.42 - 7.57 (m; 4H, arom.), 7.75 - 7.86 (m; 3H, arom.), 7.98 - 8.04 (m; 2H, arom.), 8.36 (dd; 1H, $J = 4.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, arom.), 8.94 (d; 1H, $J = 1.9$ Hz, arom.), 10.42 (s; 1H)

CI-MS (NH₃): m/z (%) = 370 (100) [MH]⁺

4-Methyl-*N*-(3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (149)



Ausbeute: 0.17 g (0.46 mmol, 23%), weiße Kristalle aus 0.50 g, 2 mmol **127** und 0.292 ml, 2.2 mmol 4-Methylbenzoylchlorid (**94**)

Schmp.: 218.8 - 219.0 °C

C₂₂H₁₉N₅O (369.42) Ber. C 71.53 H 5.18 N 18.96

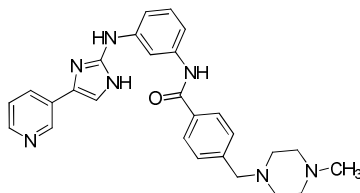
Gef. C 71.06 H 5.37 N 19.24

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3440, 3301 (NH), 1665(C=O), 1598 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.39 (s; 3H), 5.74 (s; 2H), 7.23 (dd; 1H, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, arom.), 7.32 - 7.38 (m; 3H, arom.), 7.48 - 7.57 (m; 2H, arom.), 7.82 - 7.93 (m; 3H, arom.), 7.98 - 8.04 (m; 2H, arom.), 8.35 (dd; 1H, $J = 4.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, arom.), 8.94 (d; 1H, $J = 2.0$ Hz, arom.), 10.37 (s; 1H)

CI-MS (NH₃): m/z (%) = 370 (100) [MH]⁺

4-((4-Methylpiperazin-1-yl)methyl)-(3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (150)

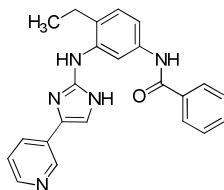


Ausbeute: 0.43 g (0.92 mmol, 46%), weiße Kristalle aus 0.50 g, 2 mmol **127** und 0.7 g, 2.2 mmol 4-(4-methylpiperazino-methyl)benzoesäurechlorid Dihydrochlorid^[130] (**104**)

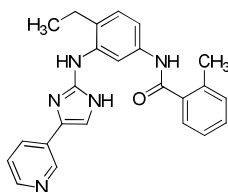
Schmp.: 150.9 - 151.2 °C

$C_{27}H_{29}N_7O \cdot H_2O$ (485.57)	Ber. C 66.78 H 6.43 N 20.19 Gef. C 66.25 H 6.39 N 19.89
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3342 (NH), 2941 (CH), 1651 (C=O), 1603 (C=C)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.15 (s; 3H), 2.37 (s; br. 8H), 3.54 (s; 2H), 5.73 (s; 2H, austauschbar), 7.23 (dd; 1H, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, arom.), 7.32 - 7.37 (m; 1H, arom.), 7.44 - 7.56 (m, 4H, arom.), 7.84 (dd; 1H, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.1$ Hz, arom.), 7.93 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, arom.), 7.98 - 8.05 (m; 2H, arom.), 8.36 (dd; 1H, $J = 4.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, arom.), 8.95 (d; 1H, $J = 1.4$ Hz, arom.), 10.42 (s; 1H, austauschbar)
CI-MS (NH ₃):	m/z (%) = 468 (100) [MH] ⁺

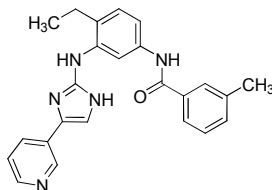
***N*-(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (151)**



Ausbeute:	0.48 g (1.25 mmol, 63%), weiße Kristalle aus 0.56 g, 2 mmol 129 und 0.256 ml, 2.2 mmol benzoylchlorid (91)
Schmp.:	165.8 - 166.4 °C
$C_{23}H_{21}N_5O \cdot 2/5 H_2O$ (390.65)	Ber. C 70.71 H 5.62 N 17.93 Gef. C 70.64 H 5.90 N 18.12
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3436 (NH), 2966 (CH), 1667 (C=O), 1604 (C=C)
1H -NMR (DMSO- d_6): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.08 (t; 3H, $J = 7.5$ Hz), 2.44 (q; br. 2H, $J = 7.4$ Hz), 5.49 (s; 2H), 7.30 - 7.45 (m; 3H, arom.), 7.51 - 7.63 (m; 3H, arom.), 7.81 (d; 1H, $J = 2.0$ Hz, arom.), 7.88 (dd; 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.2$ Hz, arom.), 7.94 - 8.04 (m; 3H, arom.) 8.34 (dd; 1H, $J = 4.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, $J = 1.6$ Hz, arom.), 10.41 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃):	m/z (%) = 384 (100) [MH] ⁺

N-(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-2-methylbenzamid (152)

Ausbeute:	0.49 g (1.23 mmol, 62%), weiße Kristalle aus 0.56 g, 2 mmol 129 und 0.288 ml, 2.2 mmol 2-Methylbenzoylchlorid (92)
Schmp.:	120.3 - 122.3 °C
C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O • 2/3 H ₂ O (409.47)	Ber. C 70.40 H 5.99 N 17.10 Gef. C 70.03 H 5.99 N 17.08
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3440 (NH), 2968 (CH), 1659 (C=O), 1616 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.07 (t; 3H, <i>J</i> = 7.5 Hz), 2.39 (s; 3H), 2.44 (q; 2H, <i>J</i> = 5.0 Hz), 5.49 (s; 2H), 7.28 - 7.47 (m; 7H, arom.), 7.75 - 7.81 (m; 2H, arom.), 7.98 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, <i>J</i> = 4.7 Hz, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, arom.), 10.47 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃):	<i>m/z</i> (%) = 398 (100) [MH] ⁺

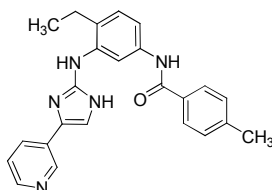
N-(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-3-methylbenzamid (153)

Ausbeute:	0.47 g (1.18 mmol, 59%), weiße Kristalle aus 0.56 g, 2 mmol 129 und 0.29 ml, 2.2 mmol 3-Methylbenzoylchlorid (93)
Schmp.:	161.7 - 163.2 °C
C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O • 1/3 H ₂ O (403.47)	Ber. C 71.44 H 5.91 N 17.36 Gef. C 71.14 H 6.18 N 17.11
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3436 (NH), 2965 (CH), 1667 (C=O), 1600 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 1.08 (t; 3H, <i>J</i> = 7.5 Hz), 2.40 (s; 3H), 2.45 (q; br. 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 5.48 (s; 2H), 7.30 - 7.37 (m; 1H, arom.), 7.39 - 7.44 (m; 4H, arom.), 7.72 - 7.81 (m; 3H, arom.),

7.88 (dd; 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.2$ Hz, arom.), 7.98 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, $J = 4.7$ Hz, $J = 1.7$ Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, $J = 1.8$ Hz, arom.) 10.35 (s; 1H)

CI-MS (NH₃): m/z (%) = 398 (100) [MH]⁺

***N*-(4-Ethyl-3-(4-pyridin-3-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-4-methylbenzamid (154)**



Ausbeute: 0.41 g (1.03 mmol, 52%), weiße Kristalle aus 0.56 g, 2 mmol **129** und 0.292 ml, 2.2 mmol 4-Methylbenzoylchlorid (**94**)

Schmp.: 150.4 - 150.6 °C

C₂₄H₂₃N₅O (397.47) Ber. C 72.52 H 5.83 N 17.62

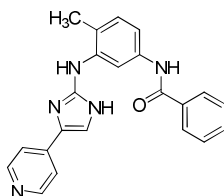
Gef. C 72.26 H 6.14 N 17.56

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3436 (NH), 2965 (CH), 1669 (C=O), 1611 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.08 (t; 3H, $J = 7.5$ Hz), 2.39 (s; 3H), 2.44 (q; br. 2H, $J = 6.9$ Hz), 5.47 (s; 2H), 7.30 - 7.37 (m; 3H, arom.), 7.41 (d; 2H, $J = 8.9$ Hz arom.), 7.80 (d; 1H, $J = 2.2$ Hz, arom.), 7.89 (d; 3H, $J = 8.2$ Hz, arom.), 7.98 - 8.03 (m; 1H, arom.), 8.34 (dd; 1H, $J = 4.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, arom.), 8.92 (d; 1H, $J = 1.9$ Hz, arom.), 10.31 (s; 1H)

CI-MS (NH₃): m/z (%) = 398 (100) [MH]⁺

***N*-(4-methyl-3-(4-pyridin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-benzamid (155)**



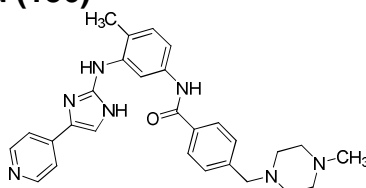
Ausbeute: 0.36 g (0.97 mmol, 49%), weiße Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol **130** und 0.256 ml, 2.2 mmol benzoylchlorid (**91**)

Schmp.: 248.9 - 251.1 °C

C₂₂H₁₉N₅O • ½ H₂O Ber. C 69.83 H 5.33 N 18.51

(378.42)	Gef. C 70.05 H 5.19 N 18.53
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3423 (NH), 1640 (C=O), 1604 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.11 (s; 3H), 5.56 (s; 2H), 7.40 (d; 1H, <i>J</i> = 9.1 Hz, arom.), 7.51 – 7.68 (m; 6H, arom.), 7.81 – 7.86 (m; 2H, arom.), 7.95 (dd; 2H, <i>J</i> = 1.4 Hz, <i>J</i> = 8.1 Hz, arom.), 8.45 (dd; 2H, <i>J</i> = 1.5 Hz, <i>J</i> = 4.6 Hz, arom.), 10.39 (s; 1H)
EI-MS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 369 (100) [M] ⁺ , 105 (78), 77 (51)

***N*-(4-methyl-3-(4-pyridin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-ylamino)-phenyl)-4-((4-methylpiperazin-1-yl)-methyl)-benzamid (156)**



Ausbeute:	0.22 g (0.46 mmol, 23%), weiÙe Kristalle aus 0.54 g, 2 mmol 130 und 0.7 g, 2.2 mmol 4-(4-methylpiperazinomethyl)benzoylchlorid Dihydrochlorid ^[130] (104)
Schmp.:	256.6 - 256.7 °C
C ₂₈ H ₃₁ N ₇ O x ½ H ₂ O	Ber. C 68.55 H 6.57 N 19.98
(490.59)	Gef. C 68.34 H 6.31 N 19.85
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3402 (NH), 2941, 2800 (CH), 1647 (C=O), 1607 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆): (300 MHz)	δ (ppm) = 2.10 (s; 3H), 2.16 (s; 3H), 2.35 (s; br. 8H), 3.53 (s; 2H); 5.55 (s; 2H, austauschbar), 7.37 - 7.47 (m; 3H, arom.), 7.55 (s; 1H, arom.), 7.61 (d; 2H, <i>J</i> = 6.1 Hz, arom.), 7.80 - 7.84 (m, 2H, arom.), 7.91 (d, 2H, <i>J</i> = 8.2 Hz, arom.), 8.45 (d; 2H, <i>J</i> = 6.1 Hz, arom.), 10.35 (s; 1H, austauschbar)
EI-MS (70 eV):	<i>m/z</i> (%) = 481 (31) [M] ⁺ , 466 (18), 425 (27), 411 (88), 383 (100), 118 (23), 99 (20), 90 (18)

6 Literaturverzeichnis

6 Literaturverzeichnis

- (1) Karp, G. *Molekulare Zellbiologie*, 1. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, **2005**, 829-868.
- (2) WHO Media Center, Fact sheet N°297. February **2009**.
- (3) Gesundheitsberichterstattung des Bundes www.gbe-bund.de.
- (4) Benchimol, S. "p53. An examination of sibling support in apoptosis control". *Cancer Cell*, **2004**, 6, 3-4.
- (5) Varmus, H.E. "The molecular genetics of cellular oncogenes". *Annual Review of Genetics*, **1984**, 18, 553-612.
- (6) Gibbs, W.W. "Chaos in der Erbsubstanz". *Spektrum der Wissenschaft-Spezial: Krebsmedizin II*, **2003**, 3, 12-22.
- (7) Poremba, C.; Simon, R.; Boecker, W.; Dockhorn-Dworniczak, B. "Molekulare Ursachen der Tumorentstehung". *Der Onkologe*, **1999**, 5, 847-854.
- (8) Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; Moore, P.K.; *Pharmacology*, 5th. ed., Elsevier Churchill Livingstone, **2003**, 693-710.
- (9) Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H.K.; Ruth, P.; Schäfer-Korting, M. *Arzneimittelwirkungen*, 9. neu bearbeitete und erweiterte Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **2008**, 907-949.
- (10) Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.; Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 9. Aufl., BI - Wissenschaftsverlag, Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich, **2006**, 921-959.
- (11) Krishan, A.; Arya, P. "Monitoring of cellular resistance to cancer chemotherapy". *Hematology/Oncology Clinics of North America*, **2002**, 16, 357-372.
- (12) Lawson, H.C.; Sampath, P.; Bohan, E. "Interstitial chemotherapy of malignant gliomas: The John Hopkins experience ". *Journal of Neuro-Oncology*, **2007**, 83, 61-70.
- (13) DeVita, V.T.; Chu, E. "A history of cancer chemotherapy". *Cancer Research*, **2008**, 68, 8643-8653.
- (14) Zhu, F.; Zheng, C.J.; Han, L.Y. "Trends in the exploration of anticancer targets and strategies in enhancing the efficacy of drug targeting". *Current Molecular Pharmacology*, **2008**, 1, 213-232.
- (15) Cohen, Ph. "Protein kinases: the major drug targets in the twenty-first century". *Nature Reviews Drug Discovery*, **2002**, 1, 309-315.

- (16) Ng, C.P.; Bonavida, B. "A new challenge for successful immunotherapy by tumors that are resistant to apoptosis: Two complementary signals to overcome cross-resistance". *Advances in Cancer Research*, **2002**, 85, 145-174.
- (17) Sokolov, K.; Nida D.; Descour M.; Lacy, A.; Levy, M.; Hall, B.; Dharmawardhane, Su.; Ellington, A.; Korgel, B.; Richards-Kortum, R. "Molecular optical imaging of therapeutic targets of cancer". *Advances in Cancer Research*, **2006**, 96, 299-344.
- (18) Karp, G. *Molekulare Zellbiologie*, 1. Aufl., Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, **2005**, 714-722.
- (19) Elliott, W.H.; Elliot, D.C. *Biochemistry and Molecular Biology*, 2nd. ed., Oxford University Press, Oxford, New York, **2005**, 524-529.
- (20) Jacks, T.; Weinberg, R.A. "Cell-cycle control and its watchman". *Nature*, **1996**, 381, 643-644.
- (21) Levitzki, A.; Gazit A. "Tyrosine kinase inhibition: an approach to drug development". *Science*, **1995**, 267, 1782-1788.
- (22) Li, E.; Hristova; K. "Role of receptor tyrosine kinase transmembrane domains in cell signaling and human pathologies". *Biochemistry*, **2006**, 45, 6241-6251.
- (23) www.genome.ad.jp, Retrieved on 2007-04-05. GenomeNet Database Resource.
- (24) Winkler T.; Zündorf I.; Dingermann T. "Protein-Tyrosinkinase als Wirkstoff-Targets". *Pharmazie in unserer Zeit*, **2008**, 5, 370-380.
- (25) Margutti, S.; Laufer, S.A. "Are MAP kinases drug targets? Yes, but difficult ones". *ChemMedChem*, **2007**, 2, 1116-1140.
- (26) Blume-Jensen, P.; Hunter, T. "Oncogenic kinase signalling". *Nature*, **2001**, 411, 355-365.
- (27) Schlessinger, J. "Cell signalling by receptor tyrosine kinases". *Cell*, **2000**, 103, 211-225.
- (28) Smithgall, T.M. "SH2 and SH3 domains: potential targets for anti-cancer drug design". *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **1995**, 34, 125-132.
- (29) Waldmann, H.; Hinterding, K.; Alonso-Díaz, H. "Organische Synthese und biologische Signaltransduktion". *Angewandte Chemie*, **1998**, 110, 716-780.
- (30) Gishizky, M.L. "Tyrosine kinase induced mitogenesis breaking the link with

- cancer". *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, **1995**, 30, 247-253.
- (31) Berridge, M.J. "Inositol triphosphate and calcium signaling". *Nature*, **1993**, 361, 315-325.
- (32) Bolen, J. B. "Nonreceptor tyrosine protein kinases". *Oncogene*, **1993**, 8, 2052-2031.
- (33) Krauss, G. *Biochemie der Regulation und Signaltransduktion*, 5th. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **1997**.
- (34) McCormick, F. "Signal transduction: how receptors turn Ras on". *Nature*, **1993**, 363, 15-16.
- (35) Egan, S.E.; Weinberg, R.A.F. "The pathway to signal achievement". *Nature*, **1993**, 365, 781-783.
- (36) Bogushi, M. S.; McCormick, F. "Proteins regulating Ras and its relatives". *Nature*, **1993**, 366, 643-654.
- (37) Lodish, H.; Berk, S.; Zipursky, S.L.; Matsudeira, P.; Baltimore, D.; Darnell, J. *Molekulare Zellbiologie*, 4. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, **2001**, 942-983.
- (38) Ball, S.G.; Shuttelworth, C.A.; Kielty, C.M. "Platelet-derived growth factor receptors regulate mesenchymal stem cell fate". *Expert Opinion on Biological Therapy*, **2010**, 10, 57-71.
- (39) Holm, M.; Lehmann F.; Laufer, S. "Medizinische Chemie und Molekulare Hemmmechanismen der Tyrosinkinase-Inhibitoren". *Pharmazie in unserer Zeit*, **2008**, 5, 382-392.
- (40) Heldin, C.H.; Östman, A.; Ronnstrand, L. "Signal transduction via platelet-derived growth factor receptors". *Biochimica et Biophysica Acta*, **1998**, 1378, 79-113.
- (41) Heldin, C.H.; Ericsson, J. "Prespectives: RIPping tyrosine kinase receptors apart". *Science*, **2002**, 295, 1645.
- (42) Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Mett, H.; Meyer, T.; Müller, M.; Regenass, U.; Lydon, N.B. "Selective inhibition of the PDGF signal transduction pathway by a protein-tyrosine kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class". *Proceeding of the National Academy of Sciences*, **1995**, 92, 2558-2562.
- (43) Östman, A.; Heldin, C.H. "PDGF receptors as targets in tumor treatment". *Advances in Cancer Research*, **2007**, 97, 247-274.
- (44) Schlessinger, J. "Cellular signalling by receptor tyrosine kinases". *Harvey*

- Lectures*, **1993-1994**, 89, 105-123.
- (45) Vassboth, F.S.; Östman, A.; Langeland, N.; Holmsen, H.; Westermark, B.; Heldin, C.H.; Nistèr, M.J. "Activated platelet-derived growth factor autocrine pathway drives the transformed phenotype of a human glioblastoma cell line". *Journal of Cellular Physiology*, **1994**, 158, 381-389.
- (46) Strawn, L.M.; Elliger, S.S.; Chu, L.M.; Germain, L.L.; Niederfellner, G.; Ullrich, A.; Shawver L.K. "Inhibition of glioma cell growth by a truncated platelet-derived growth factor-beta receptor". *Journal of Biological Chemistry*, **1994**, 269, 21215-21222.
- (47) Guha, A.; Dashner, K.; Black, P.M.; Wagner, J.A.; Stiles, C.D. "Expression of PDGF and PDGF receptors in human astrocytoma operation specimens supports the existence of an autocrine loop". *International Journal of Cancer*, **1995**, 60, 168-173.
- (48) Dell'Albani, P. "Stem cell markers in gliomas". *Neurochemical Research*, **2008**, 33, 2407-2415.
- (49) Sjöblom, T.; Boureux, A.; Rönstrand, L.; Heldin, C. H.; Ghysdae, J.; Östman, A. "Characterization of the chronic myelomonocytic leukemia associated TEL-PDGFR fusion protein". *Oncogene*, **1999**, 18, 7055-7062.
- (50) Golub, T.R.; Barker, G.F.; Lovett, M.; Gilliland, D.G. "Fusion of PDGF receptor β to a novel *ets*-like gene, *tel*, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5;12) chromosomal translocation". *Cell*, **1994**, 77, 307-316.
- (51) Jousset, C.; Carron, C.; Boureux, A.; Quang, C.T.; Oury, C.; Dusanter-Fourt, I.; Charon, M.; Levin, J.; Bernard, O.; Ghysdael, J. "A domain of TEL conserved in a subset of ETS proteins defines a specific oligomerization interface essential to the mitogenic properties of the TEL-PDGFR β oncoprotein". *EMBO Journal*, **1997**, 16, 69-82.
- (52) Ritchie, K.A.; Aprikyan, A.A.G.; Bowen-Pope, D.F.; Norby-Slycord, C.J.; Conyers, S.; Sitnicka, E.; Bartelmez, S.H.; Hickstein, D.D. "The Tel-PDGFRb fusion gene produces a chronic myeloproliferative syndrome in transgenic mice". *Leukemia*, **1999**, 13, 1790-1803.
- (53) Kawai, T.; Hiroi, S.; Torikata, C. "Expression in lung carcinomas of PDGF and its receptors". *Laboratory Investigation: A Journal of Technical Methods and Pathology*, **1997**, 77, 431-436.
- (54) Pietras, K.; Sjöblom, T.; Rubin, K.; Heldin, C. H.; Östman, A. "PDGF receptor

- as cancer drug targets". *Cancer Cell*, **2003**, 3, 439-443.
- (55) Östman, A.; Heldin, C.H. "PDGF Receptor as Targets in Tumor Treatment". *Advances in Cancer Research*, **2007**, 97, 247-274.
- (56) Matsumura, I.; Mizuki, M.; Kanakura, Y. "Roles for deregulated receptor tyrosine kinases and their downstream signalling molecules in hematologic malignancies". *Cancer Science*, **2008**, 99, 479-485.
- (57) Sanders, K.; Koh, S.; Ward, S. "Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract". *Annual Review in Physiology*, **2006**, 68, 307-343.
- (58) Miettinen, M.; Lasota, J. "Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis". *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, **2006**, 130 1466-78.
- (59) Taylor, M.L.; Metcalfe, D.D. "Kit Signal Transduction". *Hematology/Oncology Clinics of North America*, **2000**, 14, 517-535.
- (60) Lsota, J.; Wozniak, A.; Sarlomo-Rkala, M.; Rys, J.; Kordek, R.; Nassar, A.; Sobin, L.H. "Mutations in exons 9 and 13 of *KIT* gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors". *American Journal of Pathology*, **2000**, 157, 1091-1095.
- (61) Lux, M.L.; Rubin, B.P.; Biase, T.L.; Chen, C.; Maclure, T.; Demetri, G.; Xiao, S.; Singer, S.; Fletcher, C.D.M.; Fletcher, J. "KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors". *American Journal of Pathology*, **2000**, 156, 791-795.
- (62) Antonescu, C.R.; Sommer, G.; Sarran, L.; Tschernyavsky, S.J.; Riedel, E.; Woodruff, J.M.; Robson, M.; Maki, R.; Brennan, M.F.; Ladanyi, M.; DeMateo, R.P.; Besmer, P. "Association of *KIT* exon 9 mutations with nongastric primary site and aggressive behavior: *KIT* mutation analysis and clinical correlates of 120 gastrointestinal stromal tumors". *Clinical Cancer Research*, **2003**, 9, 3329-3337.
- (63) Kitamura, Y.; Hirotab, S. "Kit as a human oncogenic tyrosine kinase". *Cellular and Molecular Life Science*, **2004**, 61, 2924-2931.
- (64) Lasota, J.; Miettinen, M. "KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs)". *Seminars in Diagnostic Pathology*, **2006**, 23, 91-102.
- (65) Toki, T.; Kanizaki, R.; Adachi, S.; Fujino, H.; Xu, G.; Sato, T.; Suzuki, K.; Endo, M.; Ito, E. "The key role of stem cell factor/KIT signaling in the

- proliferation of blast cells from down syndrome-related leukemia". *Leukemia*, **2009**, 23, 95-103.
- (66) Noronha, G.; Cao, J.; Chow, Chun P.; Dneprovskaja, E.; Fine, Richard M.; Hood, J.; Kang, X.; Klebansky, B.; Lohse, D.; Mak, Chi. C.; McPherson, A.; Palanki-Moorthy, S.S.; Pathak, Ved P.; Renick J.; Soll, R.; Zeng, B. "Inhibitors of ABL and the ABL-T315I mutation". *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2008**, 8, 905-921.
- (67) Saglio, G.; Morotti, A.; Mattioli, G.; Messa, E.; Giugliano, E.; Volpe, G.; Regecambren, G.; Cilloni, D. "Rational approaches to the design of the therapeutics targeting molecular markers: The case of chronic myelogenous leukemia". *Annals of The New York Academy of Science*, **2004**, 1028, 423-431.
- (68) Ramirez, P.; DiPersio John, F. "Therapy options in imatinib failures". *The Oncologist*, **2008**, 13, 424-434.
- (69) Böhmer, F.D.; Karagyozov, L.; Uecker, A.; Serve H.; Botzki, A.; Mahboobi, S.; Dove, S. "A single amino acid exchange inverts susceptibility of related receptor tyrosine kinases for the ATP site inhibitor STI-571". *The Journal of Biological Chemistry*, **2003**, 278, 5148-5155.
- (70) Weisel, K. C.; Yildirim, S.; Schweikle, E.; Kanz, L.; Moehle, R. "Regulation of FLT3 and its ligand in normal hematopoietic progenitor cells". *Annals of Hematology*, **2009**, 88, 203-211.
- (71) Verweij, J. "KIT and PDGF as targets". *Cancer Treatment and Research*, **2004**, 120, 117-127.
- (72) Buchdunger, E.; O'Reilly, T.; Wood, J. "Pharmacology of imatinib". *European Journal of Cancer*, **2002**, 38, 28-36.
- (73) Capdeville, R.; Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Matter, A. "Glivec (STI571, Imatinib) a rationally developed targeted anticancer drug". *Nature Reviews Drug Discovery*, **2002**, 1, 493-502.
- (74) Deininger, M.; Buchdunger, E.; Druker B.J. "The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia". *Blood*, **2005**, 105, 2640-2653.
- (75) Buchdunger, E.; Cioffi, Catherine L.; Law, N.; Stover, D.; Ohno-Jones, S.; Druker, B. J.; Lydon, Nicholas B. "Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 Inhibits in vitro signal transduction mediated by c-Kit and PDGF-R". *The*

- Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2000**, 295, 139-145.
- (76) Kimura, S.; Ashinya, E.; Maekawa, T. "New tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia". *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **2006**, 7, 371-379.
- (77) Tsao, A.S.; Kantarjian, H.; Talpaz, M. "STI-571 in chronic myelogenous leukemia". *British Journal of Haematology*, **2002**, 119, 15-24.
- (78) Arifi, S.; El Sayadi, H.; Dufresne, A.; Ray-Coquard I.; Fayette, J.; Cassier, P. "Imatinib and solid tumours". *Bulletin du cancer*, **2008**, 95, 99-106.
- (79) Stirewalt, D.L.; Radich, J.P. "The role of FLT3 in haematopoietic malignancies". *Nature Reviews Cancer*, **2003**, 3, 650-665.
- (80) Shawver, L.K.; Salmon, D.; Ullrich, A. "Smart drug: Tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy". *Cancer Cell*, **2002**, 1, 117-123.
- (81) Libka, D. B.; Heidl, F.; Huber, C.; Fischer, T. "Entwicklung von Tyrosinkinase-Inhibitoren bei hämatologischen Neoplasien". *Pharmazie in unserer Zeit*, **2008**, 5, 394-403.
- (82) Ullrich, A. "Genbasierte Krebsforschung auf dem Weg zur kausalen Krebstherapie". *Targetforum*, © Systemed GmbH, Lünen, **2001**, 17-22
- (83) Deininger, M. "Grundlagen der molekularen Therapie BCR-ABL-positiver Leukemien". *Targetforum*, © Systemed GmbH, Lünen, **2001**, 11-15
- (84) Groundwater, P.W.; Solomons, K.R.H.; Drewe, J.; Munawar, M.A. "Protein tyrosine kinase inhibitors". *Progress in Medicinal Chemistry*, **1996**, 33, 233-329.
- (85) Kelloff, G.J.; Fay, J.R.; Steele, V.E.; Lubet, R.A.; Boone, C.W.; Crowell, J.A.; Sigman, C.C. "Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as potential cancer chemopreventives". *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, **1996**, 5, 657-666.
- (86) Takekuraw, N.; Yasui, W.; Kyo, E.; Yoshida, K.; Kameda, T.; Kitadai, Y.; Abe, K.; Umezawa, K.; Tahara, E. "Effects of tyrosine kinase inhibitor, erbstatin, on cell growth and growth-factor/receptor gene expression in human gastric carcinoma cells". *International Journal of Cancer*, **1991**, 47, 938-942.
- (87) Burke, T.R. "Protein-tyrosine kinase inhibitors". *Drugs of The Future*, **1992**, 17, 119-131.
- (88) Murray, K.J.; Coates, W.J. "Protein kinases and phosphatases: structural

- biology and synthetic inhibitors". *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, **1994**, 29, 255-264, und die dort zitierte Lit.
- (89) Teller, S.; Eluwa, S.; Koller, M.; Uecker, A.; Beckers, T.; Baasner, S.; Böhmer, F.D.; Mahboobi, S. "Bis(1*H*-2-indolyl)-1-methanones as inhibitors of the hematopoietic tyrosine kinase Flt3". *Leukemia*, **2002**, 16, 1528-1534.
- (90) Zimmermann, J.; Buchdunger, E.; Mett, H.; Meyer, T.; Lydon, N. B.; Traxler, P. "Phenylamino-pyrimidine derivatives: a new class of potent and highly selective PDGFR autophosphorylation inhibitors". *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **1996**, 6, 1221-1226.
- (91) Talpaz, D.M. "STI571 in chronic myelogenous leukemia". *British Journal of Haematology*, **2002**, 119, 15-24.
- (92) Druker, B.J. "STI157: a paradigm for clinical trial of molecularly targeted agents". *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **2001**, 55, 529-530.
- (93) Fujita, A.; Shishido, T.; Yuan, Y.; Inamoto, E.; Narumiya, S.; Watanabe, N. "Imatinib mesylate (STI571)-induced cell edge translocation of kinase-active and kinase-defective Abelson kinase: requirements of myristolation and src homology 3 domain". *Molecular Pharmacology*, **2009**, 75, 75-84.
- (94) Hunter, T. "Treatment for chronic myelogenous leukemia: the long road to imatinib". *The Journal of Clinical Investigation*, **2007**, 117, 2036-2043.
- (95) Kunik C; Schmidt, A.M.E. "Die kurze Geschichte der Proteinkinase-Inhibitoren". *Pharmazie in unserer Zeit*, **2008**, 5, 360-368.
- (96) Müller, B.A. "Imatinib and its successors - how modern chemistry has changed drug development". *Current Pharmaceutical Design*, **2009**, 15, 120-133.
- (97) Yanada, M.; Ohno, R.; Naoe, T. "Recent advances in the treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia". *International Journal of Hematology*, **2009**, 89, 3-13.
- (98) Martinelli, G.; Iacobucci, I.; Soverini, S.; Palandri, F.; Castagnetti, F.; Rosti, G.; Baccarani, M. "Nilotinib: a novel encouraging therapeutic option for chronic myeloid leukemia patients with imatinib resistance or intolerance". *Biologics: Targets and Therapy*, **2007**, 1, 121-127.
- (99) Itaru, M.; Kanakura, Y. "New therapeutic drugs for imatinib-resistant or intolerant chronic myelogenous leukemia". *Sogo Rinsho*, **2008**, 57, 666-674.
- (100) Schindler, T.; Bornmann, W.; Pellicena, P.; Miller, W.T.; Clarkson, B.; Kuriyan

- J. "Structural mechanism for STI571 inhibition of Abelson tyrosine kinase". *Science*, **2000**, 289, 1938-1942.
- (101) Shah, N.P.; Tran, C.; Lee, F.Y.; Chen, P.; Norris, D.; Sawyers, C.L. "Overriding imatinib resistance with a novel Abl kinase inhibitor". *Science*, **2004**, 305, 399-401.
- (102) Nagar, B.; Bornmann, W.; Pellicena, P.; Schindler, T.; Veach, D.; Miller, W. T.; Clarkson, B.; Kuriyan, J. "Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571)". *Cancer Research*, **2002**, 62, 4236-4243.
- (103) Crespo, A.; Frenández, A. "Induced disorder in protein-ligand complexes as a drug-design strategy". *Molecular Pharmaceutics*, **2008**, 5, 430-437.
- (104) Deininger, M.W.N.; Druker, B.J. "Specific targeted therapy of chronic myelogenous leukemia with imatinib". *Pharmacological Reviews*, **2003**, 55, 401-423.
- (105) Mahon, F.X.; Deininger, M.W.N.; Schlttheis, B.; Chabrol, J.; Reiffers, J.; Goldman, J.M.; Melo, J.V. "Selection and characterization of Bcr-Abl positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor STI571: diverse mechanisms of resistance". *Blood*, **2000**, 96, 1070-1079.
- (106) Cowan-Jacob, S.W.; Guez, V.; Fendrich, G.; Griffin, J.D.; Fabbro, D.; Furet, P.; Liebetanz, J.; Mestan, J.; Manley, P.W. "Imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia: molecular basis of the underlying mechanisms and potential strategies for treatment". *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **2004**, 4, 285-299.
- (107) Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Mett, H.; Meyer, T.; Müller, M.; Druker, B.J.; Lydon, N.B. "Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase *in vitro* and *in vivo* by a 2-Phenylaminopyrimidine derivative". *Cancer Research*, **1996**, 56, 100-104.
- (108) Zimmermann, J. "Pyrimidine derivatives and processes for the preparation thereof". *US Patent* 5,521,184 **1996**.
- (109) Zimmermann, J.; Buchdunger, E.; Mett, H.; Meyer, T.; Lydon, N.B. "Potent and selective inhibitors of the Abl kinase: phenylaminopyrimidine derivatives". *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **1997**, 7, 187-192.
- (110) Druker, B.J.; Tamura, S.; Buchdunger, E.; Ohno, S.; Segal, G.M.; Fanning, S.; Zimmermann, J.; Lydon, N.B. "Effects of a selective inhibitor of the Abl

- tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells". *Nature Medicine*, **1996**, 2, 561-566.
- (111) Zimmermann, J.; Caravatti, G.; Mett, H.; Meyer, T.; Müller, M.; Lydon, N.B.; Fabbro, D. "Phenalamino-pyrimidine derivatives: a new class of potent and selective inhibitors of protein kinase C". *Archiv der Pharmazie*, **1996**, 329, 371-376.
- (112) Zimmermann, J. "Pyrimidinderivate und Verfahren zu ihrer Herstellung". *European Patent*, 0564 409 B1, **2000**.
- (113) Bredereck, H.; Effenberger, F.; Botsch, H. "Säureamid-Reaktionen: Untersuchungen über die Reaktionsfähigkeit von Formamidinen, Dimethylformamid-diäthylacetal und Bis-dimethyl-amino-methoxy-methan". *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1964**, 97, 3397-3406.
- (114) Lipinski, C.A. "Bioisosterism in drug design". *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, **1986**, 21, 238-291.
- (115) Siebert, C.D. "Das Bioisosterie-Konzept: Arzneistoffentwicklung". *Chemie in unserer Zeit*, **2004**, 38, 320-324.
- (116) Villar, V.; Saneinejad, S.; Hansen, M.R.; Altoris, I.; La Jolla, C.A. "Revisiting bioisosterism". *236th ACS National Meeting, Philadelphia, USA*, **2008**.
- (117) Mahboobi, S.; Sellmer, A.; Eswayah, A.; Elz, S.; Uecker, A.; Böhmer, F.D. "Inhibition of PDGFR tyrosine kinase activity by a series of novel N-(3-(4-(pyridin-3-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)phenyl) amides: A SAR study on the bioisosterism of pyrimidine and imidazole". *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, 43, 1444-1453.
- (118) Ciufolini, M.; Benjahad, A.; Giethlen, B.; Moussy, A.; Wermuth, C. "Aminoaryl substituted five-membered ring heterocyclic compounds for the treatment of diseases". *PTC Int. Appl.*, WO 064375 A2, **2006**.
- (119) Hünig, S.; Märkl, G.; Sauer, J. *Integriertes Organisches Praktikum*, Verlag Chemie, Weinheim, New York, **1979**.
- (120) Dronow, A.; Machens, H.; Bruncken, K.; "Über einige Aminoalkohole der Pyridyl- und Dipyridyl-äthanreihe". *Chemische Berichte*, **1951**, 84, 147-149.
- (121) Vanotti, E.; D'Alessio, R.; Tibolla, M.; Varasi, M.; Motagnoli, A.; Santocanale, K.; Martina, M. "Pyridylpyrrole derivatives active as kinase inhibitors". *PTC Int. Appl.*, WO 013986 A1, **2005**.
- (122) Dr. Andreas Sellmer, Persönliche Mitteilung.

