

Synthese und biologische Evaluation neuartiger Duocarmycin-Analoga für eine selektive Krebstherapie

Dissertation

zur Erlangung des
mathematisch-naturwissenschaftlichen Doktorgrades
„Doctor rerum naturalium“
der Georg-August-Universität zu Göttingen

im Promotionsprogramm
der Georg-August University School of Science (GAUSS)

vorgelegt von
Galina Farina Pestel
aus Henstedt-Ulzburg



Göttingen 2012

Betreuungsausschuss:

Prof. Dr. Dr. h.c. Lutz F. Tietze, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Prof. Dr. Ulf Diederichsen, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Mitglieder der Prüfungskommission:

Referent:

Prof. Dr. Dr. h.c. Lutz F. Tietze, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Korreferent:

Prof. Dr. Ulf Diederichsen, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Weitere Mitglieder der Prüfungskommission:

Prof. Dr. Hartmut Laatsch, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie

Prof. Dr. Christian Ducho, Department Chemie (Universität Paderborn)

Prof. Dr. Jürgen Brockmöller, UMG, Abteilung klinische Pharmakologie

Dr. Claudia Höbartner, MPI für Biophysikalische Chemie, Göttingen

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Dezember 2012

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2009 bis September 2012 am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. h.c. Lutz F. Tietze angefertigt

Im besonderem möchte ich mich bei meinem Betreuer Herr Prof. Dr. Dr. h.c. Lutz F. Tietze für die Möglichkeit, auf diesem interessanten Gebiet zu arbeiten sowie den anregenden Diskussionen, der Unterstützung und dem steten Interesse am Fortgang dieser Arbeit bedanken. Prof. Dr. Ulf Diederichsen danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Meiner Familie

Satisfaction lies in the effort, not in the attainment, full effort is full victory.

Mahatma Gandhi

INHALTSVERZEICHNIS

A.	ALLGEMEINER TEIL	1
1	Einleitung	2
2	Karzinogenese	4
3	Konzepte zur Tumorthherapie³	6
3.1	Chemotherapie	6
3.2	Immuntherapie	11
3.3	Selektive Krebstherapie mittels reversibel detoxifizierter Prodrugs	14
4	CC-1065, Duocarmycine und Yatakemycin³	20
4.1	Analoge von CC-1065 und der Duocarmycine	23
4.2	<i>Seco</i> -Verbindungen und Prodrugs einiger Duocarmycin-Analoga	29
5	Aktivitätsbasiertes Protein-Profilng	41
6	Zielsetzung und Planung der Arbeit	43
B.	DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE	50
1	Synthese der Pharmakophor-Vorstufe <i>N</i>-Boc-<i>seco</i>-CBI 67	51
2	Synthese von <i>seco</i>-CBI-Fettsäure-Drugs	56
2.1	Synthese von <i>seco</i> -CBI-Alkinfettsäure-Drugs 109-112	56
2.2	Synthese von <i>seco</i> -CBI-Alkanfettsäure-Drugs 113-117	57
3	Synthese des Galaktosiddonors als Trichloracetimidat	61
3.1	Synthese des Galaktosidtrichloracetimidats 77	61
4	Synthese glykosidischer CBI-Fettsäure-Prodrugs für eine Anwendung im ADEPT-Ansatz	62
4.1	Synthese des Galaktosid-Alkin-Prodrugs 121	62
4.2	Synthese des Galaktosid-Alkan-Prodrugs 123	68
5	<i>In-vitro</i>-Zytotoxizitätsuntersuchung	69
5.1	Der HTCFA-Test zur Bestimmung der Zytotoxizität	69
5.2	<i>In-vitro</i> -Zytotoxizität der <i>seco</i> -Alkin-Drugs 109-112 und der <i>seco</i> -Alkan-Drugs 113-115	71
5.3	<i>In-vitro</i> -Zytotoxizität des Alkin-Prodrugs 121	73
5.4	<i>In-vitro</i> -Zytotoxizität des Alkan-Prodrugs 123	74
6	Synthese propargylierter dimerer <i>seco</i>-CBI-Derivate	76
6.1	Synthese eines Linkers mit terminaler Alkinfunktionalität auf Basis einer C-5-Kette	76

6.2	Synthese eines Linkers mit terminaler Alkinfunktionalität auf Basis eines tertiären Amins.....	80
6.3	Synthese des propargylierten dimeren <i>seco</i> -Drugs 143	80
6.4	<i>In-vitro</i> -Zytotoxizität des bifunktionalen <i>seco</i> -Drugs 143	84
6.5	Ergebnisse der ABPP-Experimente mit den <i>seco</i> -Drugs 109-117 und den Prodrugs 121 und 123 sowie dem dimeren <i>seco</i> -Drug 143	85
C.	ZUSAMMENFASSUNG.....	89
D.	EXPERIMENTELLER TEIL.....	98
1	Allgemeine Arbeitsvorschriften	99
1.1	Verwendete Geräte.....	99
1.2	Chromatographische Methoden	100
1.3	Materialien für die <i>In-vitro</i> -Zytotoxizitätsuntersuchungen	101
2	Synthese des (<i>S</i>)-<i>seco</i>-CBI-Grundgerüsts.....	103
2.1	Bromessigsäure- <i>tert</i> -butylester (90)	103
2.2	<i>tert</i> -Butyl-3-carboxyethyl-3-(diethylphosphono)-propionat (93).....	103
2.3	(<i>E</i>)- <i>tert</i> -Butyl-3-(ethoxycarbonyl)-4-phenyl-3-butenolat (95)	104
2.4	(<i>E</i>)-3-Ethoxycarbonyl-4-phenyl-3-butencarbonsäure (96)	105
2.5	Ethyl-1-acetoxy-3-naphthalincarboxylat (97).....	106
2.6	Ethyl-1-hydroxy-3-naphthalincarboxylat (98).....	107
2.7	Ethyl-1-benzyloxy-3-naphthalincarboxylat (99).....	108
2.8	1-Benzyloxy-3-naphthalincarbonsäure (100)	109
2.9	3-Amino-1-benzyloxy- <i>N</i> -(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)-naphthalin (101).....	110
2.10	2-Amino-4-benzyloxy- <i>N</i> -(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-1-iod-naphthalin (102)	111
2.11	(+)-(<i>S</i>)-Glycidyl-3-nitrobenzolsulfonat (103)	112
2.12	(+)-(<i>R</i>)-2-Amino-4-benzyloxy- <i>N</i> -(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)- <i>N</i> -(2,3-epoxypropyl)-1-iod-naphthalin (105)	113
2.13	(+)-(<i>S</i>)-5-Benzyloxy-3-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-1-hydroxymethyl-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benz[<i>e</i>]indol (106).....	114
2.14	(-)-(<i>S</i>)-5-Benzyloxy-3-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-1-chlormethyl-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benz[<i>e</i>]indol (107)	115
2.15	(-)-(<i>S</i>)-3-(<i>tert</i> -Butoxycarbonyl)-1-chlormethyl-5-hydroxy-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benz[<i>e</i>]indol (67).....	116
2.16	(-)-(<i>S</i>)-3-(<i>tert</i> -Butoxycarbonyl)-1-Hydroxymethyl-5-Hydroxy-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benz[<i>e</i>]indol (109).....	117
2.17	(-)-(<i>S</i>)-3-(<i>tert</i> -Butoxycarbonyl)-1-chlormethyl-5-hydroxy-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benz[<i>e</i>]indol (67).....	118

3	Synthese der <i>seco</i>-CBI-Fettsäure-Drugs	120
3.1	Synthese der Alkinfettsäure- <i>seco</i> -Drugs 109-112	120
3.2	Synthese der Alkanfettsäure- <i>seco</i> -Drugs 113-117	125
4	Synthese des Galaktosyldonors 77	132
5	Synthese glykosidischer <i>seco</i>-CBI-Fettsäure-Prodrugs	135
5.1	Synthese des Galaktosid-Prodrugs 121	135
5.2	Synthese des Galaktosid-Prodrugs zu <i>seco</i> -Drug 123	138
6	Syntheserouten zu propargylierten Linkern	142
6.1	Syntheseroute B	142
6.2	Syntheseroute C	146
6.3	Synthese des Aminpropargyllinkers 89	151
7	Synthese der dimeren <i>seco</i>-CBI-Drugs 66 und 143	154
7.1	(-)-1,5-{Bis[(<i>S</i>)-1-(Chloromethyl)-5-hydroxy-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benzo[<i>e</i>]indol-3-yl)pentan-1,5-dion} (66)	154
7.2	1,5-Bis[(<i>S</i>)-1-(Chloromethyl)-5-hydroxy-1,2-dihydro-3 <i>H</i> -benzo[<i>e</i>]indol-3-yl)-2,2-(prop-2-in-1-ylazandiyl)diethan-1-on (143)	156
E.	ANHANG	158
1	<i>In-vitro</i>-Zytotoxizitätstests	159
1.1	Ergebnisse für die <i>seco</i> -Alkinfettsäure-CBI-Drugs 109-112	159
1.2	Ergebnisse für die <i>seco</i> -Alkanfettsäure-CBI-Drugs 113-115	163
1.3	Ergebnisse für die <i>seco</i> -Fettsäure-CBI-Prodrugs 121 und 123	166
1.4	Ergebnisse für das bifunktionale <i>seco</i> -Drug 143	168
2	Abkürzungen und Akronyme	169
3	Literatur	173
4	Danksagung	189

A. ALLGEMEINER TEIL

1 Einleitung

Krebs ist ein Überbegriff für eine Reihe von Erkrankungen, bei denen die unterschiedlichsten Symptome auftreten können. Prinzipiell kann jedes Gewebe im Körper entarten und daher ist der Krankheitsverlauf sehr variabel. Der gemeinsame Ursprung dieser Erkrankung liegt in einer Störung der Zellproliferation. Die Erneuerung von Gewebe unterliegt verschiedenen Kontrollmechanismen im Organismus und ist diese gestört, kommt es zu einer überschießenden Zellproliferation. Neben dem idiopathischen Ursprung begünstigen gewisse Umwelt- und Risikofaktoren, z. B. UV-Strahlen oder genetische Voraussetzungen, die Entwicklung einer Störung und erhöhen somit nachweislich das Risiko, an Krebs zu erkranken.

Heutzutage stellt Krebs die zweithäufigste Todesursache in westlichen Staaten dar. Auf der einen Seite liegt das an der steigenden Inzidenz auch in jüngeren Jahren, zum anderen altert die westliche Gesellschaft übermäßig stark und da sich Krebs vor allem späteren Lebensdekaden entwickelt, steigen folglich die Neuerkrankungen. Doch trotz dieses Anstiegs der Neuerkrankungen konnte die Überlebensrate jüngst erhöht werden (Abbildung 1). Dieser Erfolg begründet sich mitunter in verbesserten Therapien.¹ Die Krebsforschung nimmt daher heutzutage einen immensen Teil in der Pharmakologie, Medizin sowie Chemie ein und trotz allen Bemühungen konnte bis heute kein adäquates „Heilmittel“ gefunden werden.

Entwicklung der Überlebensraten bei Krebserkrankungen
über einen Zeitraum von 5 Jahren in Prozent

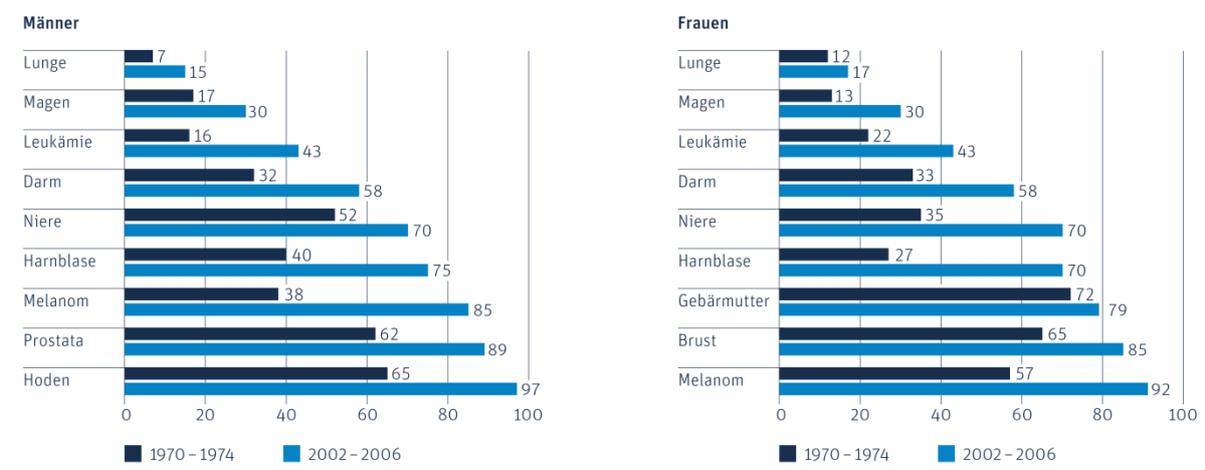


Abbildung 1. Entwicklung der Letalität bei Krebserkrankungen in Deutschland.¹

Auch wenn in den letzten Jahren viele neue Erkenntnisse gewonnen werden konnten, so stellt die kurative Therapie bis zum heutigen Tag eine enorme Herausforderung im klinischen Alltag dar. Therapeutisch stehen drei Möglichkeiten zur Verfügung, den Krebs zu bekämpfen. Primär wird, wenn möglich, eine Resektion des malignen Gewebes vorgenommen und anschließend eine Strahlen- und/oder Chemotherapie angeschlossen. Für letztere war lange Zeit Cisplatin der Status der chemotherapeutischen Krebstherapie. Bisherige Ansätze zielen meist ausschließlich auf die Zellteilung. Allerdings zeichnen sich nicht nur Tumorzellen durch eine hohe Proliferationsrate aus, sondern auch gesundes Gewebe regeneriert sich stetig. Hierunter fallen vor allen Dingen das Knochenmark, der Magen-Darm-Trakt und die Haarfollikel. Somit geht die herkömmliche Chemotherapie meist mit schwerwiegenden Nebenwirkungen (Störungen im Blutbild, Haarausfall, Erbrechen, Immunschwäche, etc.) einher. Zentrales Forschungsziel ist die Entwicklung einer modernen Krebstherapie, die selektiv malignes Gewebe erkennt und hierdurch die Nebenwirkungen minimiert. Die Tumorpatienten gewinnen somit nicht nur an Überlebenschance, sondern vor allem an Lebensqualität, welche in der palliativen Therapie eine wichtige Bedeutung erlangt hat. Die innovativen Therapieansätze bedienen sich der geno- bzw. phänotypischen Besonderheiten und können dadurch stärker zwischen malignem und gesundem Gewebe unterscheiden. Die Beeinträchtigung des gesunden Gewebes wird hiermit deutlich reduziert.

Im Arbeitskreis *Tietze* wird aus den oben genannten Gründen ein Konzept verfolgt, in dem Prodrugs zum Einsatz kommen. Dieses Prodrug-Konzept² basiert auf reversibel detoxifizierbaren Chemotherapeutika, die gezielt im Tumorgewebe zu zytotoxischen Wirkstoffen aktiviert werden. Um die Umwandlung zum aktiven, zytotoxischen Drug zielgerichtet sowie selektiv steuern zu können, werden Antikörper-Enzym-Konjugate verwendet, die sich spezifisch am Tumor akkumulieren. Nicht nur höhere Wirkstoffkonzentrationen am Tumorort, sondern auch eine Minderung der Konzentration im übrigen Gewebe wird hierdurch realisiert. Folglich würden nunmehr Nebenwirkungen klassischer Zytostatika weitgehend reduziert.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen der Entwicklung einer selektiven Krebstherapie angefertigt. Sie beinhaltet die Synthese und biologische Evaluation von Antitumor-Wirkstoffen und Prodrugs, die sich von einer Klasse natürlicher hochzytotoxischer Antibiotika ableiten.

2 Karzinogenese³

Fortlaufend bildet der Körper Zellen neu, simultan sterben Zellen ab. Ist dieses Gleichgewicht gestört, bzw. verliert der eigene Organismus die Kontrolle über Bildung und Abbau von Zellen, findet ein unreguliertes, autonomes Zellwachstum statt.⁴ Hierbei können Zellen lediglich Gewebe verdrängen und dann sogenannte benigne Tumore ausbilden. Expandieren sie hingegen infiltrierend, spricht man bei den Neoplasien von bösartigem oder malignem Wachstum. Letzteres ist als Krebs bekannt. Es gibt verschiedene Ansätze, in welchem Abschnitt der Regulation der Defekt auftreten kann. Eine Möglichkeit ist eine gestörte Apoptose, also der programmierte Zelltod ohne entzündlichen Prozess.⁵ Ausgediente oder mutierte Zellen werden nicht mehr aussortiert, sondern sind weiterhin fähig, sich zu teilen. Ein anderer Fall mit gleicher Auswirkung liegt vor, wenn proliferierende Signale dauerhaft aktiviert bleiben und somit ein ungehemmtes Wachstum ermöglicht wird. Hier ist ebenso der Zellzyklus gestört. Maligne Neoplasien besitzen neben der Infiltration die Eigenschaft, Metastasen sowie Rezidive zu bilden oder in andere Gewebe und Organe zu streuen.⁶ Begründet sind solche Fehlregulationen des Zellzyklus auf genetischer Ebene.⁷ Neben den genetischen Veranlagungen sind noch weitere Ursachen zu nennen wie beispielsweise spontane Mutationen oder Mutationen, die durch Umwelteinflüsse, wie chemische Noxen (z.B. Asbest, aromatische Amine, halogenierte Kohlenwasserstoffe, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe und Nitrosamine)^{8,9} oder physikalische Einwirkungen (z.B. ionisierende Strahlung)¹⁰ hervorgerufen werden. Zudem können auch chronische Entzündungen¹¹ sowie der Einbau viraler Gene^{12,13} in das menschliche Genom das Auftreten von Krebs hervorrufen.

Häufig betreffen Mutationen regulatorische Gene wie Protoonkogene und Tumorsuppressorgene, die die Zellproliferation regulieren. Erstgenannte fördern das Zellwachstum (z.B. als Wachstumsfaktoren, Transkriptionsfaktoren etc.), wohingegen die Suppressorgene in gesunden Zellen die Proliferation inhibieren, bei DNA-Schäden die Zellteilung verhindern bzw. Apoptose einleiten.¹⁴ Findet eine Mutation von Protoonkogenen zu Onkogenen statt, folgt hierdurch eine verstärkte Aktivität der entsprechenden Proteine und daraus ein erhöhter Wachstumsstimulus.¹⁵ *RAS*-(Proto-)Onkogene stellen hierfür ein bekanntes Beispiel dar.¹² Durch Punktmutationen wird die Empfindlichkeit in *RAS*-Genen, auf Inaktivatoren zu reagieren verändert, so dass z.B. die *RAS*-Proteine permanent aktiv bleiben und die Zellteilung initiiert wird. Da das Zellwachstum mehreren Kontroll- und Steuerungsmechanismen unterliegt, ist

davon auszugehen, dass es zu mehr als einer vereinzelter Mutation im Zellstoffwechsel kommen muss, bevor sich schließlich ein Tumor manifestiert. Im Fall der Onkogene müssen zusätzlich auch Tumorsuppressorgene betroffen sein. Als wohl prominentestes Beispiel ist an dieser Stelle das p53-Gen, welches in mehr als der Hälfte aller menschlichen Tumoren Veränderungen aufweist, zu nennen.^{12,16} Das Gen p53 kontrolliert Reparaturfaktoren bei DNA-Schäden und in gesunden Zellen verhindert es bei aufgetretenen Veränderung den Eintritt in die S-Phase des Zellzyklus' (Kapitel A.3.1) . Eine DNA-Reparatur¹⁷ wird hierdurch ermöglicht. Für den Fall, dass eine Reparatur unmöglich ist, besteht die Möglichkeit, durch p53 eine Signalkaskade einzuleiten, die schließlich in der Apoptose endet.

Zur Tumorentstehung werden verschiedene Phasen gezählt. Zu Beginn findet die Phase der Pathogenese statt, die sogenannte *Initiierungsphase*. Hier treten Mutationen am Genom auf, die anschließend an die Tochterzellen weitervererbt werden. Dieser Phase schließt sich nach einer längeren Latenzzeit, die mehrere Jahre betragen kann, die *Promotionsphase* an, für die eine vermehrte Zellproliferation sowie das Sichtbarwerden von Zell- und Kernatypien charakteristisch ist. Die letztendliche Manifestation des Tumors geschieht in der dritten Phase, der *Progressionsphase*. Dies ist der Zeitpunkt, an dem benigne oder maligne Geschwülste einen unterschiedlichen Verlauf nehmen. Gutartige Zellen verdrängen lediglich gesundes Gewebe durch ihr übermäßiges Wachstum, wohingegen bösartige Zellen bzw. Zellverbände sehr aggressiv sind und Blut- sowie Lymphgefäße infiltrieren, sie verteilen sich somit systemisch im Organismus. Durch Bildung von Metastasen¹⁸ können Zweittumore (z.B. Lymphknoten, Leber, Lunge, Knochenmark) fernab des eigentlichen Entstehungsortes gefunden werden. Häufig werden metastasierende Tumore erst durch den Fund eines Zweittumors und dessen Auswirkungen diagnostiziert. Diese *Implantationsphase* wird durch die eigeninitiierte Versorgung der Metastasen mit Blutgefäßen (Angiogeneese) abgeschlossen.

3 Konzepte zur Tumorthherapie³

Im Gegensatz zu vielen anderen Krankheitsbildern ist Krebs stets inhomogen und individuell sehr verschieden ausgeprägt. Zudem ist jeder Organismus einzigartig und da Krebs körpereigen ist, zeigt auch dieser charakteristische Unterschiede. Diese Gründe erfordern ein stets individuell angepasstes Therapiekonzept.¹⁹ Heutzutage ist der Goldstandard eine kombinierte Therapie. Die Therapiekonzepte basieren auf der chirurgischen Entfernung, der Bestrahlung und der Chemotherapie. Ist die Neoplasie solide, lokal begrenzt sowie zugänglich, bietet eine chirurgische Entfernung die besten Heilungschancen und geringsten Nebenwirkungen. Häufig streut der Tumor jedoch bereits Metastasen oder befindet sich an einer inoperablen Stelle, hier kommt die Bestrahlung (Radiotherapie mit Gammastrahlung oder radioaktiven Isotopen) und eine Behandlung mit chemotherapeutischen Zytostatika zum Einsatz. Besteht bereits eine Metastasierung oder wird sie vermutet, so ist eine Chemotherapie unabdingbar. Neuerungen in der Therapie wie z.B. die Behandlung mit Angiogenesehemmern²⁰ und Kinaseinhibitoren²¹ können eingesetzt werden oder Immun-²² wie Hormontherapeutika²³ werden bei Bedarf zusätzlich verabreicht.

3.1 Chemotherapie

Da Chemotherapeutika als Angriffspunkt überwiegend die Zellproliferation aufweisen, folgen bei klassischen Ansätzen schwere Nebenwirkungen als Antwort auf den systemischen Eingriff. Vor allem schnell proliferierende Gewebe und Zellen sind betroffen. So kommt es vorrangig zu Störungen der Hämatopoese sowie Problemen im Gastrointestinaltrakt, zu Mucositis (Schleimhautentzündung), Alopezie (Haarausfall), Übelkeit/Erbrechen, Fieber, Immunschwäche, Infertilität und Teratogenität. Alle diese Nebenwirkungen bergen ein erneutes Risiko und belasten Krebspatienten zusätzlich sowohl körperlich als auch psychisch.

Grundlegend beinhalten viele Chemotherapien die systemische Gabe von Medikamenten, die sich über den Blutkreislauf im peripheren sowie zentralen System verteilen und krankes als auch gesundes Gewebe erreichen können. Chemotherapeutika wirken auf menschliche Zellen entweder *zytostatisch*, d.h. sie verhindern das Zellwachstum, oder *zytotoxisch*, d.h. sie führen den Zelltod herbei. Resultierend

werden schnell proliferierende Zellen als Ziel der Wirkmechanismen bevorzugt und somit vorwiegend geschädigt.

Durch einen erhöhten Stoffwechsel werden die Substanzen schneller und in höheren Mengen aufgenommen, unabhängig von Entartungsgrad oder Malignität. Neben den Tumorgeweben zeichnen sich jedoch auch nicht-maligne Zellen wie Knochenmarks-, Haarwurzels- oder Schleimhautzellen durch eine hohe Zellteilungsrate aus. Aufgrund dieser Tatsache werden diese ebenso beeinträchtigt und hierdurch sind meist gravierende Nebenwirkungen zu beobachten.

Um sich zu vermehren durchlaufen die Zellen einen mehrphasigen Zellzyklus (Abbildung 2), der verschiedene Angriffspunkte für Chemotherapeutika bietet. Zu Beginn treten die proliferierenden Zellen in die G_1 -Phase (*Wachstumsphase*) ein, in der die Zelle wächst und RNA sowie Proteine synthetisiert. Hier bieten sich nun zwei Möglichkeiten für den Fortgang. Zum einen können die Zellen reversibel in die G_0 -Phase (*Ruhephase*) wechseln, wo sie ruhen und keine Vermehrung stattfindet, ein sogenannter Zellarrest. Zum anderen kann der Übergang aus der G_1 -Phase in die S-Phase (*Synthesephase*) erfolgen, in der die DNA-Replikation stattfindet. Die zumeist kurze G_2 -Phase dient zur Überprüfung der korrekten Replikation. Im Folgenden wird in der *Mitosephase* (M) der zuvor verdoppelte Chromosomensatz getrennt und auf zwei Tochterzellen aufgeteilt. Um eine fehlerfreie Zellproliferation zu gewährleisten, stehen

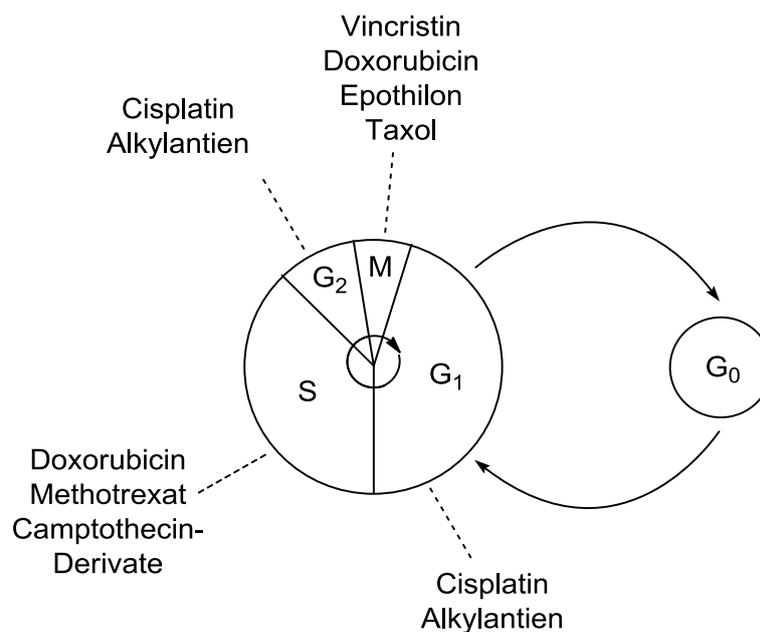


Abbildung 2. Phasen des Zellzyklus' und Angriffspunkte verschiedener Chemotherapeutika.

zur Überwachung des Zyklus' bestimmte Kontrollpunkte (*check points*) zwischen G₁- und S-Phase sowie zwischen S- und G₂-Phase zur Verfügung. Hier wird entschieden, ob Wachstumsfaktoren stimulieren oder bei DNA-Schäden eine Reparatur, ein Zyklusstop oder sogar die Apoptose eingeleitet werden sollen.²⁴

Der Normalzustand einer gesunden Zelle ist zumeist die Ruhephase, in der sie nur schwierig für die meisten Zytostatika zu erreichen ist. Bei Tumorzellen findet üblicherweise jedoch ein ungehemmtes Wachstum statt. Lediglich ca. 10% ruhen in der G₀-Phase, so befinden sich diese rein statistisch häufiger im aktiven Teil des Zellzyklus' und sind folglich leichter durch Chemotherapeutika zu erreichen bzw. zu schädigen.

Heutzutage werden verschiedene Arten von Zytostatika in der Krebstherapie eingesetzt, welche gemäß ihrer Angriffspunkte im Zellzyklus in die Klassen *Alkylantien*, *Antimetabolite*, *Mitosehemmstoffe*, *Topoisomerase-Hemmstoffe* und *zytostatische Antibiotika* eingeteilt werden.

Die Klasse der *Alkylantien* unterscheidet sich vielfältig strukturell, wirkt jedoch immer primär phasenunspezifisch. Zumeist werden diese Substanzen erst *in vivo* zum Carbokation aktiviert, um dann mit *N*-, *O*- oder *S*-Nucleophilen in Proteinen oder insbesondere Nucleinsäuren zu reagieren und kovalente Bindungen auszubilden. Diese führen zu Quervernetzungen der DNA-Stränge (*cross links*), zu abnormen Basenpaarungen oder zu Strangbrüchen, die eine Replikation und somit die Zellteilung behindern und schlussendlich zur Apoptose führen.⁶

Wichtige und schon lange bekannte Vertreter dieser Substanzklasse sind Stickstoff-Loste wie etwa Cyclophosphamid (1).²⁵ Erst durch Biotransformationen im Körper wird das Medikament in den eigentlichen Wirkstoff 2 überführt (Giftung) und daher als Prodrug bezeichnet (Abbildung 3).

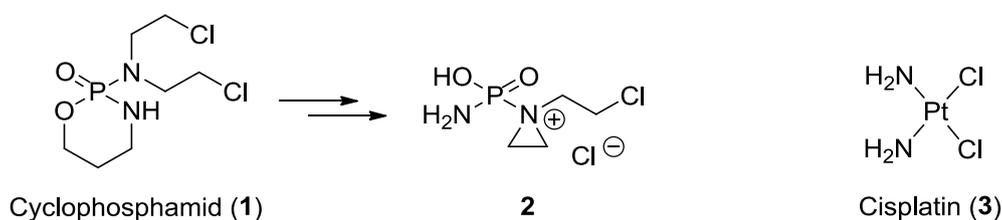


Abbildung 3. Beispiele für Alkylantien.

Einer der bekanntesten Klassen der Krebstherapeutika sind die Platinkomplexe und hierunter der Vertreter Cisplatin (3). Auch diese gehören zur Klasse der Alkylantien

und verursachen vor allem durch Intra- oder Interstrang-Quervernetzungen der DNA²⁶ den Zelltod. Daneben zählen ebenso das natürliche Antibiotikum CC-1065, die Duocarmycine, Yatakemycin sowie Derivate und Analoga dieser Naturstoffe (Kapitel 4) zur Klasse besonders wirksamer Alkylantien.

Strukturanaloga körpereigener Stoffwechselbausteine werden als *Antimetabolite* bezeichnet. Sie wirken als Antagonisten und verdrängen die eigentlichen Metabolite vom Wirkort. Im Gegensatz zu den Alkylantien wirken sie phasenspezifisch, bevorzugt in der S-Phase des Zellzyklus, wobei sie wichtige Enzyme hemmen oder zur Entstehung funktionsuntüchtiger Makromoleküle führen.^{6,24} Beispielsweise antagonisiert Methotrexat (**4**) als Folsäureantagonist das natürliche Substrat beim Enzym Dihydrofolat-Reduktase und folglich die Bildung von Tetrahydrofolsäure verhindert (Abbildung 4). Diese ist wiederum u.a. essentiell für die Synthese der Base Purin und hierdurch ebenso für die Zellproliferation.²⁷

In die Mitosephase des Zellzyklus greifen sogenannte *Mitosehemmstoffe* (auch als *Spindelgifte* bezeichnet) ein, indem sie an die β -Einheit des Tubulindimers binden und dadurch entweder den Aufbau der Kernspindeln (z.B. Colchicin, Vincaalkaloide wie Vincristin (**6**) und Vinblastin (**7**))²⁸ oder ihren Abbau (Taxol, Etophilon) blockieren.²⁹ Der Spindelapparat ist nötig, um die Chromosomen auf die Tochterzellen aufzuteilen und infolge eines gestörten Spindelapparates kann eine Kern- und Zellteilung nicht mehr stattfinden.

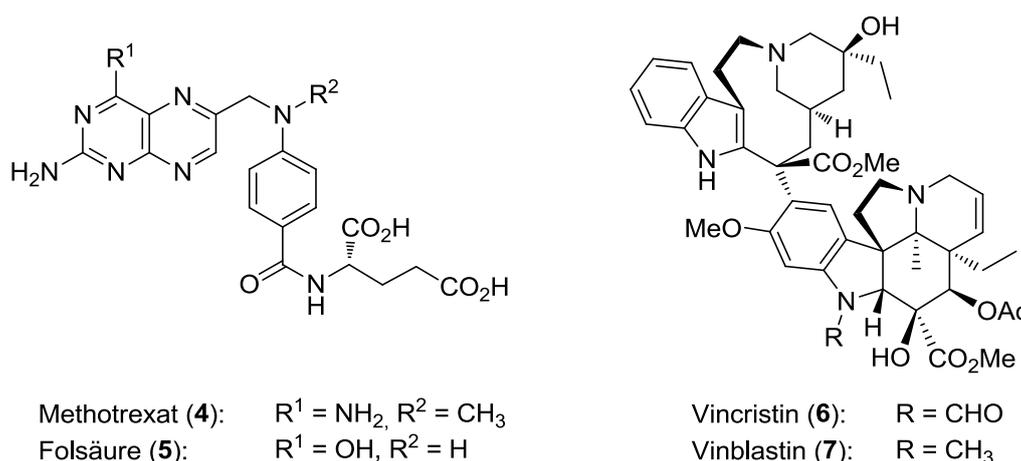


Abbildung 4. Beispiele für die Wirkstoffklassen der Antimetabolite (**4**) und der Mitosehemmstoffe (**6** und **7**).

Die Topoisomerasen I und II haben die Aufgabe, während der DNA-Replikation die helikale Struktur der verdrillten Stränge zu entwinden, zu unterbrechen und anschließend wieder zu verschließen. Hier greift eine weitere Klasse von Zytostatika

an, indem sie genau diese Enzyme hemmt, die *Hemmstoffe der Topoisomerasen I und II*. Werden diese Enzyme inhibiert, können sie nicht mehr von der DNA abdissoziieren, was in Strangbrüchen resultiert und letztendlich den Zelltod herbeiführt. Etoposid, Irinotecan und Derivate des Alkaloids Camptothecin (**8**) (Abbildung 5) sind typische Vertreter dieser Substanzklasse.

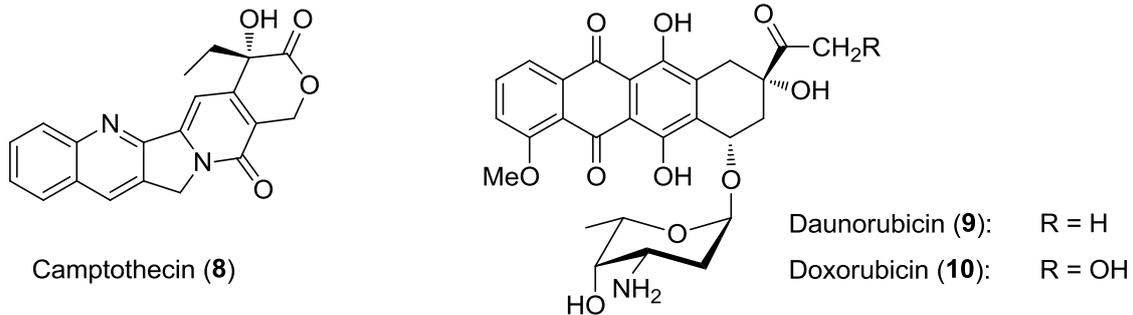


Abbildung 5. Vertreter der Wirkstoffklassen der Topoisomerasehemmer (**8**) und der zytostatischen Antibiotika (**9** und **10**).

Zu den *zytostatischen Antibiotika* zählen in erster Linie die aus *Streptomyces*-Arten isolierten Anthracycline Daunorubicin (**9**) und Doxorubicin (**10**) (Abbildung 5), die bevorzugt in der S-Phase des Zellzyklus wirken. Sie interkalieren in die DNA und stören dadurch die DNA- und RNA-Synthese. Des Weiteren können sie durch Radikalbildung und Hemmung der Topoisomerase II Strangbrüche induzieren.³⁰

Der Einsatz von Chemotherapeutika ist heutzutage nicht mehr aus der Krebsbehandlung wegzudenken und bringt erhebliche Vorteile in der Therapie, vor allem bei nicht soliden Tumorarten. Durch die Anwendung von Zytostatika können im Besonderen bei chirurgisch schwer zugänglichen Neoplasien oder bei Metastasenbildung gute Erfolge erzielt werden. Trotzdem ist die Behandlung mit Chemotherapeutika immer im Nutzen/Lasten-Vergleich abzuwägen, da diese Therapie zumeist an schwerwiegende akute Nebenwirkungen geknüpft ist. Des Weiteren sind Spätfolgen häufig, bei denen sich Sekundärtumore, Schädigungen des Knochenmarks, Lungenfibrosen oder Immundefekte bilden können. Im Gegensatz zu erstgenannten akuten Nebenwirkungen sind die Auswirkungen der Spätfolgen kaum absehbar und besonders bei jungen Patienten zu berücksichtigen. Hinzu kommt die stetige Resistenzentwicklung von Tumoren gegen einzelne Zytostatika oder -klassen durch die natürliche Selektion resistenter Zellen während einer Behandlung.³¹ Ist nur eine Zelle resistent und kann proliferieren, so bildet sich ein Rezidiv.

Obwohl Sekundäreffekte und Resistenzen beträchtliche Schwierigkeiten darstellen, konnte sich die Chemotherapie als unentbehrliche Behandlungsmethode etablieren. Dennoch sind Chemotherapeutika unverzichtbar und daher ist eine ständige Weiterentwicklung vorhandener Therapieansätze und Wirkstoffe notwendig, damit die Selektivität erhöht und somit die Nebenwirkungen minimiert werden können.

3.2 Immuntherapie

In jüngster Zeit ist noch eine weitere, eine vierte Therapiemöglichkeit gegen den Krebs hinzugekommen. Hierbei handelt es sich um die Immuntherapie, welche entwickelt wurde, um auf Basis des Immunsystems zu interagieren. Hierfür werden beispielsweise Cytokine oder Antikörper verwendet, die immunmodulierende oder direkte antiproliferative Eigenschaften aufweisen.²⁴ Die Einzigartigkeit des menschlichen Immunsystems begründet sich unter anderem in den charakteristischen Zelloberflächenunterschieden der verschiedenen Zelltypen und genau diese werden bei der Therapie genutzt.

Die funktionelle Struktur der Zelloberfläche der Zellmembran wird extrazellulär unter anderem durch die Glykokalyx, welche aus Glykolipiden, Glykoproteinen und Glykosaminoglykanen besteht, gebildet und dient u.a. der Zellerkennung, Kommunikation und Signalaufnahme.⁴ Unter anderem werden Antigene von dieser Glykokalyx gebildet und fungieren als zellspezifisches Merkmal, das auf der Oberfläche präsentiert wird. Auch Krebs- oder Tumorzellen weisen solche bestimmte Antigene (spezifische Antigene) auf. Diese können spezifisch oder im Vergleich zu gesunden Zellen überexprimiert sein (spezifische Antigene oder tumorassoziierte Antigene).³² Eben diese Antigene stellen den zentralen Ansatzpunkt einer Immuntherapie dar,³³ bei denen monoklonale Antikörper selektiv binden können und somit die Krebszellen gezielt markieren. Entweder tragen die monoklonalen Antikörper selbst zytotoxische Agenzien oder werden als Konjugat gegeben, um die maligne Entartung zu zerstören.³⁴ Erstmals 1975 durch *Köhler* und *Milstein* hergestellt sind Immunglobuline heutzutage standardmäßig unter Zuhilfenahme der Hybridomtechnik zugänglich.³⁵

Zwei Beispiele aus dieser Familie stellen die aktiven monoklonalen Antikörper Trastuzumab³⁶ gegen HER2/*neu*-positive Mammakarzinome³⁷ sowie Bevacizumab³⁸ als Angiogenese-Inhibitor dar. Zusammenfassend zeigt Abbildung 6 diverse Ansätze für Antikörper-Konjugate. Verknüpft man ein Immunglobulin mit Zytokinen (z.B. Interleukin-2 (IL-2)), kann das resultierende Immunzytokin vor Ort die körpereigene Immunabwehr am Tumor aktivieren und so seine toxische Wirkung entfalten (A).^{39,40}

Daneben besteht die Möglichkeit Antikörper mit T-Lymphozyten zu koppeln, was eine direkte Zytolyse der Tumorzelle bewirkt (**B**).⁴¹ Die Verschmelzung von Krebszellen mit Antigen-präsentierenden Zellen ist ein weiterer Ansatz, um die körpereigene Immunabwehr zur Zerstörung von Neoplasien zu mobilisieren. Die erhaltenen Hybride exprimieren auf ihrer Oberfläche verstärkt tumorassoziierte Antigene und aktivieren somit zytotoxische Lymphozyten (CTL), die stimuliert durch die Tumorantigen-präsentierenden Hybride-Krebszellen mit identischen Antigenen eliminieren.⁴² Ein vergleichbarer Effekt kann auch durch das Beladen dendritischer Zellen (DZ) mit Tumorproteinen, -peptiden oder -DNA erzielt werden (**C**).⁴³

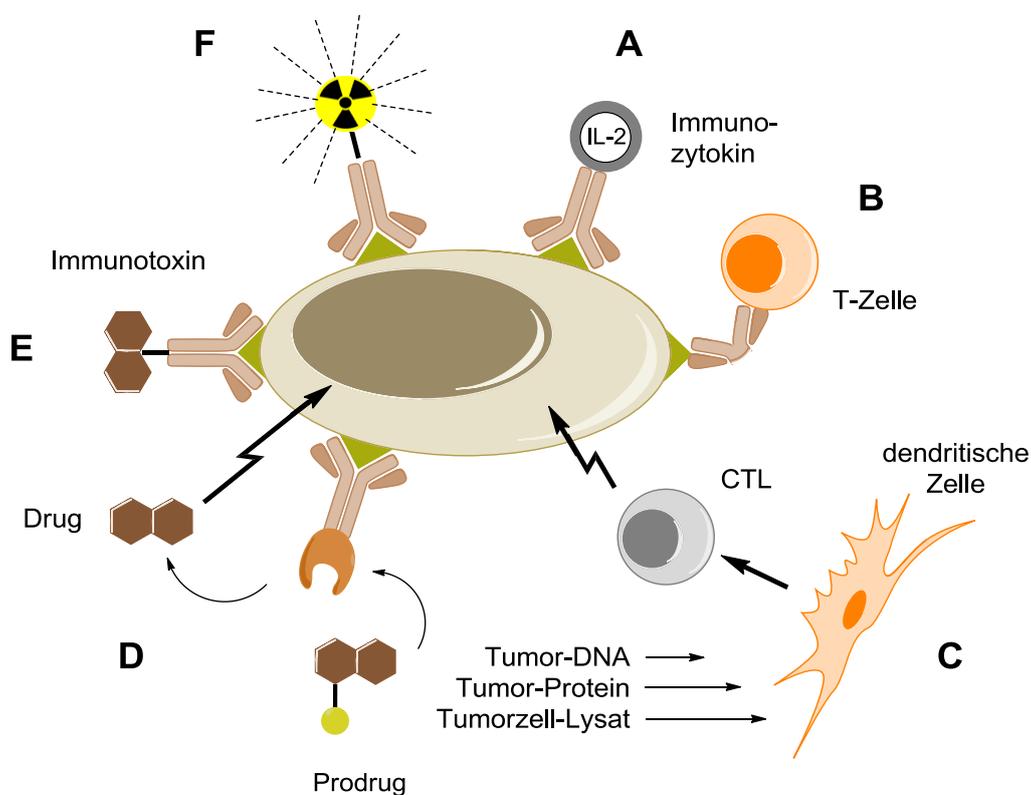


Abbildung 6. Immuntherapien maligner Tumore. A: Immunozytokine, B: Antikörper-vermittelte Tumorzytolyse, C: Aktivierung von zytotoxischen Lymphozyten (CTL) durch dendritische Zellen, D: Enzym-vermittelte Umwandlung von Prodrugs in Drugs (ADEPT), E: Immunotoxin, F: Antikörper-Radioisotopen-Konjugat.⁴⁴

Ebenfalls ein neuerer Therapieansatz beruht auf der Verwendung von Antikörper-Drug-Konjugaten (Immunotoxine) (**E**).⁴⁵ Das Konzept nutzt die Spezifität von Antikörpern, um idealerweise Toxine gezielt zum Tumor dirigieren zu können, ohne dabei gesundes Gewebe zu schädigen. Als erster und einziger Vertreter dieser Klasse wurde Gemtuzumab-Ozogamicin (Mylotarg[®], Konjugat aus Antikörper gegen CD-33 und einem Calicheamicin-Derivat)⁴⁶ wurde auf dem Markt (USA) zugelassen, verlor

jedoch die Genehmigung bereits im Herbst 2010 wegen schwerwiegender Nebenwirkungen wie Myelosuppression. Neuere Präparate wie T-DM1 (Konjugat aus Trastuzumab und einem Maytansinoid-Derivat)⁴⁷ sowie CMD-193 (Konjugat aus G193-Antikörper und einem Calicheamicin-Derivat)⁴⁸ befinden sich derzeit in klinischen Studien und haben auch im Jahre 2012 gute Ergebnisse erzielt. Einen ähnlichen Konjugatansatz weist das ADEPT-Konzept (*antibody-directed enzyme prodrug therapy*, Kapitel A.3.3.1) auf. Hierbei werden Antikörper-Drug Konjugate durch Enzyme ersetzt. Diese Enzyme werden eingesetzt, um reversibel detoxifizierte Wirkstoffe (Prodrugs)⁴⁹ selektiv an der Krebszelle in zytotoxische Drugs zu überführen (**D**).⁵⁰ Zusätzlich besteht die Möglichkeit Antikörper mit Radioisotopen (¹³¹I, ⁹⁰Y) (**F**) für die Radioimmuntherapie zu koppeln welche nicht nur kurativ, sondern auch diagnostisch (z. B. PET) angewandt werden kann, z.B. zur Lokalisation von Metastasen.⁵¹

Ein überwiegender Teil, der in den Immuntherapie-Konzepten verwendeten Substanzen, beruht auf Antikörpern als zentrales Instrument, durch welches Selektivität erreicht wird. Hierbei muss allerdings auch auf einen nachteiligen Aspekt hingewiesen werden, da ein Eingriff in das Immunsystem durchaus schwerwiegende Folgen haben kann. Diese Substanzen weisen zumeist *Immunogenität* auf, das bedeutet durch die Gabe dieser Medikamente wird beim Patienten eine unerwünschte Immunantwort ausgelöst. Handelt es sich bei den eingesetzten Therapeutika um Substanzen murinen Ursprungs, welche im menschlichen Organismus überhaupt nicht oder nur marginal sezerniert werden, erhöht sich die Tumorspezifität, jedoch auch gleichzeitig das Risiko auf eine unerwünschte Immunantwort. Alternativ werden humanisierte bzw. humane Antikörper sowie Antikörperfragmente eingesetzt, wodurch sich die Nebenwirkungen bereits reduzieren lassen.³⁴ Das menschliche Immunsystem prägt sich jedoch im Laufe eines Lebens unterschiedlich wie einzigartig und so kann selbst bei humanen Antikörpern keine nebenwirkungsfreie, lediglich eine nebenwirkungsärmere Therapie erreicht werden.^{50b} Des Weiteren exprimiert ebenso jeder Tumor unterschiedliche Antigene, so dass die Therapie und der Antikörper für jeden Patienten spezifisch aufbereitet werden müsste, um eine Immunantwort zu vermeiden. Weder zeitlich noch finanziell ist ein solcher Aufwand zurzeit durchführbar. Der Umstand von unerwarteten Nebenwirkungen resultierte darin, dass zahlreiche monoklonale Antikörper von der FDA jüngst wieder vom Markt genommen wurden.

3.3 Selektive Krebstherapie mittels reversibel detoxifizierter Prodrugs

Aus gegebenem Anlass konzentriert sich ein immenser Teil der aktuellen medizinischen Forschung auf die Entwicklung einer *selektiven* und *effizienten* Krebsbehandlung. Um schwerwiegende Nebenwirkungen der herkömmlichen Behandlungsmethode (Kapitel A.3.1) zu vermeiden, zielt diese Therapieform auf eine lokale Zytotoxizität, in dem Wirkstoffe selektiv nur im Tumorgewebe frei wirken können. Aus diesem Ansatz sind grundlegend neue Konzepte entwickelt worden, die genotypische und phänotypische Eigenschaften von Tumorzellen nutzen, damit gesundes Gewebe abgegrenzt und geschont wird. Dieser Art von Behandlungsform ist gemein, dass sie sich meist im Vergleich zum Drug „untoxischer“ Prodrugs bedient, welche direkt am Tumor durch spezifische Modulation aktiviert und in die zytotoxische Form überführt werden können (Abbildung 7).⁵² Somit ist eine lokale, auf der Tumor begrenzte Zytotoxizität sicher gestellt.

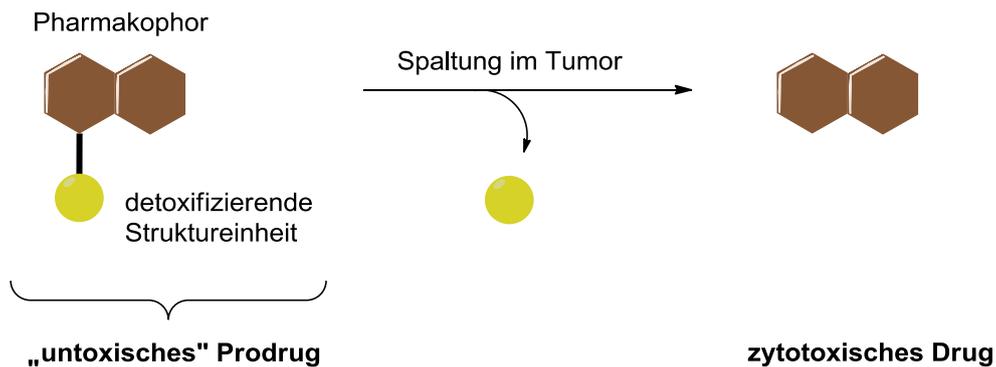


Abbildung 7. Konzept reversibel detoxifizierter Prodrugs.⁵³

Aus Untersuchungen an soliden Tumoren ist bekannt, dass diese im extrazellulären Bereich einen im Vergleich zum gesunden Gewebe erniedrigten pH-Wert aufweisen und hierdurch wird eine Unterscheidung der beiden Gewebearten ermöglicht.⁵⁴ Der erniedrigte pH-Wert lässt sich unter anderem durch die erhöhte anabolische wie mitotische Aktivität der Tumorzellen, der somit eine gesteigerte anaerobe Glykolyserate folgt, erklären.⁵⁵ Im Gegensatz zur beschleunigten Zellproliferation des malignen Gewebes bildet das vaskuläre und lymphatische System sich nicht in gleicher Geschwindigkeit neu, so dass es zu Unterversorgungen und vermindertem Austausch kommen kann, was in großen, schnellwachsenden Neoplasien bis hin zu nekrotischen Arealen führt. Durch den verminderten Abtransport von metabolischen Produkten sammelt sich im Tumorgewebe Laktat an, welches, als Milchsäure

angereichert, den pH-Wert erniedrigt.⁵⁶ Bei gesunden Zellen ist die Aufnahme von Glukose in die Zelle durch verschiedene Mechanismen kontrolliert und gesteuert, so dass eine konstante Versorgung gewährleistet ist. Die Glukoseaufnahme maligner Zellen jedoch ist unabhängig solcher Steuerungsmechanismen und lediglich von der extrazellulären Konzentration bestimmt.⁵⁷ Dieser Umstand kann durchaus für therapeutische Zwecke genutzt werden. Durch eine exogene Glucosezufuhr werden hyperglykämische Bedingungen geschaffen, die den pH-Wert um durchschnittlich 1.2 Einheiten (von pH 7.4 auf 6.2) über einen Zeitraum von 24 Stunden senken.⁵⁸

In Bezug auf diesen Aspekt wurde 1981 von *Tietze* das Konzept der säurelabilen Acetal-Prodrugs entwickelt, die säurekatalysiert durch den im Tumorgewebe erniedrigten pH-Wert in das aktive Toxin überführt werden und folglich das gesunde Gewebe idealerweise schonen.^{2d,59} In diesem Zusammenhang wurden u.a. Acetalglykoside von Ketonen untersucht, wie z.B. das Ketophosphamid BE-1 (**11**).⁶⁰ Das Keton **13** wird säurekatalytisch aus dem Prodrug **11** hydrolysiert, wobei D-Glucose (**12**) sowie Methanol abgespalten werden (Abbildung 8). Über das Intermediat **13** und die Friedmannsäure **14** wird der eigentlich aktive Metabolit gebildet. Hierbei entspricht die final generierte Spezies dem aus Cyclophosphamid (**1**) (Abbildung 3) erzeugten Molekül.

Bei pH 6.2 ist BE-1 (**11**) an Mammakarzinomzellen der Marshall-Ratte (M1R) 17-mal zytotoxischer als unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4). Ein Analogon von **11**, bei dem die primäre Hydroxygruppe an C-6 der Zuckereinheit mit dem Wirkstoff das Acetal bildet, zeigt bei pH 6.2 sogar eine 100-fach höhere Zytotoxizität als bei pH 7.4.⁶⁰

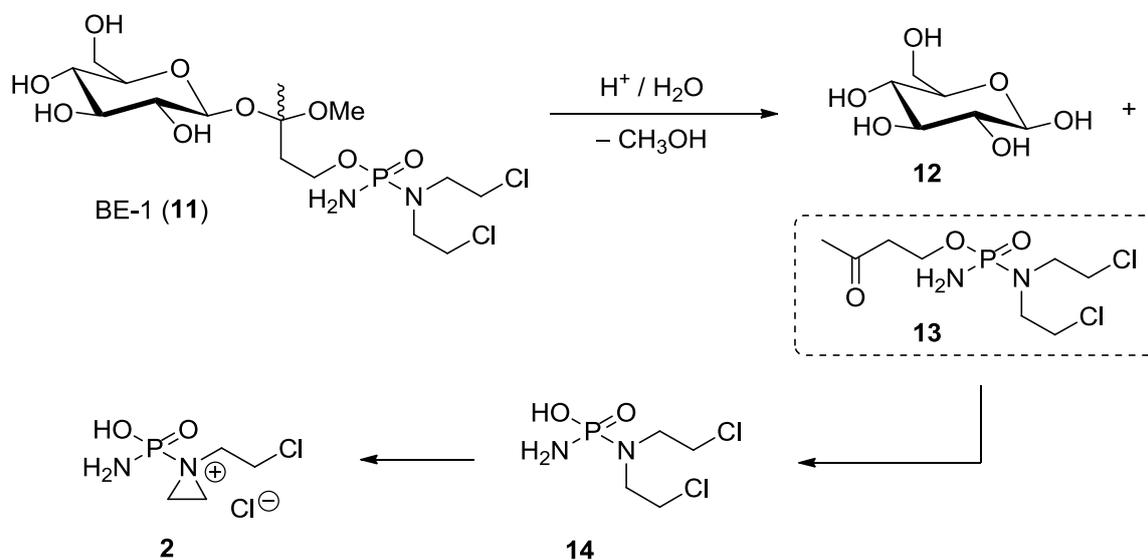


Abbildung 8. Säurekatalysierte Aktivierung des acetalischen Prodrugs BE-1 (**11**).

3.3.1 Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy (ADEPT)

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse mit Konjugaten bezüglich der Selektivität sind auch binäre Therapieansätze wie das ADEPT-Konzept weiter in den medizinischen Fokus gerückt. Dieser Ansatz wurde 1987 erstmals von *Bagshawe* beschrieben. Hierbei wurden Antikörper-Enzym-Konjugate (AEC) genutzt, die direkt am Tumor ein „untoxisches“ Prodrug zum zytotoxischen Drug aktivieren.^{50,61} Der erste Schritt besteht aus der systemischen Applikation ins intravasale System des AECs, welches nun an die Tumor-assoziierten Antigene bindet und folglich am Tumor akkumuliert. Nach der Clearance des Anteil an ungebundenem Konjugat aus dem restlichen Organismus kann von einer Tumormarkierung gesprochen werden und durch die Eliminierung aus dem Blut-Kreislauf sowie gesundem Gewebe kann eine unerwünschte Wirkung vermieden werden. In Abhängigkeit von der jeweiligen Studie kann die Clearance durch Gabe eines zweiten Antikörpers⁶² bzw. durch die Verwendung eines mannosylierten Fusionsproteins⁶³ anstelle des Konjugates beschleunigt werden. Im zweiten Schritt wird das Prodrug appliziert, welches sich ebenfalls im gesamten Organismus verteilt und im Idealfall aufgrund von ausschließlich an den Krebszelloberflächen vorhandenen Enzymen gezielt im Tumorgewebe toxifiziert wird. Im Gegensatz zum nicht-membrangängigen Prodrug, kann das somit freigesetzte Drug die Zellmembran penetrieren und seine zytotoxische Wirkung im Zellinneren entfalten, während das Enzym an der Außenseite der Tumorzelle aktiv bleibt und weitere Prodrug-Moleküle aktivieren kann (Abbildung 9). Durch diesen zweistufigen, selektiven Ansatz kann im Vergleich zur klassischen Chemotherapie, die aufgrund der Sekundäreffekte nur geringe Wirkstoffdosen zulässt, im ADEPT-Konzept eine weitaus höhere Drug-Konzentration im Tumorgewebe und somit eine effizientere Behandlung realisiert werden. Zwei weitere Effekte begünstigen die zytotoxische Aktivität. Zum einen wirkt das Enzym katalytisch, wodurch ein einziges Enzym viele tausend Prodrugmoleküle in die aktive Form umwandeln kann. Zum anderen besitzt das gebildete Drug ein geringeres Molekulargewicht sowie andere Löslichkeitseigenschaften, folglich kann es sehr leicht durch solide Tumore diffundieren und somit auch Krebszellen abtöten, die keine tumor-assoziierte Antigene tragen bzw. kein AEC gebunden haben (*Bystander-Effekt*).⁶⁴

Für eine erfolgreiche ADEP-Therapie gilt es, mehrere Kriterien zu berücksichtigen:⁶⁵ Um die Spezifität zu garantieren, sollte das Prodrug lediglich ein adäquates Substrat für das Enzym im AEC, jedoch nicht für andere Enzyme im Organismus sein. Hierzu werden bevorzugt Enzyme eingesetzt, die natürlicherweise nicht im humanen System

vorhanden sind. Des Weiteren sollte das Substrat eine vergleichsweise geringe Zytotoxizität aufweisen und nicht die Zellmembran penetrieren. Außerdem ist eine große therapeutische Breite des Prodrugs von großer Bedeutung, die *in vitro* durch den Quotienten der IC_{50} -Werte in Ab- und Anwesenheit des spaltenden Enzyms errechnet wird ($QIC_{50} = IC_{50} \{ \text{Prodrug} \} / IC_{50} \{ \text{Prodrug in Anwesenheit des Enzyms} \}$). Von einem ausreichenden Zytotoxizitätsunterschied wird ausgegangen, wenn der $QIC_{50} > 1000$ überschreitet und als Orientierung sollte das zytotoxische Drug einen $IC_{50} < 10 \text{ nM}$ besitzen.^{2d,66} Im Gegensatz zum Prodrug sollte das Drug die Zellmembran sehr leicht penetrieren können und eine ausreichend lange Halbwertszeit aufweisen, damit der Bystander-Effekt wirken kann. Trotzdem muss die Halbwertszeit angemessen kurz sein, um eine Rückdiffusion des Drugs vom Tumor in das umliegende Gewebe zu verhindern.^{500b,65a}

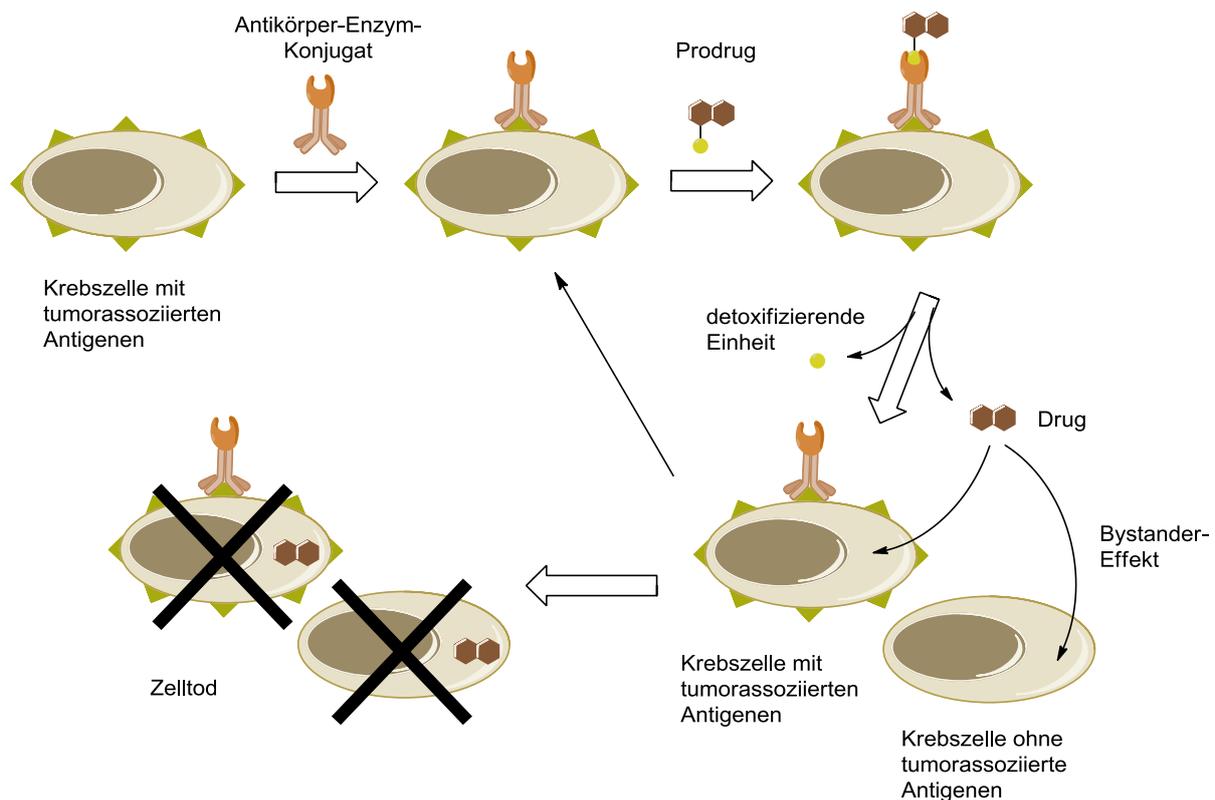


Abbildung 9. Schematische Darstellung des ADEPT-Konzeptes.⁵³

Die katalytische Aktivität des Enzyms muss immens hoch sein, um eine sofortige Umsetzung von Prodrug zu Drug zu garantieren, wobei es sowohl nicht-humanen als auch humanen Ursprungs sein darf. Ist das Enzym jedoch human, muss sichergestellt sein, dass es gar nicht oder nur marginal in Normalgewebe und Körperflüssigkeiten exprimiert ist, um eine unselektive Prodrug-Aktivierung und damit systemische

Toxizität zu verhindern. Dieses Problem wird bei der Wahl eines nicht-humanen Enzyms analog zu den Antikörpern umgangen (Kapitel A.3.2), welches jedoch das Auftreten von Immunogenität zu Folge hat. Eine Möglichkeit diese Nebenwirkungen zu umgehen, ist der Einsatz von humanisierten, katalytisch-wirksamen Antikörpern (Abzyme) anstelle von Konjugaten mit bakteriellen Enzymen.⁶⁷ Dieses Thema ist als ADAPT-Ansatz (*antibody-directed abzyme prodrug therapy*) bekannt.

Für eine Anwendung im ADEPT-Ansatz wurden in den letzten Jahren diverse Prodrugs konzipiert. Unter diesen finden sich vor allem „untoxische“ Derivate bekannter Wirkstoffe wie z.B. Loste,⁶⁸ Methotrexat,⁶⁹ Doxorubicin, Daunorubicin,⁷⁰ 5-Fluoruracil,⁷¹ Etoposid,⁷² Vinblastin,⁷³ Paclitaxel⁷⁴ oder Camptothecin.⁷⁵ Das jeweilige Prodrug wird mittels entsprechenden Antikörper-Enzym-Konjugaten oder Fusionsproteinen aus Single-chain-Antikörpern und Enzymen wie Carboxypeptidase G2 und A (CPG2, CPA),⁷⁶ β -Lactamase,⁷⁷ Nitroreduktase,⁷⁸ Cytosin-Deaminase⁷⁹ oder β -D-Galaktosidase⁸⁰ in das aktive Drug umgewandelt. Hier ist nachteilig zu nennen, dass alle bekannten Prodrugs häufig ein zu kleines therapeutisches Fenster aufweisen, sowie dass das gebildete Drug über eine zu geringe Zytotoxizität verfügt. Schon 1995 wurden diverse Prodrugs von *Bagshawe* und *Sharma* im ADEPT-Konzept in ersten klinischen Studien eingesetzt.^{50b,d} Zunächst wurde das Glutamat-Prodrug CMDA (**15**) verwendet, welches durch ein A5B7-CPG2-Konjugat zum zytotoxischen *N*-Lost-Drug **16** umgewandelt werden kann und dabei eine therapeutische Breite von $QIC_{50} = 100$ zeigt (Abbildung 10). Leider zeigten die Studien nicht den erhofften Erfolg, da das Drug **16** aufgrund einer relativ langen Plasmahalbwertszeit von $t_{1/2} = 30$ min aus dem Tumorgewebe diffundierte und somit eine Myelosuppression verursachte.⁸¹

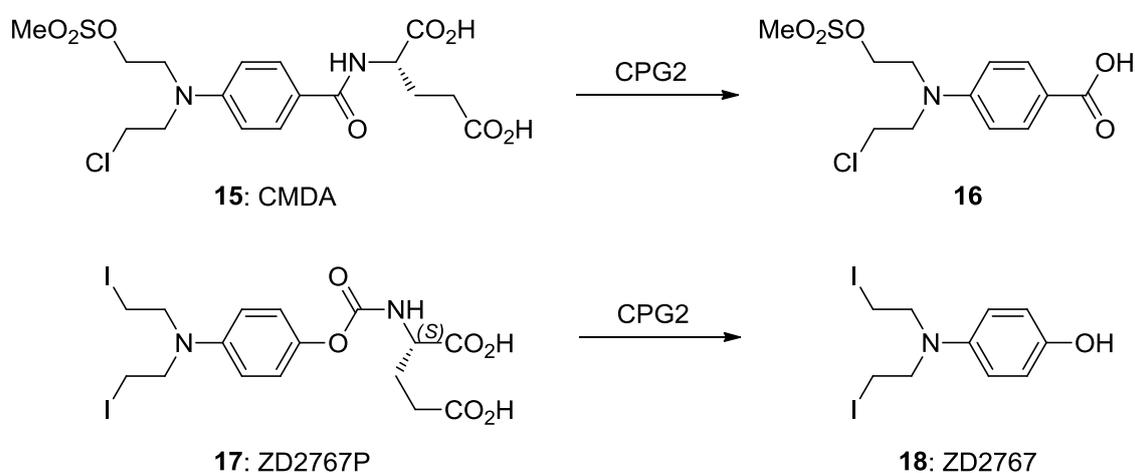


Abbildung 10. Prodrugs CMDA (**15**) sowie ZD2767P (**17**) und ihre Aktivierung zu den entsprechenden Drugs **16** und **18** mit Hilfe von Carboxypeptidase G2 (CPG2).

Aus weiteren Studien war bekannt, dass das Glutamat-Prodrug ZD2767P⁸² (**17**) eine wesentlich kürzere Plasmahalbwertszeit besitzt, ebenfalls durch CPG2 zum Bisiod-*N*-Lost-Drug ZD2767 **18** aktiviert werden kann und einen ähnlichen QIC₅₀-Wert von 100–200 aufweist. In diesem Fall wurde das Prodrug jedoch nicht in Kombination mit einem Konjugat, sondern mit einem mannosylierten Fusionsprotein aus Single-chain-Antikörper und Enzym angewandt.⁶³ Hierbei wird der Umstand genutzt, dass die Leber über einen Mannose-Rezeptor verfügt, so dass eine schnellere Clearance ermöglicht wird. Nach 2–3 Therapiezyklen konnte eine klinisch signifikante Anti-Tumor-Response bei Patienten mit fortgeschrittenem kolorektalem Karzinom beobachtet werden,^{50c} allerdings ist auch mit diesen Substraten bisher keine Behandlung⁸³ verwirklicht worden.

In präklinischen Studien wurde ein von *Tietze et al.* synthetisiertes Galaktosyl-Prodrug⁸⁴ in einem Mammakarzinommodell (MDA-MB-231) untersucht,⁸⁵ wobei nach zwei Therapiezyklen eine signifikante Hemmung des Tumorwachstums im Vergleich zu den Kontrolltieren erreicht werden konnte, deren Tumorwachstum um einen Faktor 1.7 höher lag. Ein weiterer ausgeprägter Therapieerfolg war in einem Lymphommodell (A20) nachzuweisen, bei dem das Tumorwachstum bei unbehandelten Tieren um einen Faktor 3.6 höher lag als in der therapierten Gruppe.^{13838b}

Nicht nur das ADEPT-Konzept hat sich als Zweistufenkonzept etabliert, sondern auch weitere Therapieansätze, wie u.a. GDEPT (*gene-directed*),⁸⁶ PDEPT (*polymer-directed*), PELT (*polymer-enzyme liposome therapy*),⁸⁷ CDEPT (*clostridial-directed*),⁸⁸ BDEPT (*bacteria-directed*),⁸⁹ FDEPT (*folate-directed*)⁹⁰ und LEAPT (*lectin-directed enzyme activated prodrug therapy*), wurden entwickelt.⁹¹

In neueren Studien wird das bereits genannte ADAPT-Konzept untersucht, bei dem mit Hilfe eines Abzyms die Zytostatika kaskadenartig und somit hocheffizient freigesetzt werden können.^{52a,70a,92} Weitere Studien befassen sich mit vielversprechenden selbstauflösenden Dendrimer-Systemen, die terminal mit Wirkstoffen wie Doxorubicin, Camptothecin, Paclitaxel oder Etoposid beladen sind.

4 CC-1065, Duocarmycine und Yatakemycin³

1978 wurde erstmals das natürliche Antibiotikum (+)-CC-1065 (**19**) von der *Upjohn Company* aus Kulturen von *Streptomyces zelensis* isoliert.⁹³ Mit dieser Substanz wurde im Folgenden Studien bezüglich ihrer biologischen Aktivität durchgeführt, in denen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* eine enorm hohe Zytotoxizität, breitgefächerte antibiotische Wirksamkeit sowie eine starke Antitumoraktivität gefunden wurden.⁹⁴ Die außergewöhnliche Struktur des (+)-CC-1065 zeichnet sich durch drei substituierte Pyrrolo[2,3-*e*]-indol-Einheiten aus, die jeweils über Amidbindungen miteinander verknüpft sind (Abbildung 11).

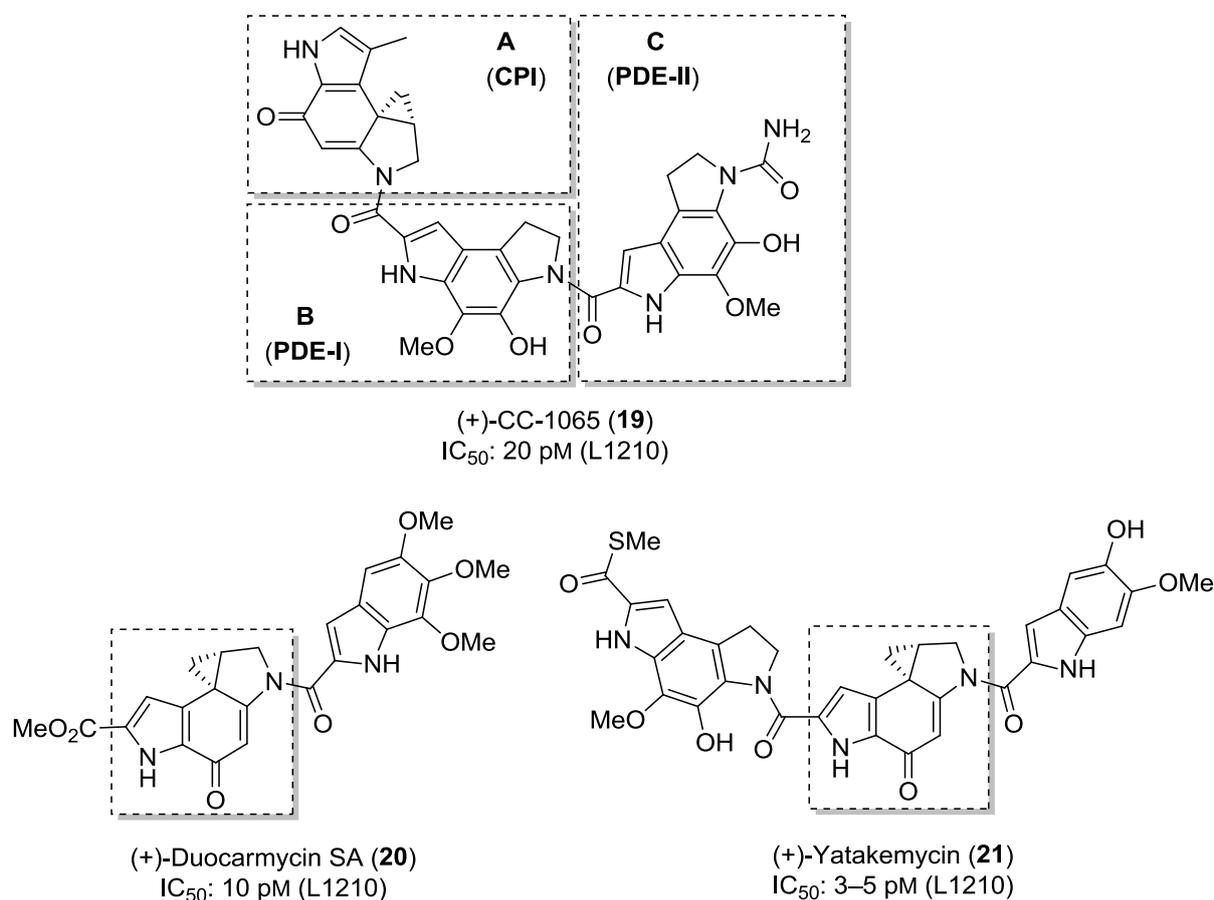


Abbildung 11. Die Alkylantien (+)-CC-1065 (**19**), (+)-Duocarmycin SA (**20**) und (+)-Yatakemycin (**21**).

Der Naturstoff wird in die Teile **A**, **B** und **C** aufgeteilt, wobei die Segmente **B** und **C** aus 1,2-Dihydro-3*H*-pyrrolo-[3,2-*e*]-indol-Systemen bestehen, welche ein identisches Substitutionsmuster zeigen und mit PDE-I und PDE-II angegeben werden. Dieser

Bereich des Moleküls weist eine hohe Affinität zur Doppelstrang-DNA auf und wird als DNA-bindende Einheiten bezeichnet. Das pharmakophore Segment **A**, auch CPI (Cyclopropapyrroloindol) genannt, hingegen basiert auf einer Spirocyclopropyl-cyclohexadienon-Struktur, welche für die DNA-alkylierende Wirkung verantwortlich ist. Jedoch sind diese Strukturmuster nicht einzigartig und so konnten an weiteren Streptomycetenstämmen strukturell verwandte Verbindungen wie die Duocarmycine⁹⁵ (z.B. (+)-Duocarmycin SA (**20**)) und Yatakemycin⁹⁶ (**21**) isoliert werden. Yatakemycin mit einem IC_{50} -Wert von nur 3 pM stellt derzeit eines der potentesten Zytostatika überhaupt dar. Innerhalb der Chemotherapeutika werden diese Verbindungen aufgrund ihres Wirkmechanismus zu der Klasse der Alkylantien (Kapitel A.3.1) gezählt.

Als Begründung für die zytotoxische Wirkung des CC-1065 (**19**) und analoger Substanzen wird eine sequenzspezifische Alkylierung der DNA angegeben, wobei die Alkylantien mit dem Adenin-N-3 in der kleinen Furche AT-reicher Regionen doppelsträngiger DNA reagieren. Der nukleophile Angriff des Adenin-N-3 findet an das Brückenkopfatom (in diesem Fall das am niedrigsten substituierte Kohlenstoffatom) der Spirocyclopropyleinheit (Abbildung 12) statt. Hierbei interagiert die lipophile Innenseite der gekrümmten Struktur des CC-1065 und seiner Analoga mit den Nucleobasen, wohingegen die hydrophile Außenseite eine Einlagerung in die kleine Furche durch Wechselwirkungen mit den polaren Funktionalitäten des DNA-Rückgrates begünstigt.

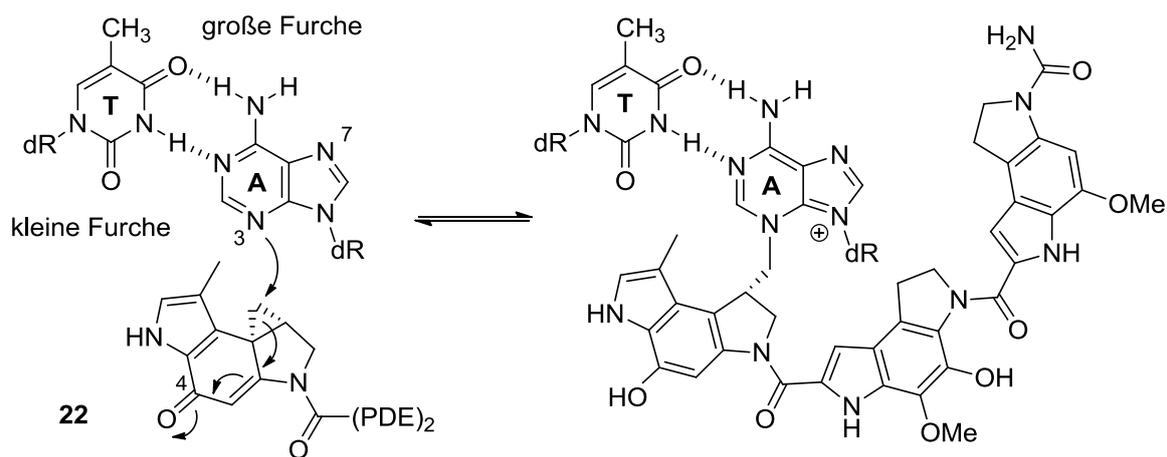


Abbildung 12. Mechanismus der DNA-Alkylierung durch CC-1065 (**22**) in der kleinen Furche der DNA.