- (123) Wang, S.; Meades, C.; Wood, G.; Osnowski, A.; Anderson, S.; Yuill, R.; Thomas, M.; Mezna, M.; Jakson, W.; Midgley, C.; Griffiths, G.; Fleming, I.; Green, S.; McNae, I.; Wu, S.Y.; McInnes, C.; Zheleva, D.; Walkinshaw, M.; Fischer, P.M. "2-Anilino-4-(thiazol-5-yl)pyrimidine CDK inhibitors: synthesis, SAR analysis, X-ray crystallography and biological activity". *Journal of Medicinal Chemistry*, **2004**, 47, 1662-1675.
- (124) Wang, S.; Wood, G.; Meades, C.; Griffiths, G.; Midgley, C.; McNae, I.; McInnes, C.; Anderson, S.; Jakson, W.; Mezna, M.; Yuill, R.; Walkinshaw, M.; Fischer, P.M. "Synthesis and biological activity of 2-anilino-4-(1H-pyrrol-3-yl)pyrimidine CDK inhibitors". *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2004**, 14, 4237-4240.
- (125) Szakács, Z.; Béni, S.; Varga, Z.; Oerfi, L.; Kéri, G.; Noszál, B. "Acid-base profiling of Imatinib and its fragments". *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, 48, 249-255.
- (126) Ram, S.; Ehrenkauf, R. E. "A general procedure for mild and rapid reduction of aliphatic and aromatic nitro compounds using ammonium formate as a catalytic hydrogen transfer agent". *Tetrahedron Letters*, **1984**, 25, 3415-3418.
- (127) Ram, S.; Ehrenkauf, R. E. "A facile synthesis of α -amino esters via reduction of α -nitro esters using ammonium formate as a catalytic hydrogen transfer agent". *Synthesis*, **1986**, 133, 91-95.
- (128) Ram, S.; Ehrenkauf, R. E. "Ammonium formate in organic synthesis: a versatile agent in catalytic hydrogen transfer reductions". *Synthesis*, **1988**, 2, 91-95.
- (129) Kövendr, A.; Kircz, M. "Synthese von Halogen-, Amino-, Sulfonyl- und Aminosulphonyl-nitro-äthylbenzolen". *Chemische Berichte*, **1964**, 97, 1896-1901.
- (130) Lombardino, J.G.; Conn, N. "[4-Substituted benzoyloxy]-N-substituted-2H-1,2-bezothiazine-3-carboxamide 1,1-dioxides having anti-arthritic activity". *US Patent* 4,623,486 **1986**.
- (131) Debus, H. "Über die Einwirkung des Ammoniaks auf Glyoxal". *Annalen der Chemie und Pharmazie*, **1858**, 107, 199-208.
- (132) Radzisevski, B.L. "Über Glyoxalin und seine Homologe". *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1882**, 15, 2706-2708.
- (133) Davies, D.T. *Basistexte Chemie: Aromatische Heterocyclen*, 1. Aufl., Wiley-

- VCH, Weinheim, **1995**.
- (134) <http://www.organic-chemistry.org/synthesis/heterocycles/imidazoles.shtml>
- (135) Kilic, T.; Alberta, J.A.; Zdunek, P.R.; Pawel, R.; Acar, M.; Iannarelli, P.; O'Reilly, T.; Buchdunger, E.; Black, P.M.; Stiles, C.D. "Intracranial inhibition of PDGF-mediated glioblastoma cell growth by an orally active kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class". *Cancer Research*, **2000**, 60, 5143-5150.
- (136) Quintas-Cardama, A.; Cortes, J. "Nilotinib: a phenylamino-pyrimidine derivative with activity against BCR-ABL, KIT and PDGFR kinases". *Future Oncology*, **2008**, 4, 611-621.
- (137) Gazit, A.; App, H.; McMahon, G.; Chen, J.; Levitzki, A.; Böhmer, F.D. "Tyrphostins. 5. Potent inhibitors of PDGF receptor tyrosine kinase: structure-activity relationships in quinoxalines, quinolines, and indole tyrphostins". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1996**, 39, 2170-2177.
- (138) Kovalenko, M.; Gazit, A.; Böhmer, A.; Rosman, C.; Rönstrand, L.; Heldin, C.H.; Waltenberger, J.; Böhmer, F.D.; Levitzki, A. "Selective platelet-derived growth factor receptor kinase blockers reverse sis-transformation¹". *Cancer Research*, **1994**, 54, 6106-6114.
- (139) Kovalenko, M.; Rönstrand, L.; Heldin, C.H.; Loubtchenkov, M.; Gazit, A.; Levitzki, A.; Böhmer, F.D. "Phosphorylation site-specific inhibition of PDGF β -receptor autophosphorylation by the receptor blocking tyrphostin AG1296". *Biochemistry*, **1997**, 36, 6260-6269.
- (140) Levitzki, A.; Gazit, A.; Banai, S.; Gertz, D.S.; Golomb, G. "Preparation of tyrphostin as PDGF receptor kinase inhibitor compounds". *PCT Int. Appl. WO* 9928304 A2, **1999**.
- (141) He, W.; Myers, M.R.; Hanney, B.; Spada, A.P.; Bilder, G.; Galzinski, H.; Amin, D.; Needle, S.; Page, K.; Jayyosi, Z.; Perrone, M.H. "Potent quinoxaline-based inhibitors of PDGF receptor tyrosine kinase activity. Part 2: The synthesis and biological activities of RPR127963, an orally bioavailable inhibitor". *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2003**, 13, 3097-3100.
- (142) Maguire, M.P.; Sheets, K.R.; Mcvety, K.; Spada, A.P.; Zilberstein, A. "A new series of PDGF receptor tyrosine kinase inhibitors: 3-substituted quinoline derivatives". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1994**, 37, 2129-2137.
- (143) Palmer B.D.; Smaill, J.B.; Boyd, M.; Boschelli, D.H.; Doherty, A.M.; Hamby, J.M.; Khatana, S.S.; Kramer, J.B.; Kraker, A.J.; Panek, R.L.; Lu, G.H.;

- Dahring, T.K.; Winters, R.T.; Showalter, H.D.H.; Denny, W.A. , "Structure-activity relationships for 1-phenylbenzimidazoles as selective ATP site inhibitors of the PDGF receptor". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, 41, 5457-5465.
- (144) Kubo, K.; Shimizu, T.; Ohyama, S.; Murooka, H.; Nishitoba, T.; Kato, S.; Kobayashi, Y.; Yagi, M.; Nakamura, K.; Osawa, T.; Izawa, T. "A novel series of 4-phenoxyquinolins: potent and highly selective inhibitors of PDGF receptor autophosphorylation". *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **1997**, 7, 2935-2940.
- (145) Yagi, M.; Kato, S.; Kobayashi, Y.; Kubo, K.; Ohyama, S.; Shimizu, T.; Nishitoba, T.; Isoe, T.; Nakamura, K.; Ohashi, H.; Kobayashi, N.; Inuma, N.; Osawa, T.; Onosa, R.; Osawa, H. "Selective inhibition of platelet-derived growth factor (PDGF) receptor autophosphorylation and PDGF-mediated cellular events by a quinoline derivative". *Experimental Cell Research*, **1997**, 234, 285-292.
- (146) Sakai, T.; Senga, T.; Furuta, T.; Miwa, A. "Preparation of quinazoline and quinoline derivatives as remedies for diseases mediated by autophosphorylation of PDGF receptors". *PCT Int. Appl.*, WO 047890 A1, **2001**.
- (147) Furuta, T.; Sakai, T.; Senga, T.; Osawa, T.; Kubo, K.; Shimizu, T.; Suzuki, R.; Yoshino, T.; Endo, M.; Miwa, A. "Identification of potent and selective inhibitors of PDGF receptor autophosphorylation". *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, 49, 2186-2192.
- (148) Boschelli, D.H.; Wu, Z.; Klutchko, S.R.; Showalter, H.D.; Hamby, J.M.; Lu, G.H.; Major, T.C.; Dahring, T.K.; Batley, B.; Panek, R.L.; Keiser, J.; Hartl, B.G.; Kraker, A.J.; Klohs, W.D.; Roberts, B.J.; Patmore, S.; Elliott, W.L.; Steinkampf, R.; Bradford, L.A.; Hallak, H.; Doherty, A.M. "Synthesis and tyrosine kinase inhibitory activity of a series of 2-amino-8*H*-pyrido[2,3-*d*]pyrimidines: identification of potent, selective PDGF receptor tyrosine kinase inhibitors". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, 41, 4365-4377.
- (149) Palmer B.D.; Kraker, A.J.; Hartel, B.G.; Panopoulos, A.D.; Panek, R.L.; Robert, L.; Batley, B.L.; Lu, G.H. "Structure-activity relationships for 5-substituted 1-phenylbenzimidazoles as selective inhibitors of the PDGF receptor". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1999**, 42, 2373-2382.

- (150) Zhong, C.; He, J.; Xue, C.; Li, Y. "A QSAR study on inhibitory activity of 1-Phenylbenzimidazoles against the PDGF receptor". *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2004**, 12, 4009-4015.
- (151) Mahboobi, S.; Teller, S.; Pongratz, H.; Hufsky, H.; Sellmer, A.; Botzki, A.; Uecker, A.; Beckers, T.; Baasner, S.; Schächtele, C.; Überall, F.; Kassack, M.U.; Dove, S.; Böhmer, F.D. "Bis(1*H*-2-indolyl)methanones as a novel class of inhibitors of the platelet-derived growth factor receptor kinase". *Journal of Medicinal Chemistry*, **2002**, 45, 1002-1018.
- (152) Mahboobi, S.; Uecker, A.; Sellmer, A.; Cénac, C.; Höcher, H.; Pongratz, H.; Eichhorn, E.; Hufsky, H.; Trümpler, A.; Sicker, M.; Heidel, F.; Fischer, T.; Stocking, C.; Elz, S.; Böhmer, F.D.; Dove, S. "Novel Bis(1*H*-indol-2yl)methanones as potent inhibitors of FLT3 and PDGF receptor tyrosine kinase". *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, 49, 3101-3115.
- (153) Mitsufumi Mayumi, "EoL-1, A human eosinophilic cell line". *Leukemia and Lymphoma*, **1992**, 7, 243-250.
- (154) Sattler, M.; Verma, S.; Byrne, C.; Shrikhande, G.; Winkler, T.; Algate, P.A.; Rohrschneider, L.R.; Griffin, J.D. "BCR/ABL directly inhibits expression of SHIP, an SH2-containing polyinositol-5-phosphatase involved in the regulation of hematopoiesis". *Molecular and Cellular Biology*, **1999**, 19, 7473-7480.
- (155) Mahboobi, S.; Sellmer, A.; Burgemeister, T.; Lyssenko, A.; Schollmeyer, D. "Synthesis of naturally occurring pyrazine and imidazole alkaloids from *botryllus leachi*". *Monatshefte für Chemie*, **2004**, 135, 333-342.
- (156) Autorenkollektiv *Organikum: Organisch-chemisches Grundpraktikum*, 19., bearbeitete und erweiterte Aufl., Barth Verlagsgesellschaft, Edition Deutscher Verlag der Wissenschaften, Leipzig, Berlin, Heidelberg, **1993**.

Teil-II

Neue Indol-Derivate

**Synthese und biologische Prüfungen auf
antibakterielle und antiinflammatorische
Eigenschaften**

1 Einleitung

1 Einleitung

1.1 Infektionskrankheiten

1.1.1 Definition, Daten und Fakten

Infektionskrankheiten sind seit Tausenden von Jahren bekannt, obwohl genaue Informationen über ihre Ätiologie nur für etwa ein Jahrhundert verfügbar sind.

Per definitionem ist eine ansteckende Krankheit eine klinisch evidente Krankheit, die durch subzelluläre infektiöse Einheiten (pathogene Mikroorganismen, einschließlich Viren, Bakterien, Pilze, Einzeller), mehrzellige Parasiten und abweichende Proteine (bekannt als Prionen) verursacht wird. Diese Erreger sind in der Lage, Krankheiten bei Tieren und/oder Pflanzen zu verursachen. Ansteckende Krankheiten / Infektionskrankheiten sind in der Regel durch die Fähigkeit der Übertragung von einer Person oder von anderen Spezies zu anderen als übertragbare Krankheiten charakterisiert.^[1, 2]

Infektionskrankheiten bleiben schwerwiegend und tauchen jetzt wieder als Bedrohung für das menschliche Leben auf (Ursache für mehr als zehn Millionen Todesfälle pro Jahr). Nach der WHO gibt es die globale Gefahr, dass eine Umwelt ähnlich wie in der Vor-Antibiotika Ära (d. h. vor der Mitte des 20. Jahrhunderts) entsteht, bei der die Todesfälle durch Infektionskrankheiten viel häufiger waren als sie derzeit sind. Wegen des Risikos einer Infektion wäre die moderne Implantat- und Transplantations-Chirurgie unmöglich.^[3]

Wie in dem jährlichen Bericht der Weltgesundheitsorganisation (WHO) im Jahr 2004 erwähnt, sind die Infektionskrankheiten nach den nichtübertragbaren Krankheiten (Kreislaufkrankungen und Krebs) und Verletzungen als weltweit häufigste Todesursachen zu nennen. Infektiöse Erkrankungen verursachten im Jahr 2004 11 Millionen Todesfälle, Atemwegsinfektionen 4.2 Millionen, AIDS 2.7 Millionen, Durchfallerkrankungen 2.0 Millionen, Tuberkulose 1.5 Millionen und Malaria 1.2 Millionen. Die Sterblichkeitsraten infolge von Infektionskrankheiten weisen in Ländern niedrigen und mittleren Einkommens die höchste Rate auf.^[4, 5]

Kommerzielle Globalisierung, Migration und Veränderungen der Umwelt sind die wichtigsten Faktoren, die für die internationale Ausbreitung der Mikroorganismen verantwortlich sind. Transport- und Kommunikationsentwicklung sind ein nennenswerter Faktor in der weltweiten Ausbreitung von Mikroorganismen. Die

Mobilität einer großen Zahl von Menschen erweitert die Möglichkeiten für die Ausbreitung und die Etablierung von gemeinsamen oder neuartigen infektiösen Krankheiten.^[6]

Der Begriff Infektiosität beschreibt die Fähigkeit eines Organismus, in den Wirt zu gelangen, zu überleben und sich zu vermehren, während die Übertragbarkeit einer Krankheit die Fähigkeit angibt, die Krankheit auf andere Wirte zu übertragen. Eine Infektion ist jedoch nicht gleichbedeutend mit einer ansteckenden Krankheit, da eine Infektion nicht zwangsläufig eine ausgeprägte klinische Symptomatik zur Folge hat.^[1]

1.2 Antiinfektiva / antimikrobielle Chemotherapeutika

1.2.1 Definitionen und Grundlagen

Antiinfektiva ist der Oberbegriff für Arzneimittel, die in kleinen Dosen (Konzentrationen) das Wachstum oder das Überleben von Mikroorganismen hemmen, ohne den Wirt zu beeinflussen. d. h., ein Antiinfektivum ist ein Stoff, der für den Menschen (oder das Tier) weitgehend untoxisch ist. Dementsprechend versteht man, dass der Grundgedanke der Antiinfektiva-Therapie auf dem Ehrlichschen Prinzip der selektiven Toxizität („...*Die Abtötung der Parasiten ohne erhebliche Schädigung des Organismus...*“ Paul Ehrlich, 1906) basiert. Die selektive Toxizität der Antiinfektiva für den Mikroorganismus beruht auf dem Angriff an Strukturen, die beim Wirtsorganismus (Mensch) nicht oder aber zumindest in wesentlich anderer Form vorkommen^[2, 8-10] (Abb. 1a und b).

Antiinfektiva werden zur Behandlung oder Verhinderung von Infektionskrankheiten bei Menschen, Tieren und Lebensmittel-produzierenden Insekten und Pflanzen benützt.^[7-10]

Je nach Art des verursachenden Erregers unterscheidet man Antibiotika (gegen Bakterien), Virostatika (gegen Viren), Antimykotika (gegen Pilze) und Antiparasitika, die gegen Endo- und Ektoparasiten eingesetzt werden. Wirkstoffe gegen Ektoparasiten sind Akarizide (gegen Milben), Insektizide (gegen Insekten) und Repellentien (Insektenabwehrmittel). Wirkstoffe gegen Endoparasiten sind Anthelminthika (gegen Würmer) und Antiprotozoika (gegen Einzeller).^[8-10]

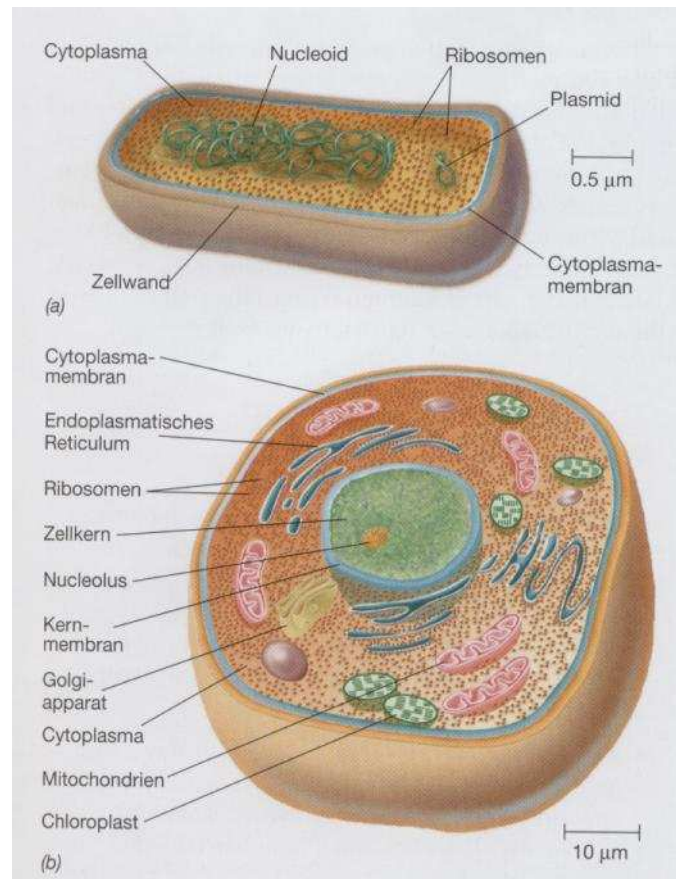


Abb. 1: Schematische Darstellung einer prokaryotischen Zelle (Bakterium) (oben) und einer eukaryotischen Zelle (unten)^[11]

1.3 Bakterien

1.3.1 Definition und Stammgeschichte

Bakterien sind eine Gruppe phylogenetisch verwandter Prokaryoten, sich von den Archaeen unterscheiden. Die Bakterien (*Bacteria*) (griechisch *baktērion* „Stäbchen“) bilden neben den Eukaryoten und Archaeen eine der drei grundlegenden Domänen, in die heute alle Lebewesen eingeteilt werden.^[11, 12] In der Domäne der *Bacteria* gibt es eine große Vielfalt von Prokaryoten. Alle uns bekannten krankheitserregenden (pathogenen) Prokaryoten sind *Bacteria*, ebenso wie tausende nicht pathogener Spezies. Außerdem unterscheiden sich die Organismen dieser Domäne sehr in Morphologie und Physiologie. Aus Laboruntersuchungen kennt man mindestens 18 Hauptlinien (Stämme) der *Bacteria*. Viele andere sind anhand von Sequenzierungen von ribosomalen RNA-Genen aus Probenmaterial aus natürlichen Lebensräumen identifiziert worden. Die größte Abteilung der Domäne der *Bacteria* bilden die Proteobakterien, die eine Vielzahl von Pathogenen, wie *Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, und *Helicobacter* und viele andere bemerkenswerte Gattungen umfassen. Alle

Proteobacteria sind Gram-negativ und repräsentieren die Mehrheit aller bekannter gramnegativen Bakterien von medizinischer, industrieller und landwirtschaftlicher Bedeutung^[2, 11] (s. Kap. 1.3.4).

Bakterien wurden erstmalig von Antonie van Leeuwenhoek in 1676 mit Hilfe seines selbstgebauten Mikroskops beobachtet.^[13, 14] Er veröffentlichte seine Beobachtungen in einer Reihe von Schreiben an die Royal Society (London).^[15]

1.3.2 Genereller Aufbau und Lebensweise

Bakterienzellen sind zwischen 0.3 und 5 μm groß. Bei Bakterien unterscheidet man mehrere Formen, von denen die meisten allgemein gültige Bezeichnungen haben, um sie zu beschreiben. Die typischen Bakterienformen sind Kokken, Spiralen und Stäbchen.^[2, 16] Die bakterielle Zelle ist von einer Zellmembran umgeben, die den Inhalt der Zelle umschließt und als Barriere wirkt, um Nährstoffe, Proteine und andere wesentliche Bestandteile des Zytoplasmas innerhalb der Zelle zu halten. Die zytoplasmatische Membran umfasst zahlreiche Proteine, wie Permeasen, Enzyme für die Zellwandsynthese, Sensor-Proteine und Atmungsketten-Enzyme in der aeroben Bakterien.^[2]

Da sie Prokaryonten sind, besitzen die Bakterien selten Membran-gebundene Organellen in ihrem Zytoplasma; damit enthalten sie nur wenige große intrazelluläre Strukturen. Sie besitzen keine Mitochondrien, keine Chloroplasten und keine anderen Organellen wie Golgi-Apparat und Endoplasmatisches Retikulum, die in eukaryotischen Zellen vorhanden sind^[2, 17] (vgl. Abb. 1 a und b).

Bakterien haben keinen Membran-gebundenen Kern. Ihr genetisches Material ist in der Regel ein einziges kreisförmiges Chromosom, das sich im Zytoplasma als unregelmäßig geformter Körper, als Nucleoid befindet.^[18] Das Nucleoid besteht aus einem sehr dünnen, langen, runden DNA-Doppel-Strang, der nicht von einer Membran umgeben ist. Zu den genetischen Strukturen gehören auch die Plasmide.^[2] Wie alle lebenden Organismen enthalten Bakterien Ribosomen für die Produktion von Proteinen, aber die Struktur des bakteriellen Ribosoms unterscheidet sich von dem der Eukaryoten und Archaea.^[19] Die zytoplasmatische Membran ist von der Zellwand umgeben, ihr wichtigstes Element ist das unterstützende Murein-Skelett, das aus Polysaccharid-Ketten besteht, die durch ungewöhnliche Peptide quer vernetzt sind^[20] (s. Kap. 1.3.3, Abb. 3a und 3b). Die Zellwand ist von wesentlicher Bedeutung für das Überleben vieler Bakterien. Es existieren zwei verschiedene Arten

der Zellwand in Bakterien: Gram-positive und Gram-negative. Die Namen stammen aus der Reaktion von Zellen auf die Gram-Färbung^[21] (s. Kap. 1.3.3).

Manche Bakterienarten benutzen für ihre Bewegung sog. Flagellen. Dies sind starre Protein-Strukturen, deren Energie aus der Übertragung von Ionen über einen elektrochemischen Gradienten durch die Zellmembran resultiert.^[22] Bakterielle Arten unterscheiden sich in der Anzahl und Anordnung der Flagellen auf ihrer Oberfläche.^[23] Viele Bakterien haben Kapseln, die aus Polysacchariden hergestellt sind und sie vor Phagozytose schützen. Einige Bakterien produzieren Sporen, „schlafende“ Formen, die gegen chemische und physikalische Noxen sehr widerstandsfähig sind.^[2]

Bakterien unterscheiden sich in ihrer Lebensweise und somit in ihrem Stoffwechsel.^[24] Aufgrund des biochemischen Mechanismus, der von Bakterien zur Erzeugung von Energie verwendet wird, lässt sich der bakterielle Stoffwechsel in drei Arten einordnen: aerobe Atmung, anaerobe Atmung und Gärung (ein alternativer anaerober Prozess, der von einigen Spezies angewandt wird). Auf dieser Basis kennt man aerobe Bakterien, die Sauerstoff benötigen, obligat anaerobe Bakterien, für sie Sauerstoff toxisch ist, und fakultative Anaerobier, die tolerant gegenüber Sauerstoff sind. Einige Bakterien sind zur Photosynthese fähig (phototroph), wie die auch Blaualgen genannten Cyanobakterien, die meisten Bakterien sind dagegen chemotroph. Von den Chemotrophen sind die meisten heterotroph, einige jedoch chemoautotroph, und zwar lithoautotroph^[24] (Ein Mikroorganismus, der seine Energie aus reduzierten Verbindungen mineralischen Ursprungs bezieht).

Die meisten Bakterien leben in der Natur in Form von Biofilmen zusammen.^[25] Sie wachsen zu einer festen Größe und vermehren sich dann durch binäre Spaltung, eine Form der asexuellen Fortpflanzung.^[26]

1.3.3 Gram-Färbung

1884 entwickelte Hans Christian Gram eine Färbungs-Technik zur Differenzierung von Bakterien, die aufgrund der Zusammensetzung ihrer Zellwände in Gram-positive und Gram-negative Bakterien unterschieden werden. Das Verfahren beruht auf der Fähigkeit von Mikroorganismen, die lila Farbe einer Kristallviolett-Lösung nach Entfärbung mit Alkohol zu bewahren.^[21] Der erste Schritt in dem Verfahren umfasst die Färbung mit dem Farbstoff Kristallviolett. Dieser Färbung folgt die Behandlung mit Iod-Lösung (Lugol-Lösung), die als Beizmittel dient, d. h., sie erhöht die

Wechselwirkung zwischen der bakteriellen Zelle und dem Farbstoff, so dass der Farbstoff fester gebunden ist, folglich die Zelle stärker gefärbt ist, und die Bakterien erscheinen dunkel blau-violett. Danach wird der Abstrich mit 95% Ethanol gewaschen. Nach dieser Behandlung behalten Gram-positive Bakterien die Kristallviolett-Iod Komplexe, Gram-negative Bakterien hingegen verlieren ihre Kristallviolett-Iod Komplexe und werden entfärbt. Schließlich wird der Abstrich mit einer Gegenfärbelösung behandelt (in der Regel Safranin). Safranin färbt die farblosen Gram-negativen Bakterien rosa, während die dunkle lila Farbe der Grampositiven Bakterien erhalten bleibt.^[21, 27-29] Dieser Unterschied im Farbverhalten ist auf den Aufbau der Zellwand zurückzuführen. Gram-positive Bakterien besitzen eine der Membran aufgelagerte dicke, mehrschichtige Mureinhülle (Peptidoglykan, 20-80 nm) (Abb. 2a), in deren Zwischenräumen sich die Lugol-Lösung sammelt. Hier wirkt der Alkohol dehydratisierend und verringert den Abstand zwischen den Molekülen, so dass die eingeschlossenen Farbstoffkomplexe nicht mehr vom Alkohol ausgewaschen werden können.^[21]

Gram-negative Bakterien besitzen nur eine dünne Mureinhülle (<10 nm) (Abb. 2b), der zusätzlich eine äußere Lipidmembran aufgelagert ist. Diese dünne Membran wird vom Alkohol entfernt, und aufgrund der Präsenz der unteren dünnen Mureinschicht werden die Farbstoff-Komplexe vom Alkohol ausgewaschen. Das Bakterium wird entfärbt und färbt sich schließlich mit der Farbe der hinzugefügten Gegenfärbelösung.^[21]

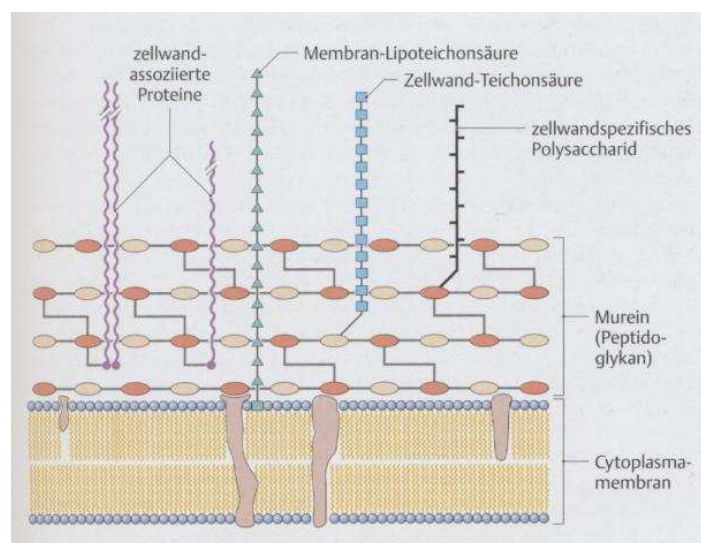


Abb. 2a: Aufbau der Zellwand gram-positiver Bakterien^[30]

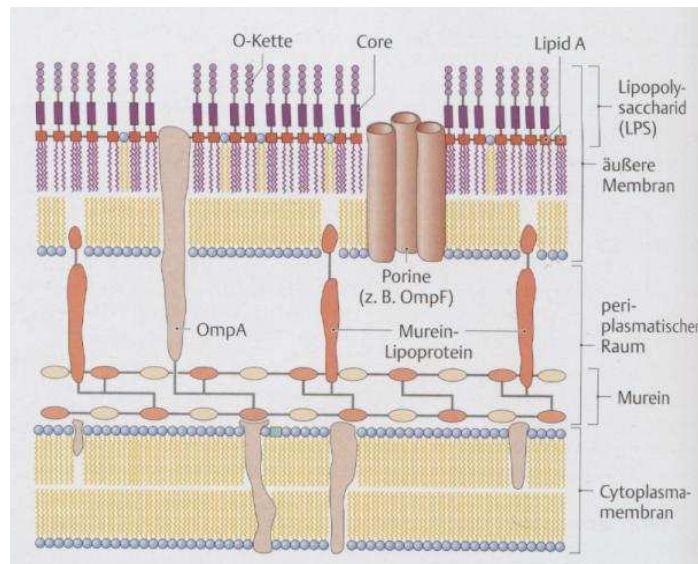


Abb. 2b: Aufbau der Zellwand gram-negativer Bakterien^[30]

O-Kette: O-spezifische Polysaccharid-Kette, Core: Kern-Polysaccharidregion, OmpF: outer membrane protein F, OmpA: outer membrane protein A

1.3.4 Bedeutung in Ökologie und Industrie

Auf der ökologischen Ebene leben Bakterien häufig in symbiotischen Beziehungen (entweder positiv oder negativ) mit anderen Organismen und wirken sich somit auf das Ökosystem aus. Ein Beispiel für diese grundlegenden Symbiosen sind *endosymbiotische* Cyanobakterien, die an den Ursprüngen der aeroben Photosynthese beteiligt sind.^[31, 32] Auf der anderen Seite befinden sich spezielle Bakterien im Verdauungskanal oder anderen Organen vieler Lebewesen. Die große Mehrheit der Bakterien im menschlichen Körper lebt im Dickdarm. Sie sind in der Regel notwendige Symbionten, synthetisieren Vitamine wie Folsäure, Vitamin K und Biotin, vergären unverdauliche komplexe Kohlenhydrate oder verhindern die Ausbreitung pathogener Bakterien im Darm.^[33-38] Das bekannteste Beispiel ist das Bakterium *Escherichia Coli*.^[28, 39]

Bakterien besitzen ferner eine industrielle Bedeutung. Einige von ihnen, z. B. Milchsäure-Bakterien wie *Lactobacillus* und *Lactococcus*, werden in Kombination mit Hefen und Schimmelpilzen seit Tausenden von Jahren in der Produktion von fermentierten Lebensmitteln wie Käse, Essig, Sojasoße und Joghurt benutzt.^[40, 41] Bakterien benutzt man auch für die Bioremediation oder die Sanierung von industriellen toxischen Abfällen.^[42] Bakterien können auch an Stelle von Pestiziden in der biologischen Schädlingsbekämpfung verwendet werden.^[43, 44]

Aufgrund ihrer Fähigkeit, schnell zu wachsen, und weil sie leicht manipuliert werden können, sind Bakterien die „Arbeitspferde“ in den Bereichen der Molekularbiologie,

Genetik und Biochemie. Durch gezielte Mutationen der bakteriellen DNA und Prüfung der daraus resultierenden Phänotypen, können Wissenschaftler die Funktion der Gene, Enzyme und Stoffwechselwege in Bakterien erforschen und dieses Wissen zum Studium komplexer Organismen verwenden.^[45]

1.3.5 Pathogene Bakterien

Pathogene Bakterien sind Bakterien, die Infektionskrankheiten verursachen, die zu den bedeutsamsten Todesursachen des Menschen zählen. Obwohl die Mehrzahl der Bakterien harmlos und nützlich ist, sind einige Bakterien pathogen. Jeder *Spezies* der pathogenen Bakterien bzw. Erreger ist ein charakteristisches Spektrum von Interaktionen mit ihren menschlichen „Gastgebern“ eigen. Diese Bakterien bilden bedingte-, intrazelluläre- und opportunistische Pathogene.^[46-49] Die häufigste bakterielle Krankheit ist Tuberkulose, die durch das Bakterium *Mycobacterium tuberculosis* verursacht wird. Ihr fallen etwa 1.6 Millionen Menschen pro Jahr^[50] zum Opfer. Pathogene Bakterien tragen ferner zu anderen global wichtigen Krankheiten bei: Lungenentzündung wird durch Streptokokken- und Pseudomonas-Bakterien verursacht. Zu erwähnen sind weiterhin lebensmittelbedingte Krankheiten, die durch Bakterien wie *Shigellen*, *Campylobacter* und *Salmonellen* verursacht werden. Pathogene Bakterien verursachen auch Infektionen wie Tetanus, Typhus, Diphtherie, Syphilis und Lepra.^[51]

Eine ebenfalls von pathogenen Bakterien ausgelöste Erkrankung ist die Sepsis, die auf Grampositive Bakterien wie *Staphylococcus aureus* zurückzuführen ist.^[52, 53] Es handelt sich dabei um eine transiente Infektion des Blutstromes, die eine außer Kontrolle geratene Infektion auslöst, also eine Blutvergiftung.^[54-56] Bakterien, die an einer Sepsis beteiligt sind, schädigen durch verschiedene toxische Mechanismen, einschließlich der Produktion von Endotoxinen, Exotoxinen, Zytotoxinen und Prokoagulantien. Sepsis und septischer Schock bleiben eine beträchtliche therapeutische Herausforderung. Trotz erheblicher Fortschritte in der unterstützenden Versorgung und der Verfügbarkeit potenter Breitspektrum-Antibiotika, ist die Sterblichkeit infolge von Sepsis immer noch rund 35%. Diese erhöht sich auf ca. 60%, wenn Patienten einen septischen Schock entwickeln.^[57, 58]

1.4 Antibiotika

1.4.1 Allgemeines

Antibiotika (griechisch *anti*: gegen; *bios*: das Leben) sind meist von Mikroorganismen produzierte chemische Verbindungen, die selbst in hoher Verdünnung Bakterien töten oder deren Wachstum hemmen (Definition nach *Waksman et al.* 1942)^[59, 60], so z. B. das von Pilzen produzierte Penicillin.^[59] Heute schließt dieser Begriff auch synthetische (d.h. durch chemische Synthese gewonnene) und halbsynthetische Stoffe ein. Ein Beispiel hierfür ist die Antibiotikagruppe der Sulfonamide. Halbsynthetisch bedeutet, dass die Naturstoffe aus den Mikroorganismen nach der Gewinnung chemisch abgewandelt werden.^[61, 62] Mittlerweile gibt es gegen fast alle Infektionskrankheiten wirksame Antibiotika. Da sich die Bakterien aber mit der Zeit verändern können, müssen auch Antibiotika ständig weiterentwickelt werden.^[59, 63]

Die Antibiotika lassen sich nach ihrem Wirktypen in bakteriostatische und bakterizide Antibiotika einteilen. Weiterhin können Antibiotika auch nach ihrem Wirkspektrum klassifiziert werden, z. B. Breitspektrum- und Schmalspektrum-Antibiotika.^[9]

1.4.2 Historischer Hintergrund und Geschichte der Antibiotika

In der Antike verwendeten die Ägypter, die Chinesen und Inder in Zentralamerika Schimmel zur Behandlung infizierter Wunden. Allerdings verstanden sie damals die Zusammenhänge zwischen den antibakteriellen Eigenschaften des Schimmels und der Behandlung von Krankheiten^[64-67] nicht.

Obwohl seit Jahrhunderten Präparate aus biologischem Material auf Wunden appliziert wurden, um Infektionen einzudämmen, war die Tatsache, dass ein Mikroorganismus in der Lage ist, die Zerstörung einer anderen Spezies herbeizuführen, bis zur zweiten Hälfte des 19. Jh. nicht bekannt. Erst *Pasteur* bemerkte 1877 die antagonistische / inhibitorische Wirkung einiger Bakterien auf einen anderen Organismus (*anthrax* / Milzbrand), und wies darauf hin, dass diese Aktivität sich zu therapeutischen Zwecken eignen könnte.^[68] Inzwischen bestätigten viele andere Experimente an Milzbrand und Cholera diese Entdeckung und bewiesen, dass harmlose Bakterien das Wachstum von krankheitsverursachenden Bakterien hemmen können.

Am Anfang des 20. Jh. entwickelte der deutsche Forscher *Paul Ehrlich* die Hypothese der selektiven Toxizität^[69, 70] (s. Kap. 1.2.1). 1910 erwies sich ein viel versprechendes

synthetisches Agens (Salvarsan)^[70, 71] als wirksam bei der Behandlung der Syphilis. Wieder war leider die Toxizität bei Menschen ein großes Hindernis für seine Entwicklung und breite Nutzung.^[70, 71]

Das Problem der Toxizität und das Scheitern der Erfindung anderer antimikrobieller Agenzien waren die beiden Faktoren, die den Fortschritt der Forscher behinderten. Begeisterung bei der Suche nach "*the magic bullet*", der „Zauberkegel“, die die Menschheit von Infektionskrankheiten befreien sollte, begann zu schwinden.

Die Strömung begann sich zu ändern, als *Alexander Fleming* 1928 das Penicillin entdeckte. Beim Versuch, die Bakterien *Staphylokokken* spp. auf einer Agar-Agar-Platte wachsen zu lassen, bemerkte er, dass das Wachstum dieses Bakteriums von einem Schimmel (*Penicillium notatum*) gehemmt wurde (Abb. 3). Mit seiner Entdeckung, setzte er den nächsten Meilenstein im Bereich der Antibiotika-Entwicklung.^[72]

In den späten 1930er und frühen 1940er Jahren nahmen es zwei, forschende Ärzte, *Florey* und *Chain*, in die Hand, die Entdeckung Flemings zu realisieren. Es war ihre bahnbrechende Arbeit, die Penicillin schließlich in die klinische Anwendung brachte.^[73]

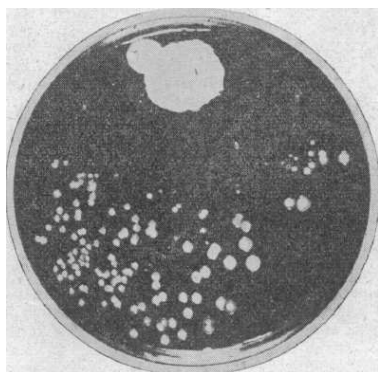


Abb. 3: *Alexander Flemings* ursprüngliche Kultur-Platte zeigt die Zone des gehemmten *Staphylokokken*-Wachstums um eine *Penicillium notatum* Kolonie^[72]

Bald nach der Entdeckung des Penicillins wurde die antimikrobielle Aktivität der Sulfonamide von *Gerhard Domagk* im Jahr 1935 entdeckt.^[74, 75]

Die Antibiotika Therapie begann mit der industriellen Herstellung von Penicillin 1941^[76] und wurde mit der Entdeckung und Entwicklung von Streptomycin 1944^[77, 78], gefolgt von Chloramphenicol^[79, 80] 1947, Chlortetracyclin^[81] 1948, Makroliden^[82] (1952), und Tetracyclin^[83] 1954 forgrsetzt. Im weiteren Verlauf der Geschichte wurden semi-synthetische Penicilline, Cephalosporine^[84, 85] und Glycopeptide^[86] (ab 1956), Streptogramine^[87, 88] und Chinolone^[89, 90] (1962) entwickelt.

Nicht-klassische beta-Laktame (Carbapeneme)^[91, 92] in den 1970er Jahren, Fluorchinolone^[93] in den 1980er Jahren und schließlich Oxazolidinone^[94] und kationische Peptide^[95, 96] in den 1990er Jahren folgten.

Trotz der langsamen Entwicklung der Antibiotika in den letzten Jahrzehnten gibt es einige neue wirksame Antibiotika, die in dem ersten Jahrzehnt des aktuellen Jahrhunderts auf den Markt kamen. Erst ab 2000 wurde Linezolid^[97] als Arzneimittel zugelassen. 2002 wurde Ertapenem als neues Carbapenem eingeführt.^[98] Daptomycin ist ein neuartiges Lipopeptid-Antibiotikum, das ursprünglich in den 80er Jahren entdeckt, später unter dem Handelsnamen Name Cubicin[®] vermarktet und im Jahr 2003 zugelassen^[99-101] wurde. Tigecyclin ist der erste klinisch verfügbare Vertreter der neuen Klasse von Antibiotika, die Glycylcycline genannt werden. Es wurde 2005 zugelassen.^[3, 102-105]

Kürzlich wurde durch Basilea Pharmaceutica^[106] ein Cephalosporin Antibiotikum der 5. Generation mit Aktivität gegen MRSA* und andere resistente Spezies^[107-109] entdeckt. Es nennt sich Ceftobiprole (Zeftera / Zevtera) und wurde für die Verwendung in Canada und der Schweiz genehmigt.^[110, 111]

2006 wurde ein neues potentes Antibiotikum in Südafrika entdeckt. Es nennt sich Platensimycin und tötet viele Bakterien, einschließlich MRSA. Wenn Platensimycin erfolgreich klinische Studien durchläuft, wird es erst das dritte wirklich völlig neue Antibiotikum sein, das in den letzten vier Jahrzehnten entwickelt wurde.^[112]

1.4.3 Wirkmechanismus der Antibiotika

Antibiotika werden aufgrund ihrer chemischen Struktur in Gruppen eingeteilt. Innerhalb einer Gruppe ist der Wirkmechanismus gleich und die Toxizität meist ähnlich. Die Wirkspektren können voneinander abweichen. Zusätzlich unterscheidet man nach ihrem Wirkmechanismus bzw. nach ihrem Ort der Wirkung fünf hauptsächliche Gruppen der Antibiotika (Abb. 4).

MRSA*: Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*

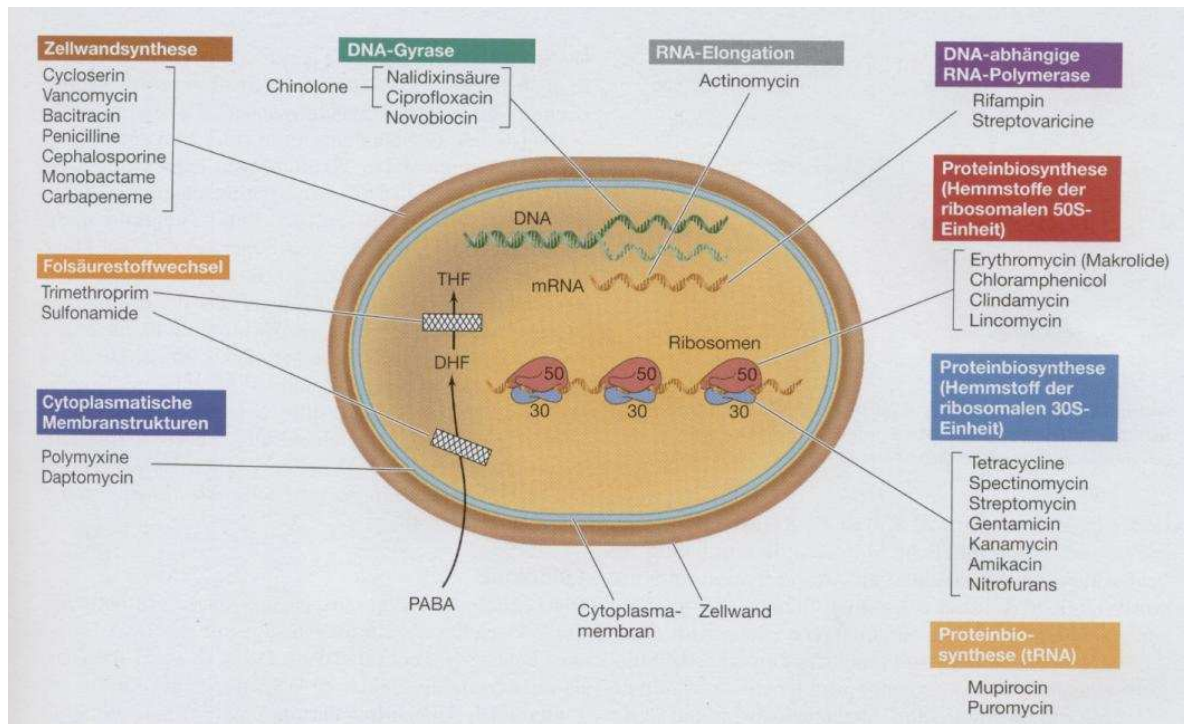


Abb. 4: Angriffsorte der Antibiotika^[11]

THF: Tetrahydrofolat; DHF: Dihydrofolat; mRNA: Boten-RNA (messenger RNA); tRNA: Transfer-RNA; PABA: P-Amino Benzoesäure; Rifampin: Rifampicin

1.4.3.1 Hemmstoffe der Bakterienzellwand-Biosynthese

Die Biosynthese der Peptidoglykane kann an mehreren Stellen durch verschiedene Antibiotika blockiert werden.

- **β -Lactam-Antibiotika:** β -Lactam Antibiotika bilden eine breite Klasse von Antibiotika. Sie umfasst Penicillin-Derivate, Cephalosporine, Carbapeneme, Monobactame, und β -Lactam-Inhibitoren. Alle β -Lactam-Antibiotika besitzen als chemisches Merkmal den β -Lactam Ring. Er stellt das antibakteriell aktive Zentrum dar. β -Lactam-Antibiotika beeinträchtigen die Quervernetzung der Mureinschicht von Bakterien und induzieren die Lyse von proliferierenden Bakterien durch Hemmung des D-Ala-Transpeptidase Enzyms, das die Quervernetzung der Mureinschicht katalysiert, und wirken daher bakterizid^[8-10, 113-115] (Abb. 4).
- **Fosfomycin:** Ist ein bakterizid wirkendes Antibiotikum, das sich in seiner chemischen Struktur von allen anderen Antibiotika grundlegend unterscheidet. Es hemmt den ersten Schritt der Peptidoglykansynthese, in dem die N-Acetylmuraminsäure aus UDP-N-Acetylglucosamin und Phosphoenolpyruvat synthetisiert wird.^[8, 9, 114, 116]

- **Cycloserin:** D-Cycloserin imitiert die Aminosäure D-Ala und hemmt die Zellwandsynthese durch Blockade der Aufnahme von D-Ala in die Peptid-Brücke in der bakteriellen Zellwand^[10] (Abb. 4).
- **Bacitracin:** Bacitracin gehört zur Gruppe der Polypeptid-Antibiotika und wirkt durch Hemmung der Membranverankerung der Murein-Bausteine^[8-10, 113, 114] (Abb. 4).
- **Glykopeptide:** Zu dieser Klasse zählen Vancomycin (Abb. 4) und Teicoplanin. Sie hemmen die Mureinsynthese durch Bindung an das Terminal D-Alanyl-D-alanin der UDP-Muramyl-pentapeptide. Sie verhindern die Elongation der Peptidoglykanketten und ihre Quervernetzung.^[8-10, 113, 114]

1.4.3.2 Hemmstoffe der Plasmamembran-Funktion

Zahlreiche Polypeptide wirken über die Hemmung der Plasmamembran-Funktion. Sie wechselwirken mit der Zellmembran und ändern ihre Permeabilität. Aufgrund ihrer unerwünschten Nebenwirkungen und ihrem Mangel an systemischer Aktivität ist ihre klinische Anwendung begrenzt. Zu ihnen zählen Polymyxine^[118] (Abb. 4), Tyrocidin und Gramacidin.^[8-10, 113, 114] Daptomycin^[99-101] ist ein neuer Vertreter der Gruppe der cyclischen Lipopeptide und der zur Zeit stärkste bakterizide Wirkstoff auf dem Markt (Abb. 4).

1.4.3.3 Hemmstoffe der ribosomalen Proteinbiosynthese

„Protein-Synthese“ fasst einen Multi-Schritt-Prozess zusammen, der mit der Transkription von nuklearer DNA zu *messenger* RNA beginnt, die dann als Matritze für die Translation in die Aminosäure Sequenz dient. Die verschiedenen Phasen dieses Prozesses sind Ziele einer Reihe von Antibiotika (Abb. 4 und 5). Bakterielle Ribosomen unterscheiden sich in ihrer Struktur von Ribosomen in eukaryotischen Zellen. Antibiotika nutzen diese Unterschiede zur selektiven Hemmung der Vermehrung von Bakterien (s. Kap. 1.2.1).

1.4.3.3.1 Blockierung der Initiationsphase

- **Oxazolidinone:** Sie enthalten als neue synthetische Klasse Oxazolidin-2-on in ihrer Struktur (bisher Generation von Antibiotika) und wirken durch Hemmung der Anfangsphase der Proteinsynthese: sie blockieren die Anlagerung der ribosomalen 50S-Untereinheit an den 30S-Initiationskomplex. Sie sind wirksam

gegen viele Gram-positive Bakterien, die gegen ältere Antibiotika resistent geworden sind. Linezolid (Zyvoxid®) ist der einzige derzeit verfügbare Vertreter dieser Klasse^[9, 10, 114] (Abb. 5).

- **Aminoglycoside:** Streptomycin und einige andere Aminoglycoside binden an der 30S ribosomalen Untereinheit und bilden einen Komplex, der nicht in der Lage ist, die richtige Aminosäuren-Polymerisation zu initiieren. Diese Bindung führt daher zu einer Fehlablesung des genetischen Codes^[8-10, 113-114] (Abb. 5).

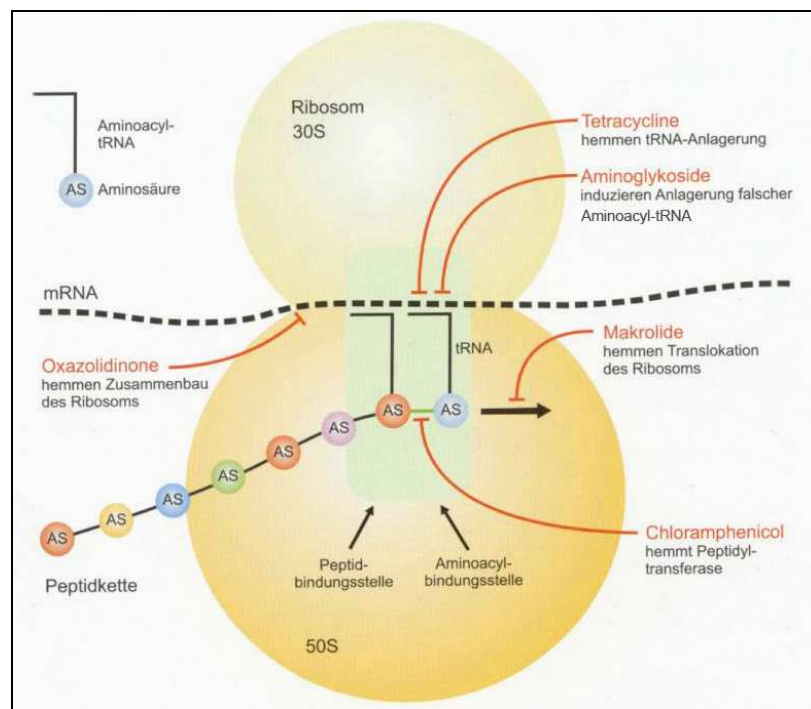


Abb. 5: Angriffspunkte von Hemmstoffen der bakteriellen Proteinbiosynthese^[114]

1.4.3.3.2 Blockierung der Elongationsphase

- **Tetracycline:** Tetracycline bilden eine große Familie von Antibiotika. Sie hemmen die bakterielle Proteinbiosynthese, indem sie an der 30S-Untereinheit die Anlagerung der Aminoacyl-tRNAs blockieren (Abb. 5). Sie wirken bakteriostatisch. Vertreter dieser Klasse sind Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Doxycyclin und Minocyclin.^[8-10, 113, 114]
- **Chloramphenicol:** Chloramphenicol ist ein klassisches bakteriostatisches Breitspektrum Antibiotikum, das den Transpeptidationsschritt der Elongationsphase durch reversible Bindung an die 50S ribosomale Untereinheit hemmt, auf der die Peptidyltransferase lokalisiert ist^[8-10, 113, 114] (Abb. 5).

- **Makrolide, Ketolide und Lincosamide:** Erythromycin und andere Makrolide wirken durch reversible Bindung an die 23S-rRNA-Struktur der 50S ribosomalen Untereinheiten, sodass der Translokationsschritt der Elongationsphase inhibiert wird (Abb. 5). Ketolide und Lincosamide (Abb. 4) verhalten sich funktionell wie die Makrolide. Aufgrund der zu den Makroliden ähnlichen Wirkungsweise kann es zu Kreuzresistenzen kommen.^[8-10, 113, 114]
- **Fusidinsäure:** Die aus *Fusidium coccineum* isolierte Fusidinsäure gehört zu den Steroid-Antibiotika. Ihre Wirkung beruht auf einer Verhinderung der Elongation durch Hemmung der Translokation.^[8-10, 114]
- **Mupirocin:** Es handelt sich um ein bakteriostatisches Schmalspektrum Antibiotikum, das aus *Pseudomonas fluorescens* isoliert wird. Es blockiert die Proteinsynthese durch kompetitive Hemmung der Isoleucin-tRNA-Synthetase, als Folge kommt es zu einer Verarmung an Isoleucin-tRNA in der Bakterienzelle^[8, 9, 114] (Abb. 4).
- **Nitrofurantoin:** Nitrofurantoin ist ein Nitrofuranaldehyd-Derivat, das für die orale Anwendung bei der Behandlung von UTI (*Urinary Tract Infection*) geeignet ist. Der Wirkmechanismus von Nitrofurantoin ist nicht vollständig geklärt. Vermutlich wirken reaktive Metabolite, die während der reduktiven Verstoffwechslung des Nitrofurantoins entstehen und an die ribosomalen Proteine binden können^[10, 116] (Abb. 4). Diese Metabolite können auch zu DNA-Schäden führen.^[10, 117]

1.4.3.4 Antibiotika mit Wirkung auf Nucleinsäuren

- **Fluorchinolone und Analoge (Gyrasehemmer):** Die Chinolone umfassen eine Familie von synthetischen Breitspektrum-Antibiotika, bei der die Chinolin-4-on-3-Carbonsäure das Grundgerüst ist. Sie verhindern die Entspiralisierung und Verdopplung der bakteriellen DNA durch Hemmung der bakteriellen Gyrase (Topoisomerase II)^[8-10, 114, 119] (Abb. 4).
- **Rifamycine (RNA Polymerase Hemmer):** Rifamycine werden in der Regel zur Behandlung von Mycobacterium-Infektionen benutzt, einschließlich Tuberkulose und Lepra. Der Wirkmechanismus ist charakterisiert durch die Hemmung der bakteriellen DNA-abhängigen RNA-Polymerase und führt zur Blockade der Transkription. Rifamycine wirken damit bakterizid. Rifampicin und Rifabutin gehören zur dieser Gruppe^[8, 9, 114] (Abb. 4).

1.4.3.5 Hemmstoffe der Folsäure-Biosynthese (Antimetabolite)

Folsäure ist für die Synthese der Purin-Vorstufen von DNA und RNA sowohl in Bakterien als auch in Menschen notwendig.

- **Sulfonamide:** Die antibakteriellen Sulfonamide sind synthetische antimikrobielle Agenzien, die die Sulfanilamid-Gruppe enthalten.^[74, 75] Sie wirken als Antimetaboliten, indem sie kompetitiv die p-Aminobenzoessäure verdrängen, die von Bakterien zum Aufbau der Dihydrofolsäure benötigt wird. Außerdem wird die Dihydropteroat-Synthetase gehemmt^[8-10, 114, 120] (Abb. 4).
- **Trimethoprim:** Trimethoprim ist ein kompetitiver Inhibitor der bakteriellen Dihydrofolat-Reduktase und wird in Kombination mit Sulfamethoxazol verwendet. Blockierung der Biosynthese von Folsäure-Coenzymen an mehreren Punkten im bakteriellen Stoffwechsel führt zu einem synergistischen Effekt mit einer antimikrobiellen, bakteriziden Aktivität (Trimethoprim und Sulfamethoxazol)^[8-10, 114] (Abb. 4).

1.4.4 Antibiotika Resistenz

1.4.4.1 Allgemeines

Unter Antibiotika-Resistenz versteht man die erworbene Widerstandsfähigkeit von Bakterien gegen Antibiotika, gegen die sie normalerweise empfindlich wären. Bei resistenten Bakterien führt die Behandlung mit einem bestimmten oder mehreren Antibiotika nicht zu Tod oder Wachstumshemmung der Bakterien. Unter dem Begriff Antibiotika-Resistenz werden Eigenschaften von Bakterien zusammengefasst, die es ihnen ermöglichen, die Wirkung von antibiotisch aktiven Substanzen zu schwächen oder ganz zu unterbinden. Ein Mikroorganismus ist resistent, wenn die MHK (*MIC, minimal inhibitory concentration*) höher liegt als die höchste *in vivo* erreichbare Serum- bzw. Gewebekonzentration.^[8, 9]

Bakterien können intrinsisch resistent gegen eine oder mehrere Klasse von Antibiotika sein, oder sie können die Resistenz durch *de novo*-Mutation erwerben. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass sie Resistenz-Gene aus anderen Mikroorganismen aufnehmen.^[8, 9] Eine Resistenz kann z. B. dadurch entstehen, dass eine Antibiotika-Therapie zu früh beendet wird, zu niedrig dosiert ist oder die Einnahme unregelmäßig erfolgt. Dann überleben einige Bakterien und sind danach nicht mehr empfindlich gegenüber diesem Medikament. Diese Eigenschaft geben sie

an die nachfolgenden Generationen weiter. So entstehen resistente Bakterienstämme, die nur noch schwer zu bekämpfen sind.^[9]

Antibiotikaproduzenten wie Streptomyceten besitzen in den meisten Fällen Resistenzen gegen die von ihnen selbst erzeugten Stoffe. Stämme mit erworbener Resistenz kommen gehäuft bei den *Enterobacteriaceae*^[51], den Pseudomonaden^[121], den Staphylokokken^[122, 123], Streptokokken^[122] und Enterokokken^[123, 124] vor. Diese so genannten Problemkeime verursachen die Mehrzahl der nosokomialen Infektionen und zeigen oft Mehrfachresistenz.^[2, 9, 125] Bei Bakterien außerhalb des Krankenhauses werden Resistenzen gegen Antiinfektiva signifikant seltener gefunden.^[2, 9]

1.4.4.2 Mechanismen der Resistenzentwicklung

Bakterien verwenden die gleichen Mechanismen für die Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika, wie für die Entwicklung einer Resistenz gegenüber bioziden Verbindungen.^[126]

Die wichtigsten Mechanismen, durch die Mikroorganismen gegen antimikrobielle Substanzen resistenz werden, sind:^[2, 127-129]

- Produktion Antibiotika-inaktivierender Enzyme, die Antiinfektiva modifizieren oder hydrolysieren (z. B. β -Lactamasen)^[130], und deren Produktion entweder durch die entsprechenden Substanzen induziert wird oder konstitutiv stattfindet.^[2, 128, 129]
- Ausbildung resistenter Zielmoleküle: Dies geschieht zum einen durch Mutation in Wild-Genen, wodurch Gen-Produkte gebildet werden, die eine niedrige Affinität zu Antiinfektiva aufweisen. Ferner durch Erwerb von Genen, die für ein resistentes Zielmolekül kodieren, bzw. durch Übernahme eines Gens für ein Enzym, das den Zielort eines Antibiotikums zur Resistenz modifiziert.^[2, 127-129]
- Veränderung von Permeabilitätsmechanismen: Reduzierter Influx, gesteigerter Efflux^[2, 127-129] (Abb. 6).

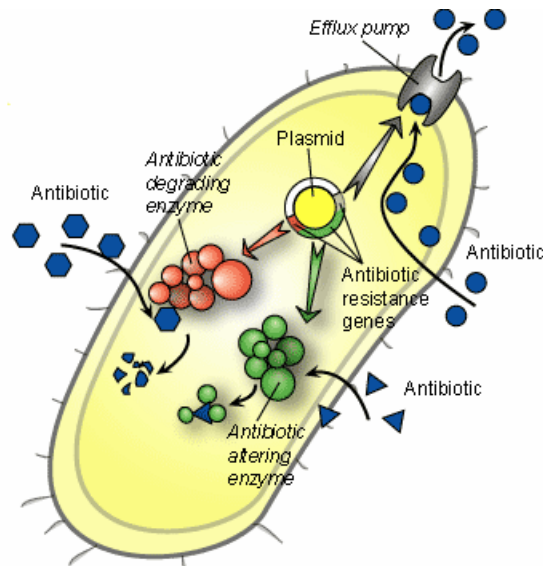


Abb. 6: Mechanismen der Resistenzentwicklung eines Bakteriums^[131]

1.4.4.3 Resistenz als Problematik der Antibiotika-Therapie

Bakterielle Resistenz gegen Antibiotika ist ein wichtiges therapeutisches Problem, das in unterschiedlichem Ausmaß die Wirksamkeit aller zugelassener antibakterieller Agenzien betrifft.^[126, 132] In dem Maße, wie der Einsatz von Antibiotika immer mehr zunahm, nahmen Antibiotika-resistente Bakterien zu. Die Resistenz sogenannter Multidrug-resistenter Erreger (MDROs) bzw. Resistenzpathogene, einschließlich Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA)^[125, 133, 134], Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE)^[125, 135] und bestimmter Gram-negativer Bakterien (GNB)^[125, 136], werfen aktuell ein großes Problem in der klinischen Medizin auf.^[126, 132, 136] Mehr als 70% der Krankenhaus-erworbenen Infektionen sind mittlerweile gegen die häufigsten verwendeten antimikrobiellen Wirkstoffen resistent^[137], und in einigen Fällen werden Bakterien so beständig, dass keine vorhandenen Antibiotika gegen sie wirken.^[138] Resistenz begrenzt die therapeutischen Optionen und zwingt Kliniker, die neueren und teureren Agenzien zu benutzen.^[126, 132]

Eine fortfahrende Versorgung mit neuen Antibiotika bietet offensichtlich einen Weg an, um Resistenz zu überwinden, aber die Pipeline der antibakteriellen Agenzien aus der Entwicklung durch die Pharmazeutische Industrie ist sehr begrenzt.^[132]

1.4.5 Der dringende Bedarf für neue Antibiotika

Wie in Kapitel 1.4.4.3 erwähnt, erfordert die steigende Zahl der resistenten Bakterienstämmen gegen die verfügbaren Antibiotika die Entdeckung neuer Wirkstoffe mit guter Aktivität.^[136, 139, 140]

Die lange Pause in der Einführung der neuen Klassen von Antibiotika in der letzten Zeit ist zum Teil die Folge eines vorherrschenden Glaubens am Ende der Periode der raschen Entwicklung, dass bakterielle Infektionen mehr oder weniger ein gelöstes Problem seien. Jedoch angesichts des wachsenden Problems der Antibiotikaresistenz bei klinisch relevanten Pathogenen wurde es bald klar, dass dies nicht der Fall war. Auch bei sorgfältiger Verwendung von Antibiotika wird das unvermeidliche Auftreten von bakteriellen Resistenzen die weitere Suche und Entwicklung neuer antibakterieller Wirkstoffen erzwingen. In der Tat ist eine Resistenz gegen Antibiotika "des letzten Auswegs" wie Vancomycin mittlerweile ein klinisch signifikantes Problem. Kürzlich wurde auch schon ein gegen Linezolid resistenter MRSA-Stamm nachgewiesen, d.h. der Bedarf an neuen Antibiotika ist dringender denn je.^[132, 139-142]

Nachdem alle Antibiotika Eingang in der Therapie gefunden haben, hat es bis heute bis auf eine Ausnahme nur noch iterative Fortentwicklungen gegeben. Damit ist die Weiterentwicklung einer Antibiotika-Klasse in Bezug auf Verbesserung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik gemeint. Aber für die Überwindung von Resistenzen helfen iterative Entwicklungen nur begrenzt. Hier sind ganz neue Antibiotika notwendig.^[143]

1.4.6 Strategien für Entdeckung und Entwicklung neuer Antibiotika

Die Suche nach neuen Antibiotika geht nur zögerlich voran, weil einerseits das Engagement der Pharmaindustrie auf diesem Gebiet zurückgegangen ist. Andererseits ist die Entdeckung neuer Substanzen immer schwieriger und teurer geworden, obwohl es viele neue Technologien gibt.^[143]

Nichts desto trotz hatte die weltweite Ausbreitung von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*- (MRSA), Glykopeptid-resistenten Enterokokken-Stämmen und Pneumokokken Resistenz gegen Penicillin und Makrolide, sowie die neuere Entstehung von Vancomycin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen einen großen Einfluss auf die Antibiotika-Politik. Somit ist die Pharmaindustrie zur

Entdeckung und Entwicklung von neuen Antibiotika aufgefordert, um diese Stämme zu bekämpfen.^[144-146]

Wenn man die Geschichte zur Entwicklung der existierenden Antibiotika berücksichtigt, sind zur Identifizierung neuer Antiinfektiva folgende drei Strategien zu berücksichtigen: Entdeckung von neuen Zielorten, Modifikation der existierenden Antibiotika Strukturen und Identifizierung von neuen Quellen für derartige neue Antibiotika.^[147]

Die meisten Strategien zur Entwicklung und Produktion neuer Antibiotika konzentrieren sich auf die Überwindung und Lösung des Resistenz-Problems. Wie im Kapitel 1.4.4.2 erwähnt, ist die gesteigerte Efflux-Pumpe ein bedeutender Grund für die Resistenzentwicklung. Bei Hemmung dieser Pumpe, selbst bei geringer Substratspezifität, hat sich gezeigt, dass es möglich ist, intrinsische Resistenzen zu verringern, erworbene Resistenz umzukehren und das Auftreten von Mutanten zu reduzieren.^[148]

Einige andere vorgeschlagene Strategien, um die Resistenz gegen Antibiotika zu überwinden, sind: Reduktion der Verschreibung von Arzneimitteln bei geringfügigen Erkrankungen, da gezeigt werden konnte, dass der Arzneimittelverbrauch in einer signifikanten Korrelation zur Resistenzentwicklung steht; die Entwicklung neuer Formulierungen oder Dosierungsschemata von Medikamenten, deren pharmakodynamische Parameter besser geeignet sind, um hoch resistente Bakterienstämmen zu bekämpfen und schließlich Ermutigung zur Einnahme von Antibiotika mit der maximalen Leistungsfähigkeit zur bakteriellen Vernichtung.^[127, 149]

Eine Strategie zur Entwicklung neuer Antibiotika ist die Identifizierung und Erforschung neuer molekularer Targets, bzw. Entwicklung neuer Technologien (z. B. Genomik und Bioinformatik), um neue antibakterielle Targets zu validieren und den Arzneimittel Entwicklungs-Prozess zu beschleunigen.^[150-155]

Ein neuer Ansatz geht dahin, auf in vivo essentielle Gen-Funktionen zu zielen, die für Virulenz und in vivo Überlebensfähigkeit erforderlich sind.^[156-159]

2 Synthese

2 Synthese neuer Indol-Derivate

In diesem Kapitel werden die Synthese neuer substituierter Indol-Derivate und die Untersuchung ihrer antimikrobiellen Aktivität gegenüber Erregern / Mikroorganismen beschrieben, die heutzutage gegen vorhandene Antibiotika resistent sind (s. Kap. 3.1).

2.1 Leitstrukturübersicht

Natürliche Produkte spielen eine zentrale Rolle bei der Antibiotikaentwicklung. Die meisten antibakteriellen Medikamente sind von einem natürlichen Produkt oder natürlichen Leitstrukturen abgeleitet.^[160] Bis heute sind nur wenige Indolverbindungen mit antimikrobiellen Eigenschaften bekannt.

An der Naturstoffklasse der Bisindolylmaleinimide besteht aufgrund ihres Vorkommens und ihrer vielfältigen biologischen Eigenschaften immenses naturwissenschaftliches Interesse. Indol-substituierte Pyrrolodione bzw. Indol-substituierte Maleinimide wie z. B. Arcyriarubin A (Abb. 1) und verwandte Verbindungen, bei der ein Indol-Substituent durch verschiedene Heterozyklen ersetzt wird, zeigen hohe antimikrobielle^[161] und antivirale^[162, 163] Aktivität und sind potente Protein Kinase C Inhibitoren.^[164] Die Leitstruktur des 3-Brom-4-(1*H*-Indol-3-yl)-2,5-dihydro-1*H*-2,5-pyrroldions (**B**, Abb. 2), die in einer früheren Publikation^[165] unserer Arbeitsgruppe vorgestellt wurde, wurde in diesem Kapitel weiterentwickelt.

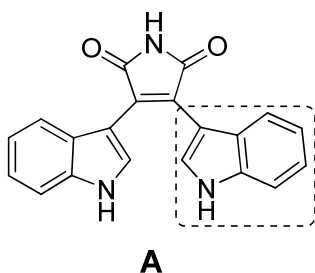


Abb. 1: Arcyriarubin A, der Grundkörper der Bisindolylmaleinimide^[161, 166]

Ausgehend von der Tatsache, dass Arcyriarubin A und verwandte Verbindungen als Mitglieder der Bisindolylmaleinimid-Familie antimikrobiell wirken^[161] und basierend auf ihrem strukturellen Grundgerüst wurde eine Leitstruktur (**B**, Abb. 2) von unserer Arbeitsgruppe entwickelt, wobei ein Indolyl-Substituent durch Brom ersetzt und der zweite Indolyl-Substituent an 2-Position verschiedene Alkyl- Phenyl-, bzw.

Methoxyphenyl-Substituenten trägt (**C**, Abb. 2). Weiterhin wurde von unserer Arbeitsgruppe eine erweiterte Studie zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen durchgeführt. Hierbei wurden, ausgehend von derselben Leitstruktur (**B**, Abb. 2) an 5- und 7-Position des Indols verschiedene Alkyl- bzw. Alkyloxy-Substituenten eingeführt^[167] (**C**, Abb. 2).

In den beiden Veröffentlichungen wurde der Einfluss dieser Substituenten auf antibakterielle Wirkung untersucht.

Interessanter Weise wurde festgestellt, dass die früher entwickelten Indol-Derivate (**C**, Abb. 2) gute Aktivität gegen multiresistente epidemische Stämme von *Staphylococcus aureus* 134/93 zeigen.^[165, 167]

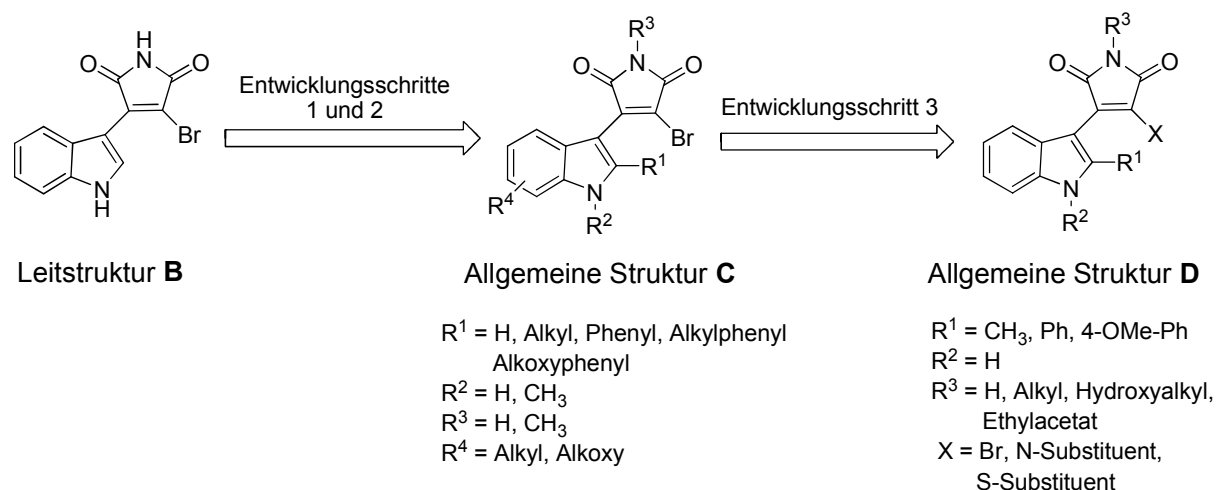


Abb. 2: Leitstruktur (**B**) (links), früher hergestellte Indol-Derivate (**C**) (Mitte), neu synthetisierte Indol-Derivate (**D**)

2.2 Einleitung und Problemstellung

Unser Ziel bestand darin, neue antibakteriell wirksame Indolyl-substituierte Maleinimide zu synthetisieren. Auf der Grundlage der guten Ergebnisse der früheren Arbeiten^[165, 167] sollte die ursprüngliche Leitstruktur **B** weiterentwickelt werden (**D**, Abb. 2).

Unsere Schritte zur Entwicklung neuartiger Indolyl-substituierter Maleinimide, die an 2-Position des Indols Methyl-, Phenyl- und 4-Methoxyphenyl-Gruppen tragen, begannen mit unterschiedlicher N-Imid Substitution. Dabei wurde der Imid-Wasserstoff durch verschiedene Alkyl-, Hydroxyethyl- und Ethylacetat-Substituenten substituiert, um so den Einfluss dieser Substituenten auf antibakterielle Aktivität zu

prüfen. Ein weiteres Ziel unserer Arbeit war es, den Einfluss des Brom-Substituenten an C-3 des Pyrrolodions zu beurteilen. Dieser Einfluss wurde durch Ersatz des Broms durch N- und S-Substituenten untersucht.

Außerdem wurden am Hans-Knöll-Institut in Jena Toxizität und antiproliferative Effekte der ersten Reihe der synthetisierten Verbindungen geprüft (s. Kap. 3.2).

2.3 Synthesen

2.3.1 Synthesepalnung

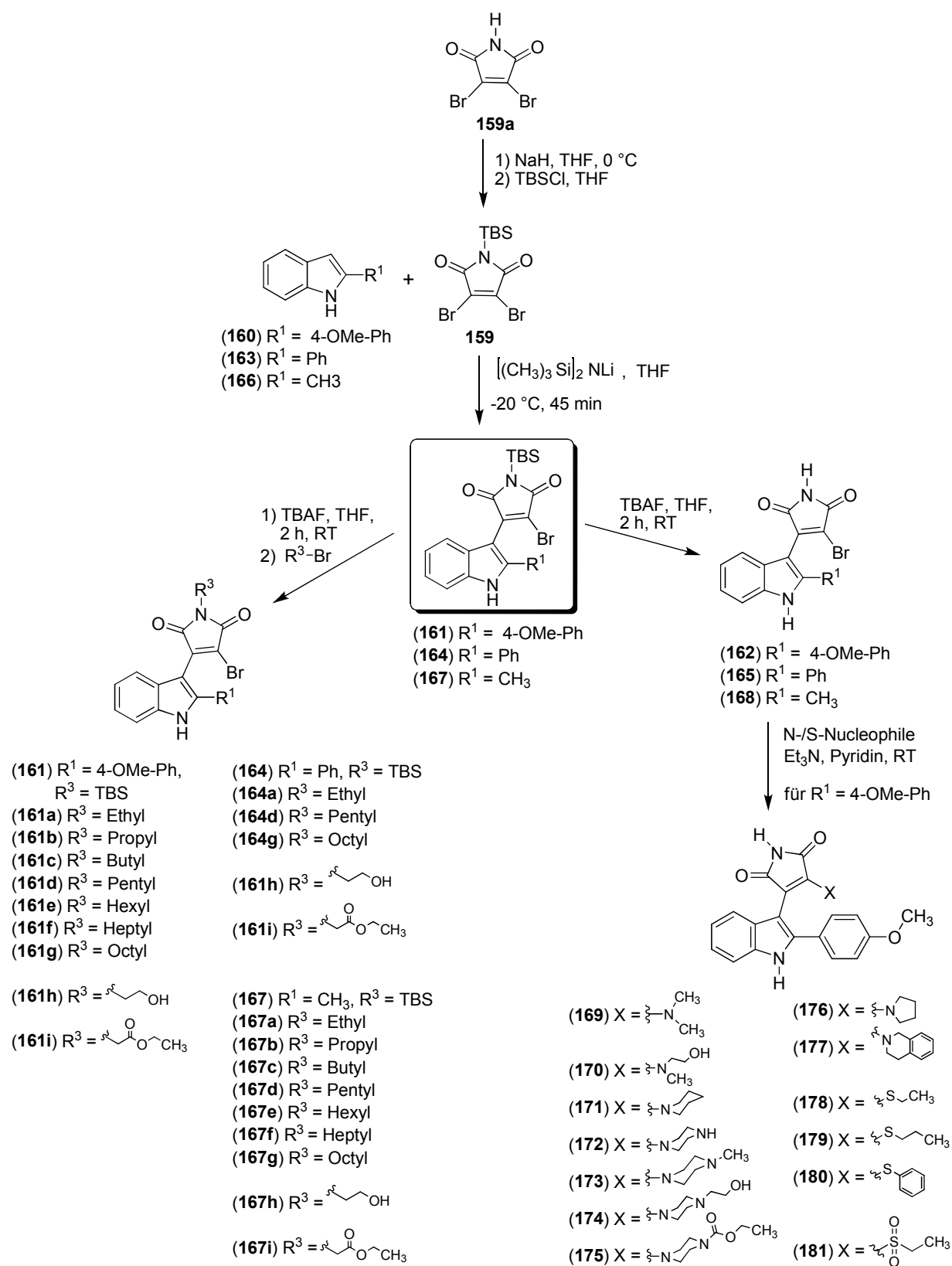
Das analog *Bischler*^[168-179] synthetisierte 2-phenylsubstituierte Indol (**160**) (s. Kap. 2.3.3.1) und weitere im Handel verfügbare 2-substituierte Indole (**163**, **166**) wurden an 3-Position durch Lithiumhexamethyldisilylamid (LiHMDS) metalliert^[180] und anschließend, in Anlehnung an die von *Murase et al.*^[182] modifizierte Methode, mit TBS-geschütztem 3,4-Dibrompyrrol-2,5-dion^[181, 182] gekoppelt.^[182] 3,4-Dibrompyrrol-2,5-dion (**159a**)^[183, 184] wurde mit TBSCl (**159b**) und NaH umgesetzt.^[165, 182] Im weiteren Verlauf der Synthese wurden die Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide (**161**, **164** und **167**) als Roh-Substanzen weiter verwendet. Die Abspaltung der TBS-Schutzgruppe mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) führte zu den Substanzen **162**, **165** und **168**^[165, 182] (Schema 1).