Allerdings sind in Bezug auf die beobachteten Alkylierungselektivitäten mehrere Hypothesen aufgestellt worden. Unter anderem postulierte *Hurley* ein Modell, bei dem

bestimmte Sequenzanforderungen bestehen, damit eine Alkylierung möglich ist. Hier wird zunächst eine Protonierung der Carbonylfunktion an C-4, die aus einer günstig angeordneten Phosphatgruppe im flexiblen DNA-Rückgrat resultiert, angenommen. Durch eine Konformationsänderung der DNA wird das nukleophile N-3 Atom des Adenins dem elektrophilen Zentrum des Wirkstoffs angenähert und so eine Reaktion begünstigt.⁹⁷ Dem Modell widerspricht, dass auch Strukturanaloga ohne Carbonylgruppe an C-4 die gleichen alkylierenden Eigenschaften und Selektivitäten aufweisen. Des Weiteren konnte in Studien belegt werden, dass sich die DNA-Konformation bei der Bindung des Drugs nicht signifikant verändert.⁹⁸

Eine andere Theorie der konformativen Aktivierung wird von *Boger* vertreten. Hierbei interkaliert die DNA-bindende Untereinheit, welche über eine Amidbindung mit dem Pharmakophor verbunden ist, durch seine Passform mit der kleinen Furche der DNA (*shape-selective recognition*) und wird in der Furche über Wasserstoffbrückenbindungen an AT-reiche Sequenzen fixiert.⁹⁹ Dabei kommt es zu einer Verdrillung der Amidbindung, aus der eine vinyloge Amiddestabilisierung des Enons folgt (*shape-dependent catalysis*) und somit wird die Reaktivität der Spirocyclopropyleinheit bezüglich eines nucleophilen Angriffs vor Ort erhöht (*target-based activation*). Dieses Modell ist konform mit Ergebnissen, die durch die Untersuchung von Molekülen ohne Amidbindung (Verbindung **23**) bzw. ohne vinyloge Konjugation (Verbindung **24**) erhalten wurden (Abbildung 13).¹⁰⁰ Diese Theorie stützen die zytotoxischen Eigenschaften des stabilenamins **23**, welches lediglich über ein Amin jedoch nicht über eine Amideinheit verfügt. Somit kann es nicht aktiviert werden und zeigt folglich auch keinerlei DNA-alkylierende Eigenschaften. Ebenso zeigt das Indol **24**, welches über eine alternative Spirozyklisierung synthetisiert wurde, deutlich geringere Stabilität als Duocarmycin SA (**22**) (420-fach weniger), da diesem Molekül die vinyloge Konjugation fehlt. Die DNA wird ebenso effizient alkyliert wie von dem Naturstoff, allerdings trotzdem 500-fach weniger potent, da die Reaktivität unspezifischer ist.

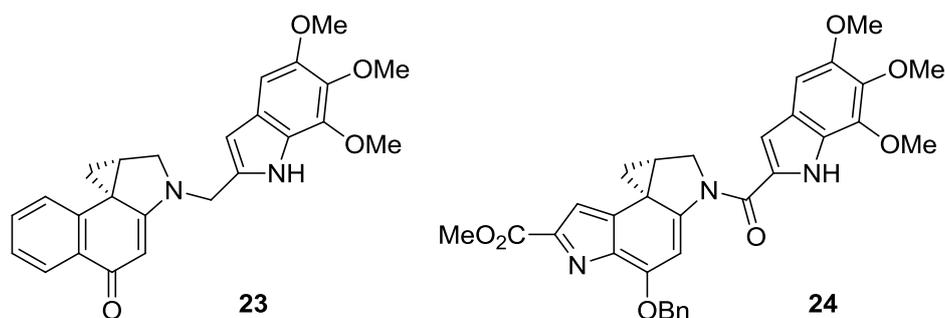


Abbildung 13. Verbindung **23** ohne Amidfunktion und **24** aus einer alternativen Spirozyklisierung mit phenolischer Schutzgruppe.

Allerdings widersprechen neuere DFT-Berechnungen¹⁰¹ der Annahme, dass die Aufhebung der vinylogenen Amidstabilisierung der entscheidende Faktor für die hohe Reaktivität der Wirkstoffe gegenüber Duplex-DNA sei. Dies begründet sich in der Tatsache, dass verschiedene Verbindungen mit sehr unterschiedlicher Reaktivität eine ähnliche Verdrillung der Amidbindung verursachen. Vermutlich beruht die Wechselwirkung der Wirkstoffe hingegen auf nicht-kovalente Bindungen, verursacht durch Proximitätseffekte, mit den funktionellen Gruppen in der kleinen Furche der DNA. Durch Änderung der Konformation und elektronischen Struktur wird vermutlich die Aktivierungsenergie im Vergleich zu einer nucleophilen Reaktion in Lösung vermindert und die Reaktivität somit erhöht.¹⁰²

4.1 Analoga von CC-1065 und der Duocarmycine

Obwohl CC-1065 (**22**) und die Duocarmycine eine außerordentlich hohe Zytotoxizität im unteren picomolaren Bereich aufweisen (Abbildung 11), kommen sie aufgrund schwerwiegender Nebenwirkungen nicht für eine klinische Anwendung in Frage. Bei *in vivo* Studien in Mäusen zeigte CC-1065 (**22**) eine verzögerte letale Hepatotoxizität,¹⁰³ wohingegen die Duocarmycine in therapeutisch wirksamen Dosen eine hohe Myelotoxizität verursachten. Weitere natürlich vorkommende oder synthetisch hergestellte Analoga der Verbindungen erzielten vergleichbar hohe Zytotoxizitäten. Einige Substrate zeigten ebenso eine Knochenmarkdepression, jedoch wies kein anderes Molekül Hepatotoxizitäten auf.¹⁰⁴ Diese scheint lediglich ein Problem des CC-1065 (**22**) darzustellen und muss nicht als charakteristisch für den Wirkmechanismus betrachtet werden.¹⁰⁵

Die Spirocyclopropyl-cyclohexadienon-Struktur des CI-Grundgerüsts (Abbildung 14)¹⁰⁶ ist ein unverzichtbarer Baustein dieser Zytostatika und alle natürlich vorkommenden (CPI, DA, DSA) sowie synthetisierten (z.B. CI, CBI, CBIQ, CPyI, MCBI, MCCPI) Vertreter enthalten diese pharmakophore Einheit der CC-1065-Familie. In Toxizitätsuntersuchungen wurden die Struktur-Wirkungsbeziehungen evaluiert und eine parabolische Beziehung zwischen der Solvolysstabilität der pharmakophoren Einheit und der Zytotoxizität gefunden. Sowohl Duocarmycin SA (**20**) als auch Yatakemycin (**21**) liegen auf dem Gipfel der Parabel (Abbildung 15).^{100,107} Bei größerer chemischer Stabilität der Verbindungen wurde auch eine höhere Zytotoxizität gefunden. Vermutlich ist ein effizienter Transport zum Wirkort des Drugs ein Grund für diesen Zusammenhang.

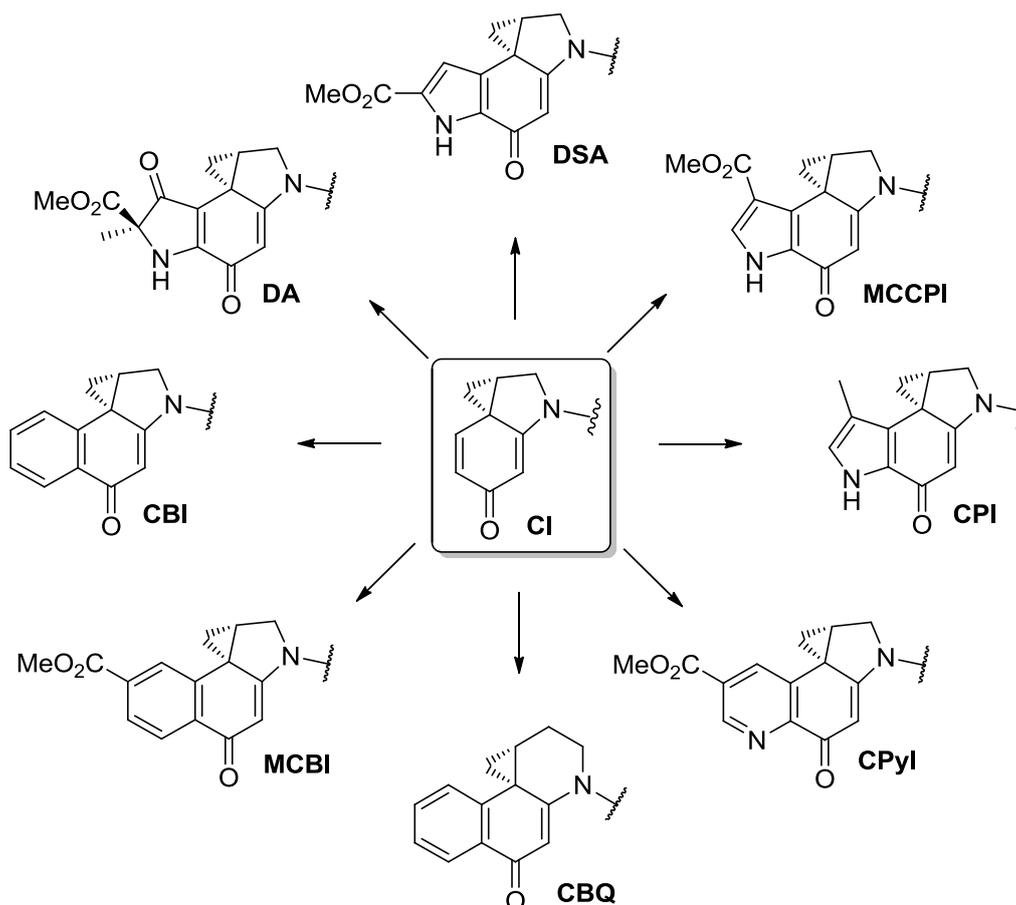


Abbildung 14. Analoga des Duocarmycins mit der pharmakophoren CI-Einheit.

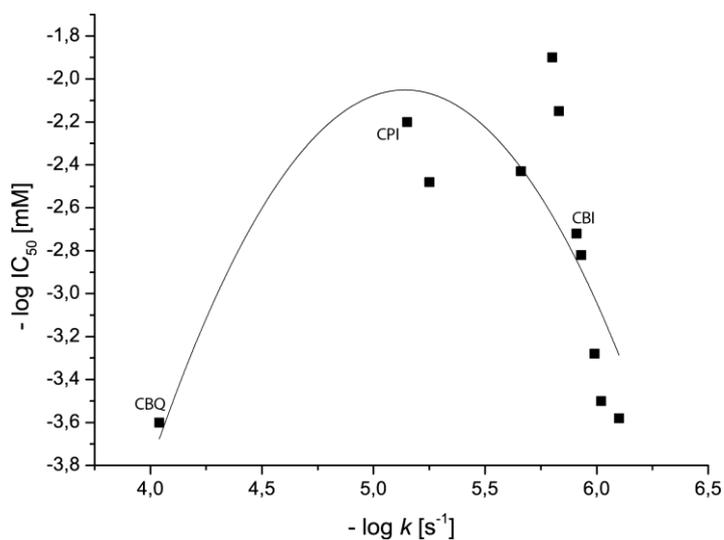


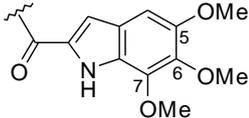
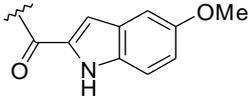
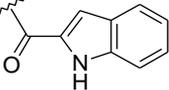
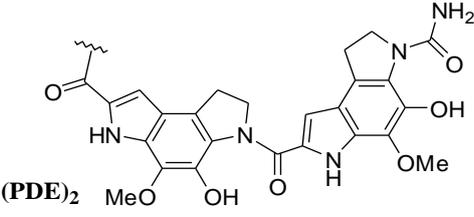
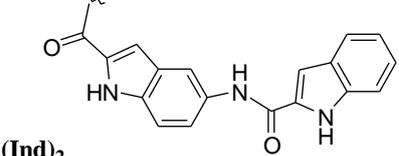
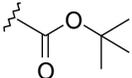
Abbildung 15. Parabolische Abhängigkeit der Zytotoxizität ($-\log IC_{50}$) von der Solvolysstabilität ($-\log k$) für verschiedene Analoga der Duocarmycine.¹⁰⁷

Übersteigt die Stabilität jedoch einen gewissen Wert, erniedrigt sich die zytotoxische Wirkung wiederum, da die Verbindungen schlicht zu unreaktiv sind, was nicht durch eine höhere Wirkstoffkonzentration am Wirkort ausgeglichen werden kann. Letzt-

endlich müssen beide Aspekte berücksichtigt werden, um die richtige Balance zwischen Stabilität (DNA unversehrt erreichen) und Reaktivität (DNA alkylieren) zu finden.

Nicht nur das Pharmakophor wurde variiert, sondern auch durch den Austausch der DNA-bindenden Einheit bei Duocarmycinen und verwandten Verbindungen wurde der Einfluss verschiedener Elemente systematisch untersucht und entsprechende Zytotoxizitäten verglichen.^{105,108} In Tabelle 1 sind ausgewählte Beispiele dieser Studien mit den pharmakophoren Gruppen DSA, CPI und CBI (Abbildung 14) sowie verschiedenen DNA-bindenden Einheiten aufgeführt.

Tabelle 1. Einfluss der DNA-bindenden Struktureinheit auf die Antitumoraktivität von DSA-, CPI- und CBI-Analoga.

	DNA-bindende Einheit	IC ₅₀ (L1210) [pM]		
		DSA	CPI	CBI
1	TMI 	10	–	30
2	MMI 	12	–	–
3		65	200	5000
4	(PDE)₂ 	–	20	–
5	(Ind)₂ 	3	20–40	5–10
6		6 × 10 ³	3.3 × 10 ⁵	8 × 10 ⁴

Hieraus wurden Struktur-Wirkungsbeziehungen ermittelt, die zeigen, dass die C-6- und C-7-Methoxysubstituenten des TMI z.B. nur geringfügig zur Potenz der Verbindungen beitragen, wohingegen die C-5-Methoxygruppe essentiell für eine hohe Bioaktivität ist (Einträge 1–3). Auch wurde die Größe der DNA-bindenden Einheit mit einbezogen und so wurde für die Bisindol-Derivate (Einträge 4 und 5) eine um den

Faktor drei bis sechs höhere Zytotoxizität im Vergleich zu den Substanzen, die TMI trugen, nachgewiesen. So kann gefolgert werden, dass sich die Zytotoxizität mit zunehmender Größe des DNA-Binders erhöht. Besitzen die Verbindungen keine DNA-bindende Einheit wird ein etwa 1000- bis 10 000-fach geringerer Wert als der des entsprechenden Naturstoffs gefunden, wodurch der DNA-bindenden Einheit eine Schlüsselrolle zu gesprochen wird (Eintrag 6). Zudem wurde der Pyrrol-Ring im CPI durch einen Benzolring (CBI-Analoga) substituiert, was eine geringere Ringspannung und folglich eine höhere Stabilität sowie geringere Zytotoxizität zur Folge hat (Eintrag 5).^{105,109}

Da bekannt ist, dass Stereoinformationen einen erheblichen Einfluss auf *in vivo* Eigenschaften ausüben, wurden neben den natürlich vorkommenden Konfigurationen auch Vertreter gleicher Konstitution aber unterschiedlicher Konfiguration verglichen. Durch diese Vergleiche stellte sich heraus, dass Verbindungen mit unnatürlicher Konfiguration geringere (z.B. Duocarmycine) oder ähnliche Zytotoxizitäten (z.B. CC-1065) als die entsprechenden Enantiomere mit natürlicher Konfiguration aufweisen.¹¹⁰ Beispielsweise zeigt bei Duocarmycin A **25** (Abbildung 16) das natürliche (+)-Enantiomer (+)-**25** eine Zytotoxizitätserhöhung um den Faktor 110 verglichen mit dem unnatürlichen (–)-Enantiomer (–)-**25**.

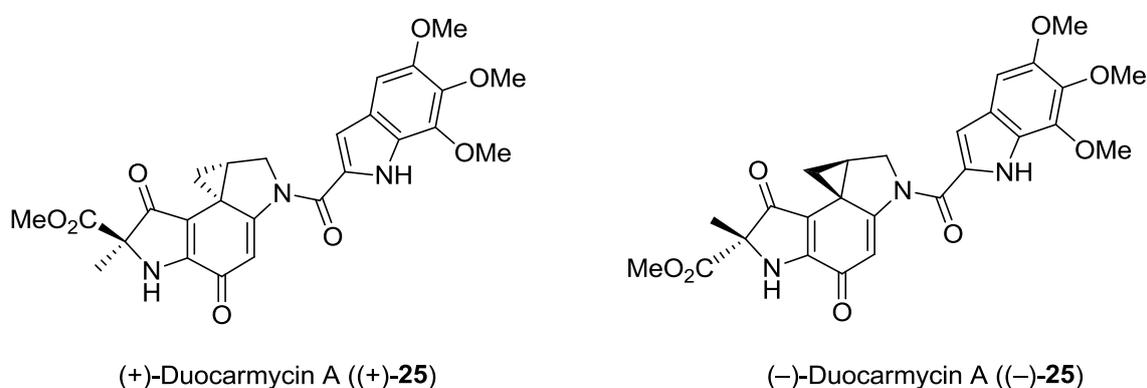


Abbildung 16. Die Duocarmycine (+)-Duocarmycin A ((+)-**25**) und (–)-Duocarmycin A ((–)-**25**).

Vergleicht man hingegen die Konzentrationen und relative Alkylierungseffizienz, so unterscheiden sich die Enantiomere des Duocarmycin SA (**20**) um einen Faktor 10, wobei das natürliche (+)-Enantiomer die größere relative Alkylierungseffizienz inne hat. Beim bereits erwähnte Duocarmycin A **25** findet sich sogar ein 100facher Unterschied. Diese Untersuchung lässt auf einen linearen Zusammenhang zwischen IC_{50} -Wert und Konzentration schließen.¹¹¹

Tabelle 2. Linearer Zusammenhang zwischen relativer Alkylierungseffizienz und IC_{50} -Wert für Enantiomere der Duocarmycine und des CC-1065 **19**.

Substrat	IC_{50} L1210 [pM]	rel. Alkylierungseffizienz
(+)-Duocarmycin SA	10	1
(-)-Duocarmycin SA	100	0.1
(+)-Duocarmycin A	200	0.05
(-)-Duocarmycin A	> 22 000	< 0.0005
(+)-CC-1065	20	0.5
(-)-CC-1065	20	0.5

Aus den Evaluationen mit Duplex DNA konnte festgestellt werden, dass natürlich konfigurierte Wirkstoffe mit DNA-bindender Einheit ein Adenin am 3'-Ende einer AT-reichen Region alkylieren. Liegt hingegen die unnatürliche Konfiguration vor, alkylieren die Verbindungen ein Adenin am 3'-Ende des komplementären Stranges,¹⁰⁵ da das Drug in der AT-reichen Bindungsstelle entgegengesetzt orientiert ist. Dies kann allerdings nicht erklären, warum die unnatürlichen Vertreter eine geringere zytotoxische Wirkung zeigen.

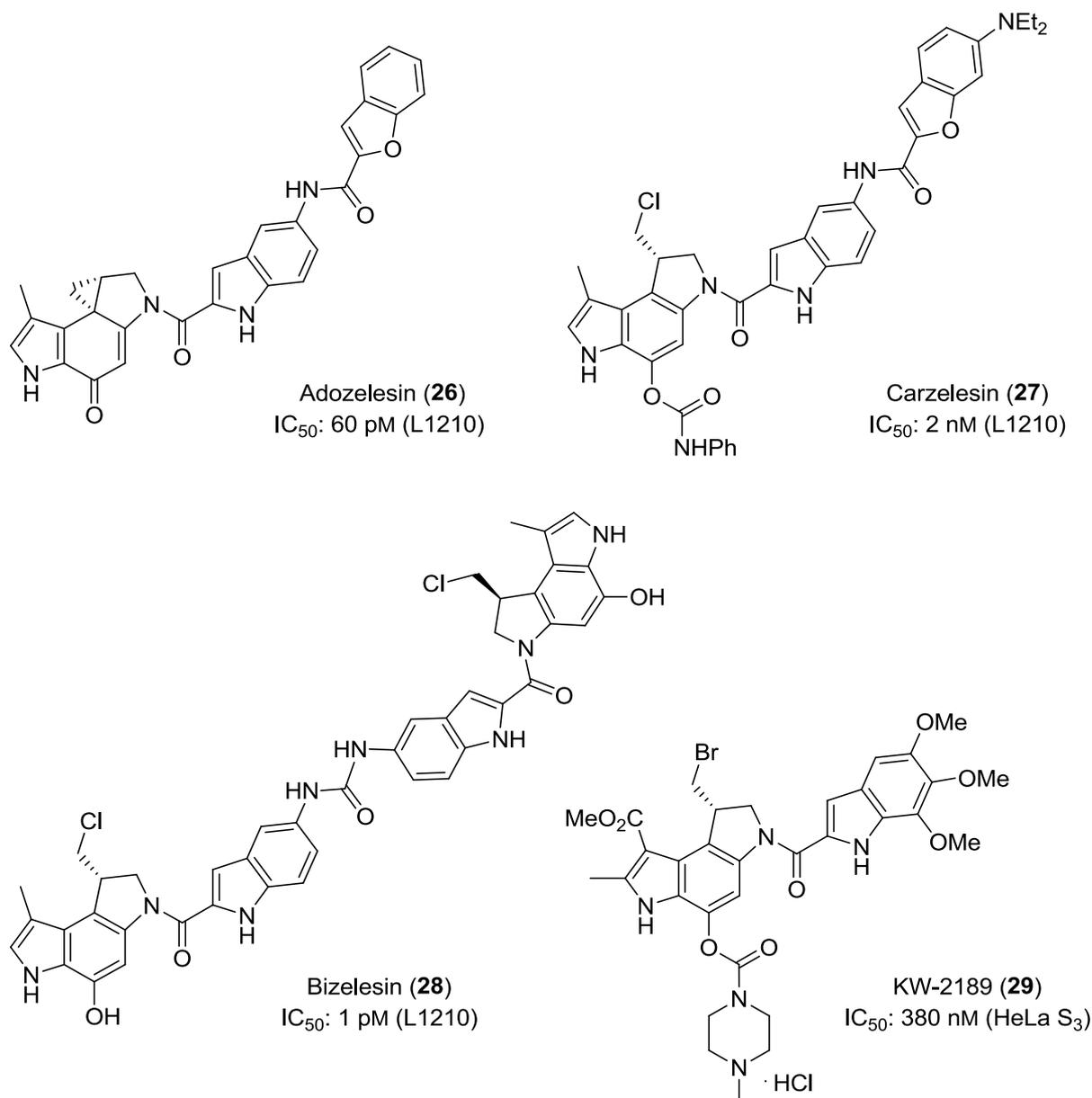


Abbildung 17. In klinischen Phasen getestete Duocarmycin-Analoga: Adozelesin (**26**), Carzelesin (**27**), Bizelesin (**28**) und KW-2189 (**29**).

Bereits mehrere synthetische Duocarmycin-Analoga wurden in Studien untersucht. Hierunter finden sich Adozelesin (**26**),¹¹² Carzelesin (**27**),¹¹³ Bizelesin (**28**)¹¹⁴ und KW-2189 (**29**),¹¹⁵ die aufgrund ihrer Eigenschaften und hervorragender *in-vitro*-Resultate für klinische Studien ausgewählt wurden (Abbildung 17). Trotz eines signifikanten Anti-Tumor-Responses mussten alle Studien aufgrund ausgeprägter Myelotoxizität^{112–115} eingestellt werden, die sich bei der Applikation therapeutischer Dosen manifestierte. Eine Ausnahme bildet hier das Bizelesin (**28**).

4.2 *Seco*-Verbindungen und Prodrugs einiger Duocarmycin-Analoga

Obwohl *seco*-Analoga wie **30** und **31** keine Spirocyclopropyleinheit (Abbildung 18) aufweisen, zeigen sie dennoch eine hohe Zytotoxizität und Selektivität vergleichbar zu den natürlich vorkommenden Substanzen CC-1065 und den Duocarmycinen, welche im Allgemeinen eine zyklisierte Propyleinheit tragen.^{2d,105} Dieser Umstand lässt sich durch eine *Winstein*-Aryl-3'-Spirozyklisierung¹¹⁶ der *seco*-Verbindungen erklären, welche *in situ* den Cyclopropanring bildet, so dass die DNA dann durch das CBI-Drug **32** alkyliert werden kann. Diese Zyklisierung kann aufgrund der phenolischen Hydroxyfunktion stattfinden, die deprotoniert dazu neigt, die aromatische Struktur aufzugeben und in eine Chinonstruktur umzusetzen. Hierbei verlässt die Abgangsgruppe das Molekül und bildet den Spirozyklus (Abbildung 18). Durch diese zentrale Bedeutung kann die phenolische Hydroxygruppe genutzt werden, um den Zyklisierungsmechanismus zu verhindern, in dem an dieser Stelle eine Schutzgruppe eingeführt wird, und so ein folglich „untoxisches“ (detoxifiziertes) Prodrug erhalten werden kann.¹¹⁷

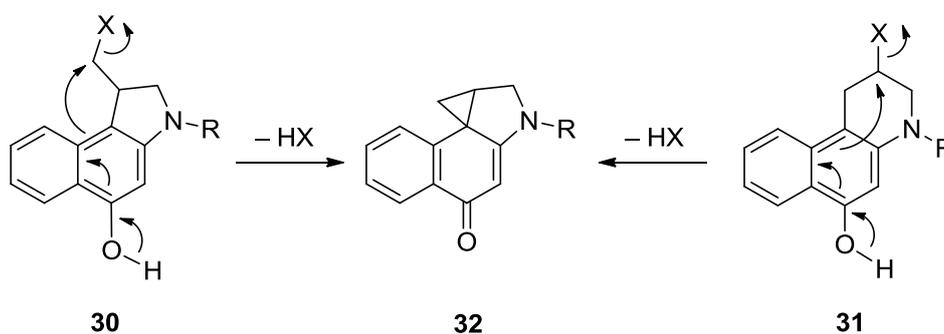


Abbildung 18. *Winstein*-Aryl-3'-Spirozyklisierung der *seco*-CBI-Derivate **30** und **31**. X = Abgangsgruppe.

4.2.1 Forschungsergebnisse anderer Arbeitsgruppen

Neben dem ADEPT-Konzept gibt es den ähnlichen Ansatz des GDEPT. Forschungen auf diesem Gebiet verfolgen *Denny et al.* mit Duocarmycin-analogen Prodrugs, welche allerdings mit Hilfe von Nitroreduktase selektiv im Tumorgewebe zum entsprechenden *seco*-Drug aktiviert werden.¹¹⁸ Um eine gezielte Enzymaktivität zu garantieren, werden die Krebszellen genetisch so verändert (transfiziert), dass sie

Nitroreduktase exprimieren. Im Prinzip ist der Verlauf identisch zu dem bereits erwähnten *seco*-CBI-System, wobei in diesem Fall die Prodrugs durch eine Carbamat blockierte Amino-*seco*-CBI-Funktion freigegeben wird. Nach Abspaltung der detoxifizierenden Einheit verhält sich das System jedoch analog zum *seco*-CBI und wird über das intermediäre *seco*-Drug zyklisiert. Wie im Folgenden gezeigt, wird das Prodrug **33** durch die im Tumor sezernierte Nitroreduktase zum Hydroxylamin **34** reduziert und kann hierdurch *in situ* zum entsprechenden *seco*-Drug **35** hydrolysiert werden (Abbildung 19).

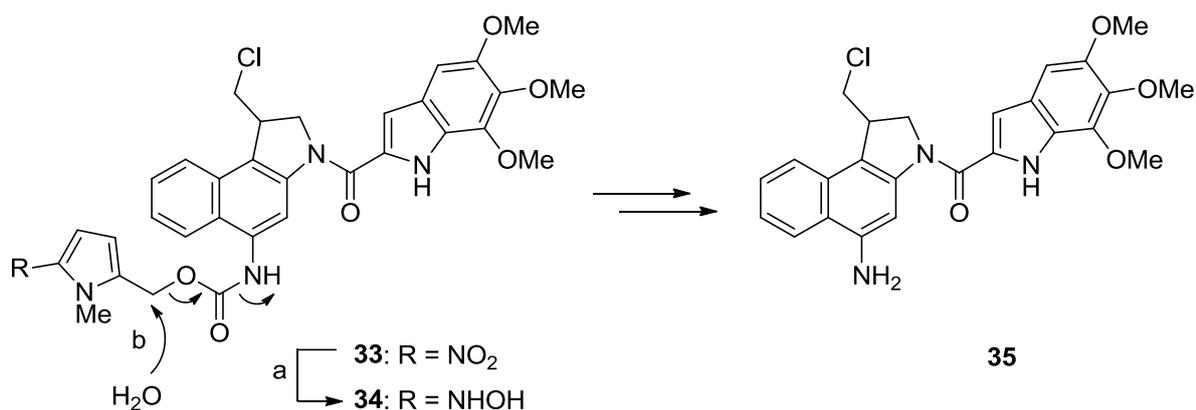


Abbildung 19. a) Reduktion des Prodrugs **33** durch Nitroreduktase und anschließende b) Hydrolyse zum zytotoxischen *seco*-Drug **35**.

Da das Prodrug **33** bei Nitroreduktase-transfizierten Ovarialkarzinomzellen (SKOV-3) nur eine etwa 20-fach höhere Zytotoxizität zeigt im Vergleich zu den korrespondierenden nicht-transfizierten Zellen, kann von einer unvollständigen Prodrug-Aktivierung ausgegangen werden. Weitere zwölf neue 4-Nitrobenzyl-Carbamat-Prodrugs¹¹⁹ wurden entwickelt. Doch auch diese wiesen in *in-vitro*-Untersuchungen nur leicht erhöhte QIC₅₀-Werte bis zu 87 auf.

Y. Wang *et al.* synthetisierten Prodrugs, die ihre zytotoxische Wirkung durch eine Bindung an Serum-Albumin oder durch eine Konjugation mit natürlichen Fettsäuren bevorzugt im Tumorgewebe entfalten sollten.¹²⁰ Obwohl auch hier die QIC₅₀-Werte nur moderat ausfielen (<150), konnten trotzdem gute *in-vivo*-Ergebnisse erreicht werden, wobei die Konjugation mit der Fettsäure DHQ nicht den erwarteten signifikanten Unterschied zwischen Prodrug und *seco*-Drug ohne Fettsäure zeigte.

Denny und Terzel *et al.* synthetisierten hingegen Nitro-CBI-Prodrugs, die durch den Sauerstoffmangel in malignen Gewebe und dadurch resultierenden hypoxischen Bedingungen aktiviert werden können. Biologische Evaluationen zeigten, dass das

Prodrug **36** durch den Sauerstoffmangel in das Amino-CBI-*seco*-Drug **37** überführt werden kann (Abbildung 20a).¹²¹ Unter aeroben Bedingungen zeigte die Verbindung **36** in *in-vitro*-Tests eine ca. 3000-fach geringere Zytotoxizität an Ovarialkarzinomzellen der Linie UV4 als **37**. Der QIC₅₀-Wert zeigte unter diesen Bedingungen jedoch nur einen moderaten Wert von 300, möglicherweise begündet in einer unvollständigen Aktivierung der Nitroverbindung. Um auch elektronische Effekte zu evaluieren, wurde in weiteren Studien ein elektronenziehender Substituent an C-7 eingeführt. Bei der Ermittlung des QIC₅₀-Werts konnte jedoch nur eine marginale Veränderung, maximal um 330, festgestellt werden.¹²²

Ebenso wurde der Einfluss von Übergangsmetallen in Studien untersucht. Hierbei zeigten die Prodrugs hochzytotoxischer Aza-CBI-Verbindungen (Abbildung 20) wie **38** unter hypoxischen Bedingungen eine Zytotoxizitätserhöhung um das 50–750-fache, im Gegensatz zum aeroben Milieu. Es wird angenommen, dass sich die Stabilität der Komplexe bei einer Ein-Elektronen-Reduktion des Co²⁺ signifikant verringert und somit das Prodrug unter Sauerstoffmangel oder bei Verwendung ionisierender Strahlung zum *seco*-Drug **39** aktiviert werden kann.¹²³ Leider zeigten auch diese Vertreter, wie schon die Nitroverbindungen zuvor, schlechtere Selektivitäten unter diesen Bedingungen. Die QIC₅₀-Werte konnten so auf lediglich QIC₅₀ = 2–41 bestimmt werden.

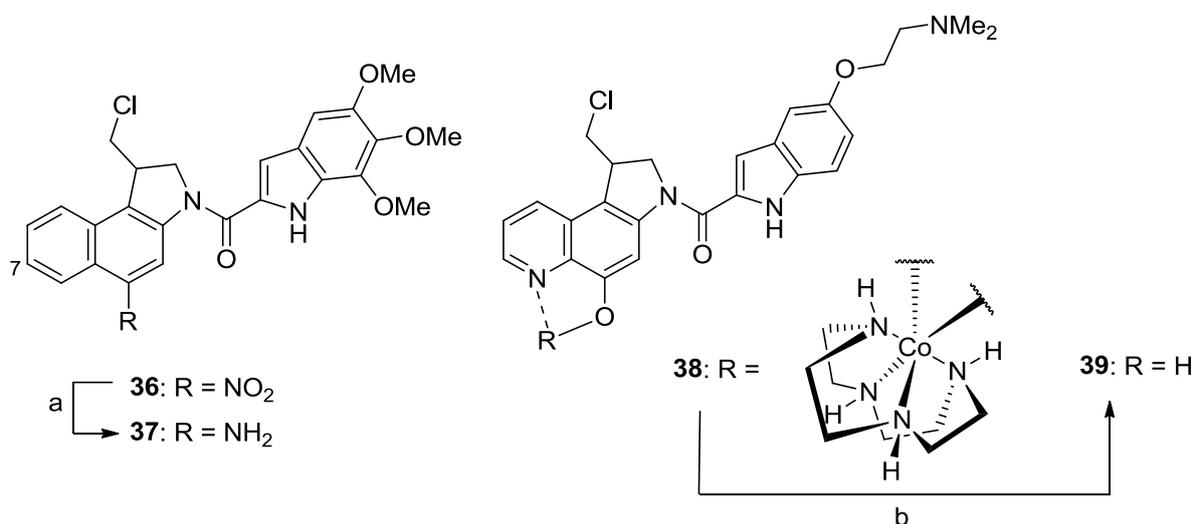


Abbildung 20. a) Reduktion des Nitro-CBI-Prodrugs **36** zum Amino-*seco*-CBI-Drug **37**; b) reduktive Aktivierung des Metallkomplex-Prodrugs **38** zum Aza-*seco*-CBI-Drug **39**.

Verschiedene Derivate von CBI-Prodrugs wurden von *Boger et al.* synthetisiert, in denen die phenolische OH-Gruppen (vgl. Abbildung 18) als Carbamat detoxifiziert sind. Hierbei wird davon ausgegangen, dass die schwache N-O-Bindung im

Tumorgewebe durch anwesende reduzierende Nucleophile wie etwa Thiole gebrochen wird und somit die aktiven *seco*-Drugs erhalten werden können.¹²⁴ Allerdings zeigten die Prodrugs eine vergleichsweise hohe Bioaktivität, so dass sie *in vitro* bestenfalls 37-fach weniger zytotoxisch waren als die korrespondierenden *seco*-Drugs.

4.2.2 Bifunktionale Alkylantien und DNA-Interstrang-Quervernetzungen

Bisher wurden Verbindungen mit einer aktiven pharmakophoren Einheit erwähnt. Es besteht beispielsweise ebenfalls die Möglichkeit Substanzen herzustellen, die zwei funktionale Einheiten besitzen, mit denen sie interagieren können. Solche bifunktionellen Alkylantien sind dadurch in der Lage Intra- und Interstrang-Quervernetzungen der DNA zu bilden.¹²⁵ Letztere auch *Interstrand Cross-Links* (ICLs) genannt, verändern die DNA so stark, dass die Zelle hierdurch effektiver im DNA-Metabolismus gestört werden kann. Aus diesem Grund zeigen diese Veränderungen häufig fatale Folgen, was die hohe Zytotoxizität von Bisalkylantien begründet.¹²⁶ Um ILCs zu reparieren müssen Doppelstrangbrüche eingeleitet werden und diese können zu verschiedenen Reaktionen wie Zellzyklus-Arretierung, homologe Rekombination zur Reparatur des Strangbruches oder Apoptose bei zu starker Schädigung der DNA führen. Durch bifunktionale Alkylantien verursachte Doppelstrangbrüche unterscheiden sich von solchen, die durch Agentien verursacht werden oder von direkt Brüchen z. B. verursacht durch ionisierende Strahlung. Über die exakten komplizierten Reparaturmechanismen von ICLs ist bislang wenig bekannt.¹²⁷ Auch können endogene Faktoren wie z.B. bifunktionale Peroxidationsprodukte von Lipiden¹²⁸ zu ICLs führen.

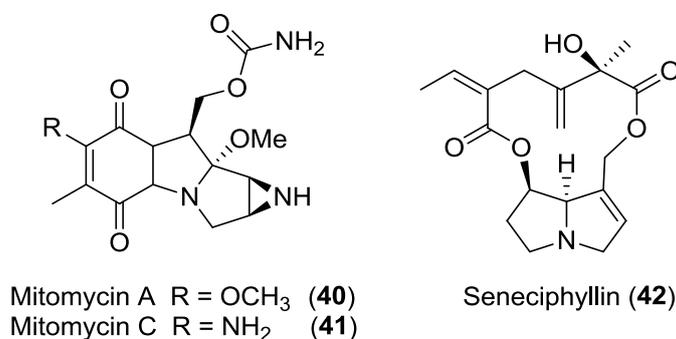


Abbildung 21. Die reduktiv aktivierbaren Mitomycine A und C (40, 41) sowie Seneciophyllin (42), das oxidativ aktiviert wird.

Bereits erwähnte Wirkstoffe wie Cyclophosphamid, Cisplatin, Daunorubicin und Doxorubicin sowie weitere Naturstoffe wie die Mitomycine A (**40**), C (**41**) und das Pyrrolizidin-Alkaloid Seneciophyllin (**42**) (Abbildung 21) bilden ebenso ICLs aus,¹²⁹ wobei die Mitomycine reduktiv aktiviert, das Seneciophyllin hingegen oxidativ aktiviert werden.

Der simpelste Ansatz, um eine bifunktionale Verbindung zu erhalten, ist die Hybridbildung von zwei monoalkylierenden Einheiten. Beispiele für diese Art von formalen Dimeren sind Pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepine (PBDs) die von

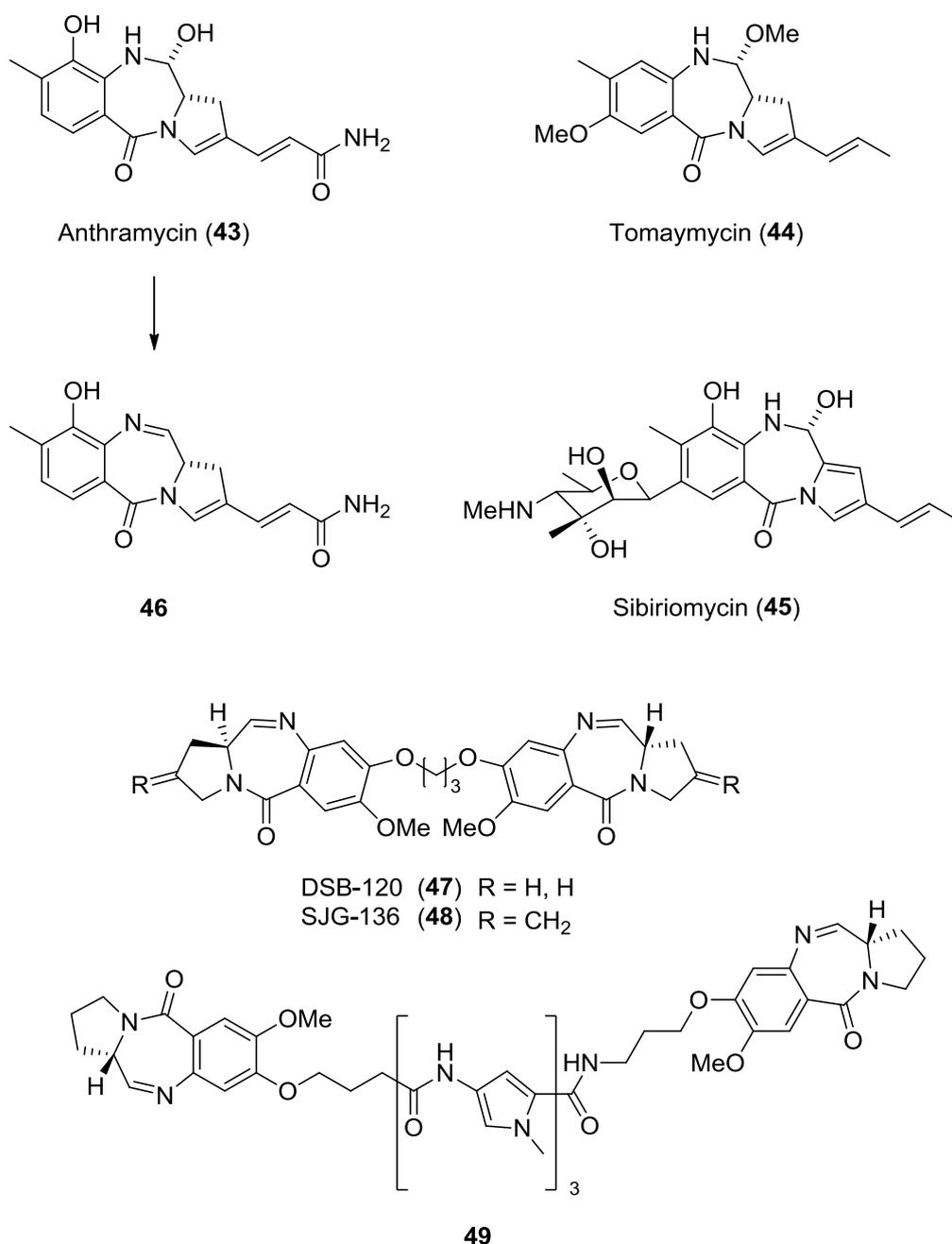
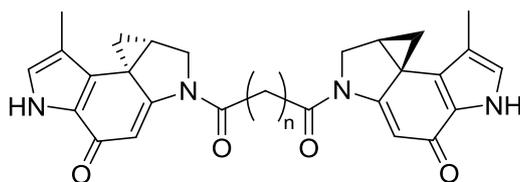


Abbildung 22. oben: Die Naturstoffe Anthramycin (**43**), Tomaymycin (**45**) und Sibriomycin (**47**) mit dem aktiven Imin **46**; unten: bifunktionelle Alkylantien als Analoga der PBDs.