Die Substitution des Imid-NHs erreichten wir durch Umsetzung der Rohprodukte der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide **161**, **164** und **167** mit einem Überschuss an Alkylantien (Alkylbromid, Bromethanol und Ethyl 2-bromacetat) und TBAF.^[185] Dabei wurden die Verbindungen **161a-i**, **164a, d, g, h, i**, und **167a-i** erhalten (s. Schema 1 und Kap. 2.3.6).

Als weiterer Synthesepfad wurden, analog wie bei Boehringer Mannheim patentiert^[186] und ausgehend von **162**, mit verschiedenen N- und S-Nucleophilen in Et₃N und Pyridin die Verbindungen **169-181** synthetisiert (s. Schema 1 und Kap. 2.3.7).

Wir vermuteten, durch Austausch von Brom durch Stickstoff- oder Schwefel-Derivate zu Verbindungen geringerer Toxizität zu kommen (**D**, Abb. 2).

In einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe wurde gezeigt, dass für Verbindungen des Typus **C**, R³ = Methyl (Abb. 2, S. 117) die Wirksamkeit deutlich zurückgeht. Bei R¹ = längerkettiges Alkyl hingegen steigt die Wirksamkeit.^[165] Ein ähnliches Verhalten könnte man auch bei R³ = längerkettiges Alkyl (**D**, Abb. 2,) finden (s. Kap. 2.3.6).



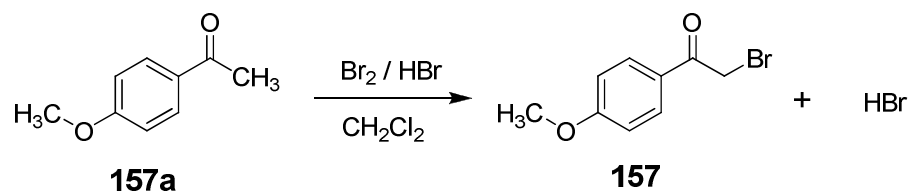
Schema 1: Allgemeine Syntheseroute

TBS: tert-butyldimethylsilyl; TBSCl: tert-butyldimethylsilylan; TBAF: Tetrabutylammoniumfluorid

2.3.2 Synthese der Ausgangsstoffen

2.3.2.1 Synthese von 2-Brom-1-(4-methoxyphenyl)-1-ethanon (**157**)

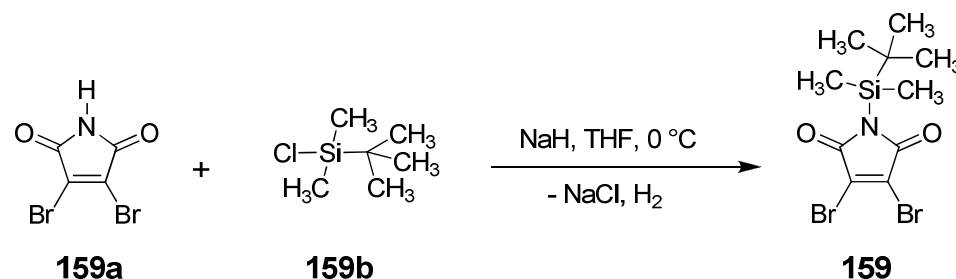
Wir bromierten 4-Methoxyacetophenon (**157a**) zu Bromphenylethanon (**157**) wie von *Hünig et al.* beschrieben^[187] (Schema 2).



Schema 2: Synthese von Verbindung **157**

2.3.2.2 Synthese von TBS-geschütztem 3,4-Dibromopyrrol-2,5-dion (**159**)

Als Ausgangsmaterial für die Einführung der Imidoeinheit diente das literaturbekannte Dibrommaleinimid (**159a**).^[183, 184] Als erstens wurde das NH-substituierte Imid durch Umsetzung von **159a** mit NaH und TBS-Chlorid (tert-butylchloridimethylsilan) (**159b**) in THF geschützt^[182] (Schema 3).



Schema 3: Synthese von TBS-geschütztem Dibrommaleinimid

2.3.3 Literaturbekannte Indolsynthesen

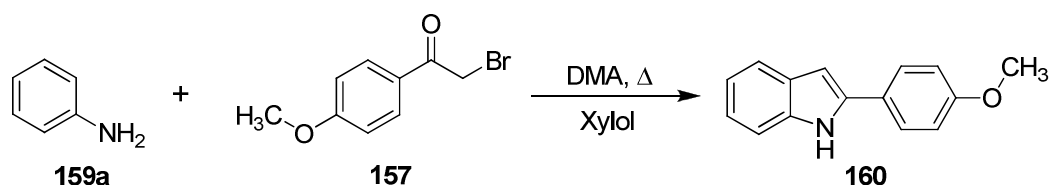
Indol wurde zuerst 1866 durch *Adolf v. Baeyer* als Abbauprodukt des Indigo isoliert.^[189] Dies hat die Synthese dieses Ringsystems in das Interesse vieler organischer Chemiker gerückt. 1869 wurde die erste Indolsynthese von *v. Baeyer* publiziert.^[190] Danach wurde eine große Zahl weiterer Synthesen des Indol-Ringsystems beschrieben. Hierbei sind insbesondere die Synthesen nach *Fischer* (1883)^[191], *Hinsberg* (1888)^[192], *Bischler-Möhlau* (1892)^[169], *Reissert* (1897)^[193], *Madelung* (1912)^[194], *Nenitzescu* (1929)^[195], *Hemetsberger* (1972)^[196], *Gassman*

(1973)^[197], *Batcho-Leimgruber* (1976)^[198], *Bartoli* (1989)^[199], *Larock* (1998)^[200] und *Fukuyama* (1999)^[201] zu nennen.

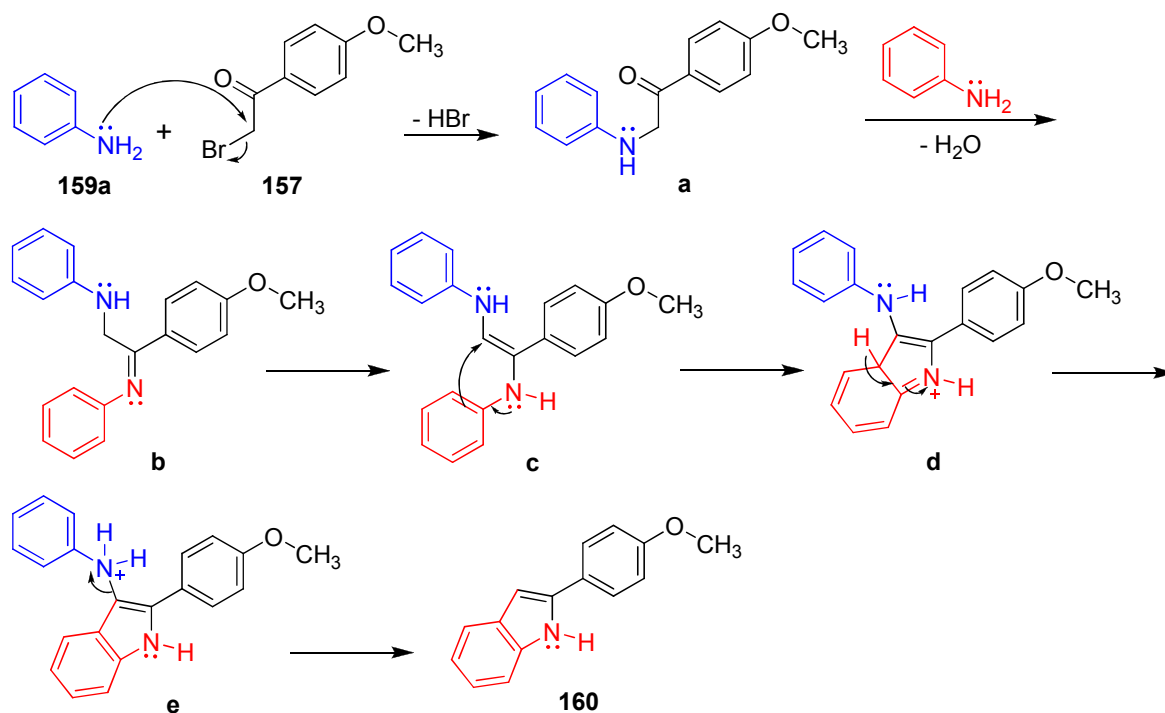
2.3.3.1 Synthese von 2-(4-Methoxyphenyl)-1H-Indol (**160**)

Als möglicher Syntheseweg zu Verbindung **160** bot sich ein bereits bekannter klassischer Weg zur Synthese von 2-Arylindolen aus α -Bromacetophenon und Anilin nach *Bischler-Möhlau*^[168-179] an. **157** lässt sich durch die Erhitzung mit Anilin (**159a**) im Überschuss in Xylol zu 2-(4-Methoxyphenyl)-1H-indol (**160**)^[175] umsetzen.

Die Bischler-Indolsynthese beschreibt die Monoalkylierung von Anilin (**159a**) mit einem ω -Bromacetophenon (**157**) zu Verbindung **a**, gefolgt von der Umsetzung mit überschüssigem Anilin, die durch Reaktion mit **a** zum Imin **b** führt. Dessen Zyklisierung ergibt **c**, welches durch Abgabe von Anilin zu Endprodukt **160** zerfällt (Schemata 4 und 5).



Schema 4: Synthese von 2-(4-Methoxyphenyl)-1H-indol (**160**) nach *Bischler et al.*^[165, 188]



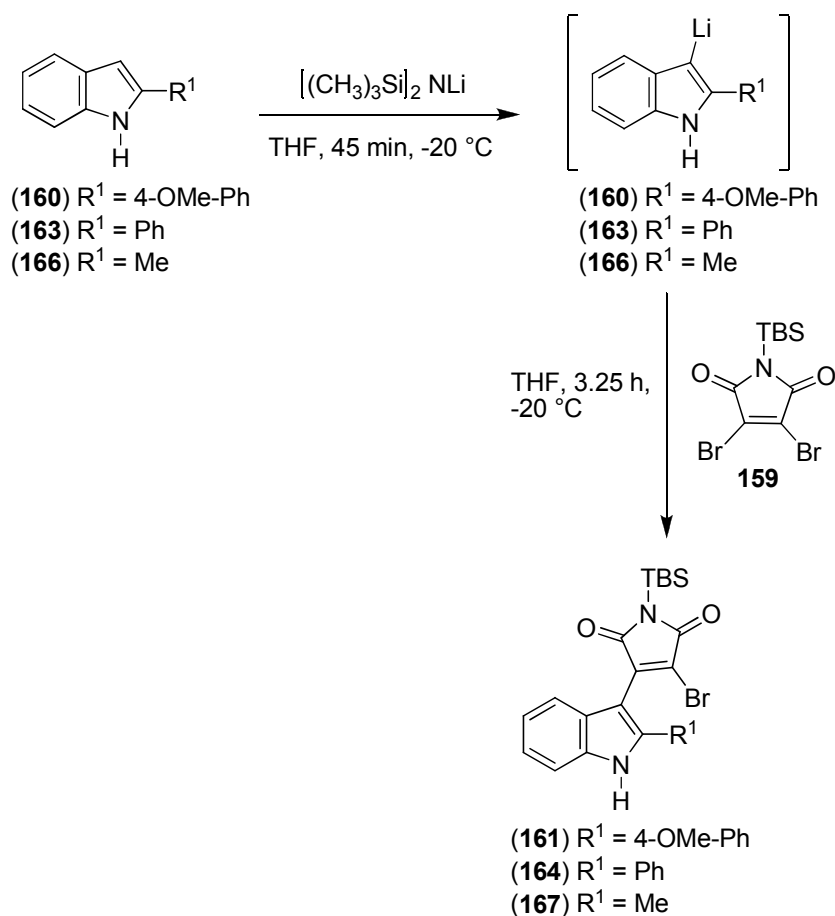
Schema 5: Möglicher Reaktionsmechanismus für die Bildung von **160** nach Lit.^[170, 171, 173]

2.3.4 Kondensation der 2-substituierten Indole mit **159**

Für die Einführung des 3,4-Dibrom-2,5-dihydro-1*H*-2,5-pyrroldions in 3-Position eines Indols wurden verschiedene Methoden beschrieben.^[180, 202-206] Das Imid-NH des Dibrommaleinimids muss zuerst mit einer TBS-Schutzgruppe geschützt werden (TBS ist geeignete abspaltbare Schutzgruppe) (Schema 2), bevor es mit den entsprechenden Indolen gekoppelt werden kann.

Folgende Methode wurde erfolgreich in Analogie zu dem von *Murase et al.*^[182] beschriebenen Verfahren für die Synthese von Arcyriacyanin A verwendet.

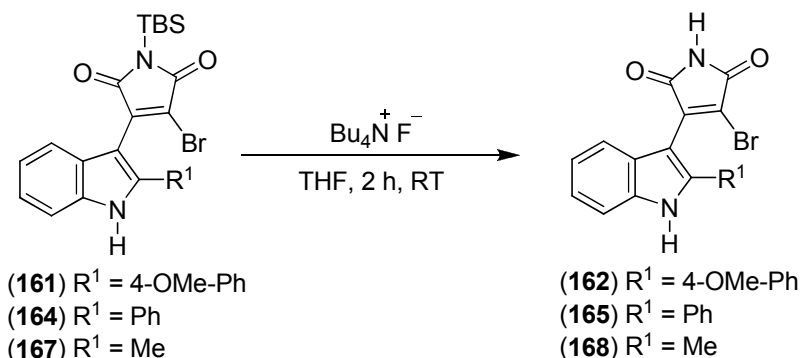
Für die Herstellung der Verbindungen **161**, **164** und **167** müssen zunächst die 2-substituierten Indole **160**, **163** und **166** durch eine starke Base (2 equ. LiHMDS) an C-3 deprotoniert und zu den entsprechenden metallierten Indolen umgesetzt werden.^[180] Diese Nucleophile können in einer S_N-Reaktion mit **159** ein Brom ersetzen, um das endgültige Silyl-geschützte Produkt zu erhalten. Das silylierte Rohprodukt konnte nur mit Spuren an Edukt (Indole) verunreinigt isoliert werden (Schema 6).



Schema 6: Kondensation der Indole **160**, **163** und **166** mit **159**

2.3.5 Entschützung der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide

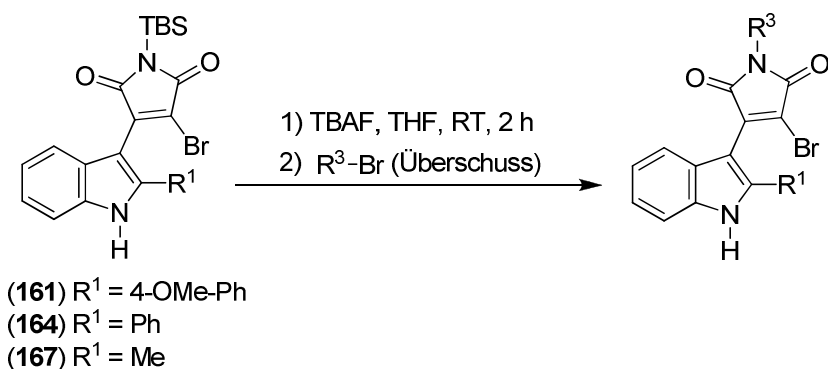
In der Folge wurden die Rohprodukte **161**, **164** und **167** mit tetra-N-butylammonium-fluorid (TBAF) entschützt.^[165,182] Dabei erhielten wir die Verbindungen **162**, **165** und **168** (Schema 7).



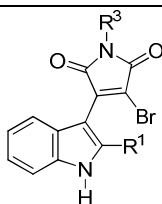
Schema 7: Entschützung der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide

2.3.6 Untersuchungen zum Einfluss der Substitution der Imid-N-Position

Zur weiteren Entwicklung der Leitstruktur **B** und unter Bezugnahme auf Abbildung 2 (dort Allgemeine Struktur **D**, S. 117) stellten wir die ersten Reihen der Verbindungen **161a-i**, **164a, d, g, h, i**, und **167a-i** her. Wie in Kapitel 2.3.1 erwähnt, wurde der Imid-Wasserstoff durch längerkettige Alkyl-, Hydroxyethyl- und Ethylacetat-Substituenten ersetzt (Schema 8), sodass ihr Einfluss auf die antimikrobielle Aktivität untersucht werden konnte. Die aus der Substitution resultierende erhöhte Lipophilie der mit verschiedenen längerkettigen Alkylresten substituierten Derivate sollte unseren Überlegungen nach Einfluss auf die antimikrobielle Wirksamkeit haben.



Schema 8: Substitution der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide für R³, s. Scheme 1 und Tabelle 1



R ¹ =	R ³ =	R ¹ =	R ³ =	R ¹ =	R ³ =
4-OMe-Ph	TBS**	Ph	TBS**	CH ₃	TBS**
161		164		167	
161a	Ethyl	164a	Ethyl	167a	Ethyl
161b	Propyl	*		167b	Propyl
161c	Butyl	*		167c	Butyl
161d	Pentyl	164d	Pentyl	167d	Pentyl
161e	Hexyl	*		167e	Hexyl
161f	Heptyl	*		167f	Heptyl
161g	Octyl	164g	Octyl	167g	Octyl
161h		164h		167h	
161i		164i		167i	

Tabelle 1: Imid-N-substituierte Indolyl-maleinimide

* = nicht hergestellt, ** TBS = tert-butyldimethylsilyl

2.3.7 Substitution von Brom bei Verbindung 162 durch N- oder S-Nucleophile

In weiteren Untersuchungen sollte der Einfluss des Brom-Substituenten auf die antimikrobielle Aktivität untersucht werden.

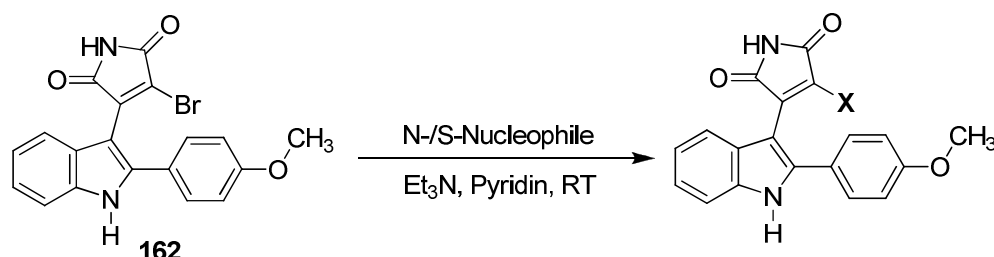
4-(3-Indolyl)maleinimid Derivate, bei denen Brom durch Stickstoff oder Schwefel ersetzt ist, wurden für die Firma Boehringer Mannheim als antiallergische und immuntherapeutische Agenzien patentiert^[186]. Analog zu diesem Patent synthetisierten wir unsere neuen 4-(3-Indolyl)maleinimid-Derivate (**169-180**) (Schema 9a).

In einer früheren Studie^[165] unserer Gruppe wurde gezeigt, dass eine Methoxy-Gruppe, die über einen Phenyl-Spacer mit der Indol-2-Position verbunden ist, die Aktivität gegen *Staphylococcus aureus* erhöht. Deshalb wurde Verbindung **162** (Schema 7) als Ausgangsmaterial unserer Untersuchungen (Einfluss des Broms) ausgewählt. Bei dieser Verbindung sind zwei signifikante Parameter für die

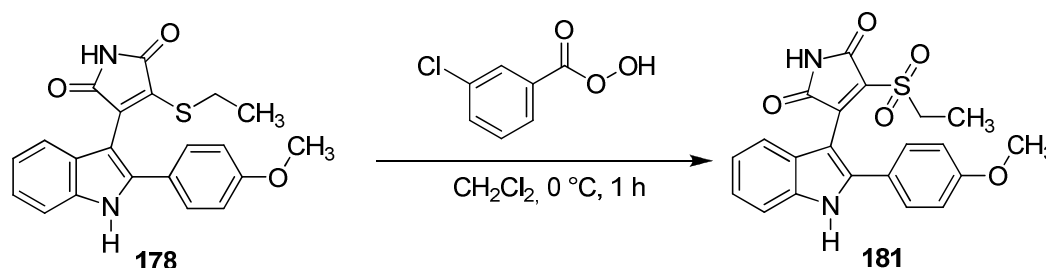
antibakterielle Aktivität vorhanden: das unsubstituierte N-Imid und die über einen Phenyl-spacer an Indol-2-Position verbundene 4-OMe Gruppe.

Ausgehend von **162** wurden verschiedene im Handel erhältliche N- und S-Nucleophile eingesetzt (Tab. 2) und so die Verbindungen **169-180** synthetisiert, die mit guten Ausbeuten zugänglich waren. Als Lösungsmittel für diese S_N -Reaktion wurde ein Gemisch von Triethylamin und Pyridin verwendet (Schema 9a).

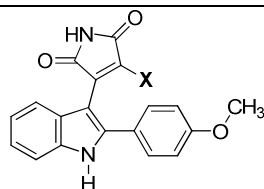
Verbindung **181** wurde aus **178** durch Oxidation mit 3-Chlorperbenzoesäure (**181a**) hergestellt^[207] (Schema 9b).



Schema 9a: Synthese der Verbindungen **169-180** für X, s. Scheme 1 und Tabelle 2



Schema 9b: Synthese von Verbindung **181**



Nr.	Nucleophil	X (eingeführte Gruppe)	Ausb. %
169	Dimethylaminohydrochlorid		88
170	2-(Methylamino)ethanol		92
171	Piperidin		95
172	Piperazin		60

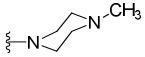
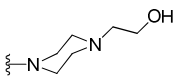
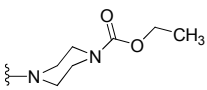

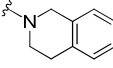

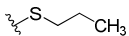
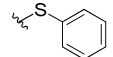
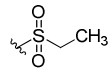
173	1-Methylpiperazin		92
174	2-(Piperazin-1-yl)ethanol		94
175	Ethyl Piperazin-1-yl-carboxylat		84
176	Pyrrolidin		62
177	1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin		80
178	Mercaptoethanol		94
179	1-Propanthiol		76
180	Thiophenol		94
181	Oxidation von 178		43

Tabelle 2: Verbindungen mit N- und S-Substituenten

3 Biochemischer Teil

3 Biochemischer Teil

Zur Beurteilung der pharmakologischen Wirksamkeit und zur Erarbeitung von Struktur-Wirkungsbeziehungen für unsere neu synthetisierten Indol-Derivate aus dem 2. Kapitel wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit vom Verbundprojektspartner, dem Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung in Jena folgende Testsysteme – s. Kap. 3.1, 3.2 und 3.3 – eingesetzt.

3.1 Prüfung auf antimikrobielle Aktivität

Das Hauptziel unserer Arbeit war die Prüfung unserer neu synthetisierten Indol-Derivate auf ihre antimikrobielle Aktivität gegen verschiedene Bakterien- und Pilzstämmen.

3.1.1 Resistenzentwicklung

Wie bereits in Kap. 1.4.4 erwähnt, können Bakterien aufgrund ihrer genetischen Variabilität gegen Antibiotika resistent werden. In der Medizin bezeichnet der Begriff „Resistenz“ die Eigenschaft von Mikroorganismen, Konzentrationen von Antimikrobiotika, die im Mikroorganismus auftreten, zu tolerieren. Resistente Stämme (Problembakterien) können lebensbedrohende Infekte bei infektfälligen Patienten, den sog. Problempatienten, verursachen.^[2] Bakterielle Resistenz ist eine globale Herausforderung, die die ständige Entwicklung neuer Antimikrobiotika erfordert, um wirksame Medikamente für die Therapie von Problempatienten zur Verfügung zu haben.

3.1.2 Infektionen, verursacht durch einige der untersuchten Bakterien- und Pilzstämmen

Einige der Mikroorganismen, die zur Prüfung der antimikrobiellen Aktivität der von uns synthetisierten Verbindungen verwendet wurden, sind Pathogene und verursachen mäßige bis lebensbedrohliche Infektionen für die Menschen. Einige dieser Infektionen sind:

3.1.2.1 *Escherichia Coli*-Infektionen

Der natürliche Lebensraum von *E. coli* ist der Darmtrakt von Mensch und Tier. *E. coli* ist der häufigste ursächliche Erreger bei menschlichen bakteriellen Infektionen. Zu

diesen zählen Harnwegsinfektionen, Cholezystitis, Appendizitis, Peritonitis, postoperative Wundinfektionen und Sepsis.^[2, 11]

3.1.2.2 *Pseudomonas*-Infektionen

Pseudomonas aeruginosa-Infektionen kommen hauptsächlich bei Patienten mit Abwehrschwäche vor. Die meisten Fälle finden sich daher im Intensivpflegebereich, auf Verbrennungsstationen und auf hämatologisch-onkologischen Stationen. Diese Keime verursachen Pneumonien, Haut- und Wundinfektionen sowie Infektionen des Urogenitaltraktes. Aufgrund ihrer häufiger Therapieresistenz sowie der leichten Übertragbarkeit sind sie gefürchtete Infektionserreger, deren Bekämpfung in vielen Krankenhäusern ein Problem ist.^[11, 208]

3.1.2.3 *Staphylococcus aureus*-Infektionen

Staphylococcus aureus-Infektionen kommen vor allem bei resistenzgeschwächten Personen im Krankenhaus häufig vor (infektiöser Hospitalismus). Die verursachten Infektionen können von geringfügigen Hautinfektionen bei sehr viel ernsteren und sogar lebensbedrohlichen Krankheiten wie Pneumonien, Meningitis, Osteomyelitis und Endokarditis variieren. Der Gefahr liegt in der Tatsache, dass diese Bakterienstämme gegen die zurzeit verfügbaren Antibiotika resistent sind. Die Ausbreitung von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* Stämme (MRSA) hat in den letzten Jahren erheblich zugenommen. Diese Stämme sind häufig auch gegen Gyrase-Hemmer und viele andere Antibiotika resistent (multiresistente MRSA).^[11]

3.1.2.4 *Enterococcus*-Infektionen

Enterococcus faecalis besiedelt den Darm von Mensch und Tier und bildet dort einen Großteil der aeroben Flora. Enterokokken besitzen als klassische Opportunisten nur ein vergleichsweise geringes pathogenes Potenzial. Zu den häufig durch *E. faecalis* verursachten Infektionen gehören Harnwegsinfektionen sowie Wundinfektionen im Bauchbereich. Klinisch gefürchtet ist die Endokarditis durch Enterokokken. Enterokokken sind häufig gegen Antibiotika resistent.^[11]

3.1.2.5 *Candida albicans*-Infektionen

Pilze kommen in der Natur weit verbreitet vor. Von den Tausenden bekannten Pilzarten können etwa 180 beim Menschen verschiedene Pilzkrankheiten

hervorrufen. Mit wenigen Ausnahmen sind diese Pilze jedoch nur schwach pathogen. Voraussetzung für das Entstehen einer Mykose ist deshalb eine Abwehrschwäche.^[2, 209] *Candida albicans* ist der häufigste Erreger der Kandidose. Diese Hefe ist beim Menschen und Tier häufig auf den Schleimhäuten von Mund und Rachen sowie im Verdauungstrakt zu finden. Der Erreger weist nur geringe Pathogenität auf. *Candida*-Mykosen entstehen deshalb bei Patienten mit geschwächter Abwehr. Mindestens 70% aller humanen *Candida*-Infektionen werden durch *Candida albicans*, der Rest durch *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, sowie einige weitere seltene *Candida*-Arten hervorgerufen.^[2]

3.1.3 Beschreibung des Testmodells (Agar-Diffusionstest)

Da der Agardiffusionstest mit geringem Aufwand durchzuführen ist und relativ schnell ein Übersichtsergebnis liefert, hat sich diese Methode weltweit durchgesetzt.^[210]

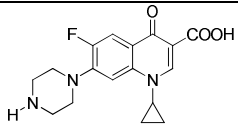
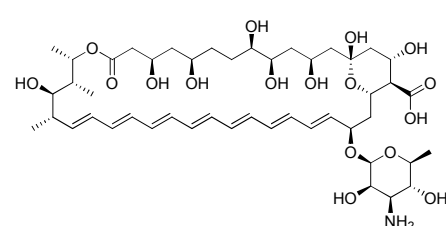
Zum Primärscreening wurde ein standardisierter Lochplatten-Agardiffusionstest zur quantitativen/qualitativen Prüfung der antibiotischen Wirkung der synthetisierten Substanzen verwendet.^[211] Bei dieser Bestimmungsmethode werden Petrischalen mit einem homogen mit der Testkeim-Suspension versetzten Nähragar^[212] bis zu einer bestimmten Höhe gefüllt. Auf diese Platten werden die Testlösungen aufgebracht, indem sie in ausgestanzte Löcher pipettiert werden (jede Kavität enthält 100 µg/ml Substanz). Dann wird für eine bestimmte Zeit im Brutschrank inkubiert. Die Substanzen können in den Nährboden hinein diffundieren und dabei das Wachstum der Keime bzw. Bakterien verhindern bzw. diese abtöten.

Bei antibiotischer Aktivität wird nach beendeter Inkubationszeit (24 h bzw. 48 h) eine keimfreie Zone [auch Hemmhof oder Halo (griechisch: Hof) genannt] sichtbar, durch deren Fläche, die antimikrobielle Wirkung der Testsubstanzen angegeben wird. Je größer die klare Zone um das mit Testsubstanz bestückte Loch, desto wirksamer ist die Testsubstanz. Voraussetzung für den Diffusionstest ist der Kontakt der zu untersuchenden Substanz mit dem Agar. Deshalb spielt die Löslichkeit der Probe in einem geeigneten Lösungsmittel eine wesentliche Rolle. Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Substanzen wurden alle in DMSO gelöst und weiter mit Methanol verdünnt.^[211] Je nach Größe des Hemmhofdurchmessers (HHD) wird eine qualitative Einteilung der Substanzen in „stark“, „gut“, „intermediär“, „gering“ oder „unwirksam“ vorgenommen.

Um die antimikrobielle Aktivität zu ermitteln, wurden insgesamt elf Mikroorganismen verwendet, davon acht Bakterienstämme und drei Pilzstämme mit unterschiedlichen Sensitivitäten und Resistenzen (Tab. 1). Als Vergleich bzw. zur Kontrolle wurden Ciprofloxacin (5 µg/ml) für die antibakterielle Wirkung und Amphotericin B (10 µg/ml) für die antimykotische Wirkung (Tab. 2) verwendet.

Mikroorganismus	Eigenschaft
<i>Escherichia Coli</i> SG 458	gramnegatives Bakterium
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SG 137 und <i>P. aeruginosa</i> K 799/61	gramnegative Bakterien (nosokomiale Keime)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	grampositives Bakterium
<i>Staphylococcus aureus</i> SG 511	Wildtyp, empfindlich gegenüber fast allen von uns synthetisierten Verbindungen
<i>Staphylococcus aureus</i> 134/94	MRSA, multiresistenter Stamm (gegen Methicillin und Ciprofloxacin)
<i>Enterococcus faecalis</i> 1528	resistent gegen Vancomycin
<i>Mycobacterium vaccae</i> 10670	Nicht-pathogene Spezies der Familie Mycobacteriaceae
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> 549	rote Hefe
<i>Candida albicans</i> BMSY 212	eine Hefe der Candidagruppe
<i>Penicillium notatum</i> JP 36 ^[73]	ein Schimmelpilz der Gattung <i>Penicillium</i>

Tabelle 1: Verwendete Bakterien- und Pilz-Stämme

Antibiotikum	Struktur
<p>Ciprofloxacin ist ein Vertreter der Fluorquinolone. Wirksam gegen fast alle aeroben grampositiven und gramnegativen Bakterien. Als Breit-spektrum-Antibiotikum vielseitig verwendbares, hochaktives Therapeutikum (auch bei sonst schwer zu behandelnden Infektionen).^[10]</p>	
<p>Amphotericin B ist ein Polyen-Makrolakton antimykotisch aus <i>Streptomyces nodosum</i>, das für lange Zeit zur Behandlung systemischer</p>	

Pilzinfektionen und auch bei oberflächlichen Pilzinfektionen eingesetzt werden kann, da beinahe alle menschenpathogenen Pilze auf Amphotericin B empfindlich sind.^[213]

Tabelle 2: Verwendete Standards

3.1.4 Testergebnisse

Zur Beurteilung und Bewertung der antimikrobiellen Aktivität unserer Verbindungen wurde eine breite Palette von Mikroorganismen verwendet. Hierzu zählen Gram-positive Bakterien, Gram-negative Bakterien, Mycobakteria und Pilze (Tab. 1).

Die Ergebnisse der antimikrobiellen Aktivität mit Hilfe des Agardiffusionstests sind in den Tabellen 4-6, 8, 9 zusammengefasst (unwirksame Substanzen nicht gezeigt).

Zur Erleichterung der Bewertung der Struktur-Wirkungsbeziehungen wurden die neu synthetisierten Derivate hinsichtlich ihrer Strukturentwicklung in zwei Gruppen unterteilt.

Die Substanzen **161a-i**, **164a, d, g, h, i**, **167a-i**, **165** und **168** (Tab. 3), bei denen der Brom-Substituent beibehalten ist, wurden auf ihre antimikrobielle Aktivität mittels Agardiffusionstest untersucht.

R ¹ =	R ³ =	R ¹ =	R ³ =	R ¹ =	R ³ =
4-OMe-Ph		Ph		CH ₃	
161a	Ethyl	164a	Ethyl	167a	Ethyl
161b	Propyl			167b	Propyl
161c	Butyl			167c	Butyl
161d	Pentyl	164d	Pentyl	167d	Pentyl
161e	Hexyl			167e	Hexyl
161f	Heptyl			167f	Heptyl
161g	Octyl	164g	Octyl	167g	Octyl
161h		164h		167h	
161i		164i		167i	
162	H	165	H	168	H

Tabelle 3: Imid-N-substituierte Indolyl-maleinimide

Alle Substanzen dieser Gruppe zeigten bei den gramnegativen Bakterien (*E. Coli* und *Pseudomonas aeruginosa* SG137) und bei dem Hefepilz *Candida albicans* keinerlei

Hemmaktivität. Einige Verbindungen wirken hingegen gegen *Pseudomonas aeruginosa* K799/61 und die Hefe *Sporobolomyces salmonicolor*, wenngleich nur schwach. Auf der anderen Seite zeigten die Substanzen **161a, b; 164a, i; 167a-i; 165** und **167** gute bis starke Wirkung gegen den Schimmelpilz *Penicillium notatum* (Tab. 4).

Verbindung	Antibakterielle Wirkung HHD (mm)
161a	16
161b	10
164a	20
164i	17
165	9.5
167a	25
167b	23
167c	23
167d	18
167e	10.5
167f	10.5
167h	10.5
167i	28
168	10
Amphotericin B	15

Tabelle 4: Antimykotische Aktivität gegen *Penicillium notatum*

Gegen *Mycobacterium vaccae* 10670 wirken diese Substanzen gut bis stark (Tab. 5).

Verbindung	Antibakterielle Wirkung HHD (mm)	Verbindung	Antibakterielle Wirkung HHD (mm)
161a	22	164i	16
161b	17	165	20
161c	14	167a	28
161d	12	167b	30
161e	11	167c	24
161f	10.5	167d	28
161h	22	167e	15
161i	15	167f	13
162	* n.b.	167g	11
164a	25	167h	20
164d	13	167i	13
164h	23	168	26
Ciprofloxacin	20	Ciprofloxacin	20

Tabelle 5: Antibakterielle Aktivität gegen *Mycobacterium vaccae*

* n.b. = nicht bestimmt


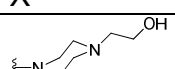
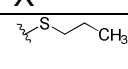
Bei grampositiven Bakterien-Stämmen zeigten die Verbindungen dieser Gruppe eine bessere Aktivität, insbesondere gegen den multiresistenten MRSA Stamm im Vergleich zu anderen Stämmen (Tab. 6).

Verbindung	Grampositive Bakterien			
	Antibakterielle Aktivität-HHD (mm)			
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Staphylococcus aureus</i> SG 511	<i>Staphylococcus aureus</i> 134/94 (MRSA)	<i>Enterococcus faecalis</i> 1528 (VRE)
161a	14	24	23	12
161b	10.5	20	25	14
161c	0	12	13	11
161h	19	27	33	11
161i	12	15	15	11
164a	16	23	28	13
164d	10	10.5	11	11
164h	17	26	34	12
164i	13	16	15	0
165	20	29	29	13
167a	19	16	13	12
167b	17	16	15	11
167c	14	15	14	0
167d	13	13	13	11.5
167e	12	11	11	11
167f	11	10.5	11.5	11
167h	13	16.5	15	0
167i	14	13	14	12
168	18	17	18	12
Ciprofloxacin	29	17	0	17

Tabelle 6: Antibakterielle Aktivität gegen grampositive Bakterien

Auf Grundlage dieser Ergebnisse lässt sich feststellen, dass diese Substanzen gegen gramnegative Bakterien unwirksam bis schwach aktiv sind. Hingegen ist eine mittlere bis starke Wirkung gegen Mycobakterium festzustellen (Tab. 5). Hinsichtlich ihrer antimykotischen Aktivität zeigten sie nur gegen den Pilz *Penicillium notatum* Aktivität. Interessanterweise waren diese Substanzen stark aktiv gegen grampositive Bakterien-Stämme, insbesondere gegen den MRSA Stamm, der gegen die Kontrolle, das Antibiotikum Ciprofloxacin, resistent ist. Außerdem wurde mäßige Wirkung gegen VRE und gegen *Bacillus subtilis* beobachtet (Tab. 6).

Auch die Substanzen **169-181** (Tab. 7) wurden mittels Agardiffusionstest untersucht.