J. A. Hartley und *D. E. Thurston* untersucht wurden.¹³⁰ Zu der Naturstoffklasse der PBDs gehören die Vertreter Anthramycin (**45**), Tomamycin (**46**) und Sibirimycin (**47**), die alle ein Carbinolamin als gemeinsames Strukturmerkmal besitzen und welches mit Anti-Tumor-Aktivität in Verbindung gebracht wird (Abbildung 22).¹³¹ Durch Bildung des entsprechenden Imins **48** aktiviert alkylieren diese Wirkstoffe dann reversibel, aber hochselektiv das exozyklische *N*-2-Amin von Desoxyguanosin in der kleinen Furche doppelsträngiger DNA. Diese Alkylierung findet präferiert an Purin-G-Purin-Triplets statt. Daraus resultiert die für PDB Monomere typische und effiziente Inhibition der DNA- und RNA-Synthese.¹³²

Die ersten Wirkstoffe dieser Art sind mittels einer flexiblen Methylenverbrückung verknüpft wie DSB-120 (**47**) und SJG-136 (**48**) (Abbildung 22)¹³³ und zeigen ein großes Potential zur Bildung von ICLs. Diese ICLs waren über eine Untersuchung mit Gel-Elektrophoreseassays detektierbar bis in Konzentrationsbereiche von 10 pM. Hierzu wurde das Plasmids pBR 32 mit den Wirkstoffen inkubiert. Die Quervernetzungen werden zwischen Guanin-*N*2-Positionen in 5'-GATC-3'-Sequenzen über sechs Basenpaare ausgebildet. Auch *in vivo* zeigte SJG-136 Wirkung gegen eine Vielzahl von Modellen verschiedener Tumorarten wie Brust-, Lungen- oder Dickdarmcarzinomen und promyelozytischer Leukämie¹³⁴ und wird zurzeit in Phase I der klinischen Studien getestet. Ergebnisse neuester Forschung ist das polyamid-verknüpfte Tomamycin-Derivat **49** (Abbildung 22),¹³⁵ welches ICLs über elf Basenpaare bildet und trotz seiner relativ hohen molaren Masse von 984.07 g/mol membrangängig ist. Da bisalkylierende Analoga des CC-1065 und der Duocarmycine eine enorme zytotoxische Wirkung zeigen, wurden auch diese evaluiert. Hergestellt von *M. A. Mitchell* und *P. A. Aristoff* wurden zuerst **50a-k** ($n = 2 - 11, 14$) untersucht (Abbildung 23). Neben den zwei pharmakophoren CPI-Einheiten des (+)-CC-1065 besitzen die Substanzen eine Methylenbrückenverknüpfung.¹³⁶ Die hervorragenden IC₅₀-Werte von 2–20 pM (L1210) übersteigen zum Teil sogar den ursprünglichen Naturstoff mit IC₅₀-Wert von 20 pM (L1210). Die sehr guten Ergebnisse der Zytotoxizitäten der Verbindungen konnte mit der relativen Quervernetzungsrate (*relative cross-linking score*) korreliert werden. Im Besonderen sind dabei Verbindungen mit $n = 3-5$ (Glutarsäure, Adipinsäure und Pimelinsäure) als Linker hervorzuheben, wobei der Vertreter mit verbrückender Einheit $n = 3$ den niedrigsten IC₅₀-Wert von 2 pM erreichte.¹³⁶



50a-k ($n = 2-11, 14$)

$IC_{50} = 2-9000 \text{ pM}$

Abbildung 23. Bisalkylierende Wirkstoffe mit der pharmakophoren CPI-Einheit des (+) CC 1065.

Untersuchungen haben gezeigt, dass Bisalkylanzien mit gleicher Konfiguration (C_2 -Symmetrie) potenter sind als ihre entsprechenden *meso*-Verbindungen (C_S -Symmetrie).

Bereits durch *J. W. Lown* et. al wurden quervernetzende *seco*-CBI-Analoga dargestellt und bei Studien mit racemischen pharmakophoren Einheiten wurde festgestellt, dass die Verbrückung über $N3-N3$ wesentlich potentere Wirkstoffe liefert als die alternativen Verbrückungen über $C7-N3$ oder $C7-C7$. Bei diesen Molekülen lieferten Kettenlängen von $n = 3-5$ ebenso die potentesten Alkylantien (Abbildung 24).¹³⁷

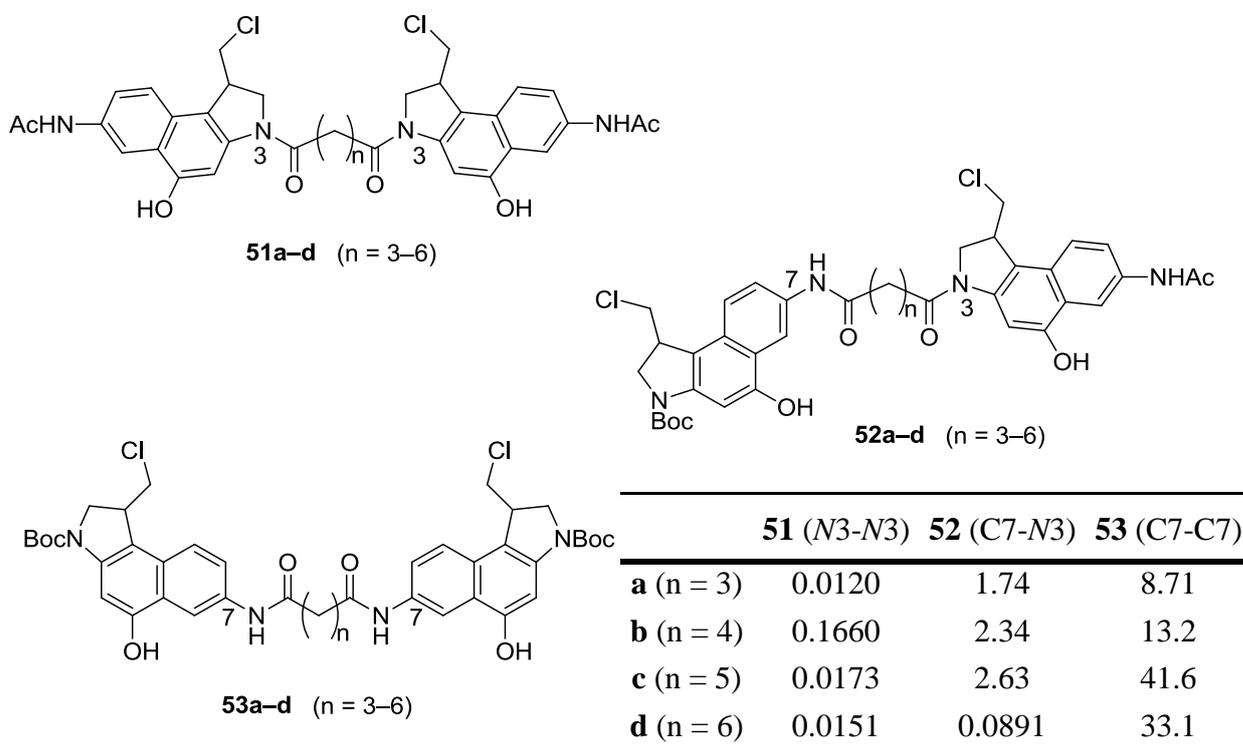


Abbildung 24. Bifunktionale Alkylantien mit CBI und verwandten Pharmakophoren sowie deren IC_{50} -Werte [μM] in Abhängigkeit der Kettenlänge der Methylenbrücke (s. Tabelle).

4.2.3 Forschungsergebnisse aus dem Arbeitskreis Tietze

In den vergangenen Jahren konnten im Arbeitskreis Tietze zahlreiche Duocarmycin-analoge Prodrugs für eine Anwendung in ADEPT synthetisiert und hinsichtlich ihrer biologischen Wirksamkeit untersucht werden.^{2,138,139} Hierbei wurden im Vergleich zu anderen Forschungsgruppen Glykoside eingesetzt, um die *seco*-Drugs zu detoxifizieren. Somit konnten vergleichsweise „untoxische“ Prodrugs wie **54a–g** und **55–57** mit Hilfe entsprechender Antikörper-Glycohydrolase-Konjugate (ADEPT) bzw. tumorassoziierter β -D-Glucuronidase (PMT) in die korrespondierenden *seco*-Drugs **58–61** umgewandelt werden, die dann *in situ* zu den zytotoxischen Drugs **62–65** zyklisieren (Abbildung 25).

Zielgebend bei diesem Projekt ist die Entwicklung neuartiger aktiver Verbindungen, die eine möglichst große therapeutische Breite des Prodrugs, also einen hohen QIC₅₀-Wert, sowie ein möglichst hohes zytotoxisches Potential der freigesetzten Wirkstoffe aufweisen. In letzter Zeit konzentrierte sich die Forschung aufgrund der hervorragenden Ergebnisse primär auf das Pharmakophor CBI (Abbildung 25) bzw. *anti*-Methyl-CBI. Als *seco*-Form an diverse DNA-Binder sowie an verschiedene Glykoside gekuppelt oder ohne jegliche DNA-bindende Einheit als Dimere wurden diese untersucht. Durch die Einführung einer Methylgruppe am CBI-Pharmakophor (*anti*-Methyl-CBI) konnte die sterische Hinderung am Spirocyclopropylsystem vergrößert und damit die Gefahr einer direkten DNA-Alkylierung durch die Prodrugs reduziert werden. Allerdings zeigen Untersuchungen, dass die Zytotoxizität der Methyl-Verbindungen generell niedriger ist als die der entsprechenden CBI-Systeme. In Tabelle 3 sind die ermittelten *in-vitro*-Zytotoxizitäten ausgewählter Prodrugs und *seco*-Drugs an der humanen Bronchialkarzinomzelllinie A549 aufgeführt. Nicht nur die Wahl des Pharmakophors sondern auch der DNA-Binder sowie die Zuckereinheit zeigen entscheidenden Einfluss auf die Bioaktivität der *seco*-Drugs und den QIC₅₀-Wert der Prodrugs. Die besten Ergebnisse konnten die DNA-bindenden Einheiten DMAI (R² = H) und DMMI (R² = OMe) erzielen, die zusätzlich mit ihrer tertiären Aminofunktion und der damit gegebenen Möglichkeit zur Salzbildung die Wasserlöslichkeit der Verbindungen erhöht. Einen hervorragenden QIC₅₀ von 4800 erreichte der *anti*-Methyl-*seco*-CBI-DMAI- β -D-Galaktosid **54a**, wobei das entsprechende *seco*-Drug **58** einen IC₅₀-Wert von 750 pM lieferte.⁸⁴ Das demethylierte CBI-Prodrug **55** hingegen konnte nur einen Unterschied der Zytotoxizität in Ab- und Anwesenheit des Enzyms β -D-Galaktosidase von 3500 erzielen, jedoch war das *seco*-Drug mit einem IC₅₀-Wert von 16–26 pM um den Faktor 30–40 aktiviert.¹⁴⁰

zu 6500.¹⁴⁷ Durch ihre Disaccharid-Einheit wird die Polarität des Moleküls zusätzlich erhöht und eine Penetration der Zellmembran vollständig verhindert.

Im Ganzen zeigen die Untersuchungen, dass viele der dargestellten glykosidischen Prodrugs gute Voraussetzungen als Kandidat für eine Anwendung im Rahmen des ADEPT-Ansatzes aufweisen.

Tabelle 3. Ergebnisse der *in-vitro*-Zytotoxizitätstests der glykosidischen Prodrugs und *seco*-Drugs aus Abbildung 25. [a] Bestimmung der IC₅₀-Werte mittels Klonogenitätsassays an der Lungenkrebszelllinie A549; [b] QIC₅₀ = IC₅₀ des Prodrugs / IC₅₀ des Prodrugs in Anwesenheit des spaltenden Enzyms. o.E. = ohne Enzym, m.E. = mit Enzym.

	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ o.E. [nM] ^[a]	IC ₅₀ m.E. [nM] ^[a]	QIC ₅₀ ^[b]
Prodrugs						
54a	CH ₃	H	β-D-Galaktosyl	3600	0.75	4800
54b	CH ₃	H	α-D-Mannosyl	2700	0.60	4500
54c	CH ₃	H	β-D-Glucosyl	2000	1.90	1050
54d	CH ₃	H	β-D-Cellobiosyl	2400	2.60	920
54e	CH ₃	H	β-D-Lactosyl	2700	2.10	1290
54f	CH ₃	H	β-D-Glucuronyl	610	0.90	700
54g	CH ₃	H	β-D-methylglucuronyl	3300	2.10	1600
55	H	H	β-D-Galaktosyl	56.0	0.016	3500
56	CH ₃	OMe	β-D-Galaktosyl	940	0.22	4300
57	H	OMe	β-D-Galaktosyl	9.5	0.005	2100
58	H	H	β-D-Gal-(1→6)-β-D-Gal	130	0.020	6500
seco-Drugs						
58	CH ₃	H	H	–	0.75	–
59	H	H	H	–	0.026	–
60	CH ₃	OMe	H	–	0.20	–
61	H	OMe	H	–	0.009	–

Neben einer Vielzahl glykosidischer Prodrugs wurden einige Cumarin-Prodrug-Derivate synthetisiert, bei denen die detoxifizierende Einheit gleichzeitig als Fluoreszenzmarker diente. Diese Prodrugs wurden mittels konfokaler Laserspektroskopie auf ihre Membranpermeabilität und Akkumulation untersucht. Hierbei zeigte sich, dass diese Prodrugs bereits nach wenigen Minuten im Cytosol nachzuweisen sind und intrazellulär aktiviert werden.¹⁴³

Durch *B. Krewer* konnte im Arbeitskreis *Tietze* der Wirkmechanismus der Duocarmycin-analogen Drugs mittels ESI-FTICR-MS-Experimenten (*electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*), CD-Spektroskopie sowie HPLC untersucht und aufgeklärt werden.¹⁴⁴ Hierbei zeigte sich, dass die aus den *seco*-Drugs **58** und **59** entstehenden Drugs **62** und **63** sehr effizient und selektiv AT-reiche Regionen in synthetischen Doppelstrang-DNA-Oligonucleotiden alkylieren. Wohingegen Untersuchungen mit Glutathion als Modellpeptid, RNA-Oligonucleotiden sowie Einzelstrang-DNA-Oligonucleotiden nur äußerst schwache und unselektive Reaktionen ergaben, so dass diese als Angriffsziele der CC-1065- und Duocarmycin-Familie vermutlich unwahrscheinlich sind.

Da bei Untersuchungen mit Duplex-DNA signifikante Unterschiede zwischen der Methyl-CBI- **62** und der CBI-Verbindung **63** hinsichtlich der DNA-Alkylierung gefunden wurden, kann aufgrund des Alkylierungsgrades nicht auf die Zytotoxizität geschlossen werden. Es zeigte sich, dass das stärker zytotoxische **63** eine deutlich geringere DNA-Alkylierungseffizienz als **62** aufweist und daher ist vermutlich ein weiterer Parameter für die zytotoxische Wirkung entscheidend. Zum Beispiel ist bekannt, dass das CBI-*seco*-Drug **59** wesentlich langsamer zum entsprechenden aktiven Drug **63** zyklisiert als das Methyl-CBI-*seco*-Drug **58**. Durch eine nicht kovalente Wechselwirkung mit der DNA wird **59** stabilisiert, die die Zyklisierung zum Drug verzögert und folglich auch die Alkylierungseffizienz verringert. Daraus lässt sich folgern, dass eine gute Stabilisierung des *seco*-Drugs durch die DNA eine höhere Zytotoxizität begründet. Auch kann vermutet werden, dass eine nicht-kovalente Wechselwirkung eine „Überstabilisierung“ des Doppelstranges verursacht und somit DNA-Prozesse wie Replikation, Transkription und Reparatur negativ beeinflusst. Das Auslösen der Apoptose scheint möglich. Aufgrund ihrer Struktur lagern sich die *seco*-Drugs besonders gut in AT-reiche Regionen in der kleinen Furche der DNA ein und besitzen dadurch ihre ausgeprägte Selektivität, wohingegen die DNA-Alkylierung an sich nur der irreversiblen Fixierung der Wirkstoffe zu dienen scheint.^{144e}

Nicht nur monomere Alkylantien werden im Arbeitskreis *Tietze* untersucht, sondern durch die Arbeiten von *J. M. von Hof* konnten hochpotente bifunktionale Prodrugs ohne DNA-Binder entwickelt werden, die einen QIC₅₀-Wert von bis zu einer Million für **66** und eine Zytotoxizität des *seco*-Drugs im femtomolaren Bereich zeigen und somit vorherige Ergebnisse weit übertrafen (Abbildung 26).¹⁴⁵ Unter Berücksichtigung der binären Struktur dieser Moleküle wurde zunächst vermutet diese großen Zytotoxizitäten beruhen auf DNA-Intra- bzw. Interstrangvernetzungen.¹⁴⁶ Allerdings wurde bei der Umsetzung des *seco*-Drugs mit Doppelstrang-Oligonucleotiden und

anschließender Untersuchung mittels ESI-FTICR-MS- sowie CD-Spektroskopie weder eine Alkylierung der Nucleotide noch ein induziertes CD-Signal gefunden. Zunächst war es nicht möglich eine Erklärung für den zytotoxischen Charakter zu finden, jedoch wurde mit Hilfe von ABPP-Studien (Kapitel A.5 und B.6.5) eine Inhibition der Aldehyddehydrogenase 1 (ALDH1A1) gefunden und verifiziert.¹⁴⁷

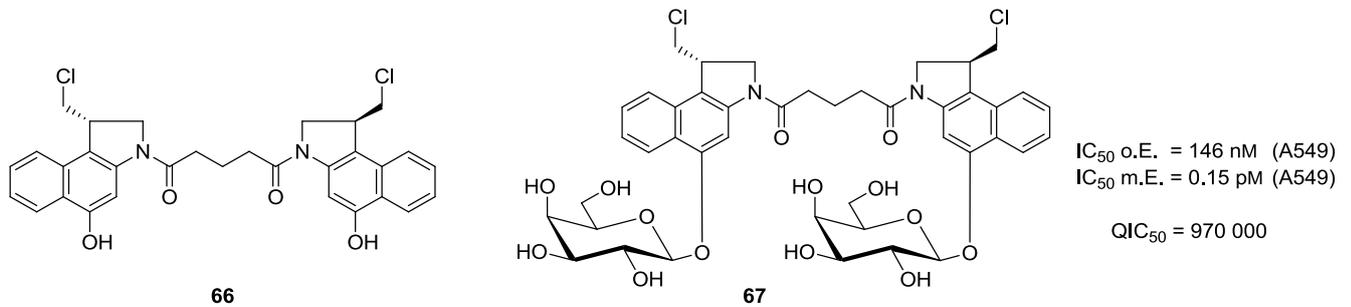


Abbildung 26. Bifunktionales *seco*-Drug **66** und Galaktosyl-Prodrug **67** mit einem QIC_{50} -Wert von 970000. (o.E. = ohne Enzym, m.E. = mit Enzym). Enzym: 4 U mL^{-1} β -D-Galaktosidase.

5 Aktivitätsbasiertes Protein-Profilung

Das aktivitätsbasierte Protein-Profilung (*activity-based protein profiling*, ABPP) bietet eine Möglichkeit, Zielstrukturen, so genannte Targets, bioaktiver Verbindungen in komplexen Proteomen zu identifizieren und somit auf ihren Wirkmechanismus zu schließen.¹⁴⁸ Hierbei kann mit naturstoffbasierten Sonden nicht nur das Target selbst, sondern sowohl dessen Metaboliten als auch Bindungspartner (Metabolom) untersucht werden.¹⁴⁹ Des Weiteren kann neben der Bestimmung molekularer Angriffsziele ebenso ein bekanntes Target mittels spezieller Sonden hinsichtlich seiner Aktivität, Funktion und Regulation analysiert werden.

Generell bestehen die Sonden aus drei Bausteinen. Das zentrale Element stellt die reaktive Gruppe (das Pharmakophor im Wirkstoff) dar, welche mit hoher Affinität an das aktive Zentrum der Zielstruktur bindet. Als zweiten Baustein findet sich ein Marker (*tag*), durch den der Target-Sonden-Komplex visualisiert (z.B. Fluoreszenzmarker) und angereichert (z.B. Biotinmarker) werden kann. Bevor der Marker z.B. durch Click-Chemie an die terminale Alkineinheit gekuppelt wird, inkubiert man die Sonde mit dem Proteom in einem ABPP-Experiment. Um Einfluss des Markers auf Reaktivität sowie Selektivität des Pharmakophors zu vermeiden, werden beide Teile durch einen Spacer separiert (Abbildung 27).¹⁴⁸

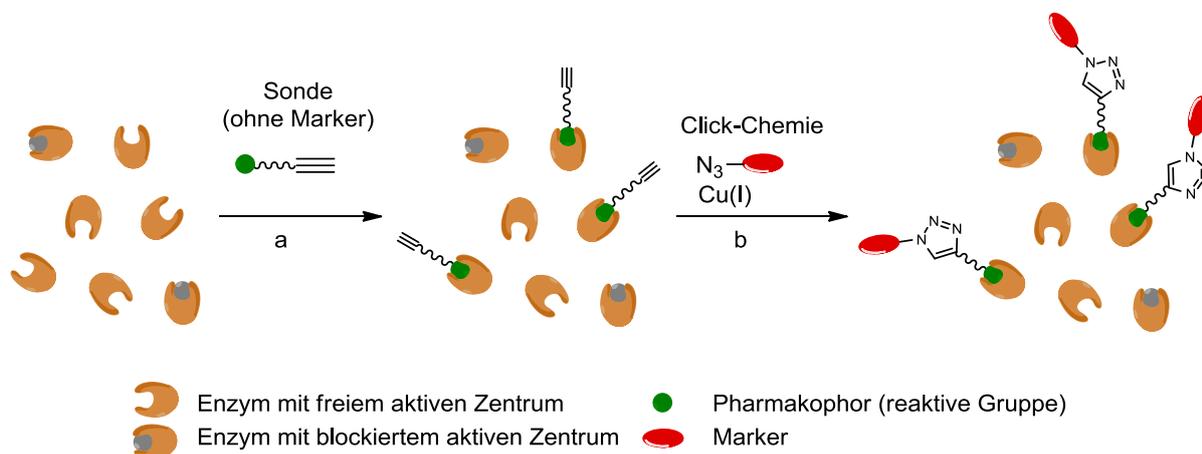


Abbildung 27. Beispiel für ein ABPP-Verfahren. a) Inkubation der Sonde mit den Zellen, dabei Bindung an das aktive Zentrum des Enzym-Targets; b) Markierung/Visualisierung der Protein-gebundenen Sonden. Graphik in Anlehnung an Sieber *et al.*^{148,53}

Zu allererst wird für eine ABPP-Studie untersucht, ob zellpermeable Sonden ohne Marker bei Inkubation mit dem Proteom (z.B. Krebszellen) an das aktive Zentrum der

Zielproteine binden. Anschließend werden die Zellen lysiert und mit einem passenden Tag (z.B. Rhodamin-Azid bzw. Rhodamin-Biotin-Azid) versetzt

Die Markierung muss simpel, schnell und sauber in geeigneten, meist wässrigen Medien durchführbar sein. Hierzu bedient man sich vorzugsweise bioorthogonaler Reaktionen wie der CuAAC (Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition),¹⁴⁸ dem prominentesten Beispiel der Click-Chemie, oder der Staudinger-Ligation.¹⁴⁸ Diese Reaktionen erfüllen genannte Kriterien und verlaufen zudem mit hoher Chemo-selektivität. Des Weiteren werden andere Biomoleküle wie DNA oder unmarkierte Proteine nicht beeinflusst. Zur Analyse des Proteoms wird üblicherweise das „In-Gel-Fluoreszenzscanning“ eingesetzt, bei dem das Zelllysate mittels SDS-PAGE aufgetrennt wird. Zuvor wird das Lysat über Biotin-Avidin angereichert. Die resultierende fluoreszierende Bande wird dann aus dem Gel ausgeschnitten, tryptisch verdaut, um das Zielprotein zu identifizieren via LC-MS bzw. MS/MS analysiert. Ein Abgleich mit einer Datenbank verifiziert den Fund.

Um ein erfolgreiches ABPP-Experiment durchzuführen muss in dem zu untersuchenden Wirkstoff eine passende funktionelle Einheit vorhanden sein, die sich für eine der beschriebenen Reaktionen mit dem Marker eignet. Für die CuAAC muss also zunächst eine terminale Alkineinheit in die bioaktive Verbindung eingebracht werden. Es wird folglich nicht der ursprüngliche Wirkstoff untersucht, sondern ein Derivat. Hierzu muss nun eine entsprechende Sonde synthetisiert werden, die möglichst nur minimale Veränderungen zur Originalstruktur aufweist, damit eine ähnliche Bioaktivität garantiert werden kann und die Ergebnisse auf den eigentlichen Wirkstoff übertragbar bleiben.

Nicht nur die Aufklärung zellulärer Targets kann mittels dieses Experiments realisiert werden, vielmehr wurden spezielle Sonden entwickelt um ebenso die Aktivität Pathogenese-assoziiierter Enzyme zu untersuchen, welche mit diagnostischen Profilen bestimmter Krankheiten assoziiert sind.¹⁴⁸ Beispielsweise konnten für das Gebiet der Krebsforschung Fluorophosphonat- und Hydroxamat-Verbindungen zur Analyse von Serinhydrolase-¹⁵⁰ und Metalloproteaseaktivitäten etabliert werden.¹⁵¹ Außerdem war es möglich mit weitere Sonden auf der Basis des Naturstoffs E-64, ein mit einem Epoxid-funktionalisiertes Peptid, die Rolle der Cystein-Cathepsin-Familie bei der Proliferation, Invasion und Angiogenese von Tumorzellen ausfindig zu machen.¹⁵²

6 Zielsetzung und Planung der Arbeit

Es liegt im Interesse der Allgemeinheit eine adäquate Therapie im Kampf gegen den Krebs zu entwickeln, da durch den demographischen Wandel unserer Gesellschaft und die enorme Alterung der Allgemeinbevölkerung Tumorerkrankungen ein weitverbreitetes Problem sind. Hierbei ist ein Schwerpunkt die Entwicklung einer effizienten und schonenden sowie selektiven Therapie. Da klassische Zytostatika zumeist die Proliferationsrate der Gewebe nutzen, aber ansonsten völlig unselektiv und systemisch eingesetzt werden, sind die Nebenwirkungen auf gesunde, jedoch schnell wachsende Zellen erheblich. Zusätzlich ist zu meist eine enge therapeutische Breite zu beklagen, so dass nur unzureichende Erfolge in der Therapie gegen die Tumore und ihre Rezidive erzielt werden. In den letzten Jahren haben sich immer mehr Forscher einer zielgerichteten und selektiven Krebstherapie gewidmet und so neue Therapieansätze entwickelt (*targeted tumor therapies*).

Als vielversprechender Ansatz weist die *Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy* (ADEPT) viele Vorteile gegenüber herkömmlicher Methoden auf. Hierbei werden weitgehend „untoxische“ Verbindungen (Prodrugs) enzymatisch im entarteten Gewebe in möglichst hochzytotoxische Wirkstoffe (Drugs) überführt.^{2,50} Im ADEPT-Konzept wird genutzt, dass Tumore spezifische Antigene exprimieren und ein Enzym-Konjugat monoklonaler Antikörper selektiv und lokal am Tumor akkumuliert werden kann. Wird ein Prodrug nun systemisch verabreicht, ist sichergestellt, dass lediglich die gewünschte selektive, lokale Wirkung auftritt und gesundes Gewebe geschont wird.

Um ein möglichst großes therapeutisches Fenster für die Therapie zu garantieren, werden größtmögliche Unterschiede zwischen Drug und Prodrug (QIC_{50}) benötigt, d.h. die Zytotoxizität zwischen systemisch vorkommenden Prodrugs und lokal freigesetzten Drugs soll sich möglichst unterscheiden ($QIC_{50} > 10^3$), damit eine nebenwirkungsarme Therapie erreicht werden kann.

Im Arbeitskreis *Tietze* konnten hervorragende Ergebnisse mit den glykosidischen Duocarmycin-Analoga erzielt werden, wobei sich insbesondere *seco*-Verbindungen mit *seco*-CBI als pharmakophorer Einheit und DMAI als DNA-Binder sowie dimere *seco*-CBI-Drugs ohne DNA-bindende Einheit als äußerst vielversprechend erwiesen haben (Kapitel A.4.2.3).

In der vorliegenden Arbeit sollen zunächst *seco*-CBI-Drugs mit variierten terminalen Alkin-Funktionalitäten und ihre Prodrugs sowie dimere *seco*-CBI-Drugs mit Alkin-

Linker für eine Anwendung im Rahmen von ADEPT synthetisiert und biologisch evaluiert werden.

Bisher wurden die besten Ergebnisse mit *seco*-Drugs erzielt, die eine DNA-bindende Einheit im Molekül trugen. Der erfolgreichste Vertreter konnte in den Arbeiten von *K. Schmuck* synthetisiert und evaluiert werden. Abbildung 28 das von *F. Major* bearbeitete CBI-DMAI-Galaktosid (–)-(S)-55.

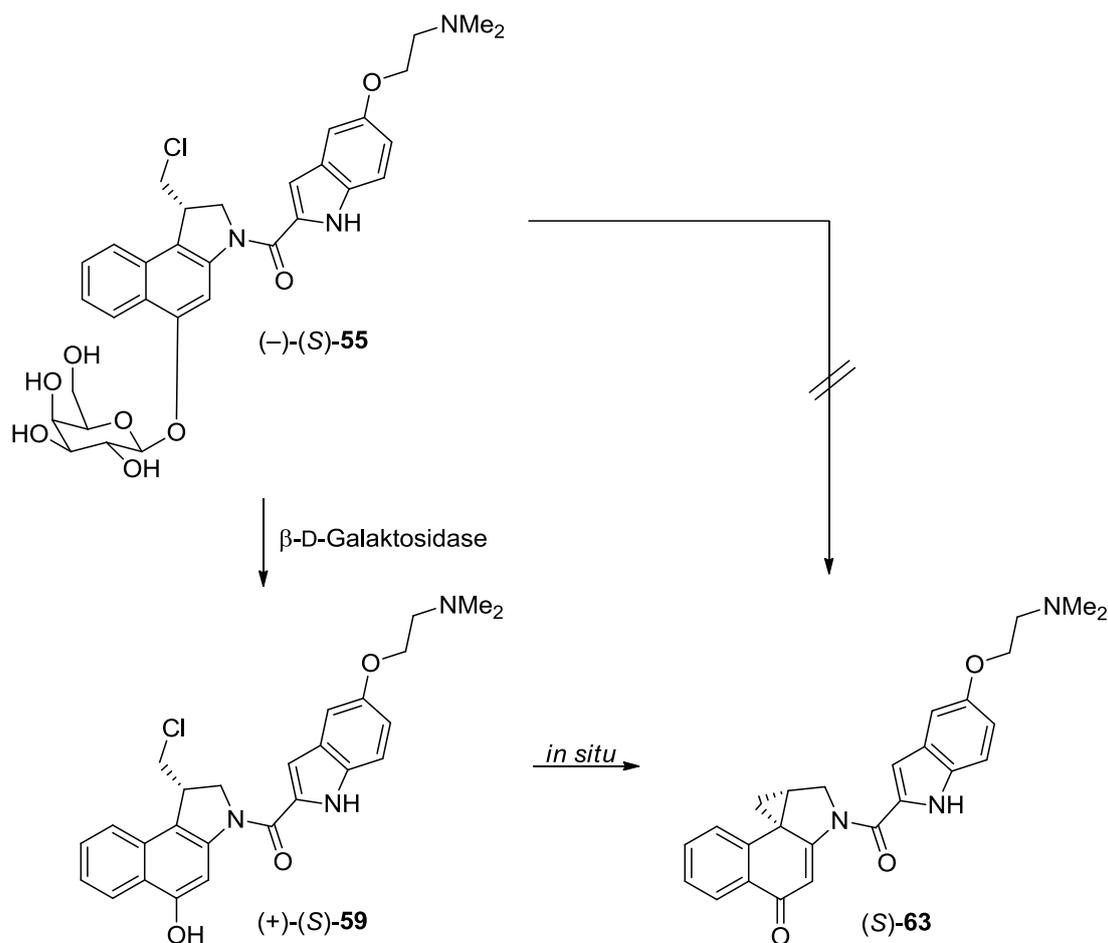
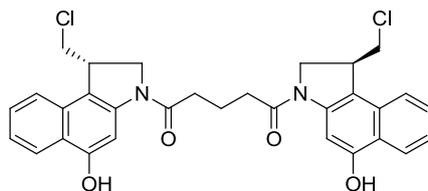


Abbildung 28. Das glykosidische Prodrug (–)-(S)-55 wird durch β-D-Galaktosidase zum *seco*-Drug (–)-(S)-59 aktiviert und folgt einer *Winstein*-Zyklisierung zum Drug (1S)-63. Die Zyklisierung ist auf Grund der blockierten 5 Hydroxyfunktion für das Prodrug (–)-(S)-55 nicht möglich.

Die dimeren Strukturen, die im Rahmen der Doktorarbeit von *J. M. v. Hof* untersucht wurden, zeigen trotz Abwesenheit einer solchen Funktion hervorragende Zytotoxizitätsergebnisse (Abbildung 29). Dieser Ansatz wurde genutzt und basierend auf dieser Erkenntnis sollten *seco*-Drugs hergestellt werden, die keine DNA-bindende Einheit tragen.



66

Abbildung 29. Bifunktionales *seco*-Drug **66**.¹⁴⁵

Die synthetisierten Moleküle sollten weitergehend in Proteomicsstudien im Arbeitskreis *Sieber* auf ihren Wirkort untersucht werden. Aus diesem Grund wurde eine terminale Alkinfunktionalität benötigt. Um Vergleichsstudien zu garantieren, sollten ebenfalls die zugehörigen *seco*-Drugs ohne Alkineinheit zugänglich gemacht werden. Zudem sollten schlussendlich die korrespondierenden Prodrugs sowohl mit als auch ohne terminales Alkin hergestellt werden, um eine Eignung für das ADEPT-Konzept zu untersuchen. Da bereits gute Erfahrungen mit dem Zucker Galaktose im Arbeitskreis vorhanden waren, wurde eine Detoxifizierung durch Überführung der *seco*-Drugs in die Galaktoside angestrebt.

B. Krewer konnte nachweisen, dass die "dimeren" CBI-Verbindungen sich nicht in die DNA einlagern und durch Studien mit funktionalisierten CBI *seco*-Drugs von *K. Schmuck* konnte die ALDH1A1 als Target identifiziert werden. Hierbei war es jedoch nicht möglich die dimeren *seco*-Drugs direkt zu funktionalisieren, da hierfür eine terminale Alkineinheit vonnöten ist. Daraus ergab sich die Aufgabenstellung ein dimeres *seco*-Drug zu synthetisieren, welches eine terminale Alkinfunktionalität trägt und trotzdem die ausgezeichnete Zytotoxizität aufweist. Da mit dem CBI bislang hervorragende Ergebnisse erzielt werden konnten, wurde eine Variation der Linkereinheit vorgezogen. Aufbauend auf den Erkenntnissen aus den Arbeiten von *M. von Hof* wurde die Kettenlänge mit C-5 festgelegt.

In Abbildung 30 ist der retrosynthetische Ansatz die Darstellung der neuen *seco*-CBI-Fettsäure-Drugs gezeigt. Alle *seco*-Drugs wurden analog aus dem Pharmakophor **67** und der entsprechenden Fettsäure dargestellt. Die enantiomerenreine pharmakophore Einheit *seco*-CBI **67** sollte in ausreichenden Mengen nach im Arbeitskreis *Tietze* etablierten Methoden hergestellt werden und als Depotverbindung dienen. Die Fettsäuren waren kommerziell erhältlich.

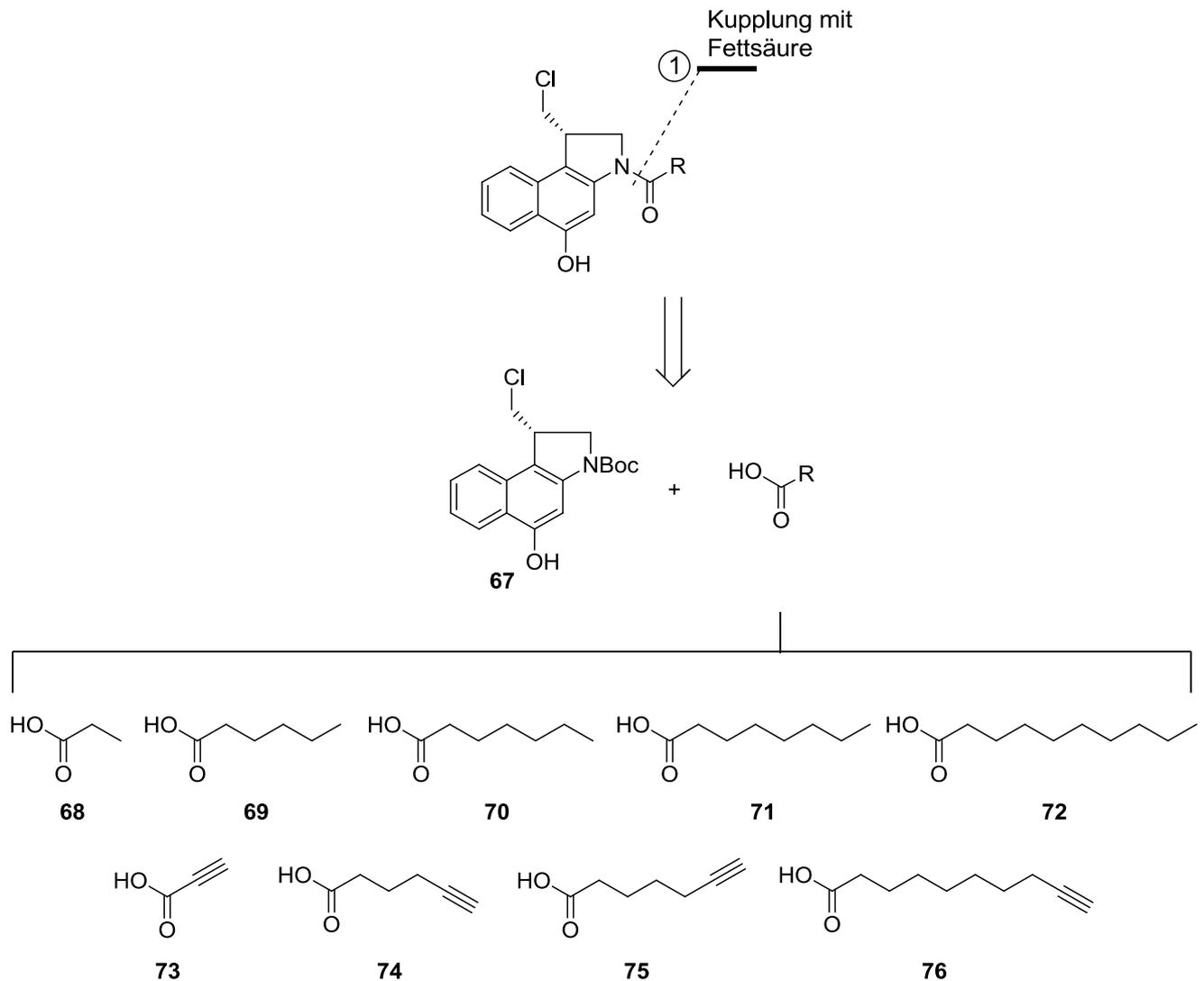


Abbildung 30. Allgemeines Syntheschema zur Darstellung der neuen *seco*-CBI-Drugs mit verschiedenen Fettsäuren.