Nr.	X	Nr.	X	Nr.	X
169		174		179	

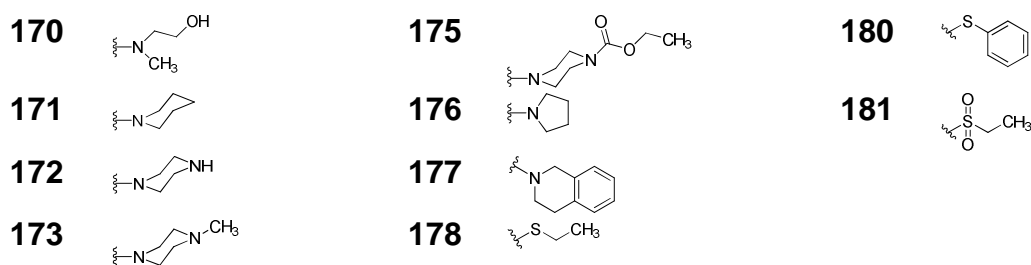


Tabelle 7: Verbindungen mit N- und S- Substituenten

Überraschender Weise waren die Substanzen dieser Gruppe, deren Brom-Substituent durch Stickstoff- oder Schwefel-Substituenten ausgetauscht wurde, nur schwach aktiv.

Bei dieser Gruppe zeigte der Agardiffusionstest bei den gramnegativen Bakterien (*E.Coli* und *Pseudomonas aeruginosa*), sowie bei dem Hefepilz *Candida albicans*, der Hefe *Sporobolomyces salmonicolor* und dem Schimmelpilz *Penicillium notatum* keinerlei Hemmwirkung. Bei den grampositiven Bakterienreferenzen sind die untersuchten Verbindungen mit Ausnahme von **181** nur gegenüber *Mycobacterium vaccae* wirksam. Dabei wurde nur eine gute (**171** und **176**) bzw. eine relativ gute (**175** und **177**) Wirkung festgestellt (Tab. 8).

Die Ergebnisse zeigen, dass *Mycobacterium vaccae* gegenüber den in Tab. 8 aufgeführten untersuchten Verbindungen empfindlich ist.

	Ciprofloxacin	171	175	176	177
HHD (mm)	20	18	13	19	14

Tabelle 8: Wirkung auf *Mycobacterium vaccae*

Verschiedene Studien belegen, dass die Einnahme abgetöteter Mikroben der Art *Mycobacterium vaccae* das Immunsystem des Menschen stärken kann. *M. vaccae* werden als immunotherapeutisches Mittel gegen allergiebedingtes Asthma, Tuberkulose und Erkrankungen des Zentralnervensystems wie Schmerzen und psychische Störungen eingesetzt. Ferner nehmen Wissenschaftler an, dass die Einnahme von *M. vaccae* als Antidepressivum wirken könnte, da es im Gehirn die Bildung von Serotonin und Norepinephrin fördert.^[214, 215]

Interessanter Weise war die antibakterielle Aktivität der wirksamsten Verbindung **181** gegenüber dem multiresistenten *Staphylococcus aureus* 134/94 Stamm größer als die des Breitspektrum Antibiotikums Ciprofloxacin. Eine gute Wirkung konnte auch gegen den Vancomycin-resistenten Bakterienstamm *Enterococcus faecalis* 1528 festgestellt werden (Tab. 9).

Mikroorganismus	Antibakterielle Wirkung Hemmhofdurchmesser (mm)	
	Ciprofloxacin	181
<i>Staphylococcus aureus</i> SG 511	17	17
<i>Staphylococcus aureus</i> 134/94 (MRSA)	0	19
<i>Enterococcus faecalis</i> 1528 (VRE)	17	14

Tabelle 9: HHD-Werte für **181** im Vergleich zu Ciprofloxacin

Die Ergebnisse legen nahe, dass die Verbindung **181** möglicherweise einen anderen Wirkmechanismus besitzt als Ciprofloxacin, da **181** nur gegen grampositive, nicht aber gegen gramnegative Mikroorganismen wirkt.

3.1.5 Diskussion

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die neu hergestellten Indol-Derivate, abhängig von den gegenüber der Leitstrukturveränderungen (Abb. 2, S. 117), ein schmales Wirkungsspektrum haben. Der Austausch von Brom bei der 2. Gruppe der Substanzen (s. Tab. 7) schwächt die Wirksamkeit signifikant.

Eine Selektivität gegen grampositive Bakterienstämme, besonders gegen MRSA, war innerhalb der 1. Gruppe der Substanzen (s. Tab. 3) festzustellen (Tab. 6).

In einer früheren Studie konnte gezeigt werden, dass die Wirksamkeit gegen *S. aureus* bei Einführung von Alkylgruppen mit zunehmender Kettenlänge, korrelierend mit einer Zunahme der Lipophilie, gesteigert werden konnte.^[165] Bei Ersatz des Imidwasserstoffs durch längerkettige Alkylgruppen könnte ein vergleichbarer Effekt erwartet werden. Bei den von uns synthetisierten Substanzen lässt sich jedoch feststellen, dass die Wirksamkeit - unabhängig von Art der Substituenten an 2-Position des Indol-Grundgerüsts - mit steigender Länge der Alkyl-Seitenkette allmählich deutlich zurückgeht oder sogar verschwindet. Dies wird an den Ergebnissen für die Verbindungen **161a-c**, **164a, d** und **167a-f** (Tab. 6) offensichtlich. Es wurde ferner beobachtet, dass die Verbindungen **161h**, **164h** und **167h** mit N-Hydroxyethyl Substituent wirksamer waren als die mit Essigsäure Ethylester Substituent **161i**, **164i** und **167i**.

Es lässt sich festhalten, dass Verbindungen mit Ethyl-Substituenten am Imid-Stickstoff eine stärkere Aktivität als Verbindungen mit anderen Alkyl-Substituenten zeigen. Die antibakteriellen Aktivitäten erreichen ihren Höhepunkt im Fall der

Hydroxyethyl- substituierten Verbindungen **161h** und **164h**. Ein Grund hierfür könnte an der Existenz eines Wasserstoffbrücken-Donators (Hydroxyl-Gruppe) liegen. Auch die Verbindungen **165** und **168** mit unsubstituiertem Imidstickstoff wirken stark.

Aus den bisher diskutierten Ergebnisse der Tab. 6 in Bezug auf *S. aureus* SG 511 und den resistenten Stamm *S. aureus* 134/94 (MRSA) schließen wir, dass das Imid-NH und die hydrophile N-Hydroxyethylgruppe die Wirksamkeit steigern. Mit der Substitution durch eine Ethyl-Gruppe am Imid-Stickstoff nahm die Wirksamkeit ab, ein Effekt, der mit zunehmender Länge der Alkylseitenketten noch ausgeprägter wurde. Alle diese Effekte setzen die Anwesenheit von Brom am Maleinimid-Grundgerüst voraus, sind jedoch unabhängig von Struktur-Änderungen in Position 2 des Indol-Grundgerüsts.

An den Verbindungen **169-181** (Tab. 7) konnte der Einfluss des Austauschs des Brom-Substituenten durch Stickstoff- oder Schwefel-Nucleophile gezeigt werden. Diese Substitutionen schwächen die Wirksamkeit, so dass sie gegen Null geht. Mit Ausnahme von **181** (Tab. 9) zeigen alle Verbindungen dieser Serie sehr geringe Wirkung gegen alle untersuchten Bakterienstämme.

Zusammenfassend könnte es bedeuten, dass die wirksamsten Verbindungen gegen den resistenten Stamm *S. aureus* 134/94 (MRSA) einen anderen Wirkmechanismus und ein schmaleres Wirkungsspektrum im Vergleich zu Ciprofloxacin besitzen, da nur grampositive, nicht aber gramnegative Mikroorganismen empfindlich sind.

3.2 Proliferations- / Zytotoxizitätstest

Die Substanzen der 1. Reihe (**161a-i**, **164a, d, g, h, i**, **167a-i**, **165** und **168**) (Tab. 3) wurden zusätzlich zu dem in Kapitel 3.1 durchgeführten biologischen Test vom Verbundprojektspartner, dem Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung in Jena, auf antiproliferative und zytotoxische Wirkungen untersucht. In diesem Testsystem wird der Einfluss von Substanzen auf das Proliferationsverhalten von Tumorzelllinien untersucht und so das zytotoxische Potential dieser Substanzen erfasst.

3.2.1 Beschreibung des Testmodells

Die antiproliferative und zytotoxische Aktivität der neu synthetisierten Verbindungen wurde an verschiedenen Tumorzelllinien geprüft.

Die Zellen wurden in Flaschen aus HD-PE (*high density Polyethylen*) kultiviert. Dazu wurde das entsprechende Zellkulturmedium mit 10 ml/l Ultraglutamin, 500 µl/l Gentamicinsulfat und einer 10%igen, durch Hitze inaktivierten fötalen Kälberserum-Lösung versetzt und auf 37°C erwärmt.

Um zu entscheiden, ob die Verbindungen eine antiproliferative und / oder zytotoxische Wirkung auf menschlichen Zellen haben, wurden die Zytotoxizität (Zelltod) und die antiproliferative Wirkung (Hemmung / Verzögerung der Zellvermehrung) gemessen. Dazu wurden verschiedene kolorimetrische Assays zur Bestimmung der Anzahl der lebensfähigen Zellen verwendet. Unter den verwendeten experimentellen Bedingungen ist die optische Dichte, die unter Verwendung von CellTiter-Blue® Reagenz^[216, 217] oder im Methylenblau-Test^[218] gemessen wurde, zur Anzahl der vitalen Zellen proportional.

Die GI₅₀ Werte können mit Hilfe des CellTiter-Blue® Reagenz und der Methylenblau-Färbung letztlich über die Zell-Zahl bestimmt werden.

Im Gegensatz zum antiproliferativen Test wird beim Zytotoxizitätstest die zu testende Substanz auf eine HeLa-Monolayer gegeben und ihr Einfluss auf die Zell-Lyse erfasst.

3.2.1.1 Proliferationsassay

Die Testsubstanzen wurden in DMSO gelöst und anschließend in DMEM (Dulbecco's Modifiziertes Eagle Medium) verdünnt. Die adhärennten Zellen wurden in der logarithmischen Wachstumsphase nach Trypsinieren mit 0.25% Trypsin in PBS (*phosphate buffered saline*), der 0.02% EDTA enthält, geerntet. Für jeden Versuch wurden ca. 10.000 Zellen (Huvec; K-562) mit 0.1 ml Kulturmedium pro Well der 96-Well-Mikroplatten verwendet. Um die antiproliferative Wirkung von Verbindungen auf Huvec bzw. K-562 zu testen, wurden die Zellen für 72 h bei 37 °C in Mikrotiterplatten mit unterschiedlichen Verdünnungen der zu testenden Substanzen und einer Kontrolle in feuchter Atmosphäre und 5% CO₂ inkubiert. Diese Inkubationsdauer ist die optimale Zeit für die Bewertung der Zytotoxizität und die Hemmung der Zellproliferation mittels CellTiter-Blue-Reagenz^[216, 217] oder Methylenblau.^[218, 219]

3.2.1.2 Zytotoxizitätsassay

Für die Zytotoxizitätsassays wurden HeLa-Zellen 48 h ohne die zu testenden Substanzen vorinkubiert. Um die zytotoxische Wirkung von Verbindungen auf HeLa zu testen, wurden die jeweiligen Verdünnungen der Verbindungen zu den subkonfluenten Monoschichten der HeLa-Zellen nach der Vorinkubationszeit zugegeben. Nach der Inkubationszeit wurde die zytolytische Wirkung der Verbindungen im Vergleich mit der negativen Kontrolle analysiert. Die Inkubationszeiten waren die gleichen wie im Falle der Proliferationsassays.

3.2.2 Das Prinzip der Assays

3.2.2.1 CellTiter-Blue® Assay (Cell viability assay)^[216, 217]

Zur Abschätzung des Einflusses der Verbindungen auf die Zellproliferation von K-562 wurde die Zahl der vitalen Zellen in multiwell Platten über das CellTiter-Blue® Assay^[216, 217] bestimmt. Es nutzt den fluoreszierenden Redoxindikator-Farbstoff Resazurin, um die metabolische Kapazität der Zellen als Indikator für die Viabilität der Zellen zu messen. Vitale Zellen der unbehandelten Kontrolle (Kulturen ohne Testsubstanz) haben die Möglichkeit, Resazurin zum fluoreszierenden Resorufin zu reduzieren, während nicht vitale Zellen rasch ihre metabolische Kapazität verlieren und den Indikator-Farbstoff nicht reduzieren. Das Signal des CellTiter-Blue® Reagenz ist proportional zur Anzahl der vitalen Zellen.

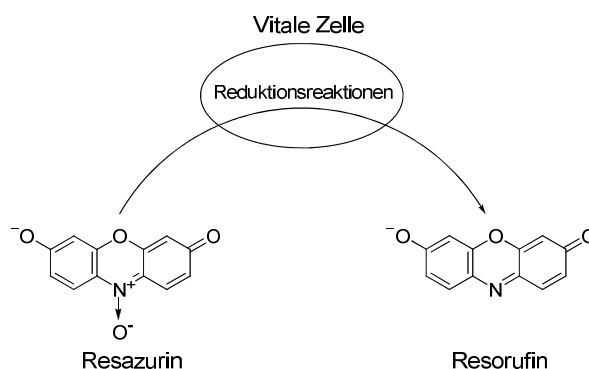


Abb. 1: Reduktion von Resazurin zum Resorufin durch metabolisch aktive Zellen^[216]

3.2.2.2 Methylenblau Assay^[218, 219]

Die adhärenenten Huvec- und HeLa-Zellen wurden mit Glutaraldehyd fixiert und mit einer 0.05% Lösung von Methylenblau 15 min gefärbt. Durch vorsichtiges Waschen mit 0.2 ml 0.33 N HCl wurde der Farbstoff in den wells eluiert. Die Zellen, die mit den

zu untersuchenden Substanzen behandelt wurden, reduzierten Methylenblau zu seiner farblosen reduzierten Form nicht. Die optische Dichte wurde bei 660 nm im Mikroplatten-Reader gemessen.

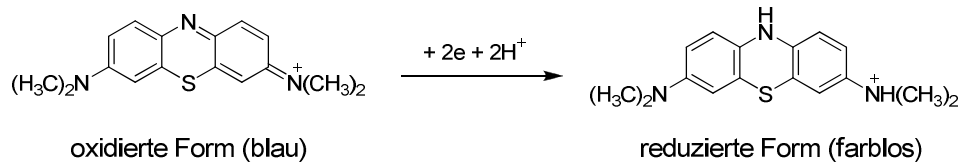


Abb. 2: Reduktion von Methylenblau

3.2.3 Eingesetzte Zelllinien

- **Huvec:** Bei der Huvec-Zelllinie handelt es sich um *human umbilical vein endothelial cells*. Sie wurden von normaler menschlicher Nabelschnur isoliert. Huvec reagieren auf Zytokinstimulation (z. B. Interleukin-8) mit der Expression von Zelladhäsionsmolekülen. Diese Zellsysteme werden üblicherweise für physiologische und pharmakologische Untersuchungen, wie makromolekularen Transport^[220], Blut-Koagulation^[221], und Fibrinolyse^[222] verwendet. Huvec-Zelllinien zeigen speziellen Nutzen bei der Analyse der Angiogenese und von Arzneimitteln, die als Target auf die Angiogenese zielen.^[223, 224]
- **K-562:** K562-Zellen sind die älteste Leukämie-Zelllinie des Menschen. Sie wurden 1975 aus myeloischen Blutzellen einer 53-jährigen CML-Patientin in der Myeloblastenkrise etabliert.^[225] Die Zellen sind nicht adhären und positiv für das bcr-abl Fusionsgen. Sie ähneln damit undifferenzierten Granulozyten^[226] oder Erythrozyten.^[227]
- **HeLa:** HeLa-Zelle ist eine unsterbliche Zelllinie, die in der wissenschaftlichen Krebsforschung eingesetzt wird. Die Zellen sind menschliche Epithelzellen eines Zervixkarzinoms (Gebärmutterhalskrebs) einer 31-jährigen Patientin *Henrietta Lacks*, aus denen 1951 eine permanente Zelllinie etabliert wurde. Diese Zellen vermehren sich im Vergleich zu anderen Krebszellen ungewöhnlich schnell und haben während der Zellteilung eine aktive Version der Telomerase, die die inkrementelle Verkürzung der Telomere, die an Alterung und Zelltod beteiligt sind, verhindert.^[228]

3.2.4 Testergebnisse

Tabelle 10 enthält die Ergebnisse der antiproliferativen Wirkung und Zytotoxizität der Verbindungen **161a-i**, **164a, d, g, h, i**, **167a-i**, **165** und **168**.

Verbindung	Antiproliferative Wirkung		Zytotoxizität
	Huvec	K-562	HeLa
	GI ₅₀ (µg/ml)	GI ₅₀ (µg/ml)	CC ₅₀ (µg/ml)
161a	1.7	2.1	16.3
161b	2.2	2.3	15.6
161c	2.1	2.3	13.9
161d	2.4	3.0	16.1
161e	2.3	2.3	16.0
161f	2.8	2.2	17.7
161g	2.2	2.3	15.8
161h	2.0	0.8	7.8
161i	2.2	1.3	15.5
164a	2.0	1.0	8.9
164d	2.1	1.1	11.2
164g	1.7	1.3	11.7
164h	2.0	1.0	7.9
164i	2.1	1.5	12.9
165	1.2	1.4	8.3
167a	1.2	0.5	6.1
167b	1.4	0.5	7.1
167c	2.0	1.5	8.4
167d	2.1	1.5	17.0
167e	2.2	1.2	11.3
167f	2.0	1.4	13.6
167g	1.7	1.0	10.1
167h	3.9	1.7	9.7
167i	3.0	2.0	9.0
168	2.1	1.1	8.7

Tabelle 10: Antiproliferative Wirkung und Zytotoxizität einiger Indol-Derivate auf Huve-, K-562 und HeLa-Zelllinien

3.2.5 Diskussion

Die Substanzen der 1. Reihe (Brom-haltig, Tab. 3), wurden auf antiproliferative Wirkungen und Zytotoxizität getestet.

Zellkulturen können als primäres Screening verwendet werden, um Antitumor-Agenzien zu prüfen. Die Grenze zwischen inhibitorischem Einfluss auf das Wachstum und toxischem Effekt eines Arzneimittels hängt vom Mechanismus ab, durch den es das Wachstum der übermäßig vermehrten Zelle hemmt, bzw. bei dem es die Zelle auflöst oder auf andere Weise tötet (z. B. Aktivierung der Apoptose). Es

kann sein, dass eine Substanz sowohl antiproliferative als auch zytotoxische Effekte hat.

Stark zytotoxische Verbindungen im antiproliferativen Testsystem erschweren die Bestimmung der GI_{50} . Es kann daher davon ausgegangen werden, dass alle angegebenen $GI_{50} < 1 \mu\text{g/ml}$ von der Zytotoxizität beeinflusst sind.

Unsere Substanzen scheinen hinsichtlich ihrer Zytotoxizität relativ toxisch zu sein. Ihre CC_{50} -Werte auf der HeLa-Zelllinie liegen zwischen 6 und 17.7 $\mu\text{g/ml}$. Ihr antiproliferativer Effekt ist vom Typ der Zelllinie abhängig. Im Allgemeinen weisen die untersuchten Verbindungen eine selektive Hemmung der Zelllinie K-562 auf.

Die Substanzen **167a** und **167b** zeigen eine bemerkenswerte Aktivität gegen K-562-Zelllinien ($GI_{50} = 0.5 \mu\text{g/ml}$). Substanz **167h** hat höchste Aktivität im Profil gegen Huvec-Zelllinien ($GI_{50} = 3.9 \mu\text{g/ml}$).

3.3 Prüfung auf antiinflammatorische Aktivität

Alle mittels Agardiffusionstest untersuchten Substanzen wurden parallel auf ihre antiinflammatorischen Eigenschaften hin untersucht. Dieses gilt auch für die Substanzen, die beim Agardiffusionstest bzw. beim Proliferationstest (s. Kap. 3.1 und 3.2) keinen Einfluss auf das bakterielle Wachstum der eingesetzten Bakterienstämme bzw. auf das Proliferationsverhalten der eingesetzten Tumorzelllinien gezeigt haben.

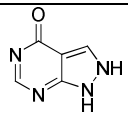
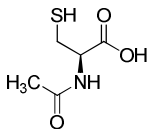
3.3.1 Entzündung

Eine Entzündung (*Inflammation*) ist eine charakteristische Antwort (defensive Reaktion) von biologischem Gewebe auf einen äußeren oder innerlich ausgelösten Reiz mit der Funktion, den Schädigungsreiz zu beseitigen, dessen Ausbreitung zu unterbinden und ggf. eingetretene Schäden zu reparieren. Inflammation tritt auf, wenn beschädigte Zellen einen inflammatorischen Mediator (z. B. Histamin, Eicosanoide und Cytokine wie z. B. Interleukin-1) freisetzen. Die Freisetzung dieser Substanzen verursacht Dilatation der Blutgefäße (Rötung, Schwellung), Fieber und Schmerz. Als Folge der Entzündung sammeln sich die defensiven weißen Blutkörperchen in der Umgebung der Entzündung, um die Fremdstoffe und totes Gewebe zu entfernen. Die Entzündung kann akut oder chronisch sein.^[10, 229]

Eine chronische systemische Entzündung ist definitionsgemäß nicht auf ein bestimmtes Gewebe beschränkt, sondern umfasst das Gefäßendothel der Blutgefäße und viele innere Organe. Dieser entzündliche Prozess ist oft mit Schäden durch freie Radikale und oxidativen Stress verbunden. Die systemischen Entzündungen verursachen häufig chronische, schwächende und sogar lebensbedrohliche Krankheiten. Sie sind bei Krebs, Herzkrankheiten, Schlaganfällen, Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, vorzeitiger Hautalterung und fast jeder schwächenden, degenerativen Erkrankung impliziert.^[229, 230]

3.3.2 Testsysteme

Die antiinflammatorische Aktivität der neu synthetisierten Indol-Derivate wurde durch drei biologischen Enzym-Testsysteme (*in vitro* Assays) bestimmt. Hierzu wurden der Xanthin-Oxidase-Test (XOD), der 3 α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Test (3 α -HSD) und der Horseradish Peroxidase-Test (HRP, Meerrettich-Peroxidase) verwendet. Zur Kontrolle wurden die Arzneistoffe Allopurinol für XOD, N-Acetylcystein für HRP und Indomethacin für 3 α -HSD verwendet (Tab. 11). Die gesamten Ergebnisse sind in Tab. 12 aufgelistet.

Arzneistoff	Struktur
Allopurinol ist das Mittel der Wahl in der langfristigen Behandlung der Gicht. Es ist ein Analogon der Hypoxanthine. Durch die Hemmung der Xanthinoxidase verringert Allopurinol die Konzentration der relativ schwerlöslichen Urate und der Harnsäure in den Geweben, im Plasma und Urin. Gleichzeitig erhöht Allopurinol die Konzentrationen von löslichem Xanthin und Hypoxanthin. ^[10]	
N-Acetylcystein ist ein Arzneistoff, der vor allem als schleimlösendes Mittel und bei der Kontrolle von Paracetamol-Überdosierungen verwendet wird. Ein Wirkungsmechanismus soll auf der Fähigkeit der reaktiven SH-Gruppe beruhen, Radikale zu binden und dadurch entzündungshemmend zu wirken. Acetylcystein stellt dem Körper Cystein zur Verfügung, welches er zur Bildung von Glutathion benötigt. Glutathion spielt	

eine wichtige Rolle in der Entgiftung.^[10]

Indomethacin gehört zu den nichtsteroidalen Antirheumatika (Antiphlogistika) und wirkt als potenter nicht-selektiver Cyclooxygenase (COX1 und COX2) Inhibitor.^[10]

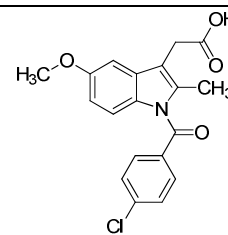


Tabelle 11: Verwendete Kontroll-Substanzen zur Untersuchung der antinflammatorischen Aktivität

3.3.2.1 Xanthin-Oxidase Test

In diesem Test wurden die synthetisierten Indol-Derivaten auf ihre Radikalfänger-Eigenschaften durch eine Lucigenin-basierte Chemilumineszenz in einem zellfreien Assay mit Xanthinoxidase^[231] geprüft.

Xanthinoxidase katalysiert unter Freisetzung von Superoxid-Radikalen die Umsetzung von Purinbasen (Hypoxanthin) zur Harnsäure (Abb. 3). Bei einem Überschuss von Purinbasen kann Infolge erhöhter Katalyse die Harnsäurekonzentration in den Körperflüssigkeiten übermäßig ansteigen, und es kommt zur Gicht. Durch Allopurinol (s. Tab. 11) Anwendung lässt sich die Xanthinoxidase Aktivität hemmen und diese schwere Stoffwechselerkrankung therapieren.

Der Tests basiert auf der Bestimmung von O₂-Radikalen mit Lucigenin. Diese lassen sich durch Chemilumineszenz-Messung in relativen Lichteinheiten (RLU) leicht quantifizieren. Die Kavität einer 96-well Mikrottestplatte wurde jeweils mit 100 µl Lucigenin, mit 50 µl Xanthinoxidase und 50 µl der jeweiligen Testsubstanz (4, 0.8 und 0.16 µg/ml) beschickt. Nach Temperierung der Platte bei 37 °C für 15 min, wurde in 5 minütigen Intervallen 15 min lang die Hintergrund-Ablesung der Chemilumineszenz durchgeführt, bevor 50 µl Hypoxanthin hinzugefügt wurden, um die Reaktion zu starten. Nach der Zugabe von Hypoxanthin wurden die Messungen in 5 minütigen Intervallen 30 min lang durchgeführt. Das Ergebnis wird als prozentuale Abnahme der gesamten Chemilumineszenz in Gegenwart von Allopurinol bzw. Testsubstanzen (4, 0.8 und 0.16 µg/ml), 30 Minuten nach Zugabe von Hypoxanthin auf die Platte, ausgedrückt. Besitzen die untersuchten Substanzen Radikalfänger-Eigenschaften, wird durch Inaktivierung der O₂-Radikale die Chemilumineszenz-Ausbeute erheblich verringert.

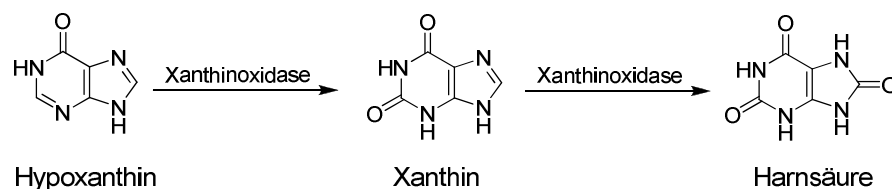


Abb. 3: Metabolismus von Hypoxanthin durch Xanthinoxidase

3.3.2.2 Horseradish Peroxidase Test

Mit Hilfe dieses Screening Tests wurden die neu synthetisierten Indol-Derivate in einem zellfreien Testsystem auf ihre Scavenger-Eigenschaften hin untersucht. In diesem Testverfahren wird Wasserstoffperoxid (H_2O_2) durch Horseradish Peroxidase unter Freisetzung von OH-Radikalen zu H_2O abgebaut. Die Hydroxyl Radikale oxidieren Luminol zu einem Luminol-Radikal (Dianion) und einem Indoperoxid. Durch Zersetzung dieser Peroxide entsteht ein angeregtes Dicarboxylat-Anion, das bei Übergang in den Grundzustand sichtbares Licht emittiert. Das emittierte Licht wird in RLU (relative Lichteinheiten) gemessen und mit Hilfe der Chemilumineszenz-Technik detektiert.^[232]

N-Acetylcystein (s. Tab. 11) wird hierbei als Standard verwendet. Der Test wurde wie folgt durchgeführt:^[232]

Zu einem einzelnen Assay in einem Gesamtvolumen von 250 μl pro well einer 96-well Mikrottestplatte (50 μl Luminol in PBS, 50 μl HRP in 50 μl PBS, 50 μl H_2O_2 und 50 ml PBS Buffer) wurden jeweils Testsubstanzen bzw. Standard (40, 20 und 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$) hinzugefügt. Diese Addition führte zu Unterdrückung der Lichtemission, bis die Stoffe verbraucht sind.

3.3.2.3 3α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase Test

Von Penning *et al.*^[233] wurde festgestellt, dass das Screening auf antiinflammatorische Aktivität von Antiphlogistika mittels NADPH-verbundener Reduktion von 5β -Dihydrocortison der traditionellen Methode der Untersuchung auf Inhibition der Cyclooxygenase überlegen ist.

Dieses zellfreie Testsystem zielt auf die Hemmung des Enzyms 3α -Hydroxysteroid-dehydrogenase. Das Enzym aus Rattenleber-Cytosol lässt sich durch nichtsteroidale Antiphlogistika konzentrationsabhängig hemmen, so dass mit diesem *in vitro* Verfahren nach potentiellen nichtsteroidalen Entzündungshemmern gesucht werden kann.^[233, 234]

Der Test für die 3α -Hydroxysteroiddehydrogenase-Hemmung umfasst hierbei die Herstellung des Cytosols und den anschließenden Nachweis der Enzymhemmung. Das gesamte Testprotokoll ist wie folgt beschrieben.^[233]

- **Herstellung des Cytosols:** Rattenleber wurde ausgeschnitten und im drei fachen Volumen von 50 mM Tris-HCl (pH 8.6), die 250 mM Saccharose, 1 mM Dithiothreitol und 1 mM EDTA enthält, homogenisiert. Das Homogenat wurde 30 min bei 10,000 g zentrifugiert, der Überstand wurde durch nicht adsorbierende Baumwolle gefiltert und anschließend für weitere 60 min zentrifugiert. Der daraus resultierende Überstand (Cytosol; Quelle der 3α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase) wurde für die Enzym-Assays ohne weitere Verarbeitung verwendet.
- **Durchführung des Assays:** Zu jedem einzelnen Assay (1 ml), das 0.84 ml H₂O, 1.0 ml 1M PPB (pH 6.0), 20 μ l (9 mM) NADPH und 10 μ l (5 mM) 5β -Dihydrocortison enthält, wurden die Testsubstanzen bzw. Standards (Indomethacin, s. Tab.11) (30, 3.0 und 0.3 μ g/ml), gelöst in Acetonitril (finale Konzentration von Acetonitril im Testsystem 4% w/v) und vor der Zugabe des Enzyms zum Assay zugefügt. Zum Start der Reaktion wurden 30-50 μ g cytosolisches Protein addiert. Die optische Veränderung wurde während 5 min verfolgt. 3α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase verbraucht den Kofaktor NADPH, um 5β -Dihydrocortison zu reduzieren. Der NADPH-Verbrauch wird photometrisch als Extinktionsabnahme bei 340 nm bestimmt.

3.3.3 Ergebnisse und Diskussion

Die gesamten erhaltenen Ergebnisse aus den drei oben erwähnten Testsystemen sind in Tabelle 12 zusammengefasst. Die Aktivitäten sind in Kategorien im Vergleich zum Standard wie folgt dargestellt: 0 – unwirksam, 1 – geringer als Standard, 2 – vergleichbar mit Standard und 3 – besser als Standard.

Alle in Kapitel 2 synthetisierten Substanzen sind gegen die Xanthinoxidase unwirksam, d.h. sie zeigten Werte der Kategorie 0 im Vergleich zum Standard Allopurinol (ihre Ergebnisse sind deshalb in Tab. 12 nicht aufgeführt).

Wie die Daten in Tabelle 12 zeigen, fanden wir jedoch, dass die neu synthetisierten Indol-Derivate hinsichtlich horseradish-Peroxidase gute antiinflammatorische Aktivität bzw. Radikalfänger-Eigenschaften zeigten.

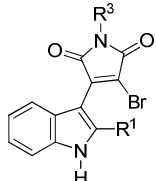
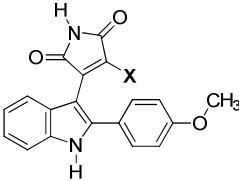

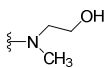



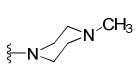
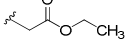
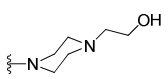
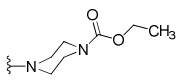

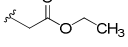

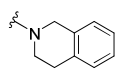
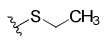
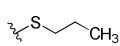
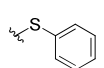

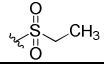
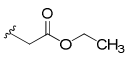
								
Nr.	R ¹	R ³	Kategorien		Nr.	X	Kategorien	
			HRP	3 α -HSD			HRP	3 α -HSD
161a	4-OMe-Ph	Ethyl	1	1	169		0	0
161b	4-OMe-Ph	Propyl	1	0	170		1	2
161c	4-OMe-Ph	Butyl	1	0				
161d	4-OMe-Ph	Pentyl	1	1	171		1	1
161e	4-OMe-Ph	Hexyl	1	0				
161f	4-OMe-Ph	Heptyl	1	1	172		1	1
161g	4-OMe-Ph	Octyl	1	1				
161h	4-OMe-Ph		2	0	173		1	1
161i	4-OMe-Ph		1	1				
164a	Ph	Ethyl	1	1	174		1	2
164d	Ph	Pentyl	1	1				
164g	Ph	Octyl	1	1	175		1	1
164h	Ph		0	1				
164i	Ph		2	1	176		1	0
165	Ph	H	0	1	177		1	1
167a	CH ₃	Ethyl	2	0				
167b	CH ₃	Propyl	0	0	178		1	0
167c	CH ₃	Butyl	1	0				
167d	CH ₃	Pentyl	0	1	179		2	1
167e	CH ₃	Hexyl	0	0				
167f	CH ₃	Heptyl	0	1	180		1	1
167g	CH ₃	Octyl	0	1				
167h	CH ₃		2	0	181		2	1
167i	CH ₃		2	0				
168	CH ₃	H	2	0				

Tabelle 12: Zusammenfassung der antiinflammatorischen Aktivität der neu synthetisierten Indol-Derivate

Sie liefern zum Teil mit dem Standard vergleichbare gute Ergebnisse, wie im linken Teil der Tabelle bei den Verbindungen **161h**, **164i**, **167a**, **167h**, **167i** und **168**, und im rechten Teil der Tabelle bei den Verbindungen **179** und **181** gezeigt wird. Bezüglich der 3 α -HSD zeigten nur die Verbindungen **170** und **174** vergleichbare Ergebnisse mit dem Standard Indomethacin.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Veränderungen in der chemischen Struktur signifikant mit der biologischen Aktivität verbunden sind.

Bei Betrachtung der Verbindungen **161a-g**, **164a, g, d**, **167a-g** im linken Teil von Tab. 12 finden wir, dass die Länge der Alkylkette die Aktivität kaum beeinflusst, während Hydroxyethyl- und Ethylacetat-Substituenten signifikant deutlicheren Einfluss zeigen. In Bezug auf die Substitution an 2-Position des Indols scheinen vor allem die Verbindungen mit $R^1 = \text{CH}_3$ im HRP-Test am wirksamsten und selektivsten zu sein.

Bei den Verbindungen **169-181** sahen wir, in welchem Ausmaß der Brom-Substituent eine Rolle auf die Wirksamkeit spielt. Wie in den Kap. 3.1.4 und 3.1.5 diskutiert, wurde festgestellt, dass durch den Ersatz von Brom die Verbindungen ihre antimikrobielle Aktivität verlieren. Ein Grund könnte darin liegen, dass die Substanzen z. B. nicht mehr mit wichtigen bakteriellen Zielmolekülen reagieren bzw. koppeln können. Im Gegenzug zeigten Brom-freie Verbindungen **169-181** gute antiinflammatorische Aktivität. Gut wirksam sind die Verbindungen mit S-Substituenten, **179** und **181**, im HRP-Test und die Verbindungen mit N-Substituenten, **170** und **174**, im 3α -HSD-Test. Die Aktivität bezüglich 3α -HSD könnte auf eine gewisse Strukturähnlichkeit mit Indomethacin zurückzuführen sein.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden die Substanzen **170**, **174** und **179** als Leitstrukturen zur weiteren Entwicklung neuer Derivate durch unsere Arbeitsgruppe ausgewählt.

4 Zusammenfassung

Ziel des 2. Teils der vorliegenden Arbeit war es, neue Indol-Derivate zu synthetisieren, und auf ihre antimikrobielle Aktivität gegen zahlreiche Bakterien- und Pilz-Stämme, insbesondere gegen multiresistente epidemische Stämme, sowie auf antiinflammatorische Wirkung zu untersuchen. Weiterhin wurden einige dieser Verbindungen auf ihre antiproliferativen Wirkungen und ihre Zytotoxizität untersucht. Die untersuchten Substanzen unterscheiden sich durch chemische Modifikationen. Basierend auf der Leitstruktur **B** (s. Abb. 2, S. 117), die in einer früheren Publikation unserer Arbeitsgruppe in Anlehnung an das strukturelle Grundgerüst und die biologische Wirksamkeit des Arcyriarubins entwickelt wurde, konnten wir so weitere Indol-Derivate synthetisieren.

Die Idee war im Wesentlichen der Ersatz *eines* Indolyl-Substituenten des Grundkörpers des Bisindolylmaleinimids (Arcyriarubin A) durch Brom, wobei der zweite Indolyl-Substituent beibehalten wurde. Dies führt zur Leitstruktur des 3-Brom-4-(1*H*-Indol-3-yl)-2,5-dihydro-1*H*-2,5-pyrroldions, dem Ausgangspunkt unserer Strukturentwicklung.

Zur Darstellung unserer neu synthetisierten Indolyl- substituierten Maleinimide gingen wir nach Schema 1 (S. 119) vor und verwendeten entsprechende kommerziell erhältliche Indole, die an 2-Position Methyl- bzw. Phenyl-Substituenten tragen. Das Indol, das an 2-Position den 4-Methoxyphenyl-Substituenten besitzt, wurde nach Bischler-Möhlau synthetisiert.

Zunächst wurde eine Substitution der an 3-Position durch Lithiumhexamethyldisilylamid (LiHMDS) metallierten Indole mit TBS-geschütztem 3,4-Dibrompyrrol-2,5-dihydro-2,5-dion erreicht. Die so erhaltenen silyl-geschützten Indolyl-maleinimide führten nach der Abspaltung der TBS-Schutzgruppe mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) zu den am Imidstickstoff unsubstituierten Verbindungen, welche gute Wirksamkeit zeigten.

Für weitere Untersuchungen wurden die silyl-geschützten Indolyl-Maleinimide jeweils durch Umsetzen mit einem Überschuss an Alkylantien (Alkylbromid, Bromethanol und 2-Bromethylacetat) und TBAF am Imidstickstoff substituiert (s. Schema 1, S. 119).

Tauscht man das Brom in Verbindung **162**, in der eine Methoxy-Gruppe über einen Phenyl-Spacer in Indol-2-Position verbunden ist, durch Stickstoff oder Schwefel aus, so gelangt man zu neu substituierten Indolyl-Maleinimiden.

Der Austausch wurde, analog wie bei Boehringer Mannheim patentiert und ausgehend von **162**, mit verschiedenen N- und S-Nucleophilen in Et₃N und Pyridin durchgeführt. Die resultierenden Verbindungen zeigen jedoch eine verringerte antimikrobielle Wirksamkeit.

Im Hinblick auf die antimikrobielle Aktivität wurde im Allgemeinen festgestellt, dass die neu hergestellten Indol-Derivate keine Wirkungen gegen Gram-negative Bakterien und gegen Pilze zeigen und ein schmaleres Wirkungsspektrum im Vergleich zu Ciprofloxacin haben. Ein Grund dafür könnte darin liegen, dass sie einen anderen Wirkmechanismus aufweisen.

Einerseits war eine Selektivität gegen Gram-positive Bakterienstämme, besonders gegen die multiresistenten epidemischen Stämme *S. aureus* 134/49 (**MRSA**) sowohl innerhalb der Reihe der am Imidstickstoff unsubstituierten als auch der substituierten Derivate festzustellen. Andererseits bewirkt der Austausch von Brom durch Stickstoff- oder Schwefel-Nucleophile einen signifikanten Rückgang der Wirksamkeit. Ein Grund könnte darin liegen, dass die Substanzen z. B. nicht mehr mit wichtigen bakteriellen Zielmolekülen koppeln können.

Es lässt sich festhalten, dass Derivate mit Ethyl-Substituenten am Imidstickstoff die stärkste Wirksamkeit innerhalb der Gruppe der N-Alkylderivate zeigen; mit zunehmender Länge der Alkylseitenketten ging die Wirksamkeit jedoch zunehmend zurück. Im Gegensatz dazu zeigt das Imid NH positive Effekte auf die Wirksamkeit, ein Effekt, der auch in einer früheren Studie festgestellt wurde. Ferner zeigt die Substitution mit dem hydrophilen N-Hydroxyethyl-Substituenten am Imidstickstoff stärkeren Einfluss als die Substitution mit Essigsäureethylester. Ein Grund hierfür könnte an der Existenz eines Wasserstoffbrücken-Donators (Hydroxyl-Gruppe) liegen. Alle diese Effekte setzen die Anwesenheit von Brom am Maleinimid Grundgerüst voraus, sind jedoch unabhängig von Strukturänderungen in Position 2 des Indol-Grundgerüsts.

Die neu synthetisierten Indol-Derivate sind nennenswert zytotoxisch für die HeLa Krebszelllinie und scheinen damit relativ toxisch zu sein. Ihr antiproliferativer Effekt ist vom Typ der Zelllinie abhängig. Im Allgemeinen hemmen die Indol-Derivate selektiv die Zelllinie K-562, mit GI₅₀-Werten von bis zu 0.5-0.8 µg/ml.

Hinsichtlich ihrer antiinflammatorischen Aktivität sind im Allgemeinen alle neu synthetisierten Indol-Derivate gegen Xanthinoxidase unwirksam, während sie zum Teil mit den Standards N-Acetylcystein und Indomethacin vergleichbare gute

Ergebnisse hinsichtlich Horseradish-Peroxidase bzw. und 3α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase liefern.

Wie die Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigen, beeinflusst die Steigerung der Länge der Alkylkette die Aktivität kaum, während Hydroxyethyl- und Ethylacetat-Substituenten signifikant deutlicheren Einfluss zeigen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen bei der Prüfung auf antibakterielle Aktivität.

In Bezug auf die Substitution an 2-Position des Indols sind vor allem die Verbindungen mit CH_3 hinsichtlich Horseradish-Peroxidase am wirksamsten und selektivsten.

Interessanterweise bewirkt der Ersatz von Brom durch Stickstoff- oder Schwefel-Substituenten gute antiinflammatorischen Ergebnisse. Herauszustellen ist hierbei die Wirksamkeit der Verbindungen mit S-Substituenten, **179** und **181**, auf Horseradish-Peroxidase sowie die Wirksamkeit der Verbindungen mit N-Substituenten, **170** und **174**, auf 3α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase. Die Aktivität gegen 3α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase könnte auf eine gewisse Strukturähnlichkeit mit dem Standard Indomethacin zurückzuführen sein.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden die Substanzen **170**, **174** und **179** als Leitstrukturen zur weiteren Entwicklung neuer Derivate durch unsere Arbeitsgruppe ausgewählt.

Es konnte zusammenfassend festgestellt werden, dass die strukturellen Modifikationen der Leitstruktur des 3-Brom-4-(1*H*-Indol-3-yl)-2,5-dihydro-1*H*-2,5-pyrroldions signifikanten Einfluss auf die biologische Aktivität zeigen.

5 Experimenteller Teil

5 Experimenteller Teil - Antibiotika

5.1 Allgemeine Angaben

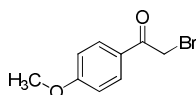
Für die Allgemeine Angaben s. Teil I., Kap. 5.1, S. 52

5.2 Synthesevorschriften und analytische Daten

5.2.1 Synthese neuer Indolderivate

5.2.1.1 Synthese von 2-Brom-1-(4-methoxyphenyl)-1-ethanon (157) aus 4-Methoxyacetophenon (157a)

50 mmol (7.51 g) 4-Methoxyacetophenon wurden in 100 ml Dichlormethan gelöst und mit 1 Tropfen konz. HBr (62%) versetzt. Anschließend wurden 50 mmol (2.6 ml) Brom in 20 ml DCM langsam unter Rühren innerhalb von 2 h zugetropft. Der nächste Tropfen soll erst dann zugegeben werden, nachdem sich die durch Brom hervorgerufene rötliche Lösung wieder entfärbt hat. Nach beendeter Bromzugabe wird die Mischung 1 h bei Raumtemp. gerührt, dann 2 mal mit je 100 ml konz. NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die org. Phase wird getrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das Rohprodukt wurde aus Methanol / Wasser umkristallisiert. Das Produkt wurde i. Vak. getrocknet.



C₉H₉BrO₂ (229.07)

Ausbeute: 9.6 g (42 mmol, 84%, Lit.^[188]: 63%), farblose Kristalle

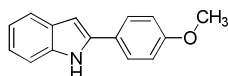
Schmp.: 71 °C (Lit.^[187]: 72 °C)

Die spektroskopischen Daten dieser Verbindung stimmen mit den Literaturwerten^[187, 188] überein.

5.2.1.2 Synthese von 2-(4-Methoxyphenyl)-1H-Indol (160) aus 157 und Anilin (160a)

300 mmol (27.35 ml) Anilin werden in 50 ml *N,N*-Dimethylanilin gelöst und unter N₂ zum Rückfluß erhitzt. Bei dieser Temp. gibt man während 15 min die auf ca. 70 °C erwärmte Lösung von 100 mmol (22.9 g) 2-Brom-1-(4-methoxyphenyl)-ethanon^[187, 188] (157) in 50 ml Xylol zu. Die Reaktionsmischung wird 15 h auf 150 °C erhitzt. Anschließend lässt man über Nacht auf Raumtemp. abkühlen. Der

Niederschlag wird abgesaugt, mit 50 ml Essigester und mit ca. 100 ml kaltem Methanol farblos gewaschen, die Mischung von Essigester-Phase und Mutterlauge eingeeengt und sc (SiO_2 , CH_2Cl_2) gereinigt.

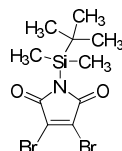


Schmp.: 230 °C (Lit. ^[175]: 230 - 231 °C)

Die spektroskopischen Daten dieser Verbindung stimmen mit den Literaturwerten ^[175, 188] überein.

5.2.1.3 Synthese von 1-(tert-Butyl-dimethylsilanyl)-3,4-dibrom-2,5-dihydro-1H-pyrrol-2,5-dion (159)

Eine Lösung von 3,4-Dibrommaleinimid ^[183, 184] (**159a**) (2.75 g, 10.8 mmol) in THF (75 ml) wurde langsam (ca. 1-2 h) zu einer Suspension von 60% NaH (0.53 g, 11 mmol) in THF (15 ml) bei 0 °C unter Rühren unter N_2 getropft. Dann wurde noch 15 min lang gerührt. Danach wurde eine Lösung von TBS-Chlorid (**159b**) (1.63 g, 10.8 mmol) in 10 ml THF zugetropft. Anschließend wurde die Mischung noch 1 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in 20 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und rasch über NaSO_4 filtriert. Das Filtrat wurde bei vermindertem Druck erneut eingeeengt und der Rückstand aus Hexan umkristallisiert.



Ausbeute: 2.24 g (6 mmol, 57%), farblose Kristalle aus **159a**

Schmp.: 122 - 124 °C (Lit. ^[182]: 120 - 122 °C)

$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{Br}_2\text{NO}_2\text{Si}$ Ber. C 32.54 H 4.10 N 3.79

(369.13) Gef. C 32.44 H 4.21 N 3.74

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 2992 (CH), 1769 (C=O), 1602 (C=C), 1166 (SiCH₃), 1021 (C-Br)

¹³C-NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) = -4.6 (Si-Me₂), 19.0 (C-Me₃), 26.1 (C-Me₃), 131.5 (C-Br x 2), 168.6 (C=O x 2)

¹H-NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) = 0.45 (s; 6H), 0.93 (s; 9H)

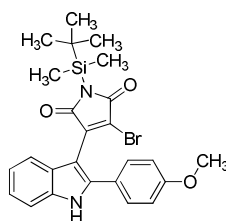
CI-MS (NH_3) m/z (%): 386.8 (100) [$\text{M} + \text{NH}_4^+$]⁺, ⁷⁹Br

5.2.1.4 Kondensation der 2-substituierten Indole mit **159**

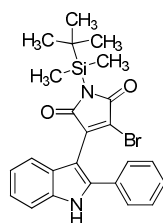
5.2.1.4.1 Allgemeine Synthesevorschrift^[180]

2 mmol des entsprechend 2-substituierten Indols wurden in 10 ml THF unter N₂ bei -20 °C gelöst. 2 equ. LiHMDS (Lithiumhexamethyldisilylamid, 1.06 M Lösung in THF) wurden langsam zugefügt. Nachdem die Lösung für 45 min gerührt worden war, wurden (0.74 g, 2 mmol) TBS-geschütztes Dibrommaleinimid (**159**) (1.0 eq. in 10 ml THF) innerhalb von 3 h zugetropft. Man rührt für weitere 15 min, gießt die Reaktionsmischung in gesättigte wässrige NH₄Cl Lösung (200 ml), extrahiert mit Essigester (4 x 50 ml), filtriert schnell über NaSO₄ und konzentriert die vereinigten org. Phasen i. Vak. Die konzentrierte Lösung wurde durch sc (SiO₂, CH₂Cl₂) gereinigt. Das erhaltende Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung weiter verwendet.

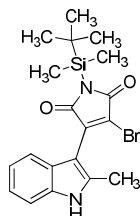
3-Brom-1-(tert-Butyl-dimethylsilanyl)-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (**161**)



Ausbeute:	0.8 g (1.6 mmol, 80%, rote Kristalle) aus 0.45 g, 2 mmol 160
Schmp.:	120 °C (CH ₂ Cl ₂)
C ₂₅ H ₂₇ BrN ₂ O ₃ Si (511.48)	Ber. C 58.71 H 5.32 N 5.48 Gef. C 59.15 H 5.55 N 5.39
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3344 (NH), 3062, 2929, 2857 (CH), 1764 (C=O), 1611 (C=C), 1243 (SiCH ₃)
¹ H-NMR (CDCl ₃ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.42 (s; 6H), 0.93 (s; 9H), 3.82 (s; 3H), 6.88 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 7.20-7.24 (m; 2H, arom.), 7.31-7.37 (m; 3H, arom.), 7.56 (dd; 1H, <i>J</i> = 3.4 Hz, <i>J</i> = 5.6 Hz, arom.), 8.68 (s; 1H)
ES-MS, <i>m/z</i> (%):	512.9 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br

3-Brom-1-(tert-butyl-dimethylsilanyl)-4-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydro-pyrrol-2,5-dion (164)

Ausbeute:	0.28 g (0.58 mmol, 29%, orange Kristalle) aus 0.39 g, 2 mmol 2-Phenylindol (163)
Schmp.:	249.5 °C (CH ₂ Cl ₂)
C ₂₄ H ₂₅ BrN ₂ O ₂ Si (481.46)	Ber. C 59.87 H 5.23 N 5.82 Gef. C 59.51 H 5.29 N 5.66
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3441 (NH), 3038, 2949, 2858 (CH), 1759 (C=O), 1623 (C=C), 1254 (SiCH ₃)
¹ H-NMR (CDCl ₃ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.41 (s; 6H), 0.92 (s; 9H), 7.22-7.27 (m; 2H, arom.), 7.35-7.45 (m; 6H, arom.), 7.58 (dd; 1H, <i>J</i> = 1.6 Hz, <i>J</i> = 7.4 Hz, arom.), 8.71 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	480.1 (100) [M] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-(tert-Butyl-dimethyl-silanyl)-4-(2-methyl-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydro-pyrrol-2,5-dion (167)

Ausbeute:	0.65 g (1.5 mmol, 75%, orange Kristalle) aus 0.26 g, 2 mmol 2-Methylindol (166)
Schmp.:	150.3 - 153.6 °C (EtOAc/CH ₂ Cl ₂)
C ₁₉ H ₂₃ BrN ₂ O ₂ Si • 1/3 EtOAc (448.72)	Ber. C 54.42 H 5.76 N 6.24 Gef. C 54.39 H 6.02 N 6.62
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3384 (NH), 3056, 2929, 2858 (CH), 1764 (C=O), 1625 (C=C), 1323 (SiCH ₃)
¹ H-NMR (CDCl ₃ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.52 (s; 6H), 1.00 (s; 9H), 2.48 (s; 3H), 7.13-7.22 (m; 2H, arom.), 7.32 (dd; 1H, <i>J</i> = 2.3 Hz, <i>J</i> = 6.4 Hz, arom.), 7.46 (dd; 1H, <i>J</i> = 2.6 Hz, <i>J</i> = 6.2 Hz, arom.), 8.35 (s; 1H)

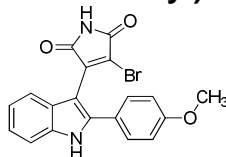
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM NH₄OAc) m/z (%): 463 (7) [M+HCOO]⁻, ⁷⁹Br; 418.9 (100) [M-H]⁺, ⁷⁹Br

5.2.1.5 Entschützung der Silyl-geschützten Indol-maleinimide

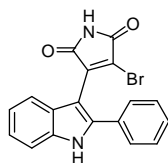
5.2.1.5.1 Allgemeine Synthesevorschrift^[165,182]

Die Substanzen **162**, **165** und **168** wurden durch Abspaltung der Silyl-schutz Gruppe des entsprechenden Silyl-geschützten Indol-maleinimids (**161**, **164**, bzw. **167**) wie folgt synthetisiert: Das entsprechende Silyl-geschützte Indol-maleinimid (1 mmol, Rohprodukt) wurde in 100 ml THF unter N₂ gelöst. TBAF (0.41 g, 1.3 mmol) wurde zugefügt und die Mischung bei Raumtemp. 2 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in Eiswasser gegossen, 200 ml gesättigte NH₄Cl Lösung wurden zugefügt. Die Mischung wurde mit Essigester (2 x 100 ml) extrahiert. Die org. Phasen wurden gesammelt, über NaSO₄ getrocknet und i. Vak. konzentriert. Der Rückstand wurde durch sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc) gereinigt, i. Vak. konzentriert und mit wenig CH₂Cl₂ versetzt, um das Produkt **162** als rote Kristalle auszufällen. Bei **165** und **168** wurde durch Lösen in Essigester und Zugabe von Petrolether umkristallisiert.

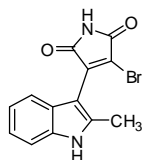
3-Brom-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (**162**)



Ausbeute: 0.14 g (0.35 mmol, 35 %, rote Kristalle) aus 0.51 g **161**
 Schmp.: 258.5 °C (Lit. ^[165]: 262 °C) (MeOH/CH₂Cl₂)
 C₁₉H₁₃BrN₂O₃ • MeOH Ber. C 55.96 H 3.99 N 6.53
 (429.22) Gef. C 56.35 H 4.38 N 6.28
 IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3354 (NH), 2926 (CH), 1778 (C=O), 1610 (C=C)
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 3.80 (s; 3H), 7.04 (dd; 2H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 6.7 Hz, aromat.), 7.10 (d; 1H, *J* = 8.2 Hz, aromat.), 7.15-7.21 (m; 1H, aromat.), 7.43 (d; 2H, *J* = 8.5 Hz, aromat.), 7.49 (dd; 2H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 6.8 Hz, aromat.), 11.32 (s; 1H, austauschbar) 12.02 (s; 1H, austauschbar)
 ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM NH₄OAc) m/z (%): 397 (100) [M-H]⁺, ⁸¹Br; 315 (28) [M-HBr]⁺, ⁸¹Br

3-Brom-4-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (165)

Ausbeute:	0.21 g (0.57 mmol, 57%, rote Kristalle) aus 0.48 g 164
Schmp.:	271.4 - 272 °C (Lit. ^[165] : 270 °C) (EtOAc/Petrolether)
C ₁₈ H ₁₁ N ₂ O ₂ (367.20)	Ber. C 58.88 H 3.02 N 7.63 Gef. C 58.67 H 3.21 N 7.31
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3367 (NH), 3235 (CH), 1702 (C=O), 1620 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 7.11-7.17 (m; 1H, arom.), 7.21-7.27 (m; arom.), 7.37-7.43 (m; 1H, arom.), 7.46-7.52 (m; 4H, arom.), 7.56 (d; 2H, <i>J</i> = 7.6 Hz, arom.), 11.35 (s; 1H, austauschbar), 12.14 (s; 1H, austauschbar)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	369.0 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br

3-Brom-4-(2-methyl-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (168)

Ausbeute:	0.18 g (0.59 mmol, 59%, dunkelrote Kristalle) aus 0.42 g 167
Schmp.:	187 °C (Lit. ^[165] : 185 °C) (EtOAc/Petrolether)
C ₁₃ H ₉ BrN ₂ O ₂ • ½ EtOAc (349.13)	Ber. C 51.60 H 3.75 N 8.02 Gef. C 51.55 H 3.39 N 8.37
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3348 (NH), 3060, 2922 (CH), 1754, 1723 (C=O), 1612 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.41 (s; 3H), 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.36 (dd; 2H, <i>J</i> = 3.2 Hz, <i>J</i> = 7.8 Hz, arom.), 11.32 (s; 1H, austauschbar), 11.72 (s; 1H, austauschbar)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	304.8 (100) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

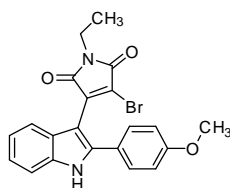
5.2.1.6 Substitution der Silyl-geschützten Indolyl-maleinimide

Die folgende Substanzen (**161a-i**, **164a, d, g, h, i**, **167a-i**) wurden analog und unter den gleichen Bedingungen wie **162**, **165** und **168** synthetisiert^[185]. Zur Reaktion setzt man einen Überschuß an Alkylbromid, Bromethanol oder 2-Bromessigsäureäthylester ein. Anschließend erhält man N-Alkyl, -Hydroxyethyl und -Essigsäureäthylester des 4-(2-substituierten-1*H*-Indolyl) Maleinimids.

5.2.1.6.1 Allgemeine Vorschrift

Zum entsprechenden rohen Silyl-geschützten Indolyl-maleinimid (1.0 mmol) (im Falle von **161h**, **164h**, **167h**, **161i**, **164i**, **167i**; 2 mmol) und TBAF (0.41 g, 1.3 mmol) (im Falle von **161h**, **164h**, **167h**, **161i**, **164i**, **167i**; 2.3 mmol) in 100 ml THF gibt man unter N₂ einen Überschuß an Alkylbromid, Bromethanol oder 2-Bromessigsäureäthylester. Die Mischung wird bei Raumtemp. 2 h gerührt, das Reaktionsgemisch in Eiswasser gegossen und gesättigte NH₄Cl Lösung (200 ml) zugegeben. Die Mischung wird mit Essigester (2 x 100 ml) extrahiert. Die org. Phasen werden gesammelt, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. konzentriert. Der Rückstand wird durch sc (SiO₂, CH₂Cl₂ oder CH₂Cl₂/EtOAc) gereinigt und vom Lösungsmittel befreit. In den meisten Fällen wurde n-Pentan als Lösungsmittel für die Umkristallisation verwendet, sonst verwendet man DCM oder Petrolether für den gleichen Zweck.

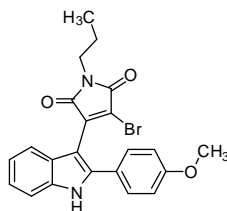
3-Brom-1-ethyl-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (**161a**)



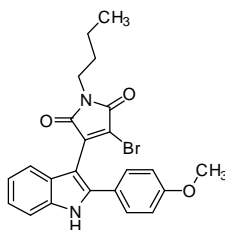
Ausbeute:	0.20 g (0.47 mmol, 47%, rote Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol 161 und 5 mmol, 0.37 ml Bromethan. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂ /EtOAc).
Schmp.:	129 - 131 °C (CH ₂ Cl ₂)
C ₂₁ H ₁₇ BrN ₂ O ₃	Ber. C 59.31 H 4.03 N 6.59
(425.28)	Gef. C 59.11 H 4.29 N 6.40
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3347 (NH), 2980, 2935, 2833 (CH), 1770, 1706 (C=O), 1610 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.13 (t; 3H, J = 7.3 Hz), 3.52 (q; 2H, J = 7.0 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.03 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.16-7.23 (m; 1H, arom.), 7.43-7.53 (m; 4H, arom.), 12.07 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/l NH ₄ OAc) m/z (%):	426.8 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br; 425 (98) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br ; 344.9 (3) [M-HBr] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-1-propyl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (161b)



Ausbeute:	0.17 g (0.39 mmol, 39%, orange Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol 161 und 5 mmol, 0.45 ml Brompropan. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	94 °C (Pentan)
C ₂₂ H ₁₉ BrN ₂ O ₃ • ½ Pentan (475.30)	Ber. C 61.90 H 5.30 N 5.89 Gef. C 61.59 H 4.90 N 5.93
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3347 (NH), 3059, 2962, 2933, 2875 (CH), 1772, 1704 (C=O), 1610 (C=C)
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.84 (t; 3H, J = 7.5 Hz), 1.51-1.59 (m; 2H), 3.44 (t; 2H, J = 7.5 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.02 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.16-7.23 (m; 1H, arom.), 7.44 (d; 2H, J = 9.1 Hz, arom.), 7.50 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 12.08 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/l NH ₄ OAc) m/z (%):	438.8 (100) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-butyl-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (161c)

Ausbeute: 0.12 g (0.26 mmol, 26%, orange Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol **161** und 5 mmol, 0.54 ml Brombutan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 197 °C (Pentan)

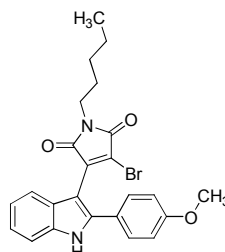
C₂₃H₂₁BrN₂O₃ • ¼ Pentan Ber. C 61.79 H 5.13 N 5.94

(471.33) Gef. C 61.60 H 4.78 N 6.11

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3400 (NH), 3064, 2951, 2928, 2868 (CH), 1773, 1710 (C=O), 1611 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.88 (t; 3H, *J* = 7.4 Hz), 1.21-1.30 (m; 2H), 1.46-1.56 (m; 2H), 3.47 (t; 2H, *J* = 6.7 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.01 (d; 2H, *J* = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; arom.), 7.17-7.23 (m; 1H, arom.), 7.44 (d; 2H, *J* = 10.2 Hz, arom.), 7.50 (d; 2H, *J* = 8.8 Hz, arom.), 12.08 (s; 1H)

ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH₄OAc) *m/z* (%): 454.9 (100) [MH]⁺, ⁸¹Br; 452.9 (97) [MH]⁺, ⁷⁹Br

3-Brom-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-1-pentyl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (161d)

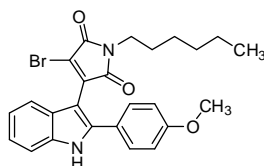
Ausbeute: 0.06 g (0.13 mmol, 13%, orange Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol **161** und 5 mmol, 0.62 ml Brompentan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 90 °C (Pentan)

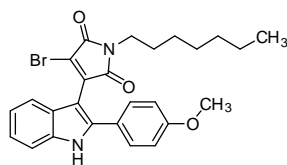
C₂₄H₂₃BrN₂O₃ Ber. C 61.68 H 4.69 N 5.99

(467.36)	Gef. C 61.91 H 4.93 N 6.01
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3347 (NH), 2932, 2859 (CH), 1772, 1702 (C=O), 1610 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 1.18-1.34 (m; 4H), 1.53 (pentett; 2H <i>J</i> = 7.3 Hz), 3.46 (t; 2H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.01 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.17-7.23 (m; 1H, arom.), 7.44 (d; 2H, <i>J</i> = 11.3 Hz, arom.), 7.50 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 12.08 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	468.9 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br; 467 (98) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-hexyl-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (161e)



Ausbeute:	0.16 g (0.33 mmol, 33%, orange Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol 161 und 5 mmol, 0.7 ml Bromhexan. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	85 °C (Pentan)
C ₂₅ H ₂₅ BrN ₂ O ₃ • ¼ Pentan	Ber. C 63.13 H 5.65 N 5.61
(499.38)	Gef. C 62.84 H 5.31 N 5.82
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3347 (NH), 2930, 2857 (CH), 1772, 1699 (C=O), 1610 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, <i>J</i> = 6.7 Hz), 1.25 (br. s; 6H), 1.52 (pentett; 2H, <i>J</i> = 6.8 Hz), 3.47 (t; 2H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.01 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.17-7.23 (m; 1H, arom.), 7.44 (d; 2H, <i>J</i> = 11.8 Hz, arom.), 7.50 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 12.08 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	482.9 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br; 481 (98) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-heptyl-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (161f)

Ausbeute: 0.14 g (0.28 mmol, 28%, orange Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol **161** und 5 mmol, 0.78 ml Bromheptan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 72 °C (Pentan)

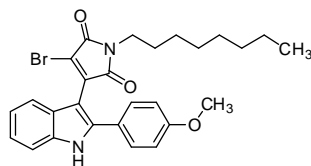
C₂₆H₂₇BrN₂O₃ • ¼ Pentan Ber. C 63.74 H 5.89 N 5.46

(513.41) Gef. C 63.54 H 5.51 N 5.66

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3346 (NH), 3061, 2929, 2856 (CH), 1773, 1707 (C=O), 1610 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.25 (br. s; 8H), 1.52 (pentett; 2H, *J* = 6.6 Hz), 3.46 (t; 2H, *J* = 6.9 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.01 (d; 2H, *J* = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.17-7.23 (m; 1H, arom.), 7.45 (d; 2H, *J* = 4.1 Hz, arom.), 7.50 (d; 2H, *J* = 8.8 Hz, arom.), 12.08 (s; 1H)

ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH₄OAc) *m/z* (%): 496.9 (100) [MH]⁺, ⁸¹Br; 495 (99) [MH]⁺, ⁷⁹Br

3-Brom-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-1-octyl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (161g)

Ausbeute: 0.13 g (0.26 mmol, 26%, orange Kristalle) aus 0.51 g, 1 mmol **161** und 5 mmol, 0.86 ml Bromoctan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 69 °C (Pentan)

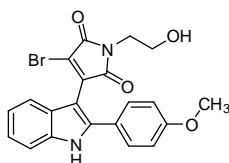
C₂₇H₂₉BrN₂O₃ Ber. C 63.66 H 5.74 N 5.50

(509.43) Gef. C 63.99 H 5.78 N 5.39

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3346 (NH), 3061, 2928, 2855 (CH), 1772, 1708 (C=O), 1610 (C=C)

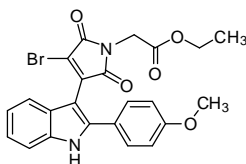
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, J = 7.0 Hz), 1.24 (br. s; 10H), 1.48-1.57 (m; 2H), 3.46 (t; 2H, J = 6.7 Hz), 3.80 (s; 3H), 7.01 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.17-7.23 (m; 1H, arom.), 7.41-7.52 (m; 4H, arom.), 12.08 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH ₄ OAc) m/z (%):	511.0 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br; 509.0 (98) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-(2-hydroxy-ethyl)-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydro-pyrrol-2,5-dion (161h)



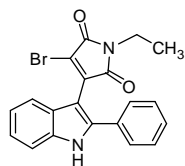
Ausbeute:	0.30 g (0.68 mmol, 34%, rote Kristalle) aus 1.02 g, 2 mmol 161 und 6 mmol, 0.43 ml 2-Bromethanol. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂ /EtOAc).
Schmp.:	189 °C (CH ₂ Cl ₂)
C ₂₁ H ₁₇ BrN ₂ O ₄ • ½ H ₂ O (450.27)	Ber. C 56.01 H 4.03 N 6.22
IR (KBr):	Gef. C 56.33 H 3.90 N 6.22
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	ν (cm ⁻¹) = 3503, 3289 (NH), 3057, 2946, 2919, 2876 (CH), 1772, 1724 (C=O), 1607 (C=C)
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 3.55 (br. s; 4H), 3.80 (s; 3H), 4.90 (t; 1H, J = 5.8 Hz), 7.02 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.17-7.23 (m; 1H, arom.), 7.43-7.49 (m; 2H, arom.), 7.53 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 12.06 (s; 1H)
ESI-MS m/z (%):	442.8 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br

[3-Brom-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dioxo-2,5-dihydropyrrol-1-yl]-essigsäure Ethylester (161i)

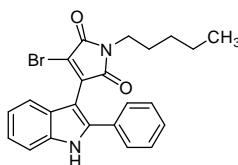


Ausbeute:	0.58 g (1.2 mmol, 60%, rote Kristalle) aus 1.02 g, 2 mmol 161 und 4 mmol, 0.44 ml Bromessigsäureethylester. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	93 °C (CH ₂ Cl ₂)
C ₂₃ H ₁₉ BrN ₂ O ₅ (483.31)	Ber. C 57.16 H 3.96 N 5.80 Gef. C 57.40 H 4.25 N 5.54
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3357 (NH), 3058, 2941, 2838 (CH), 1781, 1758 (C=O), 1610 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.21 (t; 3H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 3.80 (s; 3H), 4.16 (q; 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 4.36 (s; 2H), 7.03 (d; 2H, <i>J</i> = 8.8 Hz, arom.), 7.09-7.15 (m; 1H, arom.), 7.19-7.24 (m; 1H, arom.), 7.41 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, arom.), 7.47-7.53 (m; 3H), 12.1 (s; 1H)
ESI-MS <i>m/z</i> (%):	484.9 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br; 482.9 (97) [MH] ⁺ , ⁹⁷ Br

3-Brom-1-ethyl-4-(2-phenyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (**164a**)



Ausbeute:	0.13 g (0.33 mmol, 33%, orange Kristalle) aus 0.48 g, 1 mmol 164 und 5 mmol, 0.37 ml Bromethan. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	172 °C (Pentan)
C ₂₀ H ₁₅ BrN ₂ O ₂ • 1/3 Pentan (419.25)	Ber. C 62.06 H 4.57 N 6.68 Gef. C 62.12 H 4.33 N 6.84
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3350 (NH), 3059, 2978, 2933 (CH), 1771, 1707 (C=O), 1623 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.12 (t; 3H, <i>J</i> = 7.4 Hz), 3.51 (q; 2H, 7.1 Hz), 7.09-7.15 (m; 1H, arom.), 7.20-7.26 (m; 1H, arom.), 7.36-7.52 (m; 5H), 7.58 (d; 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz, arom.), 12.19 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/l NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	396.8 (100) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br; 395 (98) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-pentyl-4-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (164d)

Ausbeute: 0.16 g (0.37 mmol, 37%, orange Kristalle) aus 0.48 g, 1 mmol **164** und 5 mmol, 0.62 ml Brompentan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 178 °C (Pentan)

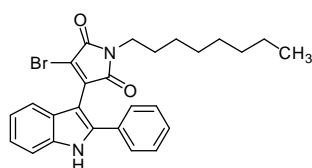
C₂₃H₂₁BrN₂O₂ • ¼ Pentan Ber. C 63.96 H 5.31 N 6.15

(455.33) Gef. C 63.96 H 4.97 N 6.37

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3384 (NH), 3055, 2953, 2927, 2857 (CH), 1771, 1708 (C=O), 1632 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, *J* = 7.0 Hz), 1.16-1.37 (m; 4H), 1.52 (pentet; 2H, *J* = 7.1 Hz), 3.46 (t; 2H, *J* = 7.4 Hz), 7.09-7.15 (m; 1H, arom.), 7.20-7.26 (m; 1H, arom.), 7.36-7.59 (m; 5H), 7.57 (d; 2H, *J* = 6.9 Hz, arom.), 12.20 (s; 1H)

ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/l NH₄OAc) *m/z* (%): 438.9 (100) [MH]⁺, ⁸¹Br

3-Brom-1-octyl-4-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (164g)

Ausbeute: 0.11 g (0.23 mmol, 23%, orange Kristalle) aus 0.48 g, 1 mmol **164** und 5 mmol, 0.86 ml Bromoctan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 137 °C (Pentan)

C₂₆H₂₇BrN₂O₂ • 1/3 Pentan Ber. C 66.00 H 6.21 N 5.56

(503.41) Gef. C 66.39 H 5.81 N 5.90

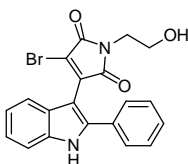
IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3333 (NH), 3062, 2925, 2855 (CH), 1774, 1716 (C=O), 1622, 1609 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, *J* = 7.0 Hz), 1.24 (s; 10H), 1.51

300 MHz): (pentet; 2H, $J = 6.3$ Hz), 3.46 (t; 2H, $J = 6.9$ Hz), 7.09-7.15 (m; 1H, arom.), 7.20-7.26 (m; 1H, arom.), 7.36-7.58 (m; 5H), 7.57 (d; 2H, $J = 6.9$ Hz, arom.), 12.20 (s; 1H)

ES-MS (DCM/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc) m/z (%): 481.0 (100) [MH]⁺, ⁸¹Br

3-Brom-1-(2-hydroxy-ethyl)-4-(2-phenyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (164h)



Ausbeute: 0.66 g (1.60 mmol, 80%, rote Kristalle) aus 0.96 g, 2 mmol **164** und 6 mmol, 0.43 ml 2-Bromethanol. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc).