Des Weiteren sollten die vielversprechensten Kandidaten als Prodrug synthetisiert werden, um eine Eignung für das ADEPT-Konzept zu untersuchen (Abbildung 31). Die Prodrugs lassen sich auf drei wesentliche Bausteine zurückführen. Zum einen die pharmakophore Einheit, die Fettsäure und den Galaktosid-Donor, in diesem Fall das Galaktosetrichloracetimidat **77**, welches nach etablierten Methoden dargestellt werden sollte.

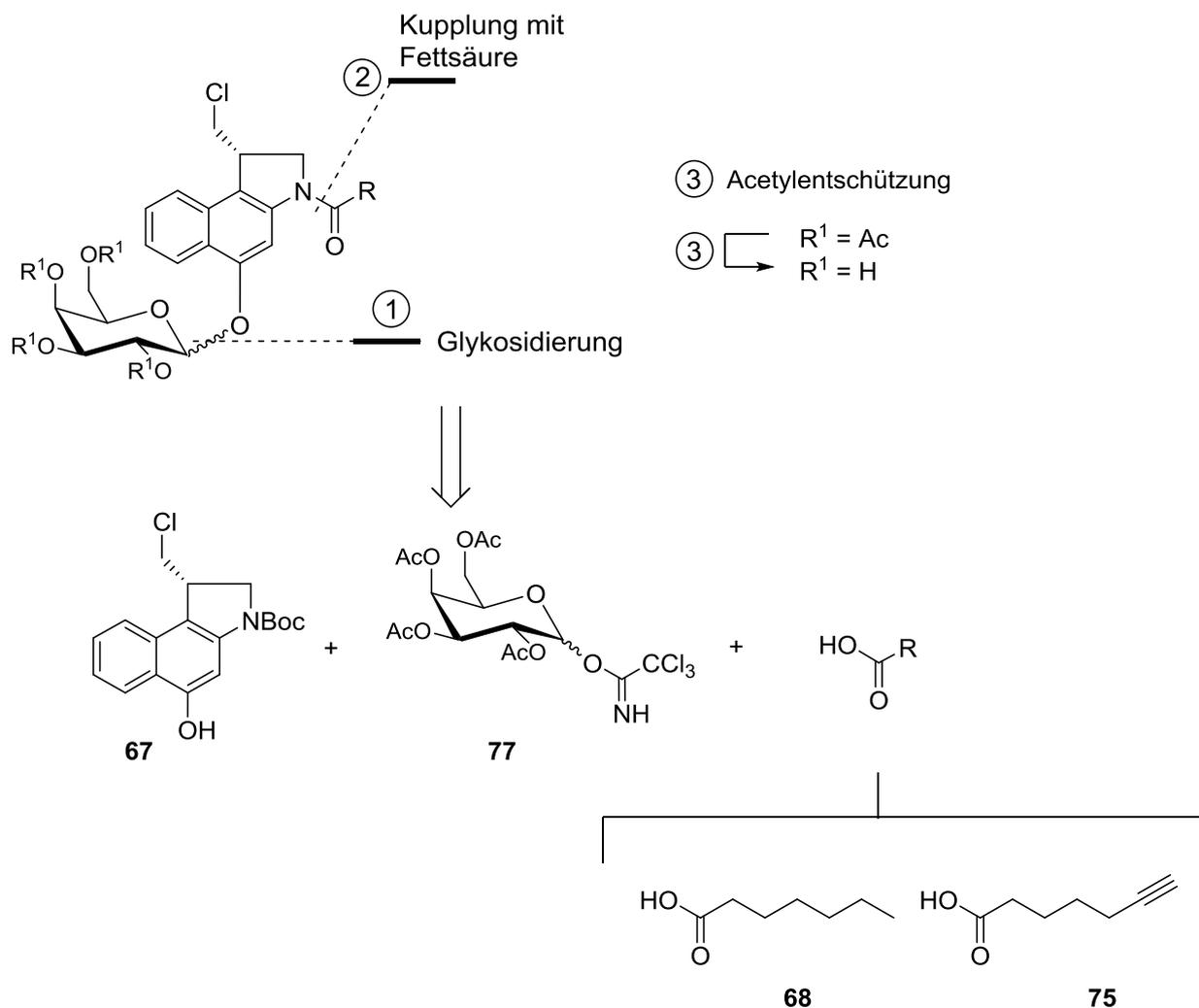


Abbildung 31. Allgemeines Syntheschema zur Darstellung der neuen *seco*-CBI-Prodrugs mit verschiedenen Fettsäuren.

Zur Herstellung der Prodrugs wurde die Trichloracetimidat-Methode von *Schmidt*¹⁵³ angestrebt, wobei nach der Glykosidierung mit dem Donoren **77** der pharmakophore Grundkörper **67** *in situ* Boc-entschützt und schließlich unter Carbodiimid-Aktivierung mit den Fettsäuren gekuppelt werden sollte. Anschließend werden die Moleküle mittels HPLC oder Kristallisation gereinigt, so dass eine hohe Reinheit für die nachfolgenden *In-vitro*-Zytotoxizitätsassays gewährleistet ist.

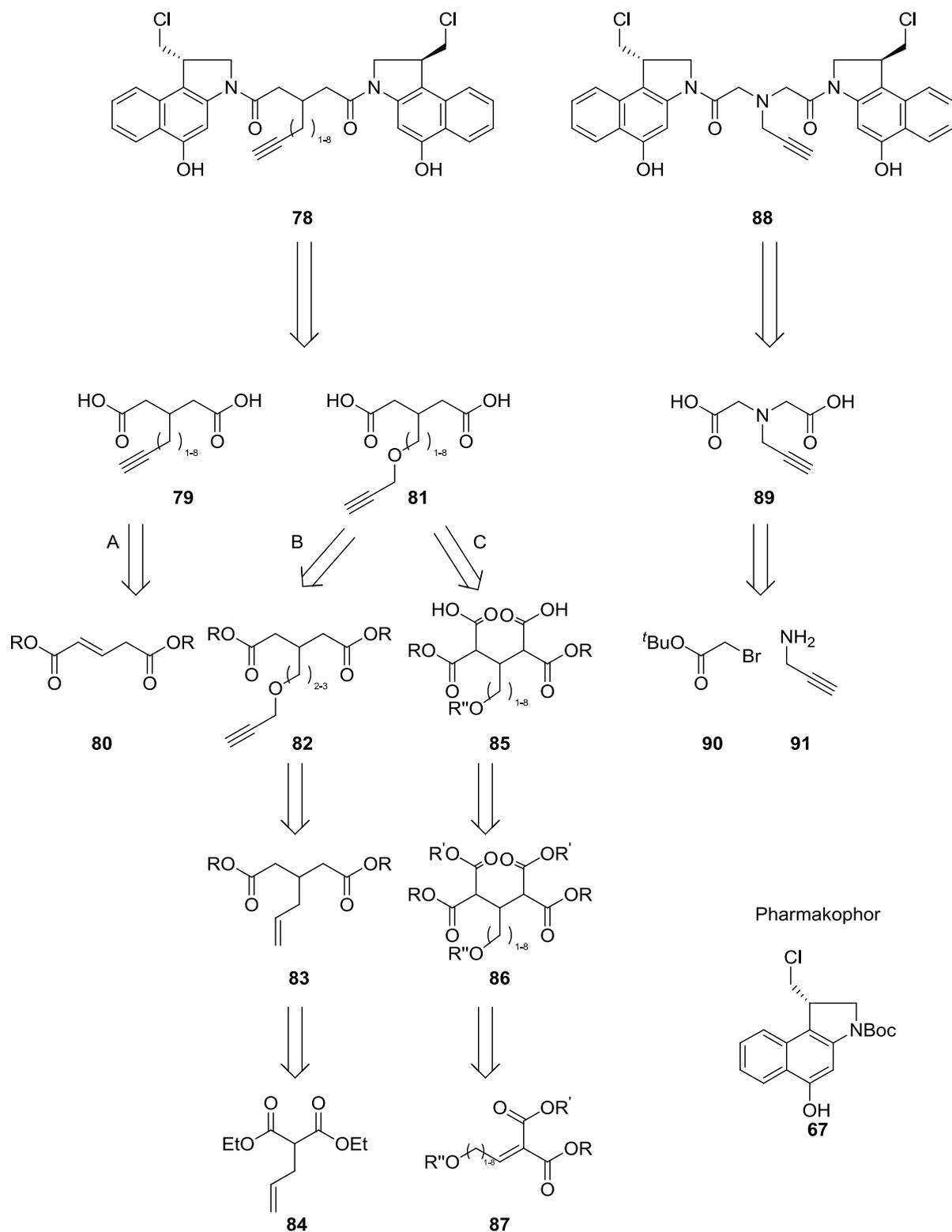


Abbildung 32. Strukturen ABPP-geeigneter Sonden **78** und **88** mit terminaler Alkinfunktion am Linker und ihr Zugang aus der Kupplung mit dem Pharmakophor-Vorläufer **67**.

Um weitere Erkenntnisse über den Wirkort und -mechanismus der bifunktionalen *seco*-Drugs zu erhalten, war es weiterhin ein Ziel dieser Arbeit dimere Verbindungen mit terminaler Alkinfunktionalität am Linker zu synthetisieren. Abbildung 31 zeigt

den retrosynthetischen Plan, diese Verbindungen darzustellen. Die synthetisierten Moleküle sollten ebenfalls im Rahmen des aktivitätsbasierten Protein-Profilings (ABPP, Kapitel A.5) auf mögliche Protein-Angriffsziele von Duocarmycin-Analoga evaluiert werden.

78 ist dabei sowohl in der Kettenlänge als auch in der Verlinkung mit dem Alkin variabel. Bei Variante A sollte durch 1,4 Cuprataddition eine Alkineinheit in das Molekül integriert werden. Variante B generiert einen primären Alkohol, der beispielsweise mit Propargylbromid verethert werden sollte. Variante C hingegen nutzt eine *Michael*-Addition mit anschließender Esterentschützung sowie einer Decarboxylierung.

88 sollte anstelle einer C-5 Spacereinheit ein funktionalisiertes Amin tragen. Beide Syntheserouten kuppeln die jeweilige Brücke unter Carbodiimid-Aktivierung an das Pharmakophor **67**, nachdem zuvor das freie Amin durch Boc-Entschtzung mittels Salzsäure in Essigester erhalten wurde. Der Linker kann in einer zweistufigen Synthese aus Bromessigsäure-*tert*-butylester **90** und Propargylamin **91** erhalten werden. Auch die bifunktionalen *seco*-Drugs sollten mittels HPLC aufgereinigt werden, damit die Reinheit für die anschließende *In-vitro*-Zytotoxizitätsuntersuchung garantiert ist.

Aus diesen Überlegungen ergaben sich folgende Teilaufgaben:

- Synthese des enantiomerenreinen Pharmakophor-Vorläufers (*S*)-*N*-Boc-*seco*-CBI (**67**)
- Synthese des benötigten Zucker-Trichloracetimidats **77**
- Synthese von *seco*-CBI-Drugs mit terminaler Alkinfunktionalität ohne DNA-bindende Einheit
- Synthese glykosidischer CBI-Prodrugs mit terminaler Alkinfunktionalität ohne DNA-bindende Einheit für eine Anwendung im ADEPT-Konzept
- Synthese von Linkern mit Alkin-Funktionalität
- Synthese dimerer *seco*-CBI-Drugs mit Alkin-Funktionalität (**77** und **88**)
- *In-vitro*-Untersuchungen zur Zytotoxizität der neuen Verbindungen (Durchführung von *I. Schuberth et al.*)

B. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

1 Synthese der Pharmakophor-Vorstufe *N*-Boc-*seco*-CBI 67

Ausgehend von Benzaldehyd wurde in 14 Stufen das *seco*-CBI-Grundgerüst nach etablierten Methoden aus den Arbeitskreisen *Boger* und *Tietze* synthetisiert.^{138f,154}

Die gezeigte Synthesesequenz wurde zweimal im Maßstab von ca. 70 Gramm basierend auf Benzaldehyd durchgeführt.

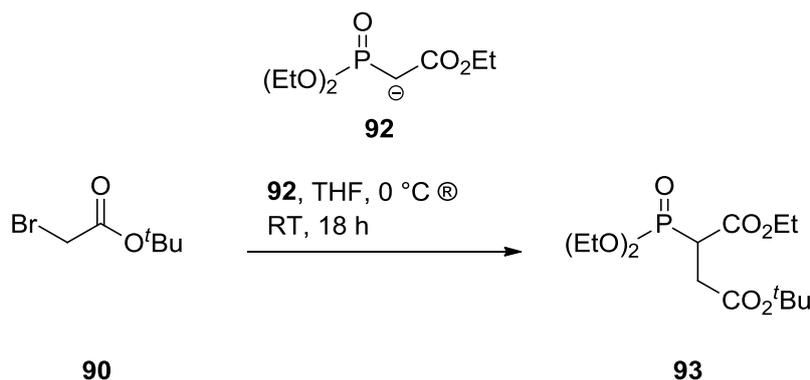


Abbildung 33. Synthese des Phosphonats **93**.

Zur Darstellung des Phosphonats **93** wurde zunächst Bromessigsäure-*tert*-butylester **88**, welcher aus dem kommerziell erhältlichen Bromacetyl bromid durch Veresterung mit *tert*-Butylalkohol erhalten werden kann, zum Triethylphosphonoacetat **93** in guter Ausbeute (68%) umgesetzt (Abbildung 33). Anschließend wurde **93** mit Benzaldehyd in einer *Wittig-Horner*-Reaktion in THF in das Styrollderivat **95** überführt.

Nach Hydrolyse des *tert*-Butylesters **95** durch Trifluoressigsäure (TFA) wurde die Carbonsäure **96** in einer intramolekulare *Friedel-Crafts-Acylierung* mittels Kaliumacetat und Essigsäureanhydrid, welches ebenso als Lösungsmittel diente, zum Naphthol **97** umgewandelt. Die Acetylschutzgruppe wurde unter Zuhilfenahme von Kaliumcarbonat in Ethanol bei Siedehitze abgespalten und das ungeschützte Naphthol **98** isoliert (Ausbeute über 5 Stufen 13%, Abbildung 34).

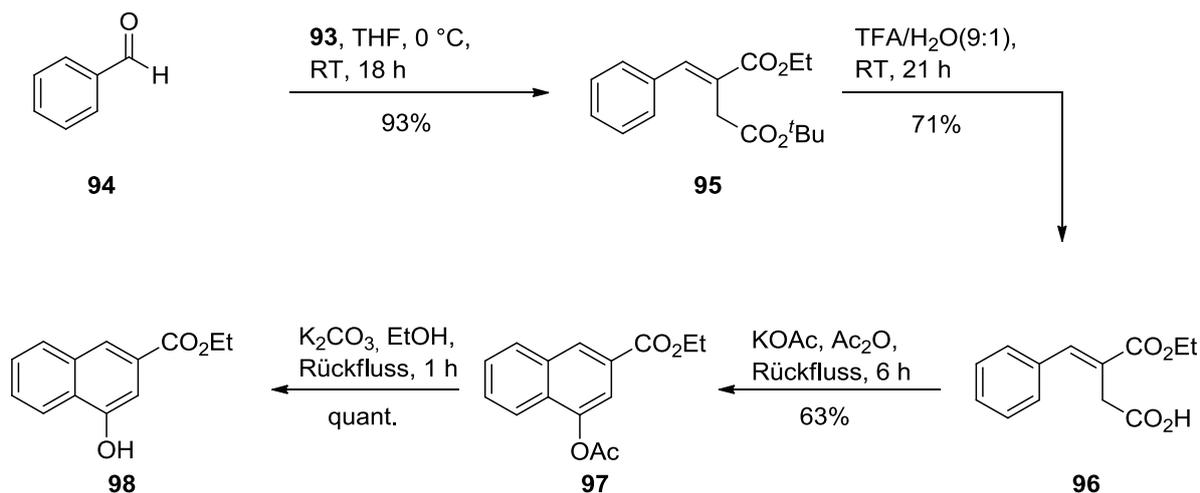


Abbildung 34. Synthese des Naphthols **98**.

Daraufhin wurde die in Abbildung 35 gezeigte Benzylierung des Naphthols **95** mit Benzylbromid und Kaliumcarbonat als Base sowie katalytischen Mengen Tetra-*n*-butylammoniumiodid (TBAI) in DMF durchgeführt. Schließlich wurde der Carbonsäureethylester **99** basisch mit Lithiumhydroxid in einem Lösungsmittelgemisch von THF/MeOH/H₂O (3:3:1) verseift und die Naphtholcarbonsäure **100** isoliert. Nach Umkristallisation aus *n*-Hexan/EtOAc wurde die Säure **100** in einer Ausbeute von 71% erhalten.

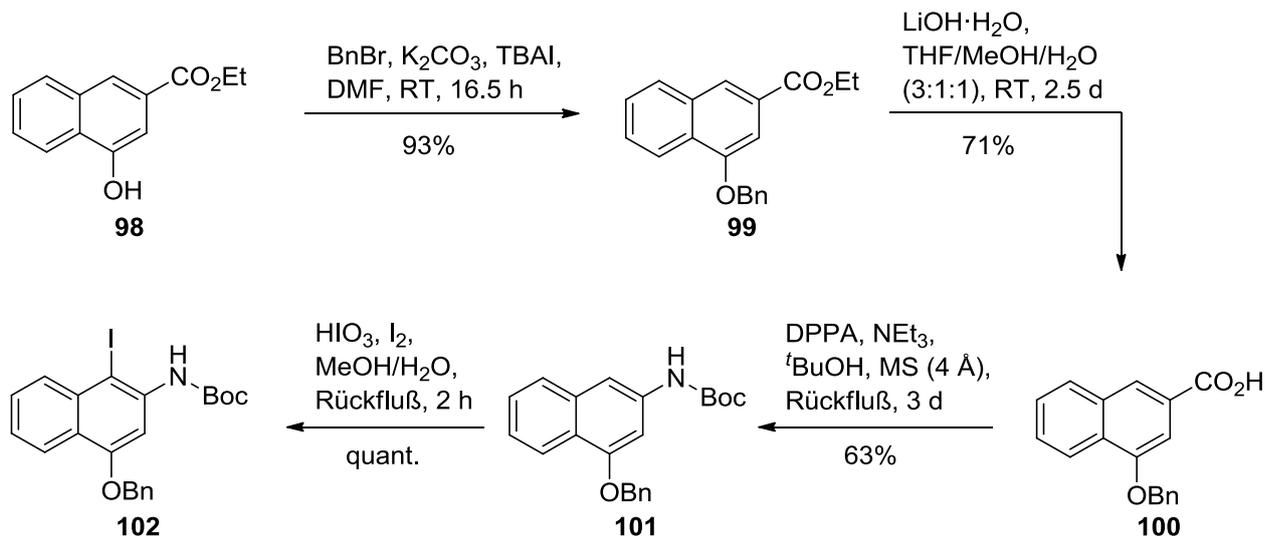


Abbildung 35. Synthese des Aryliodids **102**.

Weiter wurde das Boc-geschützte Amin **101** durch eine *Curtius*-Umlagerung in sehr guter Ausbeute (95%) gebildet. Hierzu wurde Diphenylphosphorylazid (DPPA) verwendet, das die Carbonsäure **100** zunächst in ein Carbonsäureazid überführt,

welches nachfolgend in das intermediäre Isocyanat umgewandelt wird und mit dem als Lösungsmittel verwendeten *tert*-Butylalkohol das *N*-Boc-geschützte Amin **101** liefert. Die Iodierung an C-4 konnte sowohl selektiv als auch quantitativ nach der Methode von *Königstein*¹⁵⁵ in moderater Ausbeute von 55% realisiert werden. Mit Hilfe von Iod und Iodsäure in Methanol/Wasser (4:1) wurde somit das Aryliodid **102** dargestellt (Abbildung 35).

In dieser Arbeit konnte auf eine asymmetrische Synthese als Zugang zum Pharmakophor **67**, die im Arbeitskreis *Tietze* entwickelt wurde, zurückgegriffen werden.^{140,156} Dafür wurde aus dem kommerziell erhältlichen (+)-(*R*)-Glycidol (**103**) ($\geq 99\%$ *ee*) in Gegenwart von Triethylamin als Base in Toluol durch Zugabe von *para*-Nosylchlorid der entsprechende Sulfonsäureester **104** generiert (Abbildung 36).

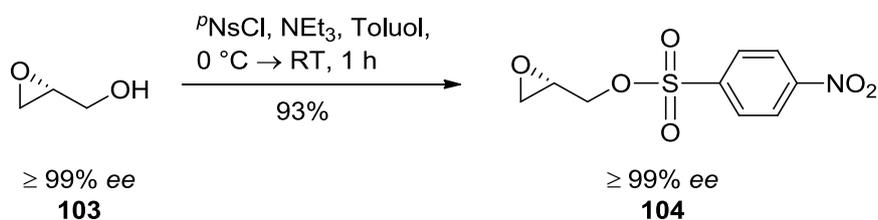


Abbildung 36. Darstellung des (+)-(*S*)-Glycidyl-*para*-nitrobenzenesulfonats (**104**).

Das so erhaltene Nosylat **104** wurde durch Säulenchromatographie gereinigt und mit einer sehr guten Ausbeute von 90% sowie exzellenten *ee*-Wert ($\geq 99\%$ *ee*) isoliert. Gemäß *Sharpless et al.* sinkt der Enantiomerenüberschuss bei einer Umkristallisation im Falle des *para*-Nosylats erheblich, daher wurde hier auf diese Methode verzichtet.¹⁵⁷

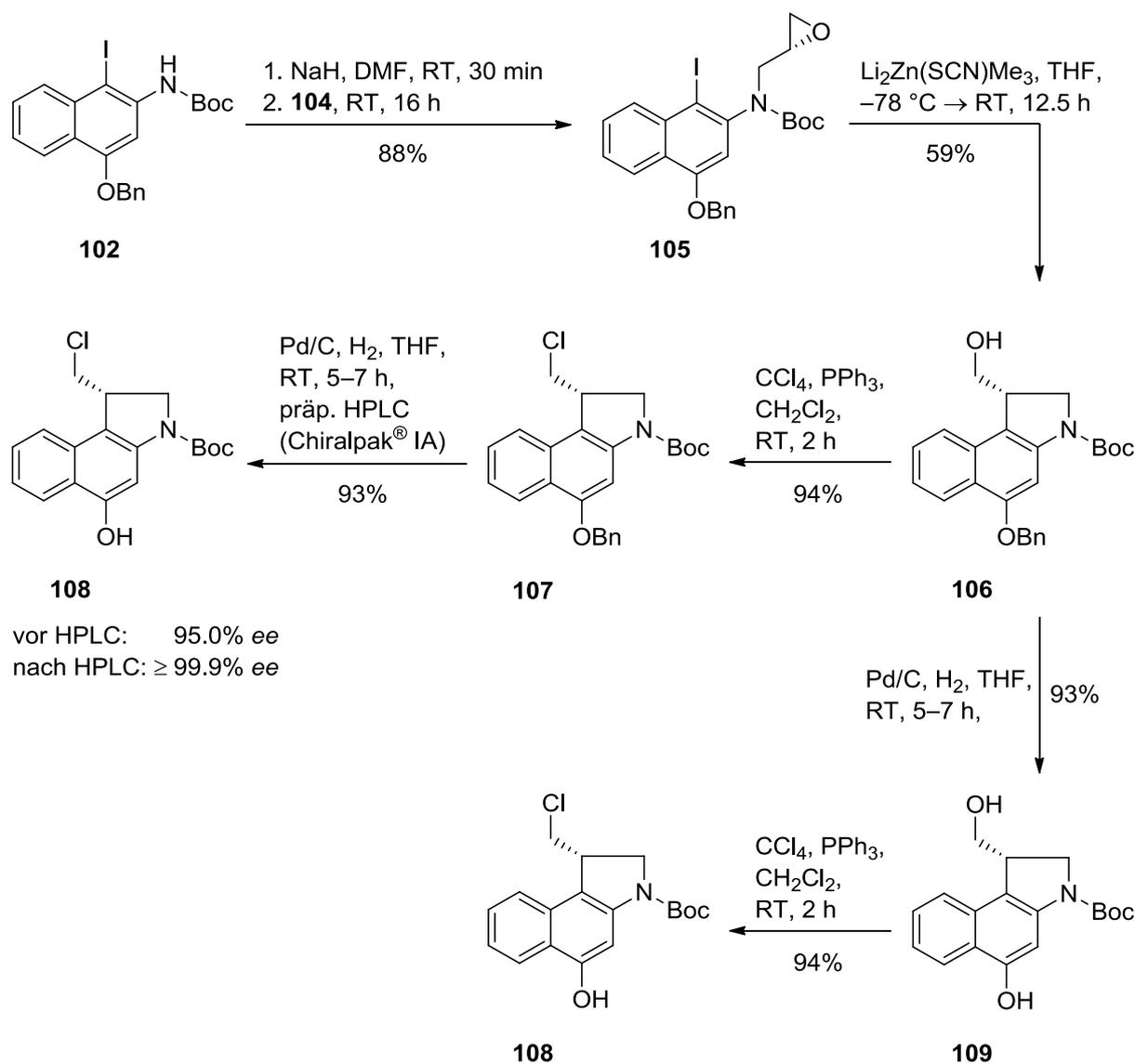


Abbildung 37. Zwei asymmetrische Syntheserouten zur Darstellung des (-)-(S)-N-Boc-seco-CBI (**108**).

Zur Alkylierung des Carbamats **102** wurde das Amin zunächst mit NaH deprotoniert und nachfolgend mit dem Nosylat (+)-(S)-**104** in *N,N*-Dimethylformamid in guter Ausbeute (88%) umgesetzt (Abbildung 37). Das Iodid stellte eine Rotationsbarriere für das Epoxid dar und infolgedessen zeigte die Verbindung **105** im NMR-Spektrum auch bei 100°C ein Gemisch von zwei Atropisomeren.¹⁵⁸ Es folgte die Darstellung des Benzoindols (+)-(1S)-**106** durch eine Zinkat-vermittelte Zyklisierungsreaktion von (+)-(2'R)-**105** in Tetrahydrofuran, bei der der aktive Metallkomplex $\text{Li}_2\text{Zn}(\text{SCN})\text{Me}_3$ *in situ* aus Methyllithium, ZnCl_2 und Trimethylsilylisothiocyanat (TMS-SCN) bei 0°C erzeugt wurde. Die Reaktion verläuft nicht ausschließlich regioselektiv und daher wurde neben dem gewünschten 5-*exo-tet*-Produkt (42%) auch das 6-*endo-tet*-Produkt

erhalten (33%), welches aber durch normale Säulenchromatographie an Kieselgel abgetrennt werden konnte.^{156b}

Nun ergaben sich zwei weitere Verfahrensweisen. Erstere ist eine literaturbekannte Methode den primären Alkohol **106** in einer *Appel*-Reaktion nahezu quantitativ zum Chlorid **107** unter Verwendung von Triphenylphosphan und Tetrachlorkohlenstoff in Dichlormethan als Lösungsmittel zu überführen.^{109b} Allerdings entsteht bei der anschließenden hydrogenolytischen Benzylentschützung als Nebenprodukt die dechlorierte Spezies, die nur durch präparative HPLC an chiraler stationärer Phase (Säule: Chiralpak[®] IA) abgetrennt werden kann. Eine Umkristallisation zur Aufreinigung war nicht möglich. Auch konnte das Auftreten des Nebenproduktes durch Variation der Wasserstoffquelle (Pd/C unter Zuhilfenahme von elementarem Wasserstoff oder wässriger Ammoniumformiatlösung) nicht verhindert werden. Zudem konnte eine Abnahme des *ee*-Wertes auf 96% beobachtet werden, was auf eine nicht vollständig stereoselektiv verlaufende Zyklisierungsreaktion zurückzuführen ist, da bei keiner der weiteren Reaktionen das Stereozentrum involviert ist. Die Pharmakophor-Vorstufe **108** konnte auf diese Weise mit einer guten Ausbeute von 77% und $\geq 99.9\%$ *ee* isoliert werden. Gleichwohl ist trotz hervorragender Ergebnisse diese Syntheseroute sehr kostenintensiv, weswegen ein durch *M. Müller* entwickelter Ansatz, in dem die Benzylentschützung mit Pd/C und H₂-Atmosphäre vorgezogen wird, verfolgt wurde. Hier trat durch Abwesenheit des Chlorids kein Nebenprodukt auf, zudem ist das Diol durch Kristallisation aus EtOAc/*n*-Hexan enantiomerenangereichert vom anderen Enantiomer zu trennen. Da bereits hier das (+)-(*R*)-Enantiomer der Verbindung **109** auftrat, wird die These gestützt, dass der Enantiomerenverlust bei der Zyklisierungsreaktion auftritt. Das Chlorid wurde erst im Anschluss über eine *Appel*-Reaktion mit guter Ausbeute (70%) eingeführt. Auch bei dieser Reaktion sollte der Reaktionsverlauf stets sorgfältig dünnschichtchromatographisch kontrolliert werden, da bei zu langer Reaktionsführung der Anteil an zersetztem Reaktionsmaterial steigt. In dieser Arbeit wurde über beide Synthesansätze das Pharmakophor **108** hergestellt und für weitere Synthesen verwendet.

2 Synthese von *seco*-CBI-Fettsäure-Drugs

2.1 Synthese von *seco*-CBI-Alkinfettsäure-Drugs 109-112

Da nun die Depotverbindung **67** in ausreichender Menge vorhanden war, konnte der weitere Syntheseansatz für *seco*-CBI-Alkinfettsäure-Drugs durchgeführt werden. Die vier Alkinfettsäuren wurden nach analoger Methode an das Pharmakophor gekuppelt. Zunächst wurde das Boc-geschützte Amin mittels 4 M Salzsäure in Essigester bei Raumtemperatur entschützt. Durch eine Türkisfärbung der Lösung konnte der Reaktionsverlauf verfolgt und mittels Dünnschichtchromatographie überprüft werden. Nach 4 h war der Umsatz vollständig und das Lösungsmittel wurde entfernt, damit in Schritt zwei der Rückstand in DMF aufgenommen und mit der entsprechenden Fettsäure **73-76** unter EDC-Aktivierung gekuppelt werden konnte. Die *seco*-Drugs **109-112** konnten in guten bis moderaten Ausbeuten mit hervorragendem *ee*-Wert (>99%) erhalten werden (Abbildung 38).

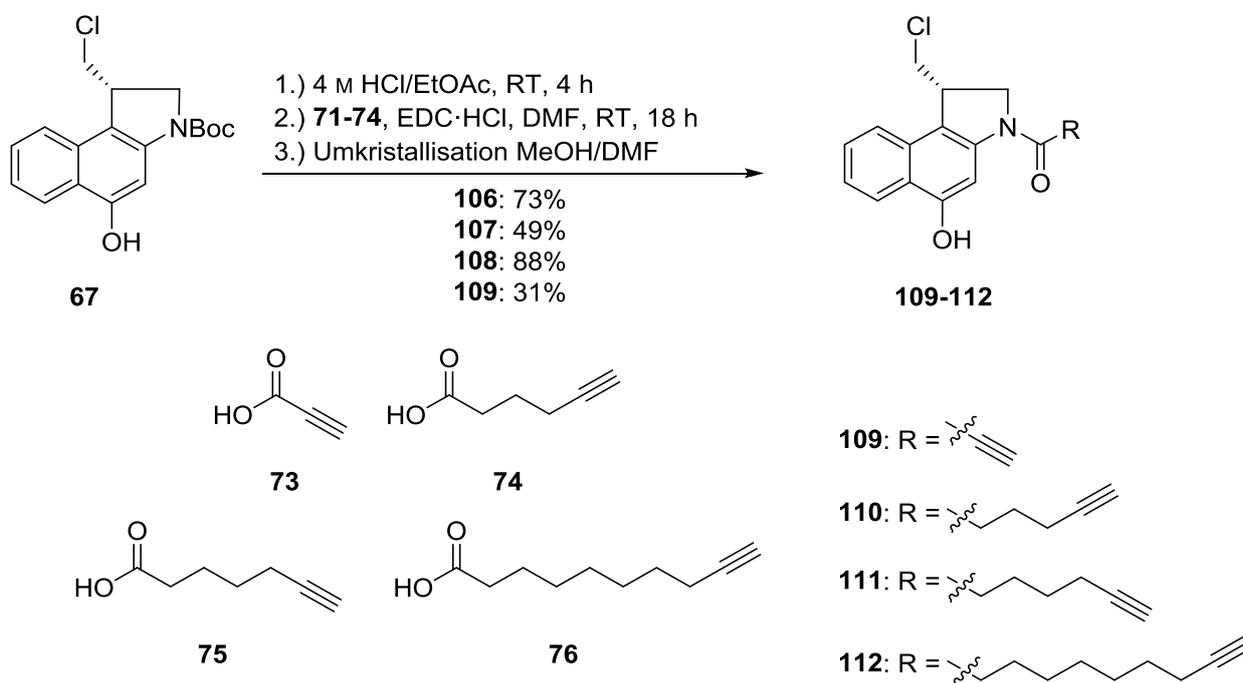


Abbildung 38. Synthese der *seco*-Alkinfettsäure-CBI-Drugs **109-112** mit Boc-Entschützung (1) und Kupplung mit der entsprechenden Fettsäure (2) sowie anschließender Umkristallisation (3).

Auf eine Aufreinigung durch präparative HPLC konnte verzichtet werden, da eine Umkristallisation aus MeOH/DMF möglich war.

2.2 Synthese von *seco*-CBI-Alkanfettsäure-Drugs 113-117

Die *seco*-Alkan-CBI-Drugs **113-117** wurden ebenso ausgehend vom Pharmakophor **67** synthetisiert. Analog zu den ungesättigten *seco*-Drugs wurden für Vergleichszwecke die korrespondierenden Alkanderivate wie zusätzlich die Octansäure verwendet.

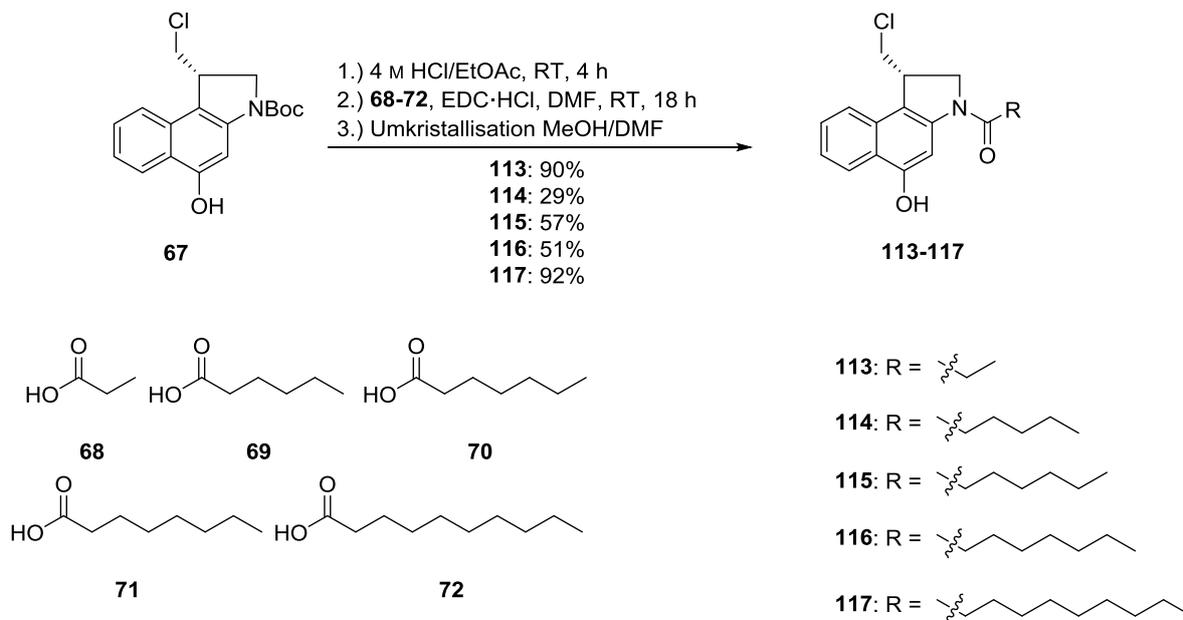


Abbildung 39. Synthese der *seco*-Alkanfettsäure-CBI-Drugs **113-117** mit Boc-Entschützung (1) und Kupplung mit der entsprechenden Fettsäure (2) sowie anschließender Umkristallisation (3).

Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe in Verbindung **67** mit Hilfe von 4 M Salzsäure in Essigester bei Raumtemperatur wurde das gebildete sekundäre Amin mit der Fettsäure **68-72** unter Verwendung von EDC·HCl in das entsprechende *seco*-Drug **113-117** in guten bis moderaten Ausbeuten mit hervorragendem *ee*-Wert (>99%) umgesetzt (Abbildung 39).

Zur Reinigung wurden die so gebildeten *seco*-Drugs aus MeOH/DMF umkristallisiert.

2.2.1.1 Diskussion spektroskopischer und massenspektrometrischer Daten der Verbindung 115

Die NMR-Signale wurden mit Hilfe von ^1H -COSY-, HSQC- und HMBC-Korrelationspektren zugeordnet.

In Abbildung 40 ist das ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, DMSO-d_6) des *seco*-Heptan-CBI **115** mit der entsprechenden Zuordnung der Signale dargestellt. Am weitesten im Hochfeld resonieren die Protonen der Methylgruppe der Fettsäure. Bei $\delta = 0.94$ ppm ist ein Triplett mit einer Kopplungskonstanten von $J = 7.0$ Hz zu finden, das den $7'$ - H_3 -Protonen zuzuordnen ist. Etwas weiter in tiefen Feld resonieren die Methylen-Gruppen

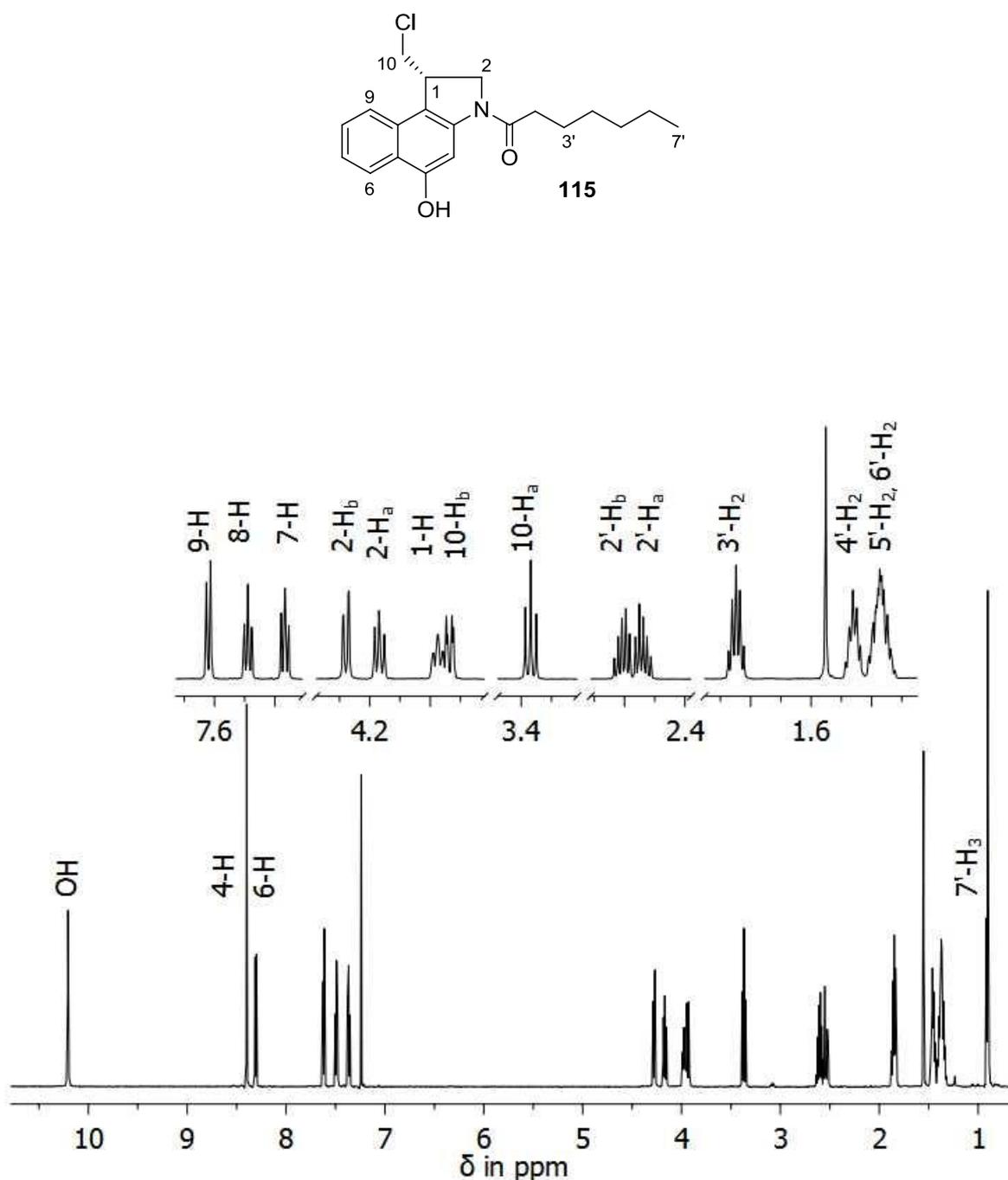


Abbildung 40. ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, CDCl_3) des *seco*-Heptan-CBI-Drugs **115**.

6'-H₂, 5'-H₂ und 4'-H₂ jeweils als Multiplett bei $\delta = 1.17\text{--}1.30$ ppm und $\delta = 1.36\text{--}1.48$ ppm sowie 3'-H₂ als Quintett mit $J = 7.7$ Hz. Die Signale der diastereotopen Protonen 2'-H_a und 2'-H_b erscheinen als Dublett vom Triplet bei $\delta = 2.55$ und 2.62 ppm mit Kopplungskonstanten von $J = 15.3$ und 7.7 Hz wie $\delta = 15.4$ und 7.7 Hz bei $\delta = 3.48$ ppm. Das Triplet bei $\delta = 3.38$ ppm mit der Kopplungskonstante von $J = 11.0$ Hz kann 10-H_a zugeordnet werden. 10-H_b als diastereotopes Proton erzeugt ein Doppeldublett bei $\delta = 3.94$ ppm mit einer geminalen Kopplung in der Größe von $J = 11.3$ Hz und einer vicinalen von $J = 3.0$ Hz, an welches sich 1-H und 2-H_a als zentriertes und normales Multiplett bei $\delta = 4.00$ ppm und $\delta = 4.14\text{--}4.25$ ppm anschließen. Im Aromatenbereich finden sich die Signale von 7-H und 8-H des *seco*-CBI-Pharmakophors als zentriertes Multiplett bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 7.37$ und 7.49 ppm. Die verbleibenden aromatischen Protonen resonieren stärker Tieffeld verschoben. So findet sich für 9-H ein Dublett bei $\delta = 7.63$ ppm mit $J = 8.4$ Hz und für 6-H ein Dublett bei $\delta = 8.30$ ppm mit $J = 8.3$ Hz, 4-H resoniert als Singulett bei $\delta = 8.38$ ppm. Für die phenolische Hydroxygruppe wird ein breites Singulett bei $\delta = 10.06$ ppm gefunden.

Im ¹³C-NMR-Spektrum (125 MHz, CDCl₃) des *seco*-Drugs **115** finden sich zunächst die Signale für C-7' bei $\delta = 41.2$ ppm sowie für C-5', C-3', C-6', C-4' und C-2' bei $\delta = 22.6, 25.0, 29.1, 31.6$ und 36.6 ppm (Abbildung 41). C-1 resoniert bei $\delta = 42.3$ ppm und C-10 bei $\delta = 46.3$ ppm. In etwas tieferem Feld schließt sich das Signal für den Methylen-Kohlenstoffatom C-2 bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 53.6$ ppm an. Weiter im Tieffeld resoniert das C-4 des *seco*-CBI-Pharmakophors bei $\delta = 100.7$ ppm. Die Signale der quartären Kohlenstoffatome C-5a und C-9b finden sich bei chemischen Verschiebungen von $\delta = 114.4$ und 121.9 ppm. Danach resoniert C-7 bei $\delta = 122.8$ ppm, gefolgt von den verbleibenden tertiären C-Atomen der pharmakophoren Einheit C-6, C-9 und C-8 bei $\delta = 124.0, 124.0$ und 127.4 ppm.

Das weiter in das Tieffeld verschobene Resonanzsignal bei $\delta = 129.8$ ppm ist dem quartären Kohlenstoffatom C-9a zuzuordnen sowie demgegenüber nochmals deutlich weiter in das Tieffeld verschobenen C-3a sowie C-5 bei den chemischen Verschiebungen von $\delta = 141.1$ und 155.4 ppm. Das am weitesten tieffeldverschobene Signal bei $\delta = 173.3$ ppm ist charakteristisch für die Carbonylgruppe (C=O) des Carbonsäureamids.

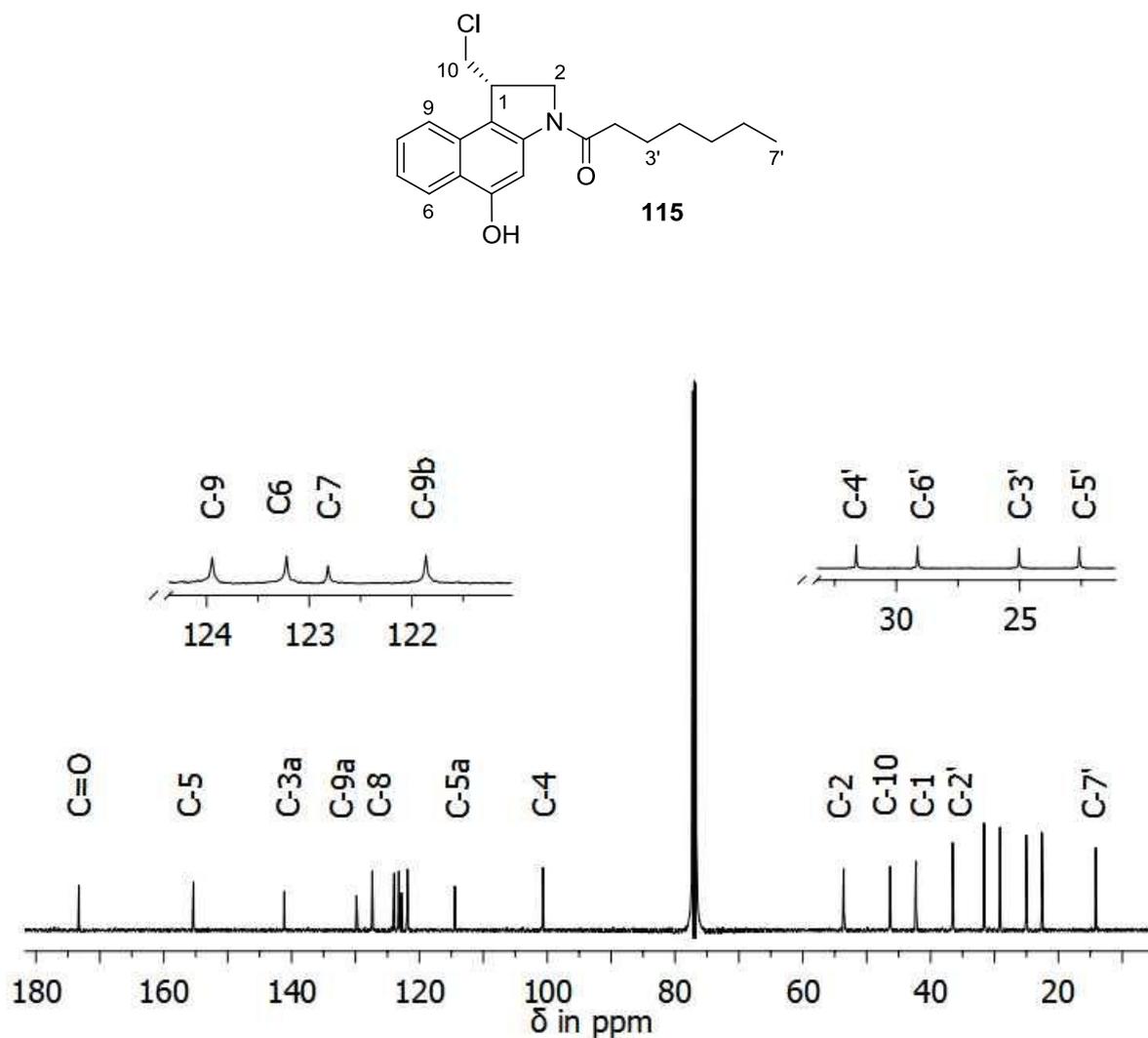


Abbildung 41. ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz, CDCl_3) des *seco*-Heptan-CBI-Drugs **115**.

Im ESI-MS-Spektrum des *seco*-Drugs **115** sind im positiven Ionenmodus bei m/z 368.2 (Basispeak) und m/z 713.3 Signale mit typischem Chlorisotopenmuster zu finden, die dem $[\text{M}+\text{Na}]^+$ - sowie dem $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion entsprechen. Im negativen Ionenmodus zeigen sich das $[\text{M}-\text{H}]^-$ -Ion (Basispeak) bei m/z 344.1 und 689.2 für das $[2\text{M}-\text{H}]^-$ -Ion. Während der ESI-HRMS-Messung wurde für das $[\text{M}-\text{H}]^-$ -Ion ein Masse-Ladung-Verhältnis von m/z 344.1412 detektiert, was mit 1.1 ppm Abweichung gut mit dem berechneten Wert von m/z 344.1423 korreliert.

Eine Charakteristische Bande im IR-Spektrum ist die starke Carbonylbande der Amidbindung bei 1626 cm^{-1} .

3 Synthese des Galaktosiddonors als Trichloracetimidat

3.1 Synthese des Galaktosidtrichloracetimidats **77**

Für die Synthese der Prodrugs mussten die *seco*-Drugs in die entsprechenden Galaktoside überführt werden. Hierzu wurde das Galaktosidtrichloracetimidat **77** hergestellt. Die Synthese begann mit der Acetylschätzung der kommerziell erhältlichen D-Galaktose **118** mit Essigsäureanhydrid und Pyridin als Base unter Verwendung von katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin in sehr guten Ausbeuten von 95%. Nachfolgend wurde die erhaltene pentaacetylierte Galaktose **119** in DMF gelöst und mit Hydrazinacetat anomer entschützt (85%). Durch Umsetzung von **120** mit Trichloracetonitril und 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in Dichlormethan konnte der Donor **77** in guter Ausbeute (73%) erhalten werden (Abbildung 42).

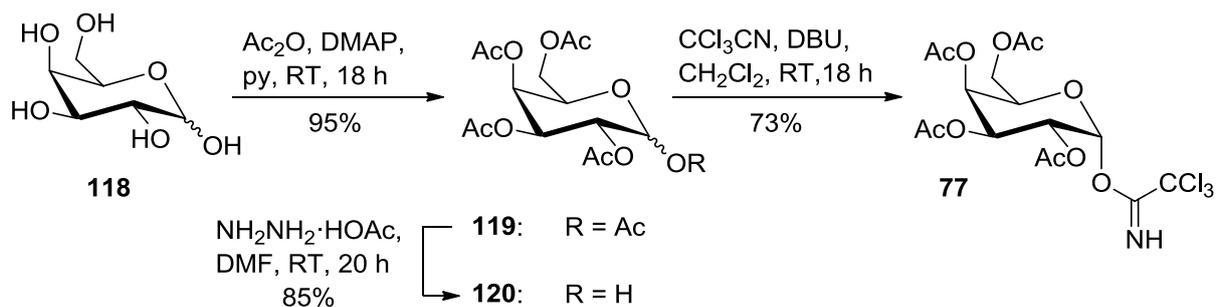


Abbildung 42. Darstellung des Galaktosyltrichloracetimidats **77** über drei Stufen ausgehend von D-Galaktose (**118**).

4 Synthese glykosidischer CBI-Fettsäure-Prodrugs für eine Anwendung im ADEPT-Ansatz

Das ADEPT-Konzept zur selektiven Krebstherapie beruht auf dem Einsatz von "untoxischen" Prodrugs. Hierzu wurden die beiden *seco*-CBI-Carbonsäureamide **111** und **115** ausgewählt, da sie die höchste Zytotoxizität aufwiesen. Durch eine Glykosidierung der Phenolfunktion mit dem Galaktosedonors **77** sollten sie detoxifiziert und somit in Prodrugs überführt werden. Um ihre Eignung als Wirkstoffe für die Krebstherapie zu untersuchen, wurden die folgenden Substanzen biologisch auf ihre Zytotoxizität *in vitro* evaluiert.

4.1 Synthese des Galaktosid-Alkin-Prodrugs **121**

Die Synthese des Galaktosid-Prodrugs **121** wurde in drei aufeinander folgenden Stufen ohne zwischenzeitliche Aufreinigung verwirklicht. Hierbei wurde zuerst die freie Phenolfunktion des Pharmakophors mit einem aktivierten Glykosyl-Donor zum *O*-Glykosid gekuppelt. Anschließend wurde die Boc-Gruppe abgespalten und das so erhaltene freie Amin unter EDC-Aktivierung mit der Alkensäure in das Acetylgeschützte Prodrug überführt.^{160,138f} Nach Acetylgruppenentschützung wurde das Prodrug isoliert und zytotoxisch untersucht.

Zahlreiche Methoden sind zur Bildung von Glykosiden bekannt. Hierunter sind unter anderem Methoden nach *Helferich*, *Fischer* oder *Königs* und *Knorr* zu nennen. Allerdings handelt es sich beim Pharmakophor **67** um ein schwaches, phenolisches Nukleophil und nicht alle Methoden sind diesbezüglich übertragbar. Des Weiteren handelt es sich um die Entwicklung bioaktiver Substanzen in der modernen organischen Synthese, folglich sollten toxische Elemente wie Quecksilber (*Helferich*) vermieden werden. Alternative Glykosidierungsmethoden sind die Verwendung von *O*-silylierten Glykosiden nach *Tietze*¹⁶¹ oder von Glykalen nach *Danishefsky*.¹⁶² Für die Glykosidierung der Duocarmycin-Analoga haben sich jedoch die von *Schmidt* entwickelten Trichloracetimidat-Glykosyldonoren¹⁵³ als besonders gut bewährt. Zu den Vorteilen zählen die hohe Effizienz sowie die Steuerbarkeit bezüglich der anomeren Selektivität. Zudem ist bekannt, dass bei Nachbargruppenbeteiligung, wie etwa durch 2-*O*- oder 2-*N*-Acylschutzgruppen, Trichloracetimidat-Donoren 1,2-*trans*-

Glykoside gebildet werden. Demzufolge liefern Glucose- und Galaktose-Derivate β -Glykoside, Mannose-Derivaten dagegen α -Glykoside.¹⁶³

Zur Darstellung des Prodrugs **121** konnte auf das enantiomerenreine Phenol **67** und auf das Acetyl-geschützte Trichloracetimidat der Galaktose **77** zurückgegriffen werden. Unter $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -Katalyse mit 0.5 Äquivalenten in Anwesenheit von Molekularsieb (4 Å) wurde bei -10°C der Donor zugegeben (Abbildung 43).

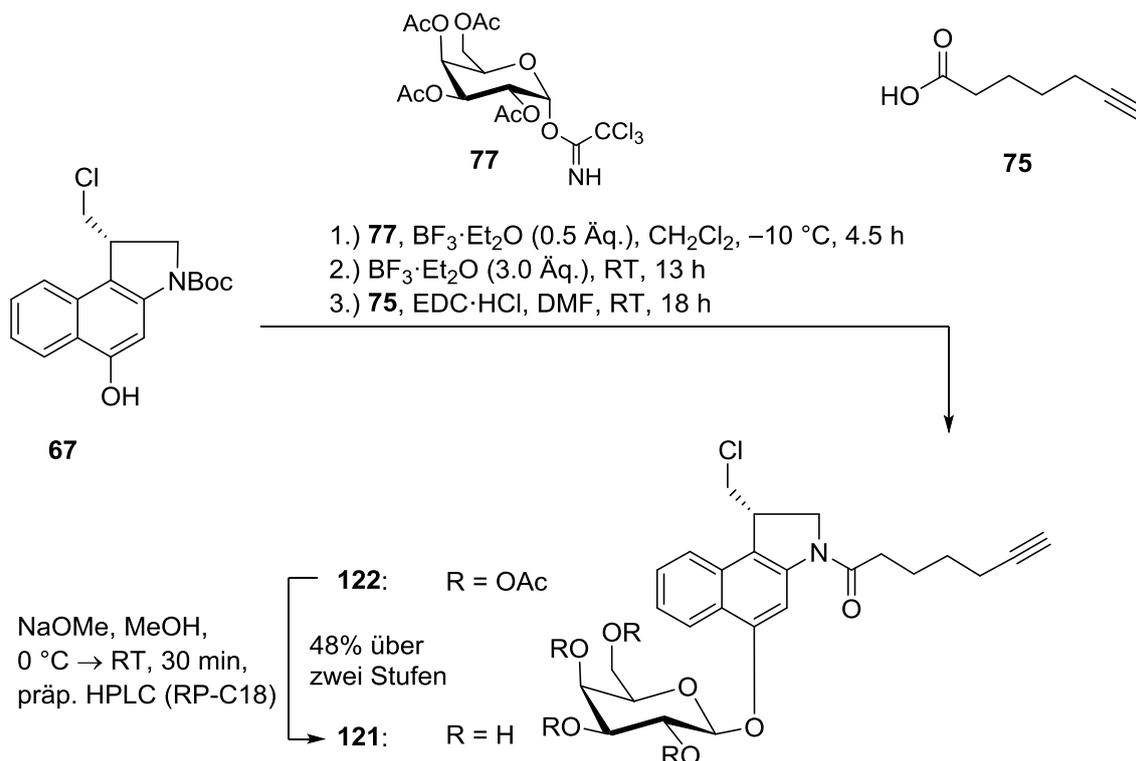


Abbildung 43. Synthese des β -D-Galaktosid-Prodrugs **121** mit Glykosidierung (1), Boc-Entschützung (2) und Fettsäure-Kupplung (3) sowie nachfolgender Acetylschutzung nach *Zemplén*.

Die säurelabile Boc-Schutzgruppe wurde durch Zugabe weiterer drei Äquivalente $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ nach 5.5 h und Erwärmen auf Raumtemperatur abgespalten. Das entschützte freie sekundäre Amin konnte nach 13 h erhalten werden, welches sich nach Entfernen des Lösungsmittels ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Stufe einsetzen ließ. Das Rohprodukt konnte schließlich unter Carbodiimid-Aktivierung mit Hilfe von $\text{EDC} \cdot \text{HCl}$ mit der Heptinsäure in DMF als Lösungsmittel gekuppelt werden. Aufgrund dieser Reaktionsführung konnte eine β -glykosidische Bindung erzielt werden. Anschließend wurde die Acetylschutzgruppe von **122** nach der *Zemplén*-Methode

unter basenkatalysierter Solvolyse mit katalytischen Mengen NaOMe in Methanol entfernt.

Die Zytotoxizitätstests in den *In-vitro*-Studien setzen eine hohe Reinheit der Substanzen voraus, weswegen das Prodrug durch präparative HPLC an einer Umkehrphase mit einem Wasser-Methanol-Gradienten gereinigt wurde. Das so erhaltene reine Prodrug **121** wurde mit einer Ausbeute von 48% über zwei Stufen isoliert.

4.1.1.1 Diskussion spektroskopischer und massenspektrometrischer Daten der Verbindung 121

Die NMR-Signale wurden mit Hilfe von ^1H -COSY-, HSQC- und HMBC-Korrelationspektren zugeordnet.

In Abbildung 44 ist das ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, DMSO- d_6) des *seco*-CBI-Heptin-Galaktosids **121** mit der entsprechenden Zuordnung der Signale dargestellt. Bei $\delta = 1.56$ ppm ist ein Quintett mit einer Kopplungskonstanten von $J = 7.3$ Hz zu finden, das den 4'-H₂-Protonen zuzuordnen ist. Darauf folgend erscheinen die Signale von 3'-H₂ und 5'-H₂ beide als zentriertes Multipllett bei $\delta = 1.72$ und 2.23 ppm. Etwas weiter zu tiefem Feld verschoben resonieren die diastereotopen Protonen 2'-H_a und 2'-H_b, welche benachbart zum Amidcarbonyl liegen, überlagert vom Lösungsmittelsignal des DMSO jeweils als Multipllett bei $\delta = 2.45$ –2.54 ppm und 2.54–2.62 ppm. Dem schließen sich die Glykosid-Protonen an, beginnend mit dem axialen 3''-H und dem 6''-H_a bei $\delta = 3.46$ –3.56 ppm als Multipllett. Ein weiteres Multipllett bei $\delta = 3.55$ –3.66 ppm beinhaltet die Signale von 5''-H und 6''-H_b, während 2''-H und 4''-H als Multipllett bei $\delta = 3.73$ –3.82 ppm zu interpretieren sind. Die Signale der diastereotopen Protonen 10-H_a und 10-H_b erscheinen jeweils als Dublett vom Dublett mit einer geminalen Kopplung in der Größe von $J = 11.0$ Hz und einer vicinalen von $J = 9.1$ Hz bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 3.84$ ppm sowie mit den Kopplungskonstanten $J = 11.1$ und 2.7 Hz bei einer Verschiebung von $\delta = 4.01$ ppm. Bei $\delta = 4.16$ –4.24 ppm findet sich ein zentriertes Multipllett, das sowohl das Proton am stereogenen Zentrum 1-H als auch 2-H_a abbildet.

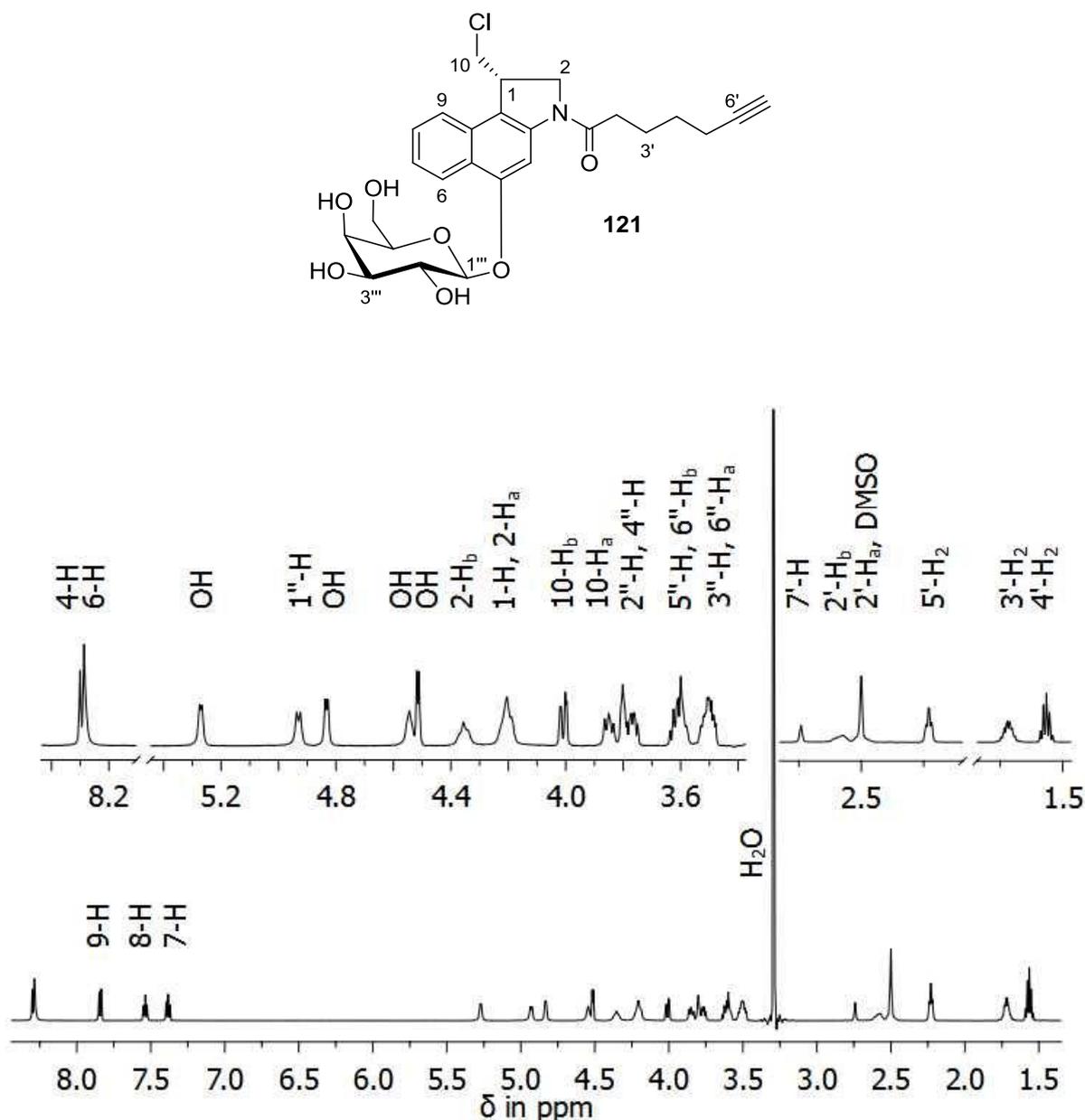


Abbildung 44. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (600 MHz, DMSO-d_6) des Galaktose-Prodrugs **121**.

Das zentrierte Multipllett bei $\delta = 4.36$ ppm kann 2-H_b zu geordnet werden. Sowohl die Dubletts bei $\delta = 4.51$, 4.83 und 5.27 ppm mit den Kopplungskonstanten von $J = 5.2$, 5.2 und 4.8 Hz als auch das Singulett bei $\delta = 4.51$ entsprechen den Hydroxygruppen der Galaktoseeinheit, da allen Signalen eine C,H-Korrelation fehlt. Das $1''\text{-H}$ -Proton am anomeren Zentrum des Zuckers resoniert als Dublett bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 4.93$ ppm mit der Kopplungskonstante $J = 7.3$ Hz, was auf eine β -Konfiguration der glykosidischen Bindung schließen lässt. Im Aromatenbereich finden sich zunächst Signale für das 7-H und 8-H des *seco*-CBI-Pharmakophors als scheinbares Tripllett bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 7.38$ und 7.54 ppm

mit den Kopplungskonstanten von $J = 8.0$ und 7.6 Hz, gefolgt von den verbleibenden aromatischen Protonen des *seco*-CBI-Systems, die weiter im Tieffeld resonieren. Mit nur einer *ortho*-Kopplungskonstanten von $J = 8.2$ Hz lassen sich das Dublett bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 7.83$ ppm dem 9-H und das folgende breite Singulett bei $\delta = 8.29$ ppm dem 6-H zuordnen. Als weiteres Singulett bei $\delta = 8.30$ ppm wird das verbleibende aromatische 4-H beobachtet.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz, DMSO- d_6) des Gal-Prodrugs **121** sind zunächst die Signale der gesättigten Fettsäure zu finden (Abbildung 45). Zu Beginn wird das C-5' bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 17.5$ ppm beobachtet, gefolgt von C-3', C-4' und C-2' bei $\delta = 23.2, 27.1$ und 34.5 ppm. Es folgt das Signal für das stereogene Zentrum C-1 im Hochfeld bei $\delta = 40.7$ ppm. Ebenfalls in diesem Bereich resonieren die Kohlenstoffatome C-10 bei $\delta = 47.6$ und C-2 bei 52.6 ppm. In etwas tieferem Feld sind die Galaktosid-Kohlenstoffatome C-6'', C-2'' und C-4'' bei den chemischen Verschiebungen von $\delta = 59.6, 67.6$ und 70.4 ppm zu beobachten, gefolgt von C-7' des terminalen Alkins bei $\delta = 71.1$ ppm, woran sich weitere glykosidische Signale bei $\delta = 73.1$ und 75.1 ppm für C-3'' sowie C-5'' anschließen. Das verbleibende quartäre Kohlenstoffatom C-6' erscheint bei $\delta = 84.4$ ppm. Weiter im Tieffeld resoniert C-4 des *seco*-CBI-Pharmakophors bei $\delta = 101.2$ ppm. Das Signal des anomeren Zentrums der Zuckereinheiten tritt bei einer charakteristischen Verschiebung von $\delta = 101.9$ ppm auf. Das quartäre Kohlenstoffatom C-5a befindet sich bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 116.6$ ppm. Sowohl C-9b als auch C-9 resonieren bei $\delta = 122.5$ ppm, gefolgt von den verbleibenden tertiären C-Atomen der pharmakophoren Einheit C-6, C-7 und C-8 bei $\delta = 123.3, 123.3$ und 127.3 ppm. Die weiter in das Tieffeld verschobenen Resonanzsignale sind allesamt nur noch quartären Kohlenstoffatomen zuzuordnen: C-9a bei $\delta = 129.5$ ppm sowie demgegenüber nochmals deutlich weiter in das Tieffeld verschobene C-3a sowie C-5 bei einer chemischen Verschiebungen von $\delta = 141.8$ und 153.8 ppm. Das am weitesten tieffeldverschobene Signal bei $\delta = 170.8$ ppm ist charakteristisch für die Carbonylgruppe (C=O) eines Carbonsäureamids.

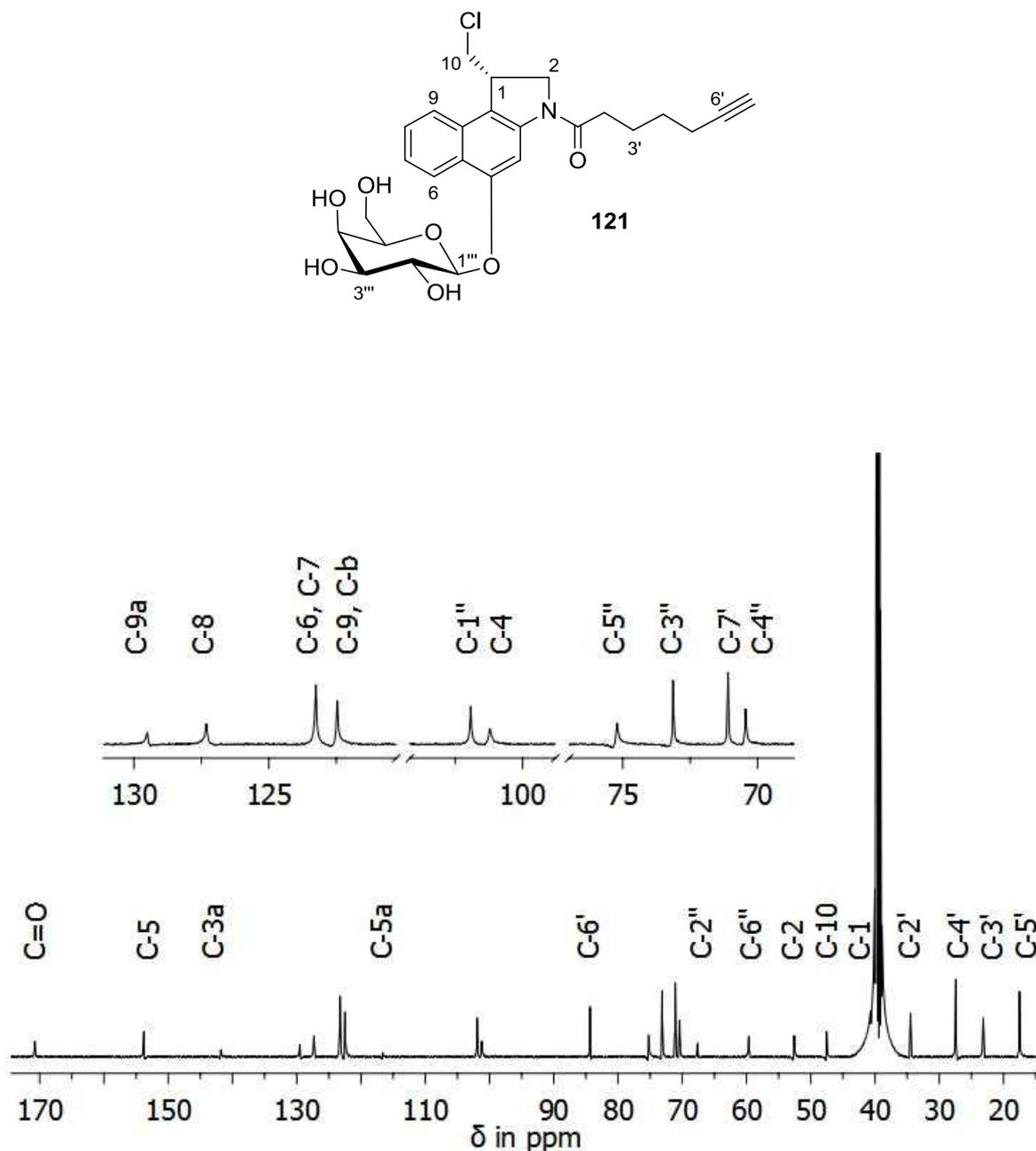


Abbildung 45. ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz, DMSO- d_6) des Galaktose-Prodrugs **121**.

Im ESI-MS-Spektrum des Gal-Prodrugs **121** sind im positiven Ionenmodus bei m/z 526.2 (Basispeak) und m/z 1029.3 Signale mit typischem Chlorisotopenmuster zu finden, die dem $[\text{M}+\text{Na}]^+$ - sowie dem $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion entsprechen. Im negativen Ionenmodus zeigt sich das $[\text{M}-\text{H}]^-$ -Ion (Basispeak) bei m/z 502.2. Während der ESI-HRMS-Messung wurde für das $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion ein Masse-Ladung-Verhältnis von m/z 526.1693 detektiert, was mit 1.0 ppm Abweichung gut mit dem berechneten Wert von m/z 526.1599 korreliert.

Charakteristische Banden im IR-Spektrum sind die breite Schwingungsbande für NH bei 3387 cm^{-1} sowie die starke Carbonylbande der Amidbindung bei 1627 cm^{-1} .

4.2 Synthese des Galaktosid-Alkan-Prodrugs 123

Die Synthese des entsprechenden Alkanderivates wurde analog zum Prodrug **123** durchgeführt. Nach der $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -katalysierten Glykosidierung mit dem Trichloracetimidat der Galaktose **77** wurde das Glykosid mit weiteren Äquivalenten $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ Boc-entschützt (Abbildung 46). Nach Entfernen des Lösungsmittels und ohne weitere Aufreinigung wurde das Rohprodukt in DMF aufgenommen und unter EDC-Aktivierung mit der Heptansäure **70** bei Raumtemperatur gekuppelt. Durch basenkatalysierte Solvolyse nach der *Zemplén*-Methode mit katalytischen Mengen NaOMe in Methanol wurden die Acetylgruppen entfernt.

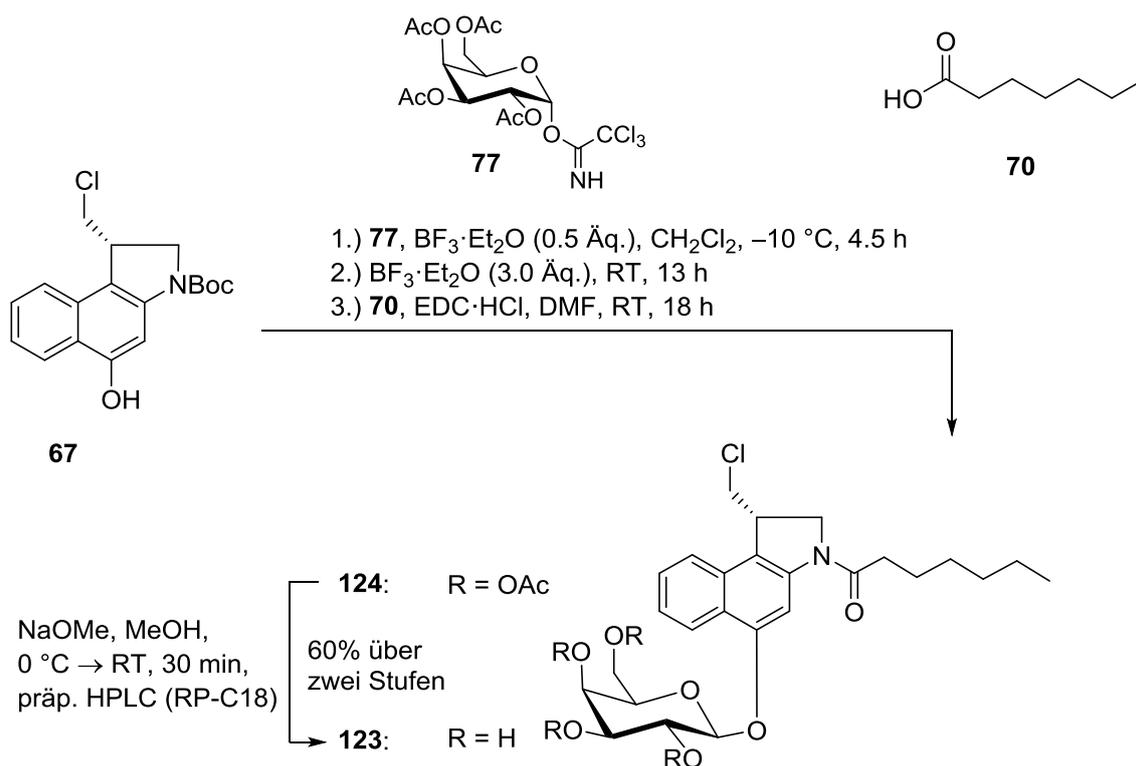


Abbildung 46. Synthese des β -D-Galaktosid-Prodrugs **123** mit Glykosidierung (1), Boc-Entschützung (2) und Fettsäure-Kupplung (3) sowie nachfolgender Acetylschutz nach *Zemplén*.

Für die *In-vitro*-Studien wurden die Substanzen mittels präparativer HPLC an einer Umkehrphase mit einem Wasser-Methanol-Gradienten aufgereinigt. Das hochreine Prodrug **123** wurde über zwei Stufen in einer Ausbeute von 60% erhalten.

5 *In-vitro*-Zytotoxizitätsuntersuchung

Alle dargestellten neuen *seco*-Drugs wurden auf ihre *in-vitro*-Zytotoxizität in einem Klonogenitätstest in Anlehnung an den HTCFA-Test (*Human Tumor Colony Forming Ability*) untersucht. Diese Studien wurden von Dr. I. Schubert, A. Herdlitschke und A. Rübeling in der Abteilung für Zellbiologie des Institutes für Organische und Biomolekulare Chemie durchgeführt.

5.1 Der HTCFA-Test zur Bestimmung der Zytotoxizität

Die neu synthetisierten Substanzen wurden auf ihre zytotoxische Wirkung gegen adhärent wachsende humane Tumorzellen untersucht. Hierzu erfolgte ein Klonogenitätstest, der sich an den HTCFA-Test anlehnt und die Proliferationsfähigkeit von einzelnen Zellen widerspiegelt (Abbildung 47). Bei der getesteten Zelllinie handelt es sich um das adhärent wachsende humane Bronchialkarzinom der Linie A549. Die Aussaat der Tumorzellen erfolgte aus einer Stammkultur, in der diese in einem Kulturmedium (DMEM mit Zusatz von 10% fötalem Kälberserum, 44 mM NaHCO₃ und 4 mM Glutamin) bei 37 °C und 7.5% CO₂-Begasung in Luft permanent gehalten wurde, in Konzentrationen von 10² bis 10⁴ Zellen in 6-Well-Multischalen. Nach 24 h wurde das Kulturmedium entfernt, die Zellen einmal mit dem serumfreien Inkubationsmedium *UltraCULTURE*TM gewaschen und anschließend in diesem Medium 24 h mit zehn bis zwölf verschiedenen Konzentrationen (drei dekadische Größenordnungen) der zu testenden Substanz inkubiert. Diese wurde vorher frisch in einer DMSO-Stammlösung angesetzt und mit dem Inkubationsmedium verdünnt, so dass in den Näpfen letztlich eine DMSO-Konzentration von 1% vorlag. Nach Entfernen der Testsubstanz und einem weiteren Waschgang mit dem Kulturmedium wurden die verbliebenen Zellen 10-12 Tage in normalem Kulturmedium kultiviert. Anschließend wurde dieses entfernt, die gebildeten Klone wurden getrocknet, mit *Löfflers* Methylenblau angefärbt und ab einer Klonegröße von ca. 500 µm makroskopisch ausgezählt. Die Bestimmung der relativen Klonbildungsraten erfolgte anhand der in Abbildung 47 angegebenen Formel, wobei sich die Klonzahl des Kontrollversuches aus unbehandelten Zellen ergab und gleich 100% gesetzt wurde. Die Freisetzung der zytotoxischen Verbindungen aus den Prodrugs (Kapitel 3.3.1) erfolgte durch Zugabe der entsprechenden Glykohydrolasen. Jede Versuchsreihe wurde in der

Regel mindestens dreimal als Duplikat durchgeführt, um reproduzierbare Testergebnisse zu erhalten.