Schmp.: 128 °C (CH₂Cl₂)

C₂₀H₁₅BrN₂O₃ • ¼ CH₂Cl₂ Ber. C 56.24 H 3.61 N 6.48

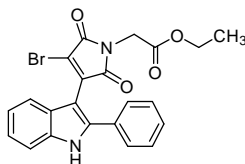
(432.25) Gef. C 56.13 H 3.58 N 6.48

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3487 (NH), 3054, 2938, 2887 (CH), 1772, 1719 (C=O), 1610 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 3.54 (br.s; 4H), 4.90 (t; 1H, $J = 6.0$ Hz), 7.09-7.15 (m; arom.), 7.20-7.26 (m; 1H, arom.), 7.37-7.54 (m; 5H), 7.60 (d; 2H, $J = 6.9$ Hz, arom.), 12.18 (s; 1H)

ESI-MS m/z (%): 453.8 (19) [MH⁺+MeCN]⁺, ⁸¹Br; 412.8 (100) [MH]⁺, ⁸¹Br

[3-Brom-2,5-dioxo-4-(2-phenyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-1-yl]-essigsäure Ethylester (164i)



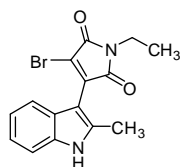
Ausbeute: 0.75 g (1.65 mmol, 82.5%, rote Kristalle) aus 0.96 g, 2 mmol **164** und 6 mmol, 0.66 ml Bromessigsäureethylester. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 96 °C (Diethylether/Petrolether)

C₂₂H₁₇BrN₂O₄ Ber. C 58.29 H 3.78 N 6.18

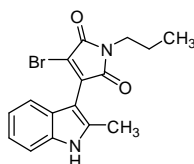
(452.04)	Gef. C 58.48 H 3.75 N 5.98
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3365 (NH), 3059, 2983, (CH), 1781, 1702 (C=O), 1623 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.21 (t; 3H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 4.16 (q; 2H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 4.36 (s; 2H), 7.12-7.17 (m; 1H, arom.), 7.22-7.27 (m; 1H, arom.), 7.36-7.59 (m; 7H, arom.), 12.27 (s; 1H)
ESI-MS <i>m/z</i> (%):	493.9 (18) [MH ⁺ +MeCN] ⁺ , ⁷⁹ Br; 452.9 (100) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br; 905.1 (22) [2M+H] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-ethyl-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167a)



Ausbeute:	0.15 g (0.45 mmol, 45%, orange Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol 167 und 3 mmol, 0.23 ml Bromethan. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	130 °C (Pentan)
C ₁₅ H ₁₃ BrN ₂ O ₂ (333.18)	Ber. C 54.07 H 3.93 N 8.41 Gef. C 54.29 H 4.07 N 8.41
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3351 (NH), 3057, 2976, 2951, (CH), 1770, 1709 (C=O), 1627 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.17 (t; 3H, <i>J</i> = 7.3 Hz), 2.42 (s; 3H), 3.57 (q; 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.34-7.39 (m; 2H, arom.), 11.77 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	352.1 (42) [M+NH ₄] ⁺ , ⁸¹ Br; 335.1 (12) [MH] ⁺ , ⁸¹ Br

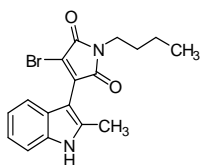
3-Brom-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-1-propyl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167b)



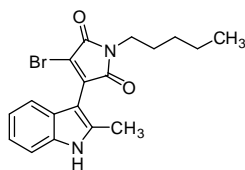
Ausbeute:	0.17 g (0.49 mmol, 49%, orange Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol 167 und 3 mmol, 0.27 ml Brompropan. Reinigung
-----------	---

	durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	132 °C (Pentan)
C ₁₆ H ₁₅ BrN ₂ O ₂	Ber. C 55.35 H 4.35 N 8.07
(346.03)	Gef. C 55.19 H 4.37 N 7.98
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3333 (NH), 2974, 2957, 2874 (CH), 1766, 1701 (C=O), 1622 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.88 (t; 3H, <i>J</i> = 7.4 Hz), 1.54-1.66 (m; 2H), 2.42 (s; 3H), 3.49 (t; 2H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 7.00-7.15 (m; 2H, arom.), 7.37 (dd; 2H, <i>J</i> = 3.4 Hz, <i>J</i> = 7.8 Hz, arom.), 11.77 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	364.1 (100) [M+NH ₄ ⁺] ⁺ , ⁷⁹ Br; 347.1 (34) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-1-butyl-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167c)



Ausbeute:	0.14 g (0.39 mmol, 39%, gelbe Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol 167 und 2 mmol, 0.22 ml Brombutan. Reinigung durch Sc (SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂).
Schmp.:	120 °C (Pentan)
C ₁₇ H ₁₇ BrN ₂ O ₂	Ber. C 56.52 H 4.74 N 7.75
(360.05)	Gef. C 56.68 H 4.86 N 7.65
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3403, 3364 (NH), 2963, 2931, 2860 (CH), 1770, 1708 (C=O), 1625 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.91 (t; 3H, <i>J</i> = 7.3 Hz), 1.21-1.40 (m; 2H), 1.57 (pentett; 2H, <i>J</i> = 7.3 Hz), 2.42 (s; 3H), 3.53 (t; 2H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.36 (dd; 2H, <i>J</i> = 1.4 Hz, <i>J</i> = 7.8 Hz, arom.), 11.77 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	378.1 (100) [M+NH ₄ ⁺] ⁺ , ⁷⁹ Br; 361.1 (35) [MH] ⁺ , ⁷⁹ Br

3-Brom-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-1-pentyl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167d)

Ausbeute: 0.18 g (0.48 mmol, 48%, gelbe Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol **167** und 3 mmol, 0.37 ml Brompentan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 100 °C (Pentan)

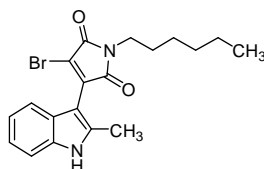
C₁₈H₁₉BrN₂O₂ Ber. C 57.61 H 5.10 N 7.47

(375.26) Gef. C 57.57 H 5.10 N 7.31

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3366 (NH), 3053, 2933, 2857 (CH), 1766, 1713 (C=O), 1620 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.87 (t; 3H, *J* = 7.0 Hz), 1.21-1.36 (m; 4H), 1.58 (pentett; 2H, *J* = 7.3 Hz), 2.42 (s; 3H), 3.52 (t; 2H, *J* = 7.3 Hz), 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.37 (dd; 2H, *J* = 1.4 Hz, *J* = 7.8 Hz, arom.), 11.77 (s; 1H)

CI-MS (NH₃) *m/z* (%): 392.1 (40) [M+NH₄⁺]⁺, ⁷⁹Br; 375.1 (12) [MH]⁺, ⁷⁹Br

3-Brom-1-hexyl-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167e)

Ausbeute: 0.17 g (0.44 mmol, 44%, gelbe Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol **167** und 3 mmol, 0.43 ml Bromhexan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 85 °C (Pentan)

C₁₉H₂₁BrN₂O₂ Ber. C 58.62 H 5.44 N 7.20

(388.08) Gef. C 58.66 H 5.49 N 6.98

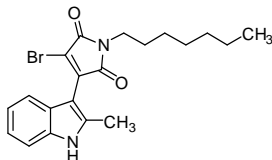
IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3372 (NH), 2929, 2858, (CH), 1767, 1714 (C=O), 1621 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.28 (br. s; 6H), 1.58 (pentett; 2H, *J* = 6.4 Hz), 2.42 (s; 3H), 3.52 (t; 2H, *J* = 7.1 Hz), 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.36 (d; 2H, *J* = 7.7

Hz, arom.), 11.78 (s; 1H)

CI-MS (NH₃) *m/z* (%): 406.1 (73) [M+NH₄⁺]⁺, ⁷⁹Br; 389.1 (13) [MH]⁺, ⁷⁹Br

3-Brom-1-heptyl-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167f)



Ausbeute: 0.18 g (0.45 mmol, 45%, gelbe Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol **167** und 3 mmol, 0.47 ml Bromheptan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 80 °C (Pentan)

C₂₀H₂₃BrN₂O₂ Ber. C 59.56 H 5.75 N 6.95

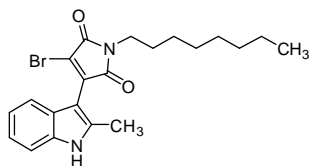
(402.31) Gef. C 59.56 H 5.75 N 6.85

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3458, 3370 (NH), 3053, 2925, 2856 (CH), 1767, 1701 (C=O), 1620 (C=C)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.86 (t; 3H, *J* = 6.4 Hz), 1.28 (br. s; 8H), 1.58 (br. s; 2H), 2.42 (s; 3H), 3.52 (t; 2H, *J* = 6.0 Hz), 7.01-7.14 (m; 2H, arom.), 7.36 (d; 2H, *J* = 7.1 Hz, arom.), 11.78 (s; 1H)

CI-MS (NH₃) *m/z* (%): 420.1 (14) [M+NH₄⁺]⁺, ⁷⁹Br; 403.2 (7) [MH]⁺, ⁷⁹Br

3-Brom-1-heptyl-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (167g)



Ausbeute: 0.14 g (0.34 mmol, 34%, gelbe Kristalle) aus 0.42 g, 1 mmol **167** und 3 mmol, 0.52 ml Bromoctan. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂).

Schmp.: 75 °C (Pentan)

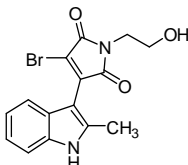
C₂₁H₂₅BrN₂O₂ Ber. C 60.44 H 6.04 N 6.71

(417.34) Gef. C 60.30 H 5.94 N 6.51

IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3458, 3366 (NH), 3054 2925, 2856 (CH), 1767, 1705 (C=O), 1609 (C=C)

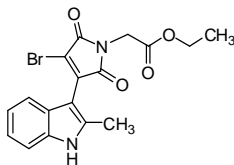
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.89 (t; 3H, J = 6.4 Hz), 1.26 (br., s; 10H, J = 7.7 Hz), 1.58 (pentett; 2H, J = 6.2 Hz), 2.42 (s; 3H), 3.52 (t; 2H, J = 7.0 Hz), 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.36 (d; 2H, J = 8.5 Hz, arom.), 11.78 (s; 1H)
CI-MS (NH_3) m/z (%):	434.1 (67) $[\text{M}+\text{NH}_4^+]^+$, ^{79}Br ; 417.1 (14) $[\text{MH}]^+$, ^{79}Br

3-Brom-1-(2-hydroxy-ethyl)-4--(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (176h)



Ausbeute:	0.38 g (1.082 mmol, 54.1%, orange Kristalle) aus 0.84 g, 2 mmol 167 und 6 mmol, 0.43 ml 2-Bromethanol. Reinigung durch Sc (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).
Schmp.:	144 °C (CH_2Cl_2)
$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_3$ (349.18)	Ber. C 51.60 H 3.75 N 8.02 Gef. C 51.50 H 3.91 N 7.95
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3468 (NH), 2948 (CH), 1768, 1703 (C=O), 1608 (C=C)
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.42 (s; 3H), 3.59 (br. s; 4H), 4.91 (t; 1H, J = 5.8 Hz) 7.00-7.14 (m; 2H, arom.), 7.37 (dd; 2H, J = 5.4 Hz, J = 7.5 Hz, arom.), 11.78 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 0.1% FAc) m/z (%):	348.9 (100) $[\text{M}-\text{H}]^+$, ^{81}Br

[3-Brom-4-(2-methyl-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydro-2,5-dioxo-pyrrol-1-yl]-essigsäure Ethylester (167i)



Ausbeute:	0.77 g (1.97 mmol, 98.5%, orange Kristalle) aus 0.84 g, 2 mmol 167 und 4 mmol, 0.44 ml Bromessigsäure-ethylester. Reinigung durch Sc (SiO_2 , CH_2Cl_2).
Schmp.:	165 °C (Diethylether/Petrolether)

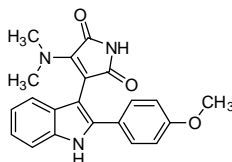
$C_{17}H_{15}BrN_2O_4$	Ber. C 52.19 H 3.86 N 7.16
(391.22)	Gef. C 52.33 H 3.84 N 6.92
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3389 (NH), 2989, 2946 (CH), 1780, 1725 (C=O), 1606 (C=C)
1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.22 (t; 3H, J = 6.9 Hz), 2.43 (s; 3H), 4.18 (q; 2H, J = 7.0 Hz), 4.41 (s; 2H), 7.04-7.17 (m; 2H, aromat.), 7.34-7.42 (m; 2H, aromat.), 11.88 (s; 1H)
ES-MS m/z (%):	433.9 (55) $[MH^+ + MeCN]^+$, ^{81}Br ; 392.8 (100) $[MH]^+$, ^{81}Br

5.2.1.7 Substitution von Brom bei Verbindung 162 durch N- oder S-Nucleophile^[186]

Einführung des Dimethylamino-Substituenten

3-Dimethylamino-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1H-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (169)

200 mg (0.50 mmol) **162** werden mit 2.0 g Dimethylaminhydrochlorid 4 ml Triethylamin und 2 ml Pyridin gelöst. Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemp. über Nacht gerührt. Dann werden die Solventien i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird durch Sc (SiO_2 , CH_2Cl_2 /EtOAc) gereinigt.

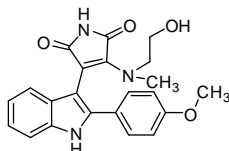


Ausbeute:	0.16 g (0.44 mmol, 88%), orange Kristalle
Schmp.:	266.6 - 270 °C (EtOAc/Petrolether)
$C_{21}H_{19}N_3O_3$ (361.39)	
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3389, 3159 (NH), 3044, 2933, 2839 (CH), 1741, 1685 (C=O), 1610 (C=C)
1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.89 (s; 6H), 3.79 (s; 3H), 6.97-7.13 (m; 4H, aromat.), 7.29 (d; 1H, J = 7.7 Hz, aromat.), 7.37 (d; 1H, J = 8.0 Hz, aromat.) 7.64 (dd; 2H, J = 2.0 Hz, J = 6.9 Hz, aromat.), 10.37 (s; 1H), 11.45 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mmol/l NH_4OAc) m/z (%):	362.2 (100) $[MH]^+$

Einführung des Methyleneanolamino-Substituenten

3-(2-Hydroxyethyl)-methylamino-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (170)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Methyl-ethanolamin. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH).

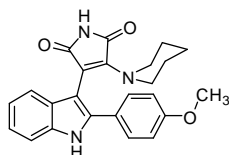


Ausbeute:	0.18 g (0.46 mmol, 92%), gelbe Kristalle
Schmp.:	171.3 - 172.5 °C (EtOAc/Petrolether)
C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₄ (391.42)	
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3453 (NH), 2931 (CH), 1761, 1681 (C=O), 1609 (C=C), 1208 (C-OH)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.81 (s; 3H), 3.38-3.50 (m; 4H), 3.79 (s; 3H), 4.70 (t; 1H, <i>J</i> = 5.0 Hz), 6.96-7.12 (m; 4H, arom.), 7.31-7.38 (m; 2H, arom.), 7.65 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.0 Hz, <i>J</i> = 6.9 Hz, arom.), 10.34 (s; 1H), 11.42 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	409.2 (34) [M+NH ₄ ⁺] ⁺ , 392.2 (100) [MH] ⁺

Einführung des Piperidiny-Substituent

3-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-4-piperidin-1-yl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (171)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Piperidin. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH).



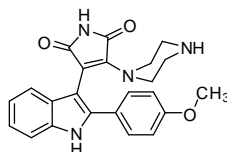
Ausbeute:	0.19 g (0.473 mmol, 95%), orange Kristalle
Schmp.:	255.6 - 257.3 °C (MeOH)
C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₃ • ½ MeOH (417.46)	Ber. C 70.49 H 6.04 N 10.07 Gef. C 70.65 H 5.74 N 9.94
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3388 (NH), 2945, 2915, 2853 (CH), 1752, 1684 (C=O), 1608 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.31 (s. br. s; 6H), 3.38 (br. S; 4H), 3.79 (s; 3H), 6.98 (d; 1H, J = 6.9 Hz, arom.), 7.04 (dd; 2H, J = 2.0 Hz, J = 7.0 Hz, arom.), 7.07-7.13 (m; 1H, arom.), 7.29 (d; 1H, J = 7.7 Hz, arom.), 7.37 (d; 1H, J = 8.0 Hz, arom.), 7.63 (dd; 2H, J = 1.9 Hz, J = 6.9 Hz, arom.), 10.39 (s; 1H), 11.46 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mmol/l NH_4OAc) m/z (%):	436.2 (21) $[\text{M}+\text{Cl}]^+$, 400.2 (100) $[\text{M}-\text{H}]^+$

Einführung des Piperazinyl-Substituenten

3-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-4-piperazin-1-yl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (172)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Piperazin. Reinigung durch Sc (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$).

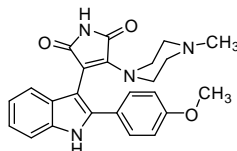


Ausbeute:	0.12 g (0.30 mmol, 60%), orange Kristalle
Schmp.:	169.8 - 172.4 °C (MeOH/Petrolether)
$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{MeOH}$ (434.45)	Ber. C 66.34 H 6.03 N 12.89 Gef. C 66.44 H 5.86 N 13.29
IR (KBr):	ν (cm^{-1}) = 3392 (NH), 3056, 2954, 2838 (CH), 1752, 1701 (C=O), 1610 (C=C)
$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.56 (t; 4H, J = 4.9 Hz), 3.39-3.43 (m; 4 H), 3.83 (s; 3H), 7.00 (d; 2H, J = 9 Hz, arom.), 7.04-7.10 (m; 1H, arom), 7.14-7.20 (m; 1H, arom.), 7.41 (t; 2H, J = 7.8 Hz, arom.), 7.62 (d; 2H, J = 8.8 Hz, arom.), 8.06 (s; 1H), 9.68 (s; 1H)
ES-MS (MeCN/TFA) m/z (%):	403.0 (100) $[\text{MH}]^+$

Einführung des Methylpiperazin-Substituenten

3-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (173)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Methylpiperazin. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH).

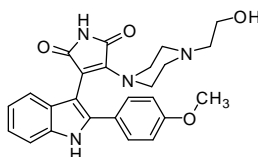


Ausbeute:	0.19 g (0.46 mmol, 92%), orange Kristalle
Schmp.:	281.8 - 284.3 °C (EtOAc/Petrolether)
C ₂₄ H ₂₄ N ₄ O ₃ • ¼ EtOAc (438.18)	Ber. C 68.48 H 5.98 N 12.78 Gef. C 68.69 H 5.85 N 12.87
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3382 (NH), 2938, 2789, (CH), 1752, 1684 (C=O), 1611 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.99 (s; 3H), 2.09 (t; 4H, <i>J</i> = 5.4 Hz), 3.38 (br. s; 4H), 3.79 (s; 3H), 6.99 (d; 1H, <i>J</i> = 7.1 Hz, arom.), 7.04 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.0 Hz, <i>J</i> = 7.0 Hz, arom.), 7.08-7.14 (m; 1H, arom.), 7.30 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, arom.), 7.38 (d; 1H, <i>J</i> = 6.9 Hz, arom.), 7.62 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.0 Hz, <i>J</i> = 6.9 Hz, arom.), 10.46 (s; 1H), 11.50 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mmol/l NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	417.1 (100) [MH] ⁺ , 833.4 (10) [2M+H] ⁺

Einführung des Hydroxyethylpiperazin-Substituenten

3-(4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (174)

Durchführung analog **169** mit (0.5 mmol) **162** und 2 ml 2-(Piperazin-1-yl)ethanol. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH).

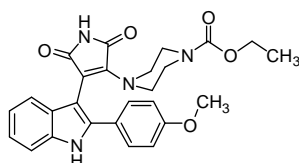


Ausbeute:	0.21 g (0.47 mmol, 94%), rote Kristalle
Schmp.:	261.8 - 264.9 °C (EtOAc/Petrolether)
$C_{25}H_{26}N_4O_4 \cdot \frac{1}{2} H_2O$	Ber. C 65.92 H 5.97 N 12.30
(455.20)	Gef. C 65.61 H 5.81 N 11.93
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3439 (NH), 3015, 2782 (CH), 1752, 1696 (C=O), 1612 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.20 (t; 8H, <i>J</i> = 6.2 Hz), 3.39 (br. s; 4H), 3.79 (s; 3H), 4.31 (t; 1H, <i>J</i> = 5.4 Hz), 6.99 (d; 1H, <i>J</i> = 6.9 Hz, arom.), 7.04 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.1 Hz, <i>J</i> = 7.0 Hz, arom.), 7.08-7.14 (m; 1H, arom.), 7.30 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, arom.), 7.38 (d; 1H, <i>J</i> = 6.7 Hz, arom.), 7.63 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.2 Hz, <i>J</i> = 6.9 Hz, arom.), 10.45 (s; 1H), 11.49 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	446.3 (100) [M] ⁺

Einführung des Ethylpiperazincarboxylat-Substituenten

4-(4-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydro-2,5-dioxo-1*H*-pyrrol-3-yl)-piperazin-1-carboxylsäure-ethylester (175)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Ethyl Piperazin-1-carboxylat. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc).



Ausbeute:	0.20 g (0.42 mmol, 84%), rote Kristalle
Schmp.:	254.4 - 256.8 °C (EtOAc/Petrolether)
$C_{26}H_{26}N_4O_5$	Ber. C 65.81 H 5.52 N 11.81
(474.19)	Gef. C 65.62 H 5.54 N 11.51
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3312 (NH), 3059, 2979, 2901, 2838 (CH), 1749, 1705 (C=O), 1616 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 1.09 (t; 3H, <i>J</i> = 7.1 Hz), 3.17 (t; 4H, <i>J</i> = 4.8 Hz), 3.37 (t; 4H, <i>J</i> = 7.8 Hz), 3.79 (s; 3H), 3.95 (q; 2H, <i>J</i> = 7.0 Hz), 6.99 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, arom.), 7.03 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.3 Hz, <i>J</i> = 6.7 Hz, arom.), 7.09-7.15 (m; 1H,

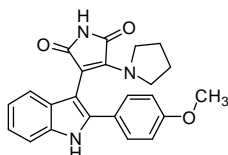
aromat.), 7.33 (d; 1H, $J = 7.7$ Hz, aromat.), 7.39 (d; 1H, $J = 8.0$ Hz, aromat.), 7.63 (dd; 2H, $J = 2.2$ Hz, $J = 6.9$ Hz, aromat.), 10.52 (s; 1H), 11.54 (s; 1H)

CI-MS (NH_3) m/z (%): 474.2 (100) $[\text{M}]^+$, 473.2 (35) $[\text{M}-\text{H}^+]$

Einführung des Pyrrolidin-Substituenten

3-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-4-(pyrrolidin-1-yl)-1*H*-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Pyrrolidin. Reinigung durch Sc (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).



Ausbeute: 0.12 g (0.31 mmol, 62%), rote Kristalle

Schmp.: 274.6 - 277.0 °C (EtOAc)

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$ Ber. C 71.30 H 5.46 N 10.85

(387.43) Gef. C 71.35 H 5.46 N 10.82

IR (KBr): ν (cm^{-1}) = 3365 (NH), 3048, 2881, 2750 (CH), 1740, 1693 (C=O), 1605 (C=C)

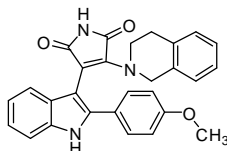
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz): δ (ppm) = 1.58 (br. s; 4H), 2.09 (s; 4H), 3.78 (s; 3H), 6.95-7.21 (m; 4H) 7.26 (d; 1H, $J = 7.7$ Hz, aromat.), 7.37 (d; 1H, $J = 8.0$ Hz, aromat.), 7.64 (dd; 2H, $J = 1.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, aromat.), 10.33 (s; 1H), 11.40 (s; 1H)

CI-MS (NH_3) m/z (%): 405.2 (38) $[\text{M}+\text{NH}_4^+]^+$, 388.1 (100) $[\text{MH}]^+$,

Einführung des Tetrahydroisoquinolin-Substituenten

3-(1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-2-yl)-4-[2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl]-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (177)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin. Reinigung durch Sc (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$).

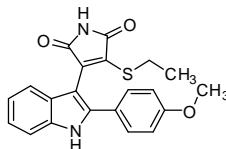


Ausbeute:	0.18 g (0.40 mmol, 80%), orange Kristalle
Schmp.:	216.6 - 217.2 °C (EtOAc/Petrolether)
$C_{28}H_{23}N_3O_3 \cdot \frac{1}{2} H_2O$	Ber. C 73.35 H 5.28 N 9.16
(458.50)	Gef. C 73.23 H 5.24 N 9.03
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3409, 3166 (NH), 3041, 2838, 2766 (CH), 1749, 1688 (C=O), 1613 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 2.58 (t; 2H, <i>J</i> = 5.6 Hz), 3.55-3.71 (m; 2H), 3.76 (s; 3H), 4.58-4.71 (m; 2H), 6.73 (d; 1H, <i>J</i> = 6.9 Hz, aromat.), 6.59-7.00 (m; 4H, aromat.), 7.02-7.14 (m; 3H, aromat.), 7.29 (d; 1H, <i>J</i> = 7.9 Hz, aromat.), 7.41 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, aromat.), 7.60 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.0 Hz, <i>J</i> = 6,9 Hz, aromat.), 10.50 (s; 1H), 11.52 (s; 1H)
CI-MS (NH ₃) <i>m/z</i> (%):	449.3 (100) [M] ⁺ , 448.2 (43) [M-H] ⁺

Einführung des Ethylmercapto-Substituenten

3-Ethylsulfanyl-4-(2-(4-methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (178)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Mercaptoethanol. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc).



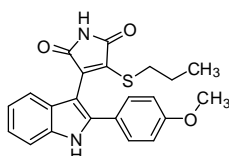
Ausbeute:	0.18 g (0.47 mmol, 94%), rote Kristalle
Schmp.:	244.5 - 247 °C (EtOAc/Petrolether)
$C_{21}H_{18}N_2O_3S \cdot \frac{1}{3} H_2O$	Ber. C 65.61 H 4.89 N 7.29
(384.44)	Gef. C 65.93 H 5.11 N 6.90
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3347 (NH), 3065, 2962, 2834 (CH), 1762, 1705 (C=O), 1598 (C=C), 742 (C-S)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 0.97 (t; 3H, <i>J</i> = 7.4 Hz), 2.70-2.88 (m; 2H), 3.80 (s; 3H), 7.01-7.09 (m; 3H, aromat.), 7.13-7.19 (m; 1H, aromat.), 7.37 (d; 1H, <i>J</i> = 7.7 Hz, aromat.), 7.44 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, aromat.), 7.51 (dd; 2H, <i>J</i> = 2.2 Hz, <i>J</i> = 6.9 Hz, aromat.), 11.04 (s; 1H), 11.83 (s; 1H)

ES-MS (DCM/MeOH + 10 mmol/l NH₄OAc) m/z (%): 379.2 (100) [MH]⁺

Einführung des Propylmercapto-Substituenten

3-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-4-propylsulfanyl-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (179)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml 1-Propanthiol. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc).

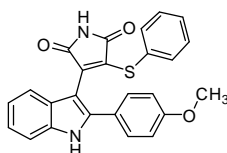


Ausbeute: 0.15 g (0.38 mmol, 76%), rote Kristalle
 Schmp.: 214.8 - 217.6 °C (EtOAc/Petrolether)
 C₂₂H₂₀N₂O₃S Ber. C 67.33 H 5.14 N 7.14
 (392.12) Gef. C 67.11 H 5.22 N 6.94
 IR (KBr): ν (cm⁻¹) = 3349, 3185 (NH), 3070, 2998, 2964, 2931, 2835, 2770 (CH), 1762, 1704 (C=O), 1610 (C=C), 750 (C-S)
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ (ppm) = 0.58 (t; 3H, *J* = 7.4 Hz), 1.31 (q; 2H, *J* = 7.3 Hz) 2.86-2.82 (m; 2H), 3.80 (s; 3H), 7.02-7.09 (m; 3H, arom.), 7.13-7.19 (m; 1H, arom.), 7.36 (d; 1H, *J* = 8.0 Hz, arom.), 7.44 (d; 1H, *J* = 8.0 Hz, arom.), 7.51 (dd; 2H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 6.9 Hz, arom.), 11.05 (s; 1H), 11.83 (s; 1H)
 ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/l NH₄OAc) m/z (%): 393.0 (100) [MH]⁺

Einführung des Phenylmercapto-Substituenten

3-(2-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-indol-3-yl)-4-(phenylthio)-1*H*-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (180)

Durchführung analog **169** mit 0.5 mmol **162** und 2 ml Benzenthio. Reinigung durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc).

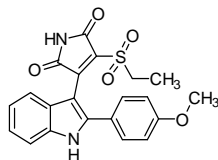


Ausbeute:	0.20 g (0.47 mmol, 94%), rote Kristalle
Schmp.:	119 °C (Diethylether)
$C_{25}H_{18}N_2O_3S \cdot 1/3$ Ether (450.70)	Ber. C 70.10 H 4.77 N 6.21 Gef. C 70.07 H 4.78 N 6.18
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3346 (NH), 3058, 2958, 2837 (CH), 1768, 1710 (C=O), 1609 (C=C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz):	δ (ppm) = 3.81 (s; 3H), 6.97 (d; 2H, <i>J</i> = 7.7 Hz, arom.), 7.01-7.10 (m; 6H, arom.), 7.13 (d; 1H, <i>J</i> = 7.1 Hz, arom.), 7.31 (d; 1H, <i>J</i> = 8.0 Hz, arom.), 7.38 (1H, <i>J</i> = 7.7 Hz, arom.), 7.43 (d; 2H, <i>J</i> = 8.9 Hz, arom.), 11.09 (s; 1H), 11.69 (s; 1H)
ES-MS (DCM/MeOH + 10 mM/I NH ₄ OAc) <i>m/z</i> (%):	427.0 (100) [MH] ⁺

Einführung des Ethylsulfonyl-Substituenten

3-Ethansulfonyl-4-(2-(4-methoxy-phenyl)-1*H*-indol-3-yl)-2,5-dihydropyrrol-2,5-dion (181)⁴¹

1.0 g (2.6 mmol) **178** wird zusammen mit 1.0 g (5.8 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Die Reaktionsmischung wird bei 0 °C 1 h ge rührt. Man gießt die Mischung in eine gesättigte NaHCO₃ Lösung, die org. Phase wird isoliert, über Na₂SO₄ getrocknet und durch Sc (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH) gereinigt.



Ausbeute:	0.37 g (0.90 mmol, 43%) braune Kristalle
Schmp.:	235.2 - 236.3 °C (MeOH/Petrolether)
$C_{21}H_{18}N_2O_5S \cdot 1/2$ MeOH (426.1)	Ber. C 60.55 H 4.73 N 6.57 Gef. C 60.36 H 4.48 N 6.39
IR (KBr):	ν (cm ⁻¹) = 3281 (NH), 2976, 2925 (CH), 1774, 1731 (C=O), 1610 (C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ (ppm) = 1.19 (t; 3H, $J = 7.3$ Hz), 3.41 (q; 2H, $J = 7.6$ Hz), 3.81 (s; 3H), 7.04-7.21 (m; 4H, arom.), 7.43-7.48 (m; 3H, Aromat.), 7.54 (d; 1H, $J = 7.7$ Hz, arom.), 11.60 (s; 1H), 12.22 (s; 1H)

ES-MS (DCM/MeOH + 10 mmol/l NH_4OAc) m/z (%): 411.0 (100) $[\text{MH}]^+$

6 Literaturverzeichnis

6 Literaturverzeichnis

- (1) http://en.wikipedia.org/wiki/Infectious_disease.
- (2) Kayser, F.H.; Bienz, K.A.; Eckert, J.; Zinkernagel, R.M. *Medical Microbiology*, 10th. ed., Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2005**, 2-40, 146-228.
- (3) Peterson, L.R. "Currently available antimicrobial agents and their potential for use as monotherapy". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2008**, 14, 30-45
- (4) WHO: *The world health report, 2004, Annex Table 2*. Retrieved on 2008-11-01.
- (5) WHO, "*Global Burden of Diseases*", **2004**, Part II, Causes of Death, 7-26.
- (6) Soto, S.M. "Human migration and infectious diseases". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2009**, 15, 26-28.
- (7) Segura, P A; François, M; Gagnon, C.; Sauvé, S. "Review of the occurrence of anti-infectives in contaminated wastewaters and natural and drinking Waters". *Environmental Health Perspectives*, **2009**, 117, 675-684.
- (8) Mutschler, M.; Derendorf, H.; Schäfer-Korting, M.; Elord, K.; Estes, K.S. *Drug Actions: Basic Principles and Therapeutic Aspects*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, **1995**, 515-557.
- (9) Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H.K.; Ruth, P.; Schäfer-Korting, M. *Arzneimittelwirkungen*, 9. neu bearbeitete und erweiterte Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **2008**, 794-856.
- (10) Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; Moore, P.K. *Pharmacology*, 5th. ed., Elsevier Churchill Livingstone, **2003**, 620-653.
- (11) Madigan, M.T.; Martinko, J.M. *Brock - Mikrobiologie*, 11. aktualisierte Aufl., Pearson Studium, München, **2009**.
- (12) Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Dunlop, P.V.; Clark, D.P. *Brock - Biology of Microorganisms*, 12th. ed. (Pearson International Edition), San Francisco, Munich, **2009**, 381 & 395.
- (13) Porter, J.R. "Antony van Leeuwenhoek: Tercentenary of his discovery of bacteria". *Bacteriological reviews*, **1976**, 40, 260-269.
- (14) Flemming, H.C.; Wingender, J. "Biofilme - die bevorzugte Lebensform der Bakterien". *Biologie in unserer Zeit*, **2001**, 31, 169-180.
- (15) Van Leeuwenhoek, A. "Part of a letter from Mr. Antony van Leeuwenhoek".

- Philosophical Transactions of the Royal Society of London (1683-1775)*, **1700**, 22, 509-518.
- (16) Madigan, M.T.; Martinko, J.M. *Brock Mikrobiologie*, 11. überarbeitete Aufl., Pearson Studium, München, **2006**, 62-109.
- (17) Lodish, H.; Berk, A.; Matsudaira, P.; Kaiser, C.A.; Krieger, M.; Scott, M.P.; Zipursky, S.L.; Darnell, J. *Molecular Cell Biology*, 5th. ed., W. H. Freeman, and company, New York, Basingstoke, **2004**, 2-3, 147.
- (18) Thanbichler, M.; Wang, S.; Shapiro, L. "The bacterial nucleoid: a highly organized and dynamic structure". *Journal of Cellular Biochemistry*, **2005**, 96, 506-521.
- (19) Fuerst, J. "Intracellular compartmentation in planctomycetes". *Annual Review in Microbiology*, **2005**, 59, 299-328.
- (20) Van Heijenoort, J. "Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan". *Glycobiology*, **2001**, 11, 25-36.
- (21) Gram, H.C. "Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten". *Fortschritte der Medizin*, **1884**, 2, 185-189.
- (22) Kojima, S.; Blair, D. "The bacterial flagellar motor: structure and function of a complex molecular machine". *International Review of Cytology*, **2004**, 233, 93-134.
- (23) Bardy, S.L.; Ng, S.Y.; Jarrell, K.F. "Prokaryotic motility structures". *Microbiology* **2003**, 149, 295-304.
- (24) Nealson, K. "Post-Viking microbiology: new approaches, new data, new insights". *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, **1999**, 29, 73-93.
- (25) Harvey, R.A.; Champe, P.C.; Fisher, B.D. *Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology*, 2nd. ed., Lippincott Williams and Wilkins, **2007**, 49-58.
- (26) Koch, A. "Control of the bacterial cell cycle by cytoplasmic growth". *Critical Reviews in Microbiology*, **2002**, 28, 61-77.
- (27) Brown, A.E. *Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology*, 8th. ed., McGraw-Hill, Madison WI, **2001**, 64-66.
- (28) Harley, J.P.; Prescott, L.M. *Laboratory Exercises in Microbiology*, 5th. ed., McGraw-Hill, New York, **2002**, 43-47.
- (29) Harvey, R.A.; Champe, P.C.; Fisher, B.D. *Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology*, 2nd. ed., Lippincott Williams and Wilkins, New York, London, Hong Kong, Sydney, **2007**, 21.

- (30) Schlegel, H.G.; Fuchs, G. *Allgemeine Mikrobiologie*, 8. vollständig, überarbeitete und erweiterte Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2007**, 135-137.
- (31) Verstraete, W. "Microbial ecology and environmental biotechnology". *The ISME Journal*, **2007**, 1, 4-8.
- (32) Moya; A.; Gil, R.; Latorre, A. "The evolutionary history of symbiotic associations among bacteria and their animal hosts: a model". *Clinical Microbiology and Infection*, **2009**, 15, 11-13.
- (33) O'Hara, A.; Shanahan, F. "The gut flora as a forgotten organ". *EMBO Reports*, **2006**, 7, 688-93.
- (34) Zoetendal, E.; Vaughan, E.; de Vos, W. "A microbial world within us". *Molecular Microbiology*, **2006**, 59, 1639-1650.
- (35) Sears, C.L. "A dynamic partnership: celebrating our gut flora". *Anaerobe*, **2005**, 11, 247-251.
- (36) Guarner, F.; Malagelada, J.R. "Gut flora in health and disease". *The Lancet*, **2003**, 361, 512-519.
- (37) Steinhoff, U. "Who controls the crowd? New findings and old questions about the intestinal microflora". *Immunology Letters*, **2005**, 99, 12-16.
- (38) Reid, G.; Howard, J.; Gan, B.S. "Can bacterial interference prevent infection?". *Trends in Microbiology*, **2001**, 9, 424-8.
- (39) Hudault, S.; Guignot, J.; Servin, A.L. "*Escherichia coli* strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against *salmonella typhimurium* infection". *Gut*, **2001**, 49, 47-55.
- (40) Johnson, M.; Lucey, J. "Major technological advances and trends in cheese". *Journal of Dairy Science*, **2006**, 89, 1174-1178.
- (41) Hagedorn, S.; Kaphammer, B. "Microbial biocatalysis in the generation of flavor and fragrance chemicals". *Annual Review in Microbiology*, **1994**, 48, 773-800.
- (42) Neves, L.C.; Miyamura, T.T.; Moraes, D.A.; Penna, T.C.; Converti, A. "Biofiltration methods for the removal of phenolic residues". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **2006**, 129-132, 130-52.
- (43) Bozsik, A. "Susceptibility of adult *Coccinella septempunctata* to insecticides with different modes of action". *Pest Management Science*, **2006**, 62, 651-654.

- (44) Chattopadhyay, A.; Bhatnagar, N.; Bhatnagar, R. "Bacterial insecticidal toxins". *Critical Reviews in Microbiology*, **2004**, 30, 33-54.
- (45) Serres, M.H.; Gopal, S.; Nahum, L.A.; Liang, P.; Gaasterland, T.; Riley, M. "A functional update of the *Escherichia coli* K-12 genome". *Genome Biology*, **2001**, 2, 0035.1-0035.7.
- (46) Fish, D.N. "Optimal antimicrobial therapy for sepsis". *American Journal of Health-System Pharmacy*, **2002**, 59, 13-19.
- (47) Belland, R.; Ouellette, S.; Gieffers, J.; Byrne, G. "Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis". *Cellular Microbiology*, **2004**, 6, 117-127.
- (48) Heise, E. "Diseases associated with immunosuppression". *Environmental Health Perspectives*, **1982**, 43, 9-19.
- (49) Saiman, L. "Microbiology of early CF lung disease". *Paediatric Respiratory Reviews*, **2004**, 5, 367-369.
- (50) Seifart, C. "Tuberkulose: Ein globaler Gesundheitsnotfall". *Pharmazeutische Zeitung*, **2008**, 153, 14-16.
- (51) Hawley, I.; Ruebush, M. *Kaplan medicalstep1: Microbiology and immunology*, 9-110.
- (52) Naber, C.K. "Future strategies for treating *staphylococcus aureus* bloodstream infections". *Clinical Microbiology and Infection*, **2008**, 14, 26-34.
- (53) Garninger, W. "Serious staphylococcal infections—cyclic lipopeptides: meeting new challenges". *Clinical Microbiology and Infection*, **2008**, 14, 1-2.
- (54) Levy, M.M.; Fink, M.P.; Marshall, J.C. "International sepsis definitions conference". *Critical Care Medicine*, **2003**, 31, 1250-1256.
- (55) Bone, R.C.; Balk, R.A.; Cerra, F.B. "Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis". *Chest*, **1992**, 101, 1644-1655.
- (56) Bodmann, K.F.; Vogel, F. "Antimikrobielle Therapie der Sepsis". *Chemotherapie Journal*, **2001**, 10, 43-56.
- (57) Paul, M. "Is there a treatment for sepsis other than antibiotics?". *Clinical Microbiology and Infection*, **2009**, 15, 297.
- (58) Cohen, J. "Non-antibiotic strategies for sepsis". *Clinical Microbiology and Infection*, **2009**, 15, 302-307.
- (59) Waksman, S. A. "What is an antibiotic or an antibiotic substance?". *Mycologia*, **1947**, 39, 565-569.