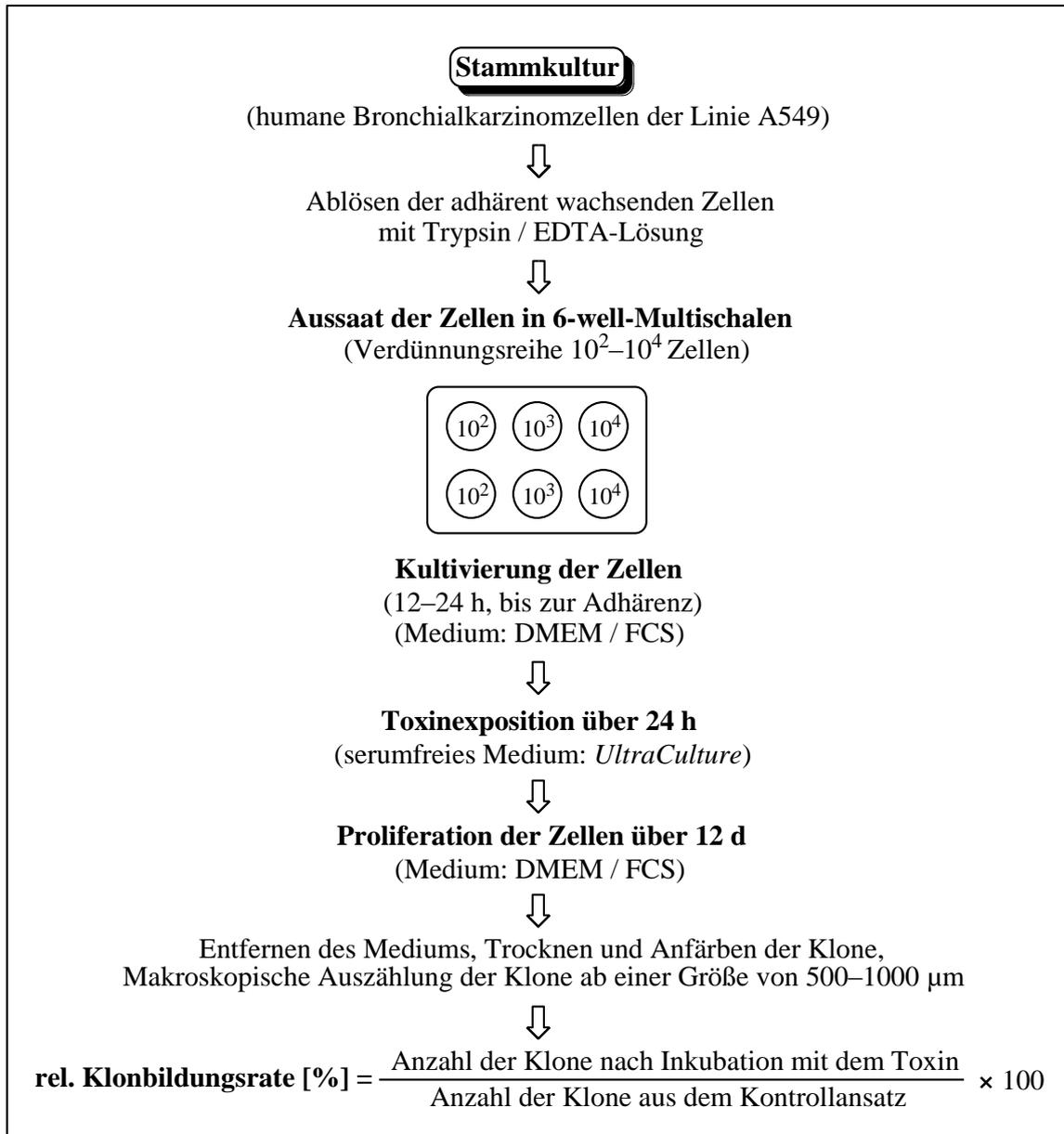


Abbildung 47. Schematische Darstellung des nach *I. Schubert* modifizierten HTCFA-Tests.

5.2 *In-vitro*-Zytotoxizität der *seco*-Alkin-Drugs 109-112 und der *seco*-Alkan-Drugs 113-115

In der Abbildung 48 werden die Ergebnisse der Untersuchungen zur *in-vitro*-Zytotoxizität an humanen Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 für die *seco*-Alkin-CBI-Drugs **109-112** dargestellt.

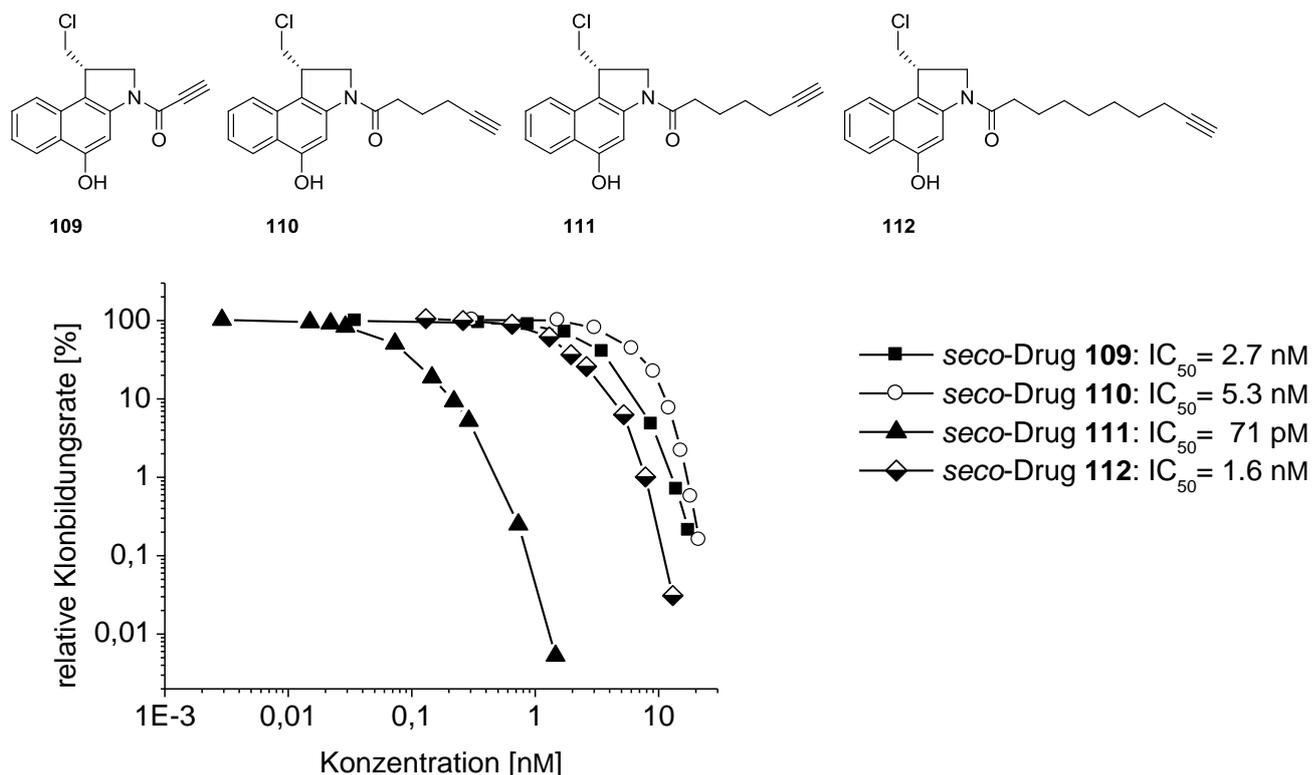


Abbildung 48. *In-vitro*-Zytotoxizitäten (A549) der *seco*-Alkin-CBI-Drugs **109-112**.

Die Zytotoxizitätsergebnisse der *seco*-Alkin-CBI-Drugs liegen im piko- bis nanomolaren Bereich. Die höchste Zytotoxizität zeigt das *seco*-Heptin-CBI-Drug **111** mit einem IC_{50} -Wert von 71 pM. Die drei weiteren Zytotoxizitäten zeigen Werte im niedrig nanomolaren Bereich angefangen beim *seco*-Octin-CBI-Drug **112** mit einem IC_{50} -Wert von 1.6 nM, darauf folgt das *seco*-Propin-CBI-Drug **109** (IC_{50} -Wert = 2.7 nM) und das *seco*-Hexin-CBI-Drug **110** (IC_{50} -Wert = 5.3 nM). Alle vier *seco*-Alkin-Drugs weisen eine hohe Zytotoxizität auf, obwohl sie keine DNA-bindende Einheit besitzen.

Die Alkanderivate wurden ebenso auf ihre *in-vitro*-Zytotoxizität an humanen Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 untersucht. Die Resultate der Experimente sind in Abbildung 49 dargestellt.

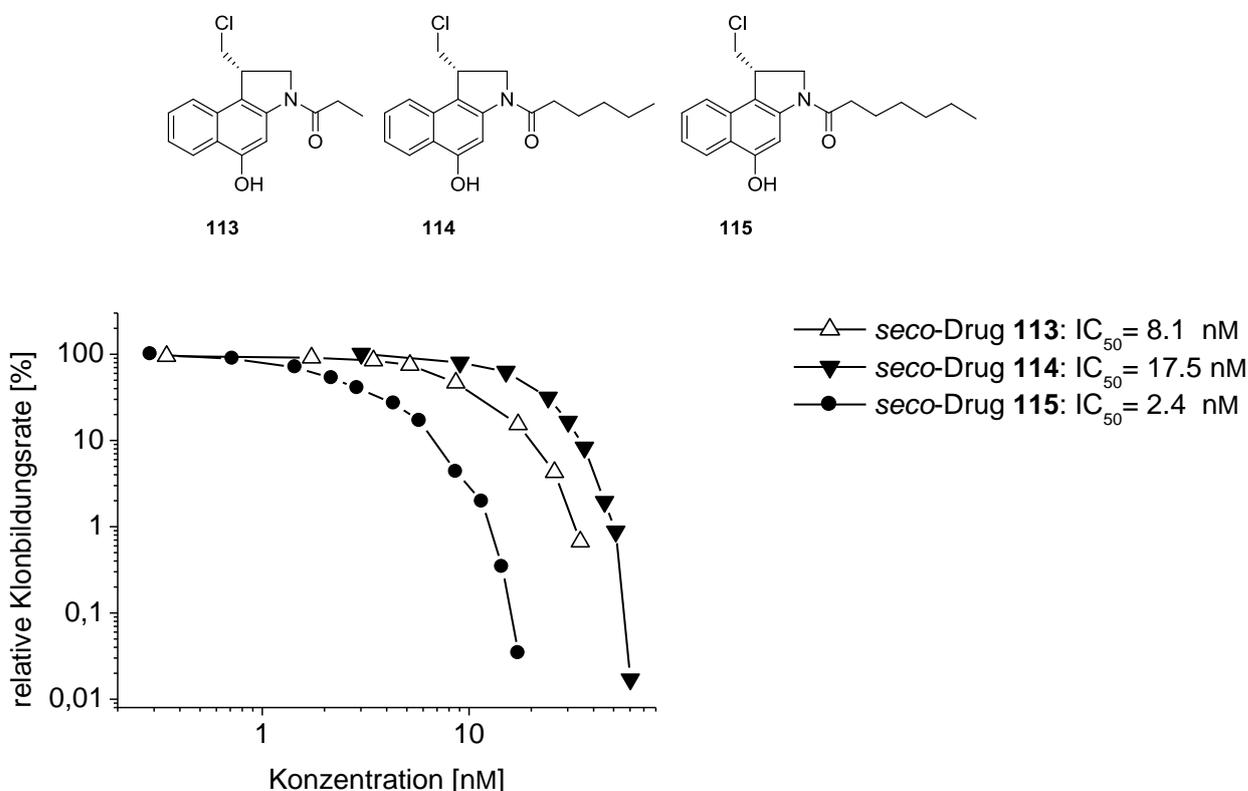


Abbildung 49. *In-vitro*-Zytotoxizitäten (A549) der *seco*-Alkan-CBI-Drugs 113-115.

Die Resultate in den Zytotoxizitätsassays der *seco*-Alkan-CBI-Drugs zeigen hohe Zytotoxizitäten im niedrig nanomolaren Bereich. Das *seco*-Heptan-CBI-Drug 115 mit einem IC_{50} -Wert von 2.4 nM zeigt eine leicht höhere Zytotoxizität als die Derivate *seco*-Propan-CBI-Drugs 113 (IC_{50} -Wert = 8.1 nM) und *seco*-Hexan-CBI-Drugs 114 (IC_{50} -Wert = 17.5 nM). Wiederum hat das Analogon mit der Kettenlänge von sieben C-Atomen die höchste Zytotoxizität. Hierbei unterscheiden sich die *seco*-Drugs untereinander jedoch lediglich um den Faktor 3, wohingegen der Zytotoxizitätsunterschied der *seco*-Alkin-Drugs 10^2 beträgt. Die Alkanderivate tragen weder einen DNA-Binder noch eine terminale Alkinfunktion und zeigen gleichwohl hohe Zytotoxizitäten. Die Alkineinheit scheint folglich keinen relevanten Einfluss auf die Zytotoxizität zu haben.

5.3 *In-vitro*-Zytotoxizität des Alkin-Prodrugs **121**

Durch die Zytotoxizitätsassays von Prodrug und Drug, kann Aufschluss darüber gegeben werden, wie groß der Zytotoxizitätsunterschied zwischen Prodrug und Drug ist und ob das Prodrug zum Ddrug transformiert wird oder ob ein unerwünschter „Selbstmord-Mechanismus“ das Enzym inaktiviert. Hierfür wird der IC₅₀-Wert des Prodrugs in Abwesenheit sowie in Anwesenheit des Enzyms ermittelt und mit dem IC₅₀-Wert des *seco*-Drugs verglichen. Stimmt der IC₅₀-Wert des Prodrugs in Gegenwart des Enzyms mit dem des entsprechenden *seco*-Drugs überein, so kann von einer schnellen enzymatischen Spaltung ausgegangen werden, ohne dass das Enzym durch das gebildete Produkt inaktiviert wird. Das therapeutische Fenster wird durch den Quotienten der erhaltenden IC₅₀-Werte definiert ($QIC_{50} = IC_{50} \text{ des Prodrugs} / IC_{50} \text{ des Prodrugs in Anwesenheit des spaltenden Enzyms}$).

In Abbildung 50 sind die Ergebnisse der Untersuchungen zur *in-vitro*-Zytotoxizität an humanen Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 für das *seco*-Heptin-CBI-Prodrug **121** sowie das dazugehörige *seco*-Drug **111** dargestellt.

Für das glykosidische Prodrug **121** wurde in Abwesenheit des Enzyms ein IC₅₀-Wert von 7.3 nM bestimmt. In Gegenwart der Galaktosidase konnte ein ähnlicher IC₅₀-Wert von 5.3 nM ermittelt werden. Somit sind beide Zytotoxizitätsergebnisse fast identisch, wobei das korrespondierende *seco*-Drugs **111** (IC₅₀ = 71 pM) eine hohe Zytotoxizität aufweist. Das Prodrug **121** scheint in Gegenwart der Galaktosidase unvollständig oder gar nicht enzymatisch gespalten zu werden. Dies lässt darauf schließen, dass das Galaktosid kein adäquates Substrat für das Enzym darstellt und/oder dass ein „Selbstmord-Mechanismus“ des Enzyms stattfindet. Der daraus resultierende QIC₅₀-Wert von 1.4 ist folglich unzureichend und genügt nicht den Anforderungen für eine Applikation im Rahmen des ADEPT-Konzepts.^{2d,66}

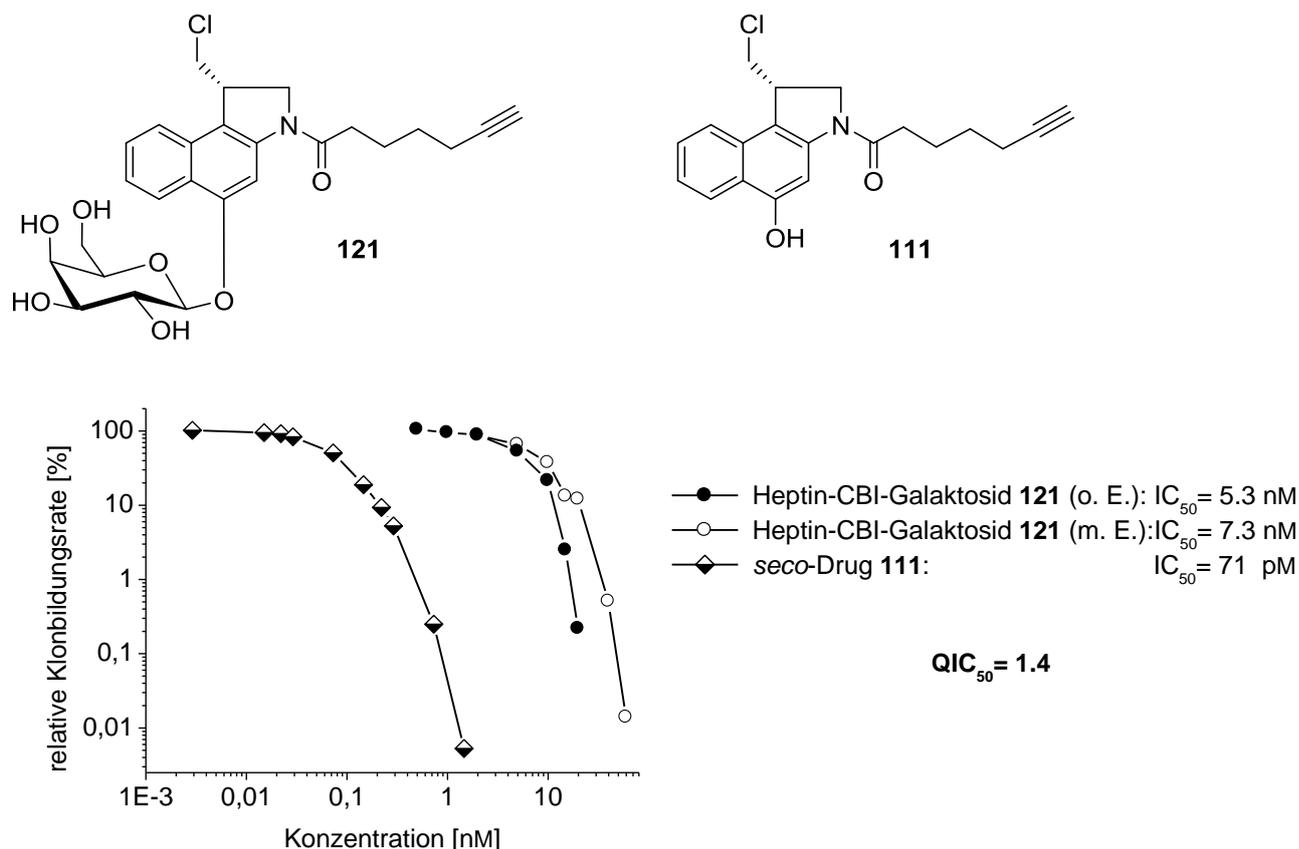


Abbildung 50. *In-vitro*-Zytotoxizitäten (A549) des *seco*-Heptin-CBI-Galaktosid **121** und des entsprechenden *seco*-Drugs **111** zum Vergleich (o.E. = ohne Enzym, m.E. = mit Enzym). Enzym: 0.4 U mL⁻¹ β -D-Galaktosidase.

5.4 *In-vitro*-Zytotoxizität des Alkan-Prodrugs **123**

In Abbildung 51 sind die Ergebnisse der Untersuchungen zur *In-vitro*-Zytotoxizität an humanen Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 für das *seco*-Heptan-CBI-Galaktosid **123** sowie das dazugehörige *seco*-Drug **115** dargestellt.

Hierbei zeigt das Prodrug **123** mit IC_{50} = 1.7 nM mit und IC_{50} = 1.1 nM ohne Enzym zwar eine gute Zytotoxizität, jedoch sind beide Werte faktisch identisch, was diese Verbindungen für eine Anwendung im ADEPT ausschließt. Die Zytotoxizitätswerte liegen zwar im Bereich des korrespondierenden *seco*-Drugs **115** (IC_{50} = 2.7 nM), allerdings wird durch das Einführen des Galaktosids weder eine Detoxifizierung erreicht, noch scheint das Glykosid enzymatisch vollständig gespalten zu werden. Da ähnliches bereits bei dem Heptin-CBI-Prodrug **111** beobachtet wurde, lässt sich schlussfolgern, dass Fettsäure-CBI-Derivate vermutlich keine adäquaten Substrate für

das Enzym darstellen. **123** genügt mit einem QIC_{50} -Wert von 1 nicht den Kriterien für einen Einsatz in der ADEP-Therapie.

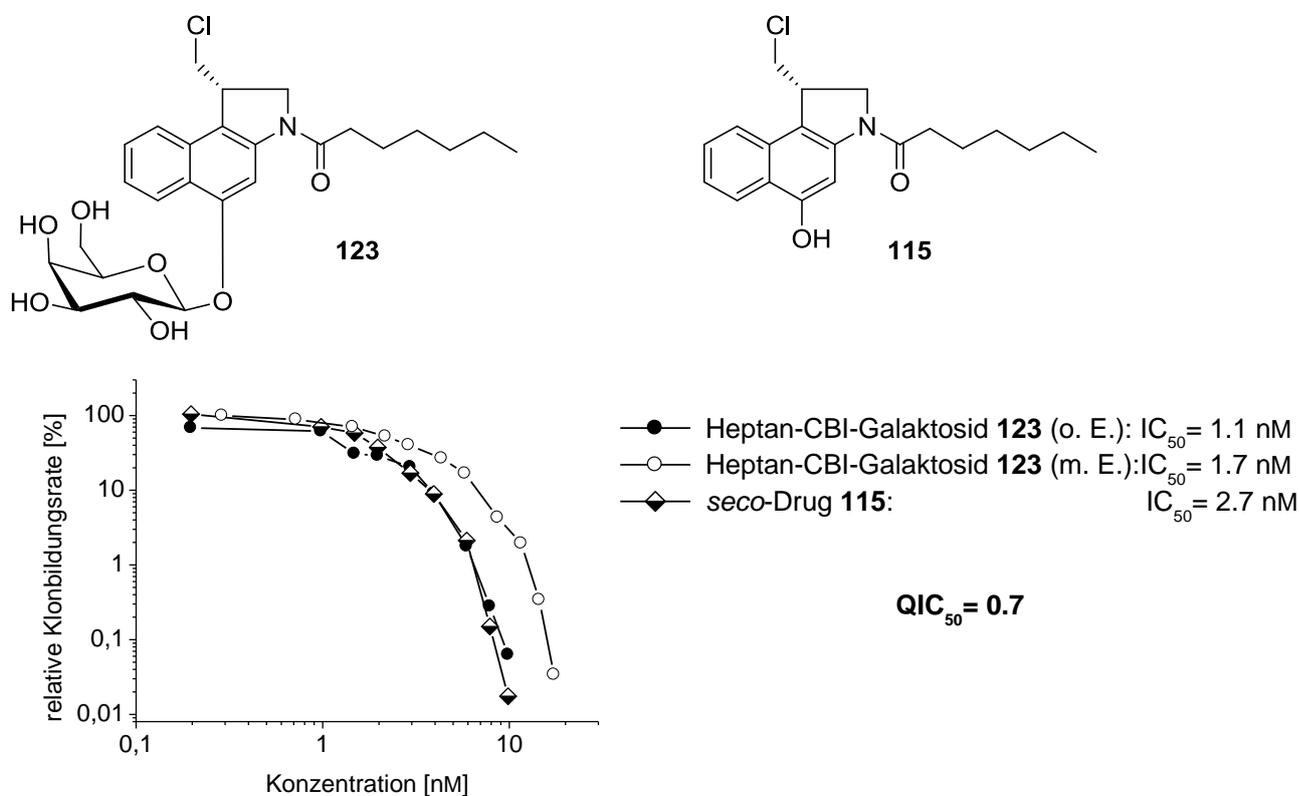


Abbildung 51. *In-vitro*-Zytotoxizitäten (A549) des *seco*-Heptan-CBI-Galaktosid **123** und des entsprechenden *seco*-Drugs **115** zum Vergleich (o.E. = ohne Enzym, m.E. = mit Enzym)Enzym: 0.4 U mL^{-1} β -D-Galaktosidase.

Im Rahmen einer Kooperation mit *S. A. Sieber* wurden alle dargestellten *seco*-Drugs mit terminaler Alkinfunktion sowie deren korrespondierende gesättigte Derivate, die dargestellten Prodrugs **121** und **123** von *T. Wirth* aus dem Arbeitskreis *Sieber* in einer ABPP-Studie untersucht.

6 Synthese propargylierter dimerer *seco*-CBI-Derivate

Um einen weiteren Einblick in den Wirkmechanismus und Wirkort bifunktionaler *seco*-CBI Verbindungen zu erhalten, war es das Ziel dieser Arbeit Dimere mit terminaler Alkineinheit an der verbrückenden Spacereinheit herzustellen. Zunächst musste hierfür ein geeigneter Linker synthetisiert werden.

Als Aufklärungsmethode sollte das aktivitätsbasierte Protein-Profiling (ABPP, Kapitel A.5) dienen, um noch unbekannte zelluläre Targets der Duocarmycin-Analoga zu identifizieren. Hierzu wurde eine geeignete Sonde benötigt, die möglichst geringe strukturelle Unterschiede zum eigentlichen Wirkstoff aufweisen sollte. Für das ABPP ist es allerdings notwendig eine funktionelle Gruppe einzuführen, damit eine Visualisierung (z.B. durch Fluoreszenz) ermöglicht wird. Aus diesen Gründen wurde ein Molekül analog zum Parent-Drug **66** hergestellt, welches lediglich durch eine Alkineinheit derivatisiert ist. Diese kann im APBB Experiment nach der Target-Enzymbindung durch Click-Chemie mit einem fluoreszierenden Rhodamin-Azid gekuppelt werden.

Im Rahmen einer Kooperation mit *S. A. Sieber* wurde somit ein propargyliertes bifunktionales CBI-*seco*-Drug dargestellt und anschließend von *T. Wirth* aus dem Arbeitskreis *Sieber* in einer ABPP-Studie untersucht.

6.1 Synthese eines Linkers mit terminaler Alkinfunktionalität auf Basis einer C-5-Kette

6.1.1 Syntheseroute A

Der Zugang zu einer C-5-Kette sollte über eine Cuprataddition an ein Enon erfolgen. Hierfür wurden verschiedene Kupfersalze genutzt, jedoch war keiner der Versuche erfolgreich. Die Darstellung über eine 1,4-Addition konnte nicht erfolgreich realisiert werden (Abbildung 52).

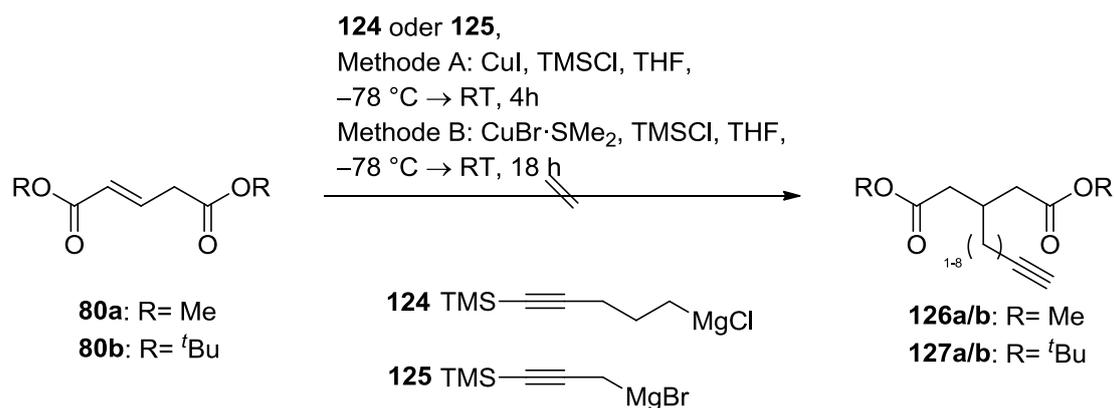


Abbildung 52. Syntheseveruche der Brücke mittels Cuprataddition.

6.1.2 Syntheseroute B

Als zweite Syntheseroute wurde vom kommerziell erhältlichen 3-Allylmalon-säureethylester **84** ausgegangen und dieser mit Lithiumaluminiumhydrid in Diethylether quantitativ reduziert. Um eine bessere Abgangsgruppe zu generieren, wurden die primären Alkohole von **128** mit Tosylchlorid in Pyridin als Base umgesetzt, wodurch das Ditosylat **129** in moderaten Ausbeuten von 57% isoliert werden konnte. Als Nebenprodukt wurde die monotosylierte Spezies beobachtet, deren Bildung bei verlängerter Reaktionszeit reduziert, aber nicht vollständig vermieden werden konnte. Das Ditosylat **129** wurde anschließend in einer nukleophilen Substitution mit Natriumcyanid in DMF unter Rückfluss umgesetzt und das entsprechende Dinitril **130** in guter Ausbeute (82%) erhalten. Eine anschließende Reaktion mit Toluolsulfonsäure Hydrat in Methanol führte zum Glutarsäuremethylester **83** (81%), wobei auch hier die Bildung des Monoesters beobachtet wurde. Danach wurde mittels Ozonolyse aus der terminalen ungesättigten Bindung eine primäre Hydroxyfunktion generiert. Hierzu wurde **83** in Dichlormethan gelöst und Ozon durch die Reaktionslösung geleitet. Nach reduzierender Aufarbeitung mit Natriumborhydrid konnte der Alkohol **131** in guter Ausbeute von 72% erhalten werden (Abbildung 53). Anschließende Versuche die OH-Gruppe zu deprotonieren resultierten in einem Ringschluss zum Lacton.

Daher wurde die Möglichkeit der Hydroborierung genutzt, um so die Seitenkette um ein Kohlenstoffatom zu verlängern, damit nicht die favorisierte 5-Ringbildung zur Verfügung steht. Erste Syntheseveruche zeigten im ESI-HRMS, dass sich das Produkt **131** bildet. Jedoch wurde aus Zeitgründen eine andere Route favorisiert und weiter verfolgt.

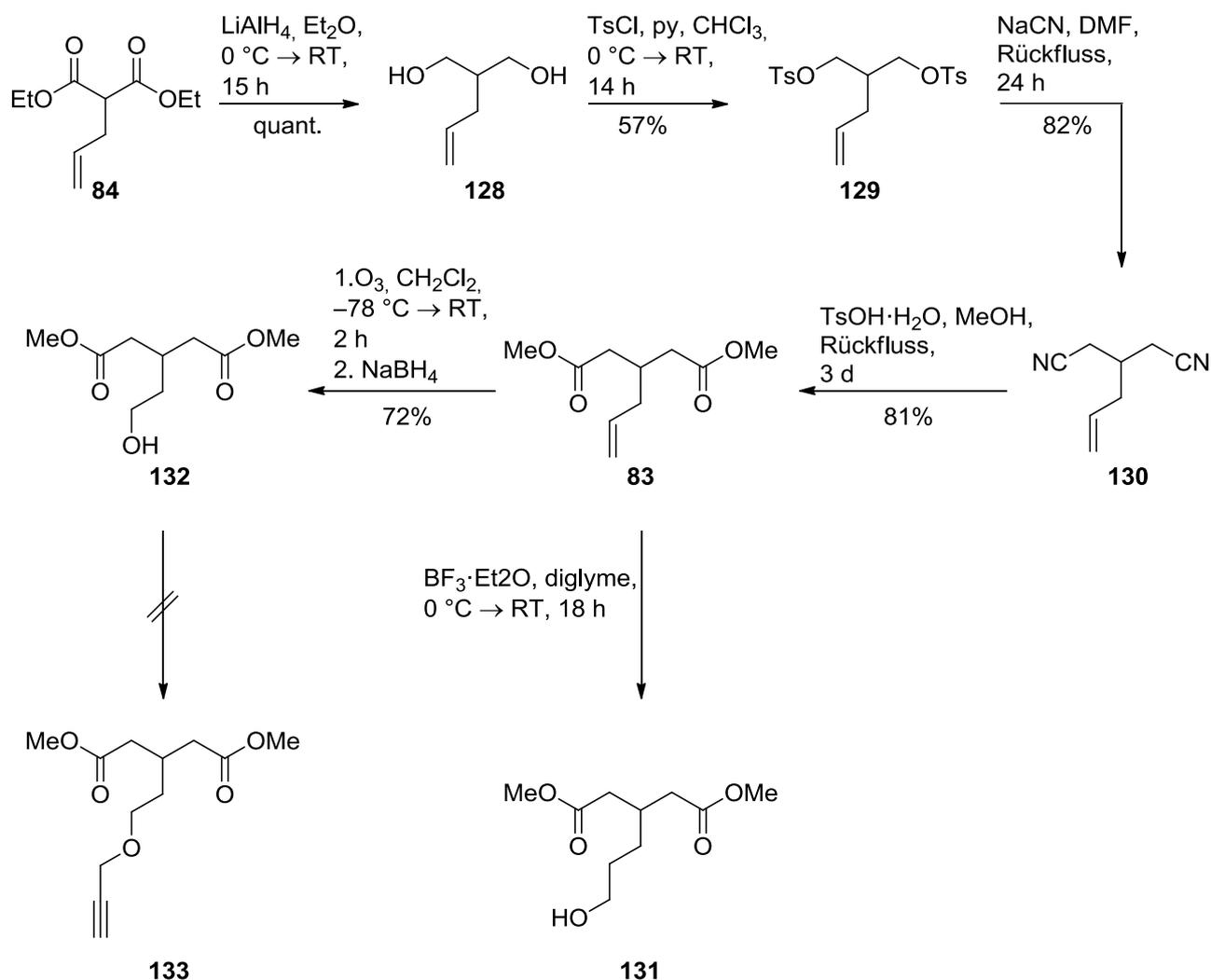


Abbildung 53. Syntheseroute für die Brücke 133/131.

6.1.3 Syntheseroute C

Als weitere Alternative wurde die Darstellung von **131** ausgehend von Alkohol **134** verfolgt, welcher mit Hilfe einer *Swern*-Oxidation zum Aldehyd **135** mit guter Ausbeute (88%) umgesetzt wurde. Anschließend wurde der Malonsäuremethylester **136** mit Piperidin deprotoniert und **87** erhalten (61%). Ein weiteres Mal wurde Malonsäuremethylester **136** in einer *Michael*-Reaktion an den Dimethylester **87** addiert, wobei **86** in 57% Ausbeute gebildet wurde (Abbildung 54). Sowohl eine basische Verseifung der Methylester mit Lithiumhydroxid als auch eine alternative Methode mit Natriumchlorid in DMSO/Wasser schlugen jedoch fehl und daher wurde der gemischte Malonsäureester **137** für die *Knoevenagel*- und *Michael*-Reaktion gewählt, da *tert*-Butylester leicht säurekatalysiert gespalten werden können.

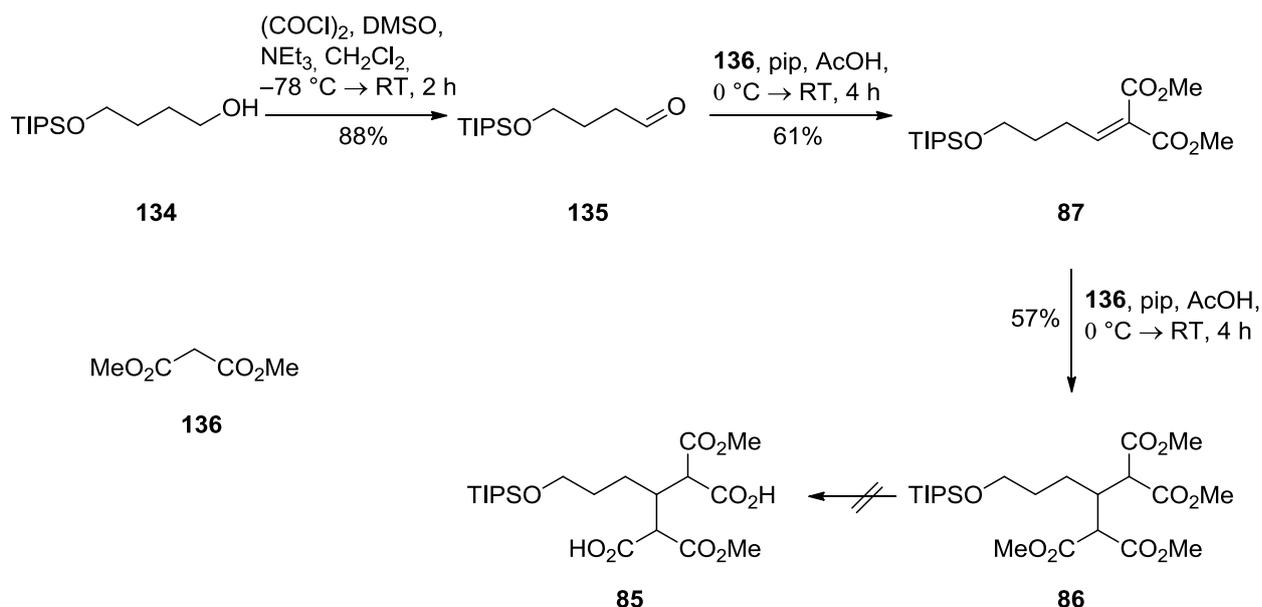


Abbildung 54. Darstellung des vierfach Methylesters **86**.

Umsetzung des Aldehyds **135** mit dem Malonsäure-*tert*-butylmethylester **137** führte zum gemischten Ester **138**, der in 65% Ausbeute als blassgelbes Öl erhalten wurde. Erneute Umsetzung mit einem weiteren Äquivalent des Nucleophils führte zu **139** in 68% Ausbeute (Abbildung 55). Die TFA vermittelte Entschützung der *tert*-Butylesterfunktionalität ergab die Disäure **140** in 75% Ausbeute. Die Umsetzung verläuft zu 100%, aber da das Produkt sehr polar ist, war es nicht möglich das Produkt vollständig zu extrahieren.