- (60) Waksman, S. A. "An institute of microbiology - Its aims and purposes" *Science*, **1949**, 110, 27-30.
- (61) Von Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.; Weigand, S.; Häbich, D. "Antibacterial natural products in medicinal chemistry - exodus or revival?". *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**, 45, 5072–5129.
- (62) von Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.; Weigand, S.; Häbich, D. "Antibakterielle Naturstoffe in der medizinischen Chemie - Exodus oder Renaissance?". *Angewandte Chemie*, **2006**, 118, 5194-5254.
- (63) Jassoy, C.; Schwarzkopf, A. *Hygiene, Mikrobiologie und Ernährungslehre für Pflegeberufe*, 1. Aufl., George Thieme Verlag, **2004**, 63-64.
- (64) Lindblad, W.J. "Considerations for determining if a natural product is an effective wound-healing agent". *International Journal of Lower Extremity Wounds*, **2008**, 7, 75-81.
- (65) <http://www.enotes.com/how-products-encyclopedia/antibiotic>.
- (66) Forrest, R.D. "Early history of wound treatment". *Journal of the Royal Society of Medicine*, **1982**, 75, 198-205.
- (67) Wainwright, M. "Moulds in ancient and more recent medicine". *Mycologist*, **1989**, 3, 21-23.
- (68) Landsberg, H. "Prelude to the discovery of penicillin". *Isis*, **1949**, 40, 225–227.
- (69) Doerr, H.W. "Ehrlich färbt am besten". *Chemotherapie Journal*, **2005**, 14, 1-7.
- (70) Bosch, F.; Rosich, L. "The contributions of Paul Ehrlich to pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his Nobel Prize". *Pharmacology*, **2008**, 82, 171-179.
- (71) Limbird, L.E. "The receptor concept: a continuing evolution". *Molecular Intervention*, **2004**, 4, 326-336.
- (72) Fleming, A. "On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae". *British Journal of Experimental Pathology*, **1929**, 10, 226-236.
- (73) Wennergren, G.; Lagercrantz, H. "One sometimes finds what one is not looking for" (Sir Alexander Fleming): the most important medical discovery of the 20th century". *Acta Paediatrica*, **2007**, 96, 141-144.
- (74) Colebrook, L. "Gerhard Domagk". *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*, **1964**, 10, 39-50.
- (75) Bryskier, A. "Gerhard Johannes Paul Domagk". *Chemotherapie Journal*,

- 2003**, 12, 97-105.
- (76) Parascandola, J. "The history of antibiotics: a symposium" *American Institute of the History of Pharmacy*, **1980**, No. 5.
- (77) Schatz, A.; Bugie, E.; Waksman, S.A. "Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria". *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **1944**, 55, 66-69.
- (78) Comroe, J.H. Jr. "Pay dirt: the story of streptomycin. Part I: from Waksman to Waksman". *The American Review of Respiratory Disease*, **1978**, 117, 773-781.
- (79) Ehrlich, J. Bartz, Q.R.; Smith, R.M.; Joslyn, D.A. "Chloromycitin, a new antibiotic from a soil actinomycete". *Science*, **1947**, 106, 417.
- (80) Controulis, J.; Rebstock, M.C.; Crooks, H.M.Jr. "Chloramphenicol (chloromycitin) synthesis". *Journal of the American Chemical Society*, **1949**, 71, 2463-2468.
- (81) Duggar, B.M. "Aureomycin: a product of the continuing search for new antibiotics". *Annals of the New York Academy of Science*, **1948**, 177-181.
- (82) McGuire, J.M.; Bunch, R.L.; Anderson, R.C.; Boaz, H.E.; Flynn, E.H.; Powell, H.M.; Smith, J.W.; "Ilotycin, a new antibiotic". *Antibiotics and Chemotherapy*, **1952**, 2, 821-283.
- (83) Mc Corry, R.L.; Weaver, J.A. "Tetracycline". *The Lancet*, **1955**, 268, 1102-1105.
- (84) Podolsky, M.L. "Cures out of chaos: how unexpected discoveries led to breakthroughs in medicine and health". *Harwood Academic Publishers*, **1998**.
- (85) Abraham, E.F.; Newton, G.G.F. "The structure of cephalosporine C". *Biochemical Journal*, **1961**, 79, 377-393.
- (86) McCormick, M.H.; McGuire, W.M.; Pittenger, G.E.; Pittenger, R.C.; Stark, W.M. "Vancomycin, a new antibiotic: chemical and biological properties". *Antibiotics Annual (1956)*, *New York, Medical Encyclopedia*, **1955-1956**, 3, 606-611.
- (87) Chabbert, Y.A.; Acar, J.F. "Bacteriostatic and bactericidal interactions of the streptogramin group". *Annales de l'Institut Pasteur*, **1964**, 107, 777-790.
- (88) Leclercq, R.; Courvalin, P. "Streptogramins: an answer to antibiotic resistance in gram-positive bacteria". *The Lancet*, **1998**, 352, 591-592.

- (89) Wentland, M.P.; George, Y.L.; Wolfson, J.S. "Quinolone antimicrobial agents", 2th. ed., *American Society for Microbiology, Washington DC: 1993*, XIII - XIV.
- (90) Norris, S.; Mandell, G.L.; "The quinolones: history and overview", *Academic Press Inc, San Diego, 1988*, 1-22.
- (91) Kahan, J.S.; Kahan, F.M. *Merk & Co. Inc. U.S. Patent 3,950,357 1976*.
- (92) Birnbaum, J.; Kahan, F.M.; Kropp, H.; McDonald, J.S. "Carbapenems, a new class of beta-lactam antibiotics. Discovery and development of imipenem/cilastatin". *American Journal of Medicine, 1985*, 78, 3-21.
- (93) Schaumann, R.; Rodloff, A. C. "Activities of quinolones against obligately anaerobic bacteria". *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry, 2007*, 6, 49-56.
- (94) Frahm, A.W.; Hager, H.H.J.; v. Bruchhausen, F.; Albinus, M.; Hager, H. *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis: Folgeband 4: Stoffe A-K*, Birkhäuser Verlag, Boston, Berlin und Basel, **1999**.
- (95) Michael, Z. "Antimicrobial peptides of multicellular organisms". *Nature, 2002*, 415, 389-395.
- (96) Hancock, R.E.; Sahl, H-G. "Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies". *Nature Biotechnology, 2006*, 24, 1551-1557.
- (97) Livermore, D.M.; Mushtaq, S.; Warner, M.; Woodford, N. "Activity of oxazolidinone TR-700 against linazolid-susceptible and -resistant staphylococci and enterococci". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2009*, 63, 713-715.
- (98) Livermore, D.M.; Mushtaq, S.; Warner, M. "Selectivity of ertapenem for *Pseudomonas aeruginosa* mutants cross-resistant to other carbapenems". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2005*, 55, 306-311.
- (99) Tally, F.P.; DeBruin, M.F. "Development of daptomycin for gram-positive infections". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2000*, 46, 523-526.
- (100) Charles, P.G.; Grayson, M.L. "The death of new antibiotic development: why we should be worried and what we can do about it". *Medical Journal of Australia, 2004*, 181, 549–553.
- (101) Fowler, V.G.; Boucher, H.W.; Corey, G.R. "Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *staphylococcus aureus*". *New England Journal of Medicine, 2006*, 355, 653–665.

- (102) Rose, W.; Rybak, M. "Tigecycline: first of a new class of antimicrobial agents". *Pharmacotherapy*, **2006**, 26, 1099-1110.
- (103) Kasbekar, N. "Tigecycline: a new glycyclcycline antimicrobial agent". *American Journal of Health-System Pharmacy*, **2006**, 63, 1235-1243.
- (104) Bush, K.; Macielag, M.; Weidner-Wells, M. "Taking inventory: antibacterial agents currently at or beyond phase 1". *Current opinion in Microbiology*, **2004**, 7, 466-476.
- (105) Peterson, L.R. "A review of tigecycline – the first glycyclcycline". *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2008**, 32, S4, 215-222.
- (106) Hebeisen, P.; Heinze-Krauss, I.; Angehrn, P. "In vitro and in vivo properties of Ro63-9141, a novel broad-spectrum cephalosporin with activity against methicillin-resistant staphylococci". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2001**, 45, 825-836.
- (107) Yun, H.C.; Ellis, M.W.; Jorgensen, J.H. "Activity of ceftobiprole against community-associated methicillin-resistant *staphylococcus aureus* isolates recently recovered from US military trainees". *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2007**, 59, 463-466.
- (108) Widmer, A. "Ceftobiprole: A new option for treatment of skin and soft-tissue infections due to methicillin-resistant *staphylococcus aureus*". *Clinical Infectious Diseases*, **2008**, 46, 656-658.
- (109) Noel, G.J.; Bush, K., Bagchi, P., Lanus, J.; Strauss, R.S. "A randomized, double-blind trial comparing ceftobiprole medocaril with vancomycin plus ceftazidime plus ceftazidime for the treatment of patients with complicated skin and skin-structure infections". *Clinical Infectious Diseases*, **2008**, 46, 647-655.
- (110) Update 3-Basilea superbug drug approved in Canada, Reuters News, June 30, **2008**.
- (111) Frensch, G.L. "What's new and not so new on the antimicrobial horizon? ". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. **2008**, 14, 19-29.
- (112) <http://www.enjoyfrance.com/content/view/390/31/>.
- (113) Belgado, J.N; Remers, W.A. *Wilson and Gisvold's: Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry*. 10th. ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, **1998**, 253-325.
- (114) Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavec, M.; Roth, H.J. *Medizinische Chemie*:

- Target und Arzneistoffe*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, **2005**, 503-551.
- (115) Holten, K.B.; Onusko, E.M. "Appropriate prescribing of oral beta-lactam antibiotics". *American family physician*, **2000**, 62, 611-620.
- (116) Garau, J. "Other antimicrobials of interest in the era of extended-spektrum β -lactamases: fosfomycin, nitrofurantoin and tigecycline". *Clinical Microbiology and Infection*, **2008**, 14, 198-202.
- (117) Tu, Y.; McCalla, D.R. "Effect of activated nitrofurans on DNA". *Biochimica et Biophysica Acta*, **1975**, 402, 142-149.
- (118) Cardoso, L.S.; Araujo, M.I.; Góes, A.M.; Pacífico, L.G.; Oliveira, R.R.; Oliveira, S.C. "Polymyxin B as inhibitor of LPS contamination of schistosoma mansonii recombinant proteins in human cytokine analysis". *Microbial Cell Factories*, **2007**, 6, 1.
- (119) Hooper, D.C. "Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance". *Emerging Infectious Diseases*, **2001**, 7, 337-341.
- (120) Belgado, J.N.; Remers, W.A. *Wilson and Gisvold's: Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry*. 10th. ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, **1998**, 223-232.
- (121) Cornelis, P. *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*, 1st. ed., Caister Academic Press, Norfolk, UK, **2008**.
- (122) Edwards, P. *Combinatorial chemistry*, **2001**, 6, 271-272.
- (123) Wilhelm, C.; Shah, P.M. "In-Vitro-Aktivität von Linazolid". *Chemotherapie Journal*, **2002**, 11, 113-116.
- (124) Albrich, W.C.; Monnet, D.L.; Harbarth, S. "Antibiotic selection pressure and resistance in *streptococcus pneumoniae* and *streptococcus pyogenes*". *Emerging Infectious Diseases*, **2004**, 10, 514-517.
- (125) Chastre, J. "Evolving problems with resistant pathogens". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2008**, 14, 3-14.
- (126) Daniels, C.; Ramos, J.L. "Adaptive drug resistance mediated by root-nodulation-cell division efflux pumps". *Clinical Microbiology and Infection*, **2009**, 15, 32-36.
- (127) Jimenez-Valera, M.; Ruiz-Bravo, A.; Ramos-Cormenzana, A. "Bacterial resistance to antimicrobial agents: mechanisms and challenges". *New Approaches in the Use of Antibiotics*, **2003**, 63-81.

- (128) Projan, S. J. "New (and not so new) antibacterial targets – from where and when will the novel drugs come?". *Current Opinion Pharmacology*, **2002**, 2, 513-522.
- (129) Wright, G.D. "Antibiotics: bacterial resistance". *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, **2009**, 1, 71-89.
- (130) Wiegand, I. "Molekulare und biochemische Grundlagen der Beta-Lactam-Resistenz durch Beta-Lactamasen". *Chemotherapie Journal*, **2003**, 12, 151-167.
- (131) <http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/bactresanti.html>
- (132) Woodford, N; Wareham, D.W. "Tacking antibiotic resistance: a dose of common antisense?". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2009**, 63, 225-229.
- (133) Tacconelli, E. "Methicillin-resistant *staphylococcus aureus*: risk assessment and infection control policies". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2008**, 14, 407-410.
- (134) Kniehl, E. "Nachweis Methicillin-resistenter *staphylococcus aureus* (MRSA) im Routinelabor". *Chemotherapie Journal*, **2006**, 15, 152-161.
- (135) Grim, S.A.; Hong, I; Freeman, J.; Edwards, E.; Clark, N.M. "Daptomycin for the treatment of vancomycin resistant enterococcal infections". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2008**, 414-416.
- (136) Theuretzbacher, U. "Future antibiotics scenarios: is the tide starting to turn?". *International journal of Antimicrobial Agents*, **2009**, 34, 15-20.
- (137) Projan, S.J. "Why is big Pharma getting out of antibacterial drug discovery?". *Current Opinion in Microbiology*, **2003**, 6, 427-430.
- (138) Frechette, R. "New development in antibacterial drug R&D". *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, **2007**, 42, 349-364.
- (139) Vooturi, S.K.; Rybak, M.; Firestine, S.M. "Mechanistic studies of novel antibacterials". *237th ACS National Meeting, United States*, March 22-26, **2009**.
- (140) Holzgrabe, U. "Neuigkeiten auf dem Gebiet der Antibiotika". *Deutsche Apotheker Zeitung*, **2007**, 147, 93.
- (141) Nicolaou, K.C.; Chen, J.S.; Edmonds, D.J.; Estrada, A.A. "Recent advances in the chemistry and biology of naturally occurring antibiotics". *Angewandte Chemie International Edition*, **2009**, 48, 660-719.

- (142) Tsiodras, S.; Gold, H.S.; Sakoulas, G.; Eliopoulos, G.M.; Wennersten, C.; Venkataraman, L.; Moellering, R.C.; Ferraro, M.J. "Linezolid resistance in a clinical isolate of *staphylococcus aureus*". *The Lancet*, **2001**, 358.
- (143) Holzgrabe, U. "Antibiotika-Entwicklung gestern und heute". *Chemotherapie Journal*, **2004**, 13, 142-147.
- (144) Cornaglia, G.; Rossolini, G.M. "Forthcoming therapeutic perspectives for infections due to multidrug-resistant Gram-positive pathogens". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2009**, 15, 218-223.
- (145) Cornaglia, G. "Fighting infections due to multidrug-resistant gram-positive pathogens". *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2009**, 15, 209-211.
- (146) Tenver, F.C.; Biddle, J.W.; Lancaster, M.V. "Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *staphylococcus aureus*". *Emerging Infectious Diseases*, **2001**, 7, 327-332.
- (147) Kasanah, N.; Hamann, M. T. "Development of antibiotics and the future of marine microorganisms to stem the tide of antibiotic resistance". *Current Opinion in Investigational Drugs*, **2004**, 5, 827-837.
- (148) Kaats, G.W. "Inhibition of bacterial efflux pumps: a new strategy to combat increasing antimicrobial agent resistance". *Expert Opinion on Emerging drugs*, **2002**, 7, 223-233.
- (149) Aguilar, L.; Gimenez M.J.; Garcia-Rey, C.; Martin, J.E. "New strategies to overcome antimicrobial resistance in *streptococcus pneumoniae* with β -lactam antibiotika". *Spain Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2002**, 50, 93-100.
- (150) McDevitt, D.; Rosenberg, M. "Exploiting genomics to discover new antibiotics". *Trends in microbiology*, **2001**, 9, 611-617.
- (151) Xu, H.H.; Real, L.; Wu Bailey, M. "An array of *escherichia coli* clones over-expressing essential proteins: A new strategy of identifying cellular targets of potent antibacterial compounds". *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2006**, 349, 1250-1257.
- (152) Cheng, Q.; Wang, S.; Salyers, A.A. "New approaches for anti-infective drug discovery: Antibiotics, vaccines and beyond". *Current Drug Targets: Infectious Disorders*, **2003**, 3, 65-76.
- (153) Freiberg, C.; Osterhelt, H.B. "Functional genomics in antibacterial drug discovery". *Drug Discovery Today: Targets*, **2005**, 10, 927-935.

- (154) Payne, D.; Tomasz, A. "The challenge of antibiotic resistant bacterial pathogens: the medical need, the market and the prospects for new antimicrobial agents". *Current Opinion in Microbiology*, **2004**, 7, 435-438.
- (155) Chu, D.T.W.; Plattner, J.J.; Katz, L. "New Direction in Antibacterial Research". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1996**, 39, 3853-3874.
- (156) Hung, D.T.; Pierson, E. "Targeting virulence as a new antibiotic strategy". *234th ACS National Meeting, United States, August 19-23, 2007*.
- (157) Clatworthy, A.E.; Pierson, E.; Hung, D.T. "Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy". *Nature Chemical Biology*, **2007**, 3, 541-548.
- (158) Barczak, A.K.; Hung, D.T. "Productive steps toward an antimicrobial targeting virulence". *Current Opinion in Microbiology*, **2009**, 12, 490-496.
- (159) Holzgrabe, U. "Neue Antibiotika in Sicht?". *Pharmazie in unserer Zeit*, **2009**, 38, 106-108.
- (160) Butler, M.S.; Buss, A.D. "Natural product – The future scaffolds for novel antibiotics". *Biochemical Pharmacology*, **2006**, 7, 919-929.
- (161) Sancelme, M.; Fabre, S.; Prudhomme, M. "Antimicrobial activity of indolocarbazole and bis-indole protein kinase inhibitors". *The Journal of Antibiotics*, **1994**, 47, 792-798.
- (162) Kim, Y.S.; Sagara, J.; Kawai, A. "Studies on the antiviral activity of protein kinase inhibitors against the replication of vesicular stomatitis virus". *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **1995**, 18, 859-899.
- (163) Slater, M.J.; Cockerill, G.S.; Robinson, J.E. "Antiviral indole derivatives", *PTC WO 95/07,910, 1995. Chemical Abstracts*, 123, P 256682m, **1995**.
- (164) Davis, P.D.; Hill, C.H.; Lawron, G.; Nixon, J.S.; Wilkinson, S.E.; Hurst, S.A.; Keech, E.; Turner, S.E. "Inhibitors of protein kinase C. 1. 2,3-bisarylmaleimides". *Journal of Medicinal Chemistry*, **1992**, 35, 177-184.
- (165) Mahboobi, S.; Eichhorn, E.; Popp, A.; Sellmer, A.; Elz, S.; Möllmann, U. "3-Bromo-4-(1*H*-3-indolyl)-2,5-dihydro-1*H*-2,5-pyrroledione derivatives as new lead compounds for antibacterially active substances". *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, 41, 176-191.
- (166) Steglich, W. "Slime moulds (Myxomycetes) as a source of new biologically active metabolites". *Pure and Applied Chemistry*, **1989**, 61, 281-288.
- (167) Mahboobi, S.; Eichhorn, E.; Winkler, M.; Sellmer, A.; Möllmann, U.

- "Antibacterial activity of a novel series of 3-bromo-4-(1*H*-3-indolyl)-2,5-dihydro-1*H*-2,5-pyrroledione derivatives – An extended structure-activity relationship study". *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, 43, 633-656.
- (168) Möhlau, R. "Über die Einwirkung primärer aromatischer Aminbasen auf Acetophenonbromid", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1881**, 14,171.
- (169) Bischler, A. "Über die Entstehung einiger substituierter Indole". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1892**, 25, 2860-2879.
- (170) Weygand, F.; Richter, E. "Über den Aminaustausch bei der Indolsynthese". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1955**, 88, 499-508.
- (171) Sundberg, R.J. *The Chemistry of indoles*, Academic Press, New York, London, **1970**, 164, und die dort zitierte Literatur.
- (172) Buu-Hoï, N.P.; Saint-Ruf, G.; Deschamps, D.; Bigot, P.; Hieu, H.T. "Carcinogenic nitrogen compounds. The Möhlau-Bischler reaction as a preparative route to 2-arylindoles". *Journal of The Chemical Society C*, **1971**, 2606-2609.
- (173) Houlihan, W.J.; Remers, W.A.; Brown, R.K. *The chemistry of heterocyclic compounds: Indoles, Part I*, Wiley-Interscience, **1972**, 317-384, und die dort zitierte Literatur.
- (174) Bancroft, K.C.; Ward, T.J.; "Application of the Bischler reaction to the preparations of some pyrrolopyridines and the novel dipyrrolopyridine system". *Journal of Chemical Society: Perkin Transactions 1*, **1974**, 1852-1858.
- (175) Bowden, B. F.; Read, R. W.; Ritchie, E.; Tazlor, W.C. "Synthesis of 9,10-Dihydrophenanthrenes including orchinol methyl ether". *Australian Journal of Chemistry*, **1975**, 28, 65-80.
- (176) Coïc, J.P.; Saint-Ruf, G.; "Meso-heterocyclic analogues of 9,10-dihydroanthracene. XIV. Some indoles and carbazoles derived from phenoxathiin". *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **1978**, 15, 1367-1371.
- (177) Sundberg, R.J. *Indoles*, Academic Press, London, San Diego, **1996**, 53.
- (178) Miller, C.P. "Design, synthesis and preclinical characterization of novel highly selective indole estrogens". *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, 44, 1654-1657.

- (179) Sridharan, V.; Perumal, S.; Avendaño, C.; Menéndez, C. "Microwave-Assisted, solvent-free Bischler indole synthesis". *Synlett*, **2006**, 1, 91-95.
- (180) Ohkubo, M.; Nishimura, T.; Jona, H.; Honma, T.; Morishima, H. "Practical synthesis of Indolopyrrolocarbazoles". *Tetrahedron*, **1996**, 52, 8099-8112.
- (181) Chun, Y.J.; Park, J.H.; Oh, G.M.; Hong, S.I.; Kim, J.Y. "Synthesis of phthalimidalkylphosphonates". *Synthesis*, **1994**, 9, 909-910.
- (182) Murase, M.; Watanabe, K.; Kurihara, T.; Tobinaga, S. "A synthesis of arcyriacyanin A, an unsymmetrically substituted indole pigment of the slime mold by palladium catalyzed cross-coupling reaction". *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1998**, 46, 889-892.
- (183) Ciamician, G. L.; Silber, P. "Über einige Derivate des Succinimids". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1884**, 17, 553-559.
- (184) Dubernet, M.; Caubert, V.; Guillard, J.; Viaud-Massuard, M.C. "Synthesis of substituted bis(heteroaryl)maleinimids". *Tetrahedron*, **2005**, 61, 4585-4593.
- (185) Dr. Emmerich Eichhorn, Persönliche Mitteilung.
- (186) Schultz, M.; Tsaklakidis, C.; Haag, R.; Scheuer, W.; Russmann, E. "Neue trisubstituierte Maleinimide, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie Arzneimittel, die diese Verbindungen enthalten". (Boehringer Mannheim), Ger. Offenlegungsschrift. **1991**, DE 4005970 A1.
- (187) Hünig, S.; Märkl, G.; Sauer, J. *Integriertes Organisches Praktikum*; Verlag Chemie, Weinheim, New York, **1979**, 452-453.
- (188) Popp, A. Dissertation, Universität Regensburg.
- (189) Baeyer, A. "Über die Reduktion aromatischer Verbindungen mittelst Zinkstaub". *Liebigs Annalen der Chemie*, **1866**, 140, 295-296.
- (190) Baeyer, A.; Emmerling, A. "Synthese des Indols". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1869**, 2, 679-682.
- (191) Fischer, E.; Jourdan, F. "Über die Hydrazine der Brenztraubensäure". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1883**, 16, 2241.
- (192) Hinsberg, O. "Über die Einwirkung der Natriumbisulfitverbindung des Glyoxals auf aromatische Monamine". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1888**, 21, 110-118. **1898**, 31, 250-254. **1908**, 41, 1367.
- (193) Reissert, A. "Einwirkung von Oxalester und Natriumäthylat auf Nitrotoluole. Synthese nitritirter Phenylbrenztraubensäuren". *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **1897**, 30, 1030.

- (194) Madelung, W. "Über eine neue Darstellungsweise für substituierte Indole". *Berichte der Deutschen Chemischen. Gesellschaft*, **1912**, 45, 1128-1134.
- (195) Li, J.J. *Name Reactions: a collection of detailed reaction mechanisms*. 3rd. expanded ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, **2006**, 418-419, und die dort zitierte Literaturen.
- (196) Hemetsberger, H.; Knittel, D. "Synthese und Thermolyse von α -Azidoacrylestern". *Monatshefte für Chemie*, **1972**, 103, 194.
- (197) Gassman, P. G.; Gruetzmacher, G.; Van Bergen, T. J. "Use of halogen-sulfide complexes in the synthesis of indoles, oxindoles and alkylated aromatic amines". *Journal of The American Chemical Society*, **1973**, 95, 6508.
- (198) Batcho, A. D.; Leimgruber, W. "Process and intermediates for the synthesis of indoles from ortho-nitrotoluenes". *U.S. Patent* 3,732,245A **1973** & *U.S. Patent* 3,976,639A **1976**.
- (199) Bartoli, G; Palmieri, G; Bosco, M; Dalpozzo, R. "The reaction of vinyl Grignard reagents with 2-substituted nitroarenes: A new approach to the synthesis of 7-substituted indoles". *Tetrahedron Letters*, **1989**, 30, 2129-2132.
- (200) Larock, R.C.; Yum, E. K.; Refvik, M. D. "Synthesis of 2,3-Disubstituted Indoles via Palladium-Catalyzed Annulation of Internal Alkynes". *Journal of Organic Chemistry*, **1998**, 63, 7652.
- (201) Tokuyama, H; Yamashita, T; Reding, M. T; Kaburagi, Y; Fukuyama, T. "Radical cyclization of 2-alkenylthioanilides: A novel synthesis of 2,3-disubstituted indoles". *Journal of The American Chemical Society*, **1999**, 121, 3791-3792.
- (202) Brenner, M.; Rexhausen, H.; Stefan, B.; Steglich, W. "Synthesis of arcyriarubin B and related bisindolylmaleimids". *Tetrahedron*, **1988**, 44, 2887-2892.
- (203) Kaneko, T.; Wong, H. "Two synthetic approaches to rebeccamycin". *Tetrahedron Letters*, **1985**, 26, 4015-4018.
- (204) Kaneko, T.; Wong, H.; Utzig, J.J. "Rebeccamycin analogs". *European Patent*, 0269025 A2, 0269025 B1, **1988**.
- (205) Bregman, H.; Williams, D.S.; Meggers, E. "Pyrido[2,3-a]pyrrolo[3,4-c]carbazole-5,7(6H)-diones: synthesis, cyclometalation, and protein kinase inhibition". *Synthesis*, **2005**, 9, 1521-1527.
- (206) Pagano, N.; Maksimoska, J.; Bergman, H.; Williams, D.S.; Webster, R.D.;

- Xue, F.; Meggres, E. " Ruthenium half-sandwich complexes as protein kinase inhibitors: derivatization of the pyridocarbazole pharmacophore ligand". *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2007**, 5, 1218-1227.
- (207) Garcia, J.; Ortiz, C.; Greenhouse, R. "The regiospecific Pummerer-like introduction of chlorine atoms into pyrrol-3-yl and indol-3-yl sulfoxides". *Journal of Organic Chemistry*, **1988**, 53, 2634-2637.
- (208) www.ZCT-Berlin.de, *Pseudomonas aeruginosa*, *Zeitschrift für Chemotherapie*, **2008**, 29, 23.
- (209) Ryan, K.J.; Ray, C.G. *Sherris Medical Microbiology*, 4th. ed., McGraw Hill, **2004**.
- (210) Altreuther, P.; Bottner, A.; Scheer, M.; Schmid, P.; Traeder, W.; Weiskopf, S. "Observation on resistance monitoring in animal health". *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, **1997**, 110, 11-12.
- (211) Hewitt, W.S.; Vincent, S. *Theory and Application of Microbiological Assay*, Academic Press, San Diego, **1989**.
- (212) Schlegel, H.G. *Allgemeine Mikrobiologie*, 8. vollständig, überarbeitete und erweiterte Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2007**, 163.
- (213) Belgado, J.N.; Remers, W.A. *Wilson and Gisvold's: Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry*, 10th. ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, **1998**, 194-195.
- (214) Rook, G.A.; Lowry, C.A.; Lightman, S.L. "Treatment of conditions of the central nervous system using Mycobacteria". *US Patent*, 20030170275 A1, **2003**.
- (215) Luo, Y. "The immunotherapeutic effect of Mycobacterium vaccae vaccine on initially treated pulmonary tuberculosis". *The Cochrane Library*, **2001**, 24, 43-47.
- (216) <http://www.promega.com/tbs/tb317/tb317.pdf>.
- (217) http://www.promega.com/cnotes/cn005/cn005_12.pdf.
- (218) Dent, M.F.; Hubbard, L.; Radford, H.; Wilson, A.P. "The methylene blue colorimetric microassay for determining cell line response to growth factors". *Cytotechnology*, **1995**, 17, 27-33.
- (219) Pande, S.; Ghosh, S.K.; Nath, S.; Praharaj, S.; Jana, S.; Panigrahi, S.; Basu, S.; Pal, T. "Reduction of methylene blue by thiocyanate: Kinetic and thermodynamic aspects". *Journal of Colloid and Interface Science*, **2006**, 299,

- 421-427.
- (220) Weiss, T.L. "Serial subculture and relative transport of human endothelial cells in serum-free, defined conditions". *In Vitro Cellular and developmental Biology*, **1990**, 26, 759.
- (221) Furie, B. "The molecular basis of drug coagulation". *Cell*, **1988**, 53, 505-518.
- (222) Wojta, J.; Gallicchio, M.; Zoellner, H.; Filonzi, E.L.; Hamilton, J.A.; McGrath, K. "Interleukin-4 stimulates expression of urokinase-type-plasminogen activator in cultured human foreskin microvascular endothelial cells". *Blood*, **1993**, 81, 3285-3292.
- (223) Chen, Z.; Htay, A.; Dos Santos, W.; Gillies, G.T.; Fillmore, H.L.; Sholley, M.M.; Broaddus, W.C. "In vitro angiogenesis by human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by three-dimensional co-culture with glioblastoma cells". *Journal of Neuro-Oncology*, **2009**, 92, 121-128.
- (224) Polisenò, L.; Tuccoli, A.; Mariani, L.; Evangelista, M.; Citti, L.; Woods, K.; Mercatanti, A.; Hammond, S.; Rainaldi, G. "Micro-RNAs modulate the angiogenic properties of HUVEC". *Blood*, **2006**, 1-12.
- (225) Lozzio, B.B.; Lozzio, C.B. "Properties and usefulness of the original K-562 human myelogenous leukemia cell line". *Leukemia Research*, **1979**, 3, 363-370.
- (226) Klein, E.; Ben-Bassat, H.; Neumann, H.; Ralph, P.; Zeuthen, J.; Polliack, A.; Vánky, F. "Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia". *International Journal of Cancer*, **1976**, 18, 421-431.
- (227) Anderson, L.C.; Nilsson, K.; Gahmberg, C.G. "K562 - A human erythro-leukemic cell line". *International Journal of Cancer*, **1979**, 23, 143-147.
- (228) Sharrer, T. "HeLa Herself". *The Scientist*, **2006**, 20, 22.
- (229) Roitt, I.M.; Brostoff, J.; Male, D.K. *Kurzes Lehrbuch der Immunologie*, 3. neubearbeitete Aufl., **1995**, 178-181.
- (230) Germolic, D.R.; Frawley, R.P.; Evans, E. "Markers of Inflammation". *Methods in Molecular Biology*, **2010**, 598, 53-73.
- (231) Pierce, L.A.; Tarnow-Mordi, W.O.; Cree, I.A. "Antibiotic effects on phagocyte chemiluminescence in vitro". *International Journal of Clinical Laboratory Research*, **1995**, 25, 93-98.
- (232) Schlegel, B.; Haertl, A.; Gollmick, F.A.; Graefe, U. "7-Methyl-2,3-dimethylbenzofuran-5-ol, a new antioxidant from *Malbranchea cinnamomea*

- HKI 0286". *Journal of Antibiotics*, **2003**, 56, 792-794.
- (233) Penning, T.M. "Inhibition of 5 β -Dihydrocortisone reduction in rat liver cytosol: A rapid spectrophotometric screen for nonsteroidal anti-inflammatory drug potency". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1985**, 74, 651-654.
- (234) Haertl, A.; Leistner, E.; Pullen, C.; Groth, I.; Schlegel, B.; Graefe, U. "Inhibition of 3 α -Hydroxysteroid dehydrogenase by polyene macrolides". *Pharmazie*, **2001**, 56, 218.

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

Zusätzlich zu den gängigen chemischen und physikalischen Abkürzungen werden im Text und in den Schemata folgende Abkürzungen verwendet:

Abb.	Abbildung
Abl	Abelson-Maus-Leukämie-Virale-Onkogen
Absol.	Absolut (Wasserfrei)
AIDS	Acquired Immune Deficiency Disease
aromat.	Aromatisch
Aryl	Molekülteil mit einem aromatischen Grundgerüst
Aufl.	Auflage
Ausb.	Ausbeute
ATP	Adenosintriphosphat
BCR	Breakpoint Cluster Region
bcr-abl	Breakpoint Cluster Region-Abelson Maus Leukämie Virale Onkogen
Ber.	Elementaranalyse: berechnete Molekularmassenanteile [%]
br.	breit
BSA	Bovine Serum Albumine
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CC ₅₀	Median cytotoxic concentration
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
CD ₃ CN	deuteriertes Acetonitril
CDK	Cyclin-Dependent-Kinase
CI-MS	Chemische Ionisation Massenspektroskopie
CML	Chronische Myeloische Leukämie
¹³ C-NMR	Kohlenstoff-Kernresonanzspektrum
COX	Cyclooxygenase
c-Raf	<u>C</u> ellular <u>R</u> apidly Growing <u>F</u> ibrosarcoma
c-SRC	<u>C</u> ellular <u>S</u> arcoma
d	Dublett
D-Ala	D-Alanin

DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dd	Duplett vom Duplett
d.h.	das heißt
DHF	Dihydrofolat
Dibrommaleinimid	3,4-Dibromo-3,4-Dihydro-1 <i>H</i> -pyrrol-2,5-dion
DMA	Dimethylanilin
DMEM	Dulbecco's Modifiziertes Eagle Medium
DMSO-d ₆	deuteriertes Dimethylsulfoxid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
D ₂ O	Deuteriumoxid
EE	Essigester
ed	Eddition
EDTA	Ethylene diamine tetra-acetic acid
EI-MS	Elektronenstoß-Ionisation-Massenspektroskopie
EGF	Epidermal growth factor
equ.	Äquivalent
ERK	<u>E</u> xtracellular Signal <u>R</u> egulated <u>K</u> inase
EOL-1 Zellen	Human <u>E</u> Osinophilic <u>L</u> eukemia Cell Line
ES-MS	Elektrospray-Massenspektroskopie
ESI-MS	Elektrospray-Ionisation-Massenspektroskopie
et al.	<i>et alii</i>
Et ₃ N	Triethylamin
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
FAc	Formic acid
FIK2	fetal liver kinase 2
FKS	Fötale Kalbserum
FL	FLT3-Ligand
FLT3	Fms-Like Tyrosine Kinase 3
fms	<u>F</u> ibroblast <u>M</u> acrophage <u>S</u> timulating Factor
g	Gramm
G	gab (in Zellzyklus)

GDP	Guanosindiphosphat
Gef.	Elementaranalyse: gefundene Molekularmassenanteile [%]
ggf.	gegebenenfalls
GI ₅₀	Concentration required to achieve 50 % growth inhibition
GIST	Gastrointestinaler Stromatumor
GNB	Gram-Negative-Bakterien
Grb2	<u>G</u> rowth Factor <u>R</u> eceptor <u>B</u> inding Protein <u>2</u>
GPCRs	G-Protein Coupled Receptors
GTP	Guanosintriphosphat
HeLa-Zelle	<u>H</u> enrietta <u>L</u> acks
HER2	<u>H</u> uman <u>E</u> pidermal growth factor <u>R</u> eceptor <u>2</u>
¹ H-NMR	Protonen-Kernresonanzspektrum
HRP	Horse-Radish Peroxidase
3 α -HSD	3 α -Hydroxysteroiddehydrogenase
Huvec Zelle	<u>H</u> uman <u>U</u> mbilical <u>V</u> ein <u>E</u> ndothelial <u>C</u> ells
Hz	Hertz, Maßeinheit für die Frequenz
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IR	Infrarot
i. Vak.	im Vakuum
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Jhdt.	Jahrhundert
Kap.	Kapitel
konz.	Konzentriert
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilylamid
Lit.	Literatur
m	Multiplett
[M] ⁺⁺	Molpeak (kationisches Radikal)
m/z	Verhältnis von Masse [u] zu Ladung [e]
MAPKs	Mitogen Aktivated Protein Kinases
MAP-3K	MAP-Kinase Kinase Kinase
m-CPBA	m-Chlorperbenzoesäure
MDROs	Multidrug resistant organisms
MDRS	<u>M</u> ultidrug <u>r</u> esistant <u>S</u> taphylococcus aureus
MeCN	Acetonitril

MeOH	Methanol
MHK	Minimale Hemm-Konzentration
MHz	Megahertz (10^6 Hz)
mM	Millimolar
mmol	Millimol
μm	Mikrometer
μM	Mikromolar
μl	Mikroliter
MRSA	Methicillin-resistant-staphylococcus aureus
MS	Massenspektrum
N°	number
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NH_4OAc	Ammoniumacetat
NRTK	Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinase
org.	organische
P	Phosphat
p	Pentett
PBS	Phosphate buffered saline
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PDGFR	Platelet Derived Growth Factor-Receptor
Ph	Phenyl
PI-EIMS	<u>P</u> ositiv <u>i</u> on- <u>E</u> lektronenstoß- <u>I</u> onisation- <u>M</u> assenspektroskopie
PKC	Protein Kinase C
PPB	Potassium Phosphate Buffer
ppm	parts per million
PTK	Protein-Tyrosinkinase
q	Quadruplett/Quartett
Raf	<u>R</u> apidly growing <u>E</u> fibrosarcoma or <u>R</u> at <u>E</u> fibrosarcoma
Ras	<u>R</u> at <u>S</u> arcoma (Proto-Onkogen)
RLU	relative Lichteinheiten
RNA	Ribonukleinsäure
r-RNA	ribosomale Ribonukleinsäure
RPMI1640-	<u>R</u> oswell <u>P</u> ark <u>M</u> emorial <u>I</u> nstitute- <u>1640</u> -Medium

Medium	
RT	Raumtemperatur
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinase
s	Singulett
S. aureus	<i>Staphylococcus aureus</i>
SC	Säulenchromatographie
sc	säulenchromatographisch
SCF	Stem Cell Factor
Sdp. (°C)	Siedepunkt in Grad Celsius
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SH2	<u>S</u> arcoma <u>H</u> omology <u>2</u>
Shc	Src Homology 2 domain containing transforming protein 1
SOS	<u>S</u> on of <u>S</u> evenless
S-Phase	Synthese-Phase
STK	Signal Transduktion Kaskade
STI571	Signal Transduktion Inhibitor 571
t	Triplett
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TBSCI	tert-butylchlordimethylsilan
3T3-cells	<u>3</u> -day <u>t</u> ransfer, inoculum <u>3</u> x 10 ⁵ cells
TCF	Transcription factor (ternären Komplexfaktor)
Tel-PDGFR	<u>t</u> ranslocation <u>e</u> ts <u>l</u> eukaemia-PDGFR, ets: E-26 transforming specific
THF	Tetrahydrofuran
TFA	Trifluoressigsäure
TMS	Tetramethylsilan
Tris-HCl	tris(hydroxymethyl)aminomethane HCl
TX100	Triton X-100 (polyethylene glycol p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenyl ether)
UV	Ultraviolett
UDP	Uridine Diphosphate
v-ABL	Viral Abkömmling Onkogen
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

VRE	Vancomycin Resistance Enterococci
WHO	World Health Organisation
XOD	Xanthinoxidase