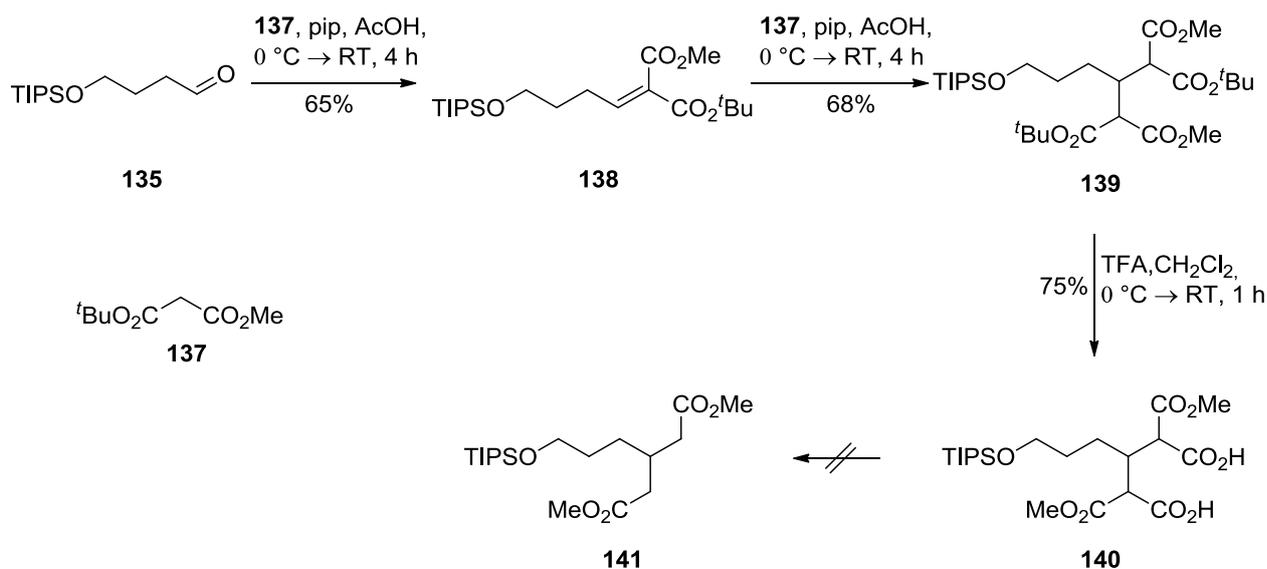


Abbildung 55. Synthese der Disäure **140**.

Die erforderliche Decarboxylierung zum gewünschten Produkt **141** konnte jedoch nicht erfolgreich durchgeführt werden. Es trat Zersetzung auf.

6.2 Synthese eines Linkers mit terminaler Alkinfunktionalität auf Basis eines tertiärenamins

Aufgrund der bisherigen nicht erfolgreichen Ergebnisse wurde eine neuer Linker mit einer Alkingruppe entwickelt. Es handelt sich hierbei um das Amin **89**, das anstelle des C-3 in **126** ein Stickstoffatom mit einer Propargyl-Gruppe enthält. Zum Aufbau dieser Verbindung konnte der bereits hergestellte *tert*-Butylester **90** verwendet werden, welcher mit kommerziell erhältlichem Propargylamin **91** in guter Ausbeute von 76% zu **142** gekuppelt wurde (Abbildung 56).

Daraufhin wurden verschiedene Methoden zur *tert*-Butylentschützung getestet, wobei eine Entschützung mit konzentrierter Salzsäure die besten Resultate lieferte (83%). Die so erhaltene Disäure **89** stand nun für die Synthese eines propargylierten Dimers zur Verfügung.

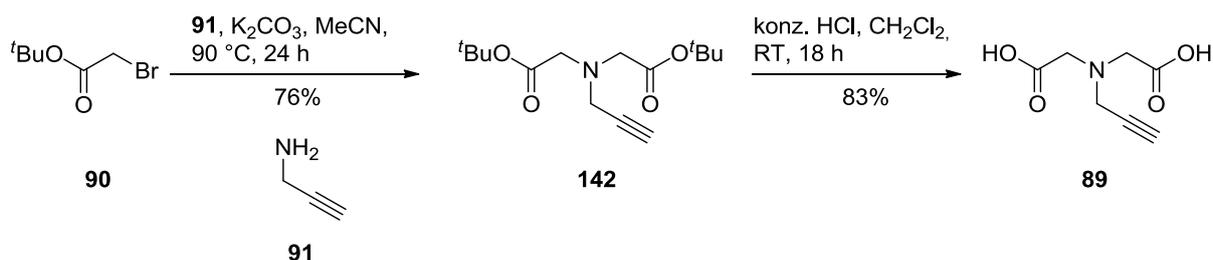


Abbildung 56. Zweistufige Synthese des propargylierten Linkers **89**.

6.3 Synthese des propargylierten dimeren *seco*-Drugs **143**

Die erfolgreich synthetisierte Brücke **89** konnte nun mit dem Pharmakophor verknüpft werden, um eine geeignete Sonde für die ABPP-Studien zu erhalten. Hierzu wurde zuerst die Boc-Gruppe mittels 4 M Salzsäure in Essigester bei Raumtemperatur abgespalten und umgehend das Lösungsmittel entfernt. Ohne weitere Aufreinigung wurde der Rückstand in DMF gelöst und die Disäure **89** mit Hilfe einer EDC-Aktivierung an das Pharmakophor gekuppelt. Um eine ausreichend hohe Reinheit für die *In-vitro*-Studien zu gewährleisten wurde das *seco*-Drug via präparativer HPLC an einer Umkehrphase mit einem Wasser-Methanol-Gradienten gereinigt und in mäßiger Ausbeute (31%) erhalten (Abbildung 57).

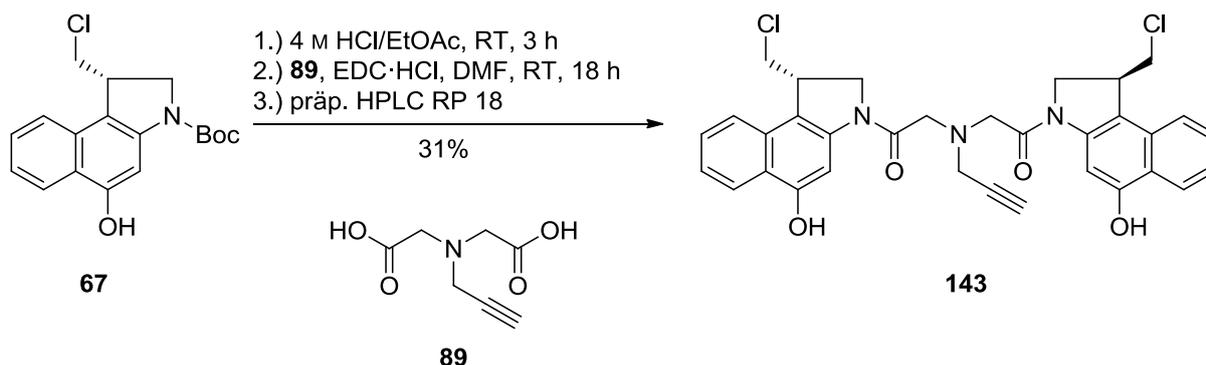


Abbildung 57. Synthese des bifunktionalen *seco*-Drugs **143**.

6.3.1.1 Diskussion spektroskopischer und massenspektrometrischer Daten der bifunktionalen Verbindung **143**

Die NMR-Signale wurden mit Hilfe von ^1H -COSY-, HSQC- und HMBC-Korrelationspektren interpretiert.

Das ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, DMSO- d_6) des dimeren *seco*-Drugs **143** ist in Abbildung 58 mit der entsprechenden Zuordnung dargestellt. Im Hochfeld ist zunächst für das Alkinproton bei $\delta = 3.22$ ppm ein Triplett mit der Kopplungskonstante $J = 2.1$ Hz zu finden. Die Protonen sowohl des Linkers 2- H_2 und 4- H_2 als auch die Methylengruppe des Propargylrestes 1''- H_2 sowie das diastereotope 10- H_a resonieren als Multiplett bei $\delta = 3.69$ – 3.82 ppm, gefolgt von einem Dublett vom Dublett bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 3.96$ ppm mit einer geminalen Kopplungskonstante von $J = 11.0$ Hz und einer vicinalen von $J = 2.9$ Hz, welches das 10- H_b abbildet. Weiterhin tritt bei $\delta = 4.158$ ppm ein zentriertes Multiplett auf, welches dem Proton am Stereozentrum 1- H zugeordnet werden kann. Bei $\delta = 4.30$ und 4.36 ppm finden sich die Signale für die diastereotopen Protonen 2- H_a und 2- H_b , die als Dublett vom Dublett (2- H_a) mit Kopplungskonstanten von $J = 10.4$ und 2.0 Hz und als Triplett (2- H_b) mit $J = 9.6$ Hz auftreten. Die aromatischen Protonen 7- H , 8- H und 9- H des *seco*-CBI-Pharmakophors resonieren bei $\delta = 7.36$ und 7.52 ppm mit Kopplungskonstanten von $J = 7.7$ und 7.6 Hz bzw. bei $\delta = 7.78$ ppm mit $J = 8.4$ Hz. Dem 4- H kann das Singulett bei $\delta = 7.99$ ppm zugeordnet werden. Das Dublett bei $\delta = 8.13$ ppm mit einer Kopplungskonstanten von $J = 8.4$ Hz entspricht dem 6- H . Weit im Tieffeld bei $\delta = 10.33$ ppm sind als Singulett die phenolischen OH-Gruppen zu beobachten.

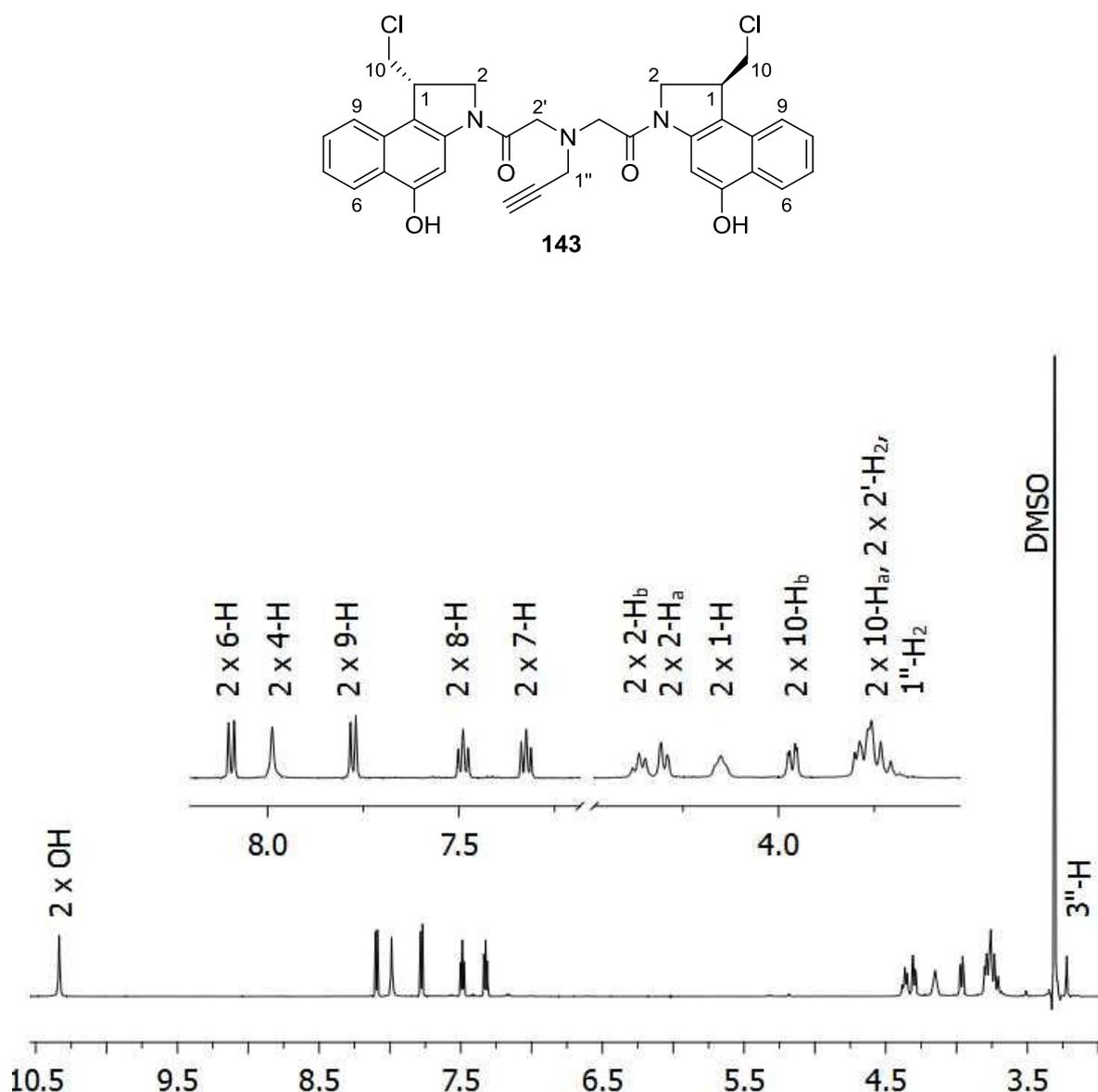


Abbildung 58. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (600 MHz, DMSO-d_6) des bifunktionalen *seco*-Drugs **143**.

Abbildung 59 zeigt das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (125 MHz, DMSO-d_6) des propargylierten dimeren *seco*-Drugs **143**. Im Hochfeld bei $\delta = 41.0$ ppm finden sich zunächst die Signale der C-1 von den stereogenen Zentren des Pharmakophors, gefolgt von C-1'' bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 42.6$ ppm. Die Signale bei $\delta = 47.5$ und 52.1 ppm können den Atomen C-10 sowie C-2 zugeordnet werden. Daraufhin resonieren die CH_2 -Gruppen C-2 und C-4 der verbrückenden Einheit bei 56.2 ppm, wohingegen die Kohlenstoffatome der ungesättigten Bindung C-2' und C-3' bei 79.3 und 76.1 ppm weiter im Tieffeld Signale zeigen. Im Aromatenbereich befindet sich zunächst das Signal des C-4 bei einer chemischen Verschiebung von $\delta = 99.8$ ppm. Die quartären C-Atome C-5a sowie C-9b sind bei $\delta = 113.8$ und 121.8 ppm zu beobachten, gefolgt von den tertiären Kohlenstoffatomen der pharmakophoren Einheit

C-9, C-7, C-6 und C-8, die den Signalen bei $\delta = 122.5$, 122.7 , 123.0 und 127.2 ppm zuzuordnen sind. Die weiter in das Tieffeld verschobenen Resonanzen sind ausschließlich nur noch quartären Kohlenstoffatomen zuzuordnen: C-9a, C-3a und C-5 bei $\delta = 129.4$, 141.9 und 154.2 ppm. Bei einer für Carbonsäureamide charakteristischen Verschiebung von $\delta = 167.8$ ppm erscheint das Signal der Carbonylfunktion (C=O).

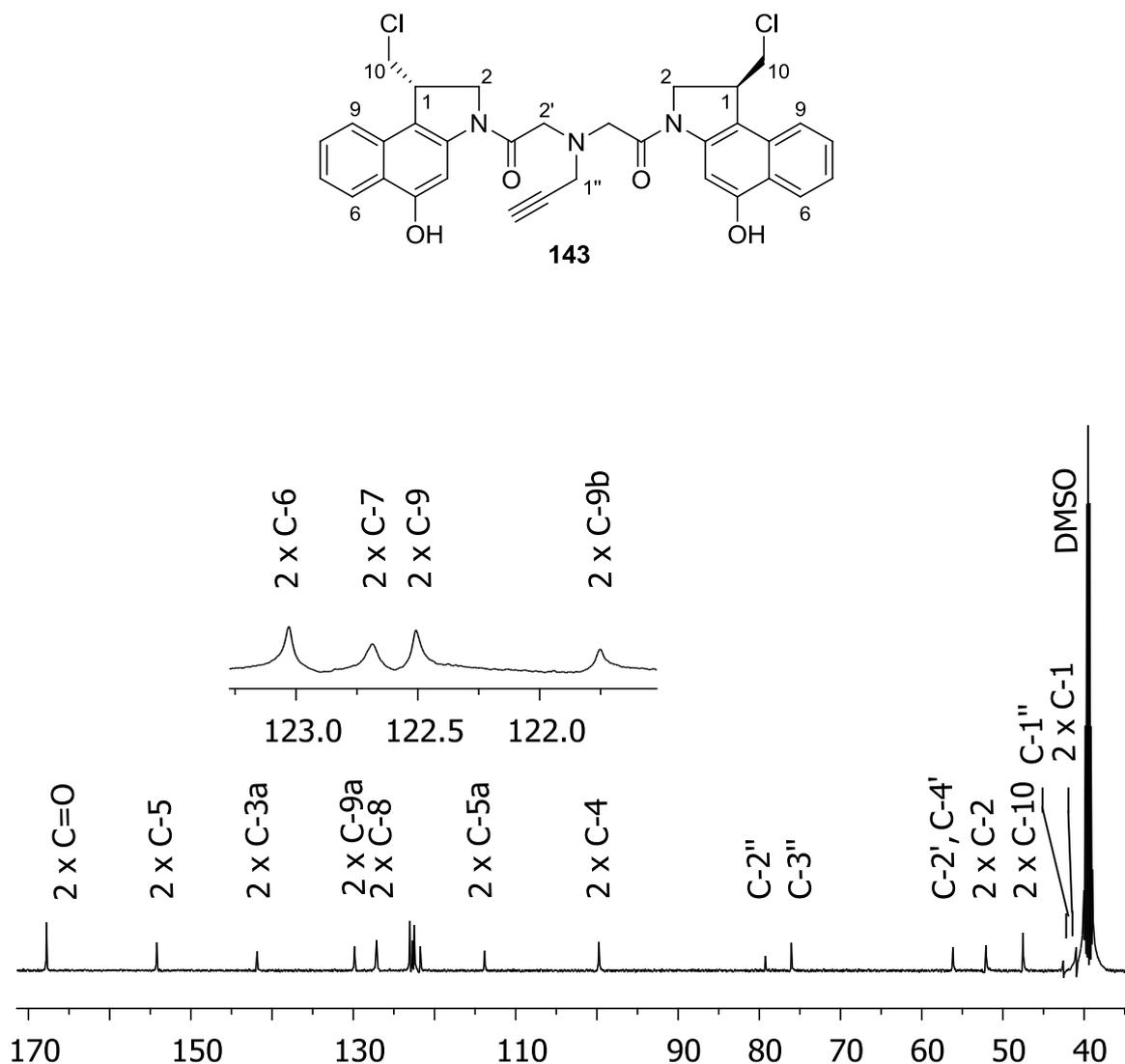


Abbildung 59. ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz, DMSO-d_6) des bifunktionalen *seco*-Drugs **143**.

Im ESI-MS-Spektrum des bifunktionalen *seco*-Drugs **143** sind im positiven Ionenmodus bei m/z 602.2 (Basispeak) $[\text{M}+\text{H}]^+$ und 1205.3 $[2\text{M}+\text{H}]^+$ mit drei ^{35}Cl und einem ^{37}Cl zu finden. Das ESI-HRMS-Spektrum zeigt für das $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ion ein Masse-Ladungs-Verhältnis von m/z 602.1581, welches mit 2.7 ppm Abweichung gut mit dem berechneten Wert von m/z 602.1608 übereinstimmt.

6.4 *In-vitro*-Zytotoxizität des bifunktionalen *seco*-Drugs 143

Abbildung 60 zeigt die Resultate des *in-vitro*-Zytotoxizitätsassays an humanen Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 für das dimere *seco*-Drug **143**, das als Sonde für ABPP-Studien entwickelt wurde. Hierbei ist eine Grundvoraussetzung, dass die Sonde und der interessierende Wirkstoff (Stammverbindung) nur kleine strukturelle Veränderungen aufweisen und möglichst ähnliche Zytotoxizitäten zeigen (Kapitel A.5). Allerdings zeigt ein direkter Vergleich der Zytotoxizitätsergebnisse von **143** mit $IC_{50} = 120 \text{ pM}^*$ und **66** mit $IC_{50} = 110 \text{ fM}$ einen starken Unterschied der Zytotoxizitäten. Dies kann auf die ALK-Gruppe aber wahrscheinlicher auf den basischen Stickstoff zurückgeführt werden.

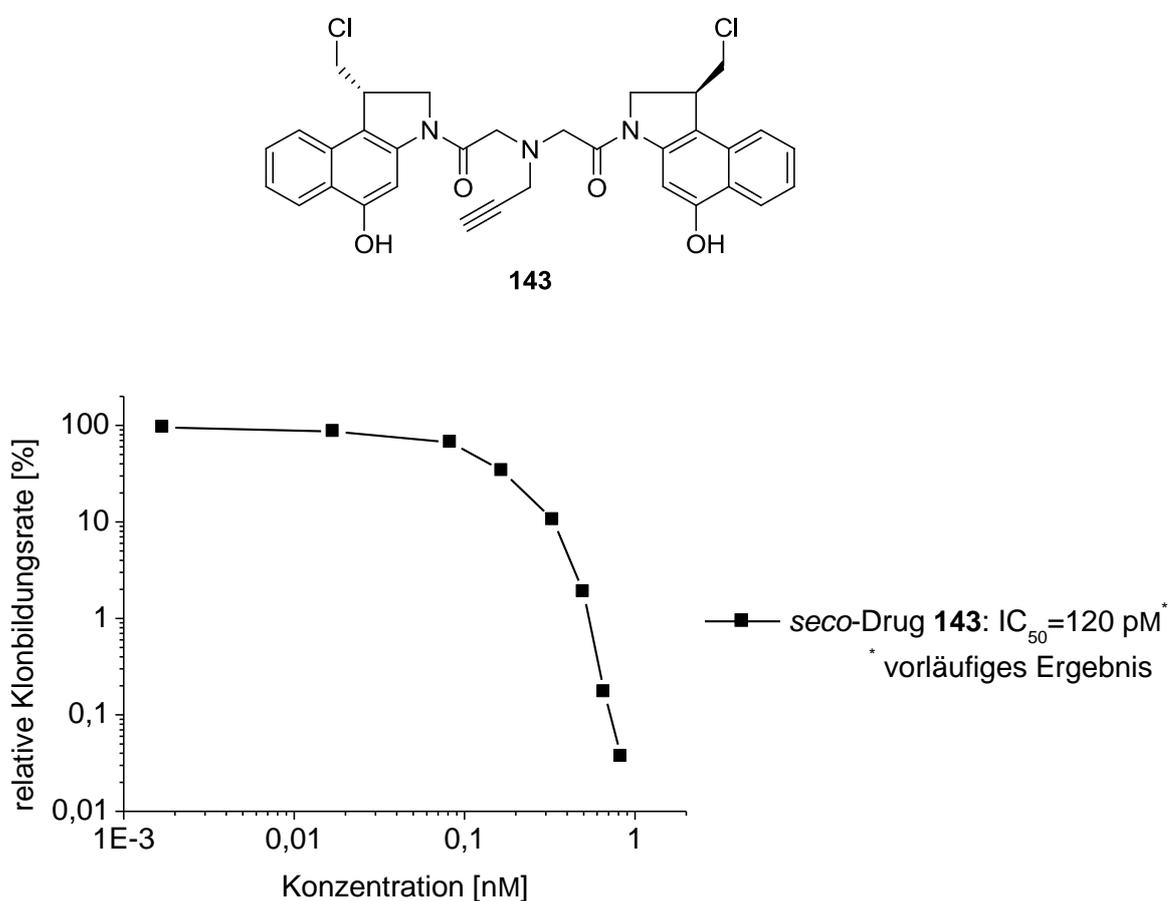


Abbildung 60. *In-vitro*-Zytotoxizitäten (A549) des propargylierten *seco*-Drugs **143**.

6.5 Ergebnisse der ABPP-Experimente mit den *seco*-Drugs 109-117 und den Prodrugs 121 und 123 sowie dem dimeren *seco*-Drug 143

Die nachfolgend beschriebenen Experimente und Ergebnisse basieren auf einer Kooperation mit *S. A. Sieber* und wurden von *T. Wirth* an der Fakultät für Chemie der Technischen Universität München durchgeführt.

Aus den Arbeiten von *K.Schmuck*, *Tietze* und *Sieber* war bekannt, dass das propargylierte *seco*-Drug **144** mit DNA-bindender Einheit neben einer Einlagerung in die kleine Furche der DNA auch mit dem zellulären Target Aldehyddehydrogenase 1A1 (ALDH1A1) interagiert (Abbildung 61). Ebenso konnte eine Inhibition dieses Enzyms durch das bifunktionale *seco*-Drug **66** von *M. v. Hof* nachgewiesen werden. Um diese Ergebnisse zu untermauern wurden die *seco*-Drugs **109-117**, die keine DNA-bindende Einheit tragen, sowie die Prodrugs **121** und **123** als auch das propargylierte bifunktionale *seco*-Drug **143** auf eine Bindung an die Aldehyddehydrogenase 1A1 untersucht.

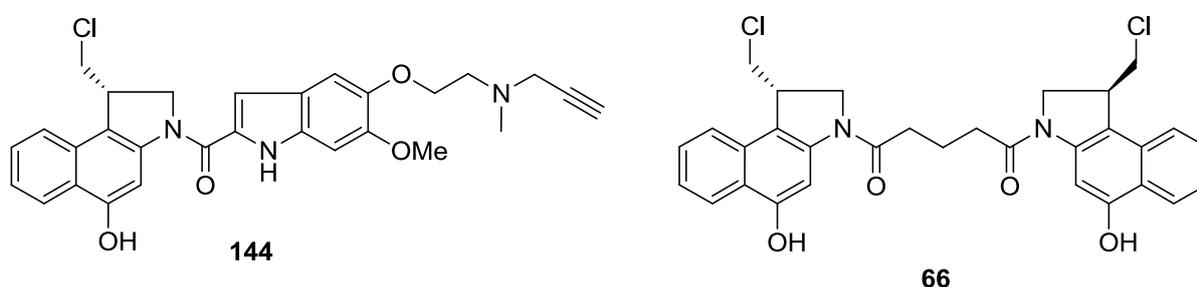


Abbildung 61. Propargyliertes *seco*-Drug **144** mit DNA-bindender Einheit und Parent-Drug **66** zu **143**.

Hierzu wurden verschiedene Konzentrationen der *seco*-Drugs **109-117** (Ausnahme **116**, welches nicht untersucht wurde) und Prodrugs (**121**, **123**) sowie das Pharmakophor **67** und dimere *seco*-Drug **143** mit Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 inkubiert, danach die Zellen lysiert und das Proteom mit Rhodamin-Azid als Marker versetzt. Mittels fluoreszierender SDS-PAGE konnte das Proteom analysiert werden, wobei eine starke Bande bei 60 kDa detektiert wurde (Abbildung 62).

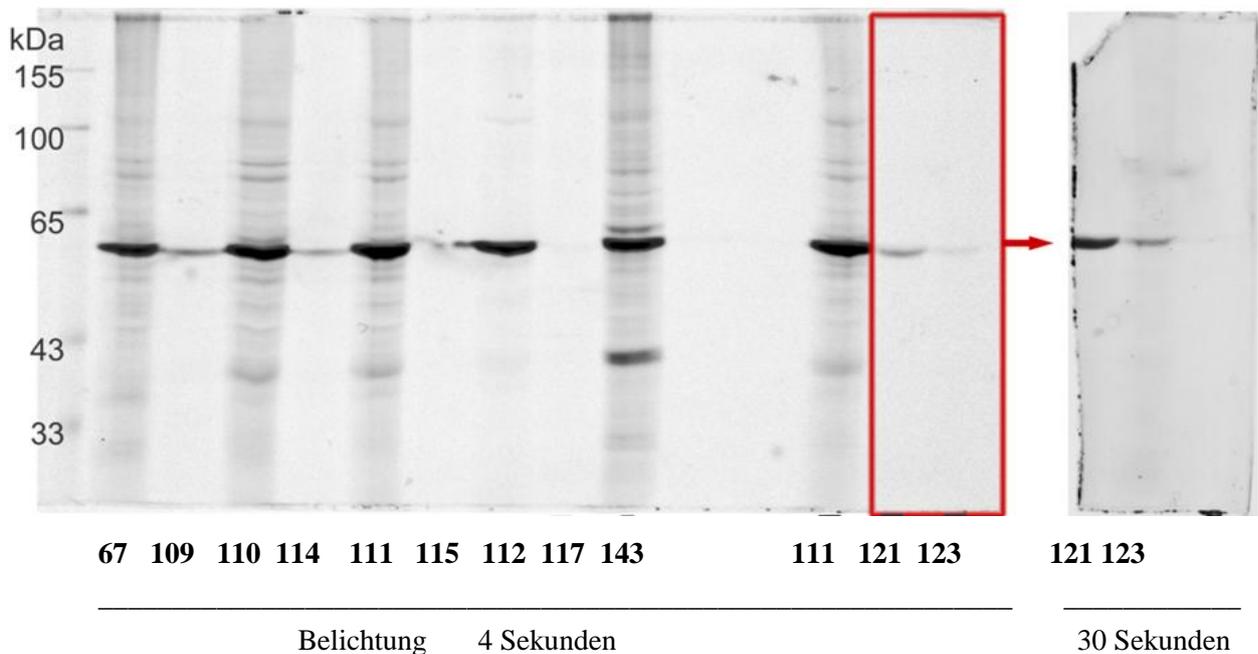


Abbildung 62. SDS-Page der *seco*-Drugs **109-112** und **113-115**, **117** sowie der Prodrugs **121** und **123** und dem bifunktionalen *seco*-Drug **143**.

Durch Vergleich mit einem Standard konnte die Bande einem Protein mit dem Molekulargewicht von ca. 60 kDa zugeordnet werden. Selbst bei niedrigen Konzentrationen im nanomolaren Bereich war die Bande deutlich zu erkennen (Abbildung 62) was auf eine spezifische Proteinbindung und hohe Affinität schließen lässt.

Anschließend wurde das Protein identifiziert. Hierzu wurde das ABPP-Experiment mit einer vorgeschalteten Biotin-Avidin-Anreicherung wiederholt und die Bande aus dem Gel isoliert, tryptisch verdaut und massenspektrometrisch (MS/MS) untersucht. Ein Abgleich mit einer Datenbank konnte die gefundenen Fragmente dem Enzym Aldehyddehydrogenase 1A1 (ALDH1A1) zugeordnet werden.

Dieses Enzym kommt in erhöhter Konzentration in Bronchialkarzinomzellen vor und seine Expression steht in Korrelation zum Tumorstadium und der Sterblichkeitsrate.^{164a} Die ALDH1 oxidiert intrazelluläre Aldehyde und trägt dazu bei, im frühen Stadium der Stammzellendifferenzierung Retinol in Retinsäure zu überführen.^{165b}

Jiang et al. untersuchten die Eignung von ALDH1 als Lungentumor-Stammzellmarker und somit als prognostischer Faktor und konnten feststellen, dass ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten des Enzyms und dem Krankheitsgrad besteht. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, das Enzym als therapeutisches Target in der Lungenkrebs-

therapie zu verwenden. Dies wird darüber hinaus anhand von Knock-Down-Studien mit ALDH1A1-spezifischen siRNA (*small interfering ribonucleic acid*) untermauert, welche zeigten, dass dieses Enzym eine wichtige Rolle bei der Zellproliferation und -motilität einnimmt.¹⁶⁵ ALDH1A1 stellt somit ein weiteres Angriffsziel für Duocarmycin-Analoga dar.

Durch vorangegangenen Arbeiten im Arbeitskreis *Tietze* konnte mittels CD-Spektroskopie an lebenden Zellen und massenspektrometrische Untersuchungen mit Oligonukleotiden gezeigt werden, dass für die Duocarmycin-Analoga mit DNA-Bindungseinheit das vornehmliche Angriffsziel die kleine Furche der DNA ist.¹⁴⁴

Wie bereits beschrieben, konnte für die bifunktionalen Duocarmycin-Analoga keine Wechselwirkungen mit der kleinen Furche der DNA gefunden werden und somit war das Angriffsziel dieser Verbindungen zunächst unklar. Jedoch wurde die Verbindung **66** ebenso in die Untersuchungen eingebunden, nachdem für das propargylierte *seco*-Drug **144** das Target ALDH1A1 verifiziert wurde. Es zeigte sich, dass auch das Dimer mit dem Enzym interagiert. Auch konnte gezeigt werden, dass das bifunktionale Analogon ohne DNA-bindende Einheit einen Cross-Link zwischen zwei Cystein-Resten (Cys456 und Cys464) ausbildet, wohingegen bei *seco*-Drug **143** zwei Moleküle pro Enzym binden. Dieser Umstand könnte eine Erklärung für die extrem gute Zytotoxizität von Verbindung **143** darstellen, da sowohl bei einer längeren Brücke als auch beim Monomer eine Abnahme der zytotoxischen Wirkung festzustellen ist.

Des Weiteren wurden Experimente bezüglich der Akkumulation der Drugs in der Zelle durchgeführt. Für diesen Zweck wurden Zellen mit den *seco*-Drugs **144**, **110** und **114** inkubiert. Verschiedene Zellkompartimente wurden durch spezifische Fluoreszenzmarker farblich unterschieden und so konnte auf die Lokalisation der *seco*-Drugs innerhalb der Zelle rückgeschlossen werden. Kombiniert man die Ergebnisse darüber hinaus mit dem gefundenen zellulären Target ALDH1A1, ist eine Anreicherung der *seco*-Drugs ohne DNA-bindende Einheit mit dem Auftreten des Enzyms überlappend. Das *seco*-Drug **144** mit DNA-Binder hingegen konzentriert sich im Bereich der DNA, folglich im Nukleus. Obwohl dieses *seco*-Drug auch die ALDH1A1 inhibiert ist keine räumliche Nähe zu erkennen. Das *seco*-Drug **114** ohne terminaler Alkinfunktion reagiert nicht mit dem Fluoreszenzmarker und bleibt undetektiert.¹⁶⁶

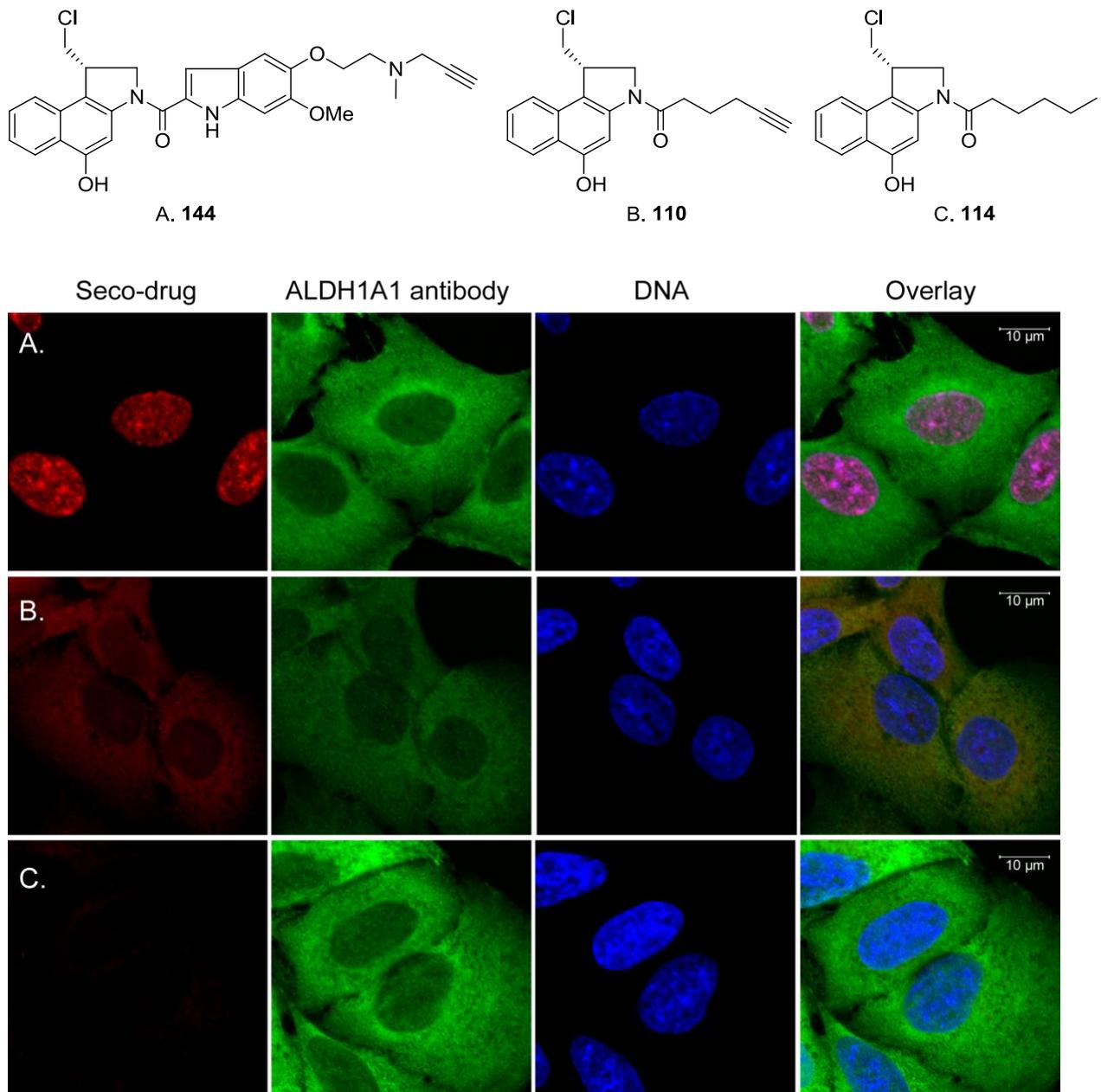


Abbildung 63. Vergleich dreier *seco*-Drugs: a) propargyliertes *seco*-Drug **144** mit DNA-Binder; b) propargyliertes *seco*-Drug **110** ohne DNA-bindende Einheit; c) *seco*-Drug **114** ohne terminale Alkinfunktion.¹⁶⁷

Es lässt sich jedoch bisher nicht eindeutig bestimmen, ob die Aldehyddehydrogenase 1A1 das einzige Ziel des dimeren *seco*-Drugs **143** ist. Um nun den genauen Wirkort und -mechanismus untersuchen zu können, eignet sich das bifunktionale *seco*-Drug **143** für weitere ABPP-Studien. Hierfür werden weitere ABPP-Studien im Arbeitskreis S. A. Sieber durchgeführt.

C. ZUSAMMENFASSUNG

Trotz der erfolgreichen Behandlung vieler Krankheiten hat die Zahl der Krebstoten in den vergangenen Jahren zugenommen. Dies ist sicher zum großen Teil auf die demographische Entwicklung zurückzuführen. Es zeigt aber auch, dass die Krebstherapie immer noch nicht hoch entwickelt ist. Daher ist es die Aufgabe der Wissenschaft und Forschung sich dieses Problems anzunehmen und die Mortalität durch maligne Neoplasien zu reduzieren. Neben chirurgischer Resektion und Bestrahlung ist die Chemotherapie die dritte große Säule bei der Behandlung gegen den Krebs.

Herkömmliche Zytostatika greifen dabei vornehmlich in den Zellzyklus ein und somit werden Zellen mit hoher Proliferationsrate geschädigt. Allerdings fallen hierunter nicht ausschließlich Krebszellen, sondern auch gesunde, schnell proliferierende Gewebearten. Auf Grund dessen verursacht eine klassische Chemotherapie schwerwiegende Nebenwirkungen wie Störungen im Blutbild, Erbrechen, Immunschwäche, Infertilität und Haarausfall. Die gravierenden Sekundäreffekte bedingen meist eine Redizierung der Wirkstoffdosis, so dass maligne Zellen nicht effektiv zerstört werden können. Neuere Therapieansätze greifen daher geno- sowie phänotypischer Unterschiede zwischen malignen und gesunden Zellpopulationen auf und können selektiv den zytotoxischen Wirkstoff in die Tumorphilpopulation einbringen.

Dazu werden im Arbeitskreis *Tietze* sogenannte Prodrug-Konzepte verfolgt, bei denen ein möglichst „untoxisches“ Prodrug gezielt im entarteten Gewebe enzymatisch zum zytotoxischen Wirkstoff (Drug) aktiviert wird. In diesem Rahmen werden Substrate für die *Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy* (ADEPT) hergestellt. Bei diesem Konzept wird eine hohe Tumorspezifität durch Konjugate aus Enzymen und Antikörpern erlangt, indem das Immunglobulin selektiv an tumorassoziierte Antigene bindet und durch das konjugierte Enzym die Drugfreisetzung ermöglicht wird. Die natürlichen zytotoxischen Antibiotika (+)-CC-1065 (**19**) und (+)-Duocarmycin SA (**20**) (Abbildung 64) dienen hierbei als Leitstrukturen für die Synthese entsprechender Prodrugs. Allen Vertretern von Naturstoffen dieser Klasse ist das elektrophile Spirocyclopropyl-cyclohexadienon-Motiv (Pharmakophor) gemein, das DNA-alkylierende Eigenschaften besitzt und die Verbindungen innerhalb der Zytostatika als Alkylantien qualifiziert. Weiter ist das Pharmakophor mit einem Indolsystem verknüpft, das eine hohe Affinität zu Doppelstrang-DNA aufweist und folglich als DNA-Binder anzusehen ist.

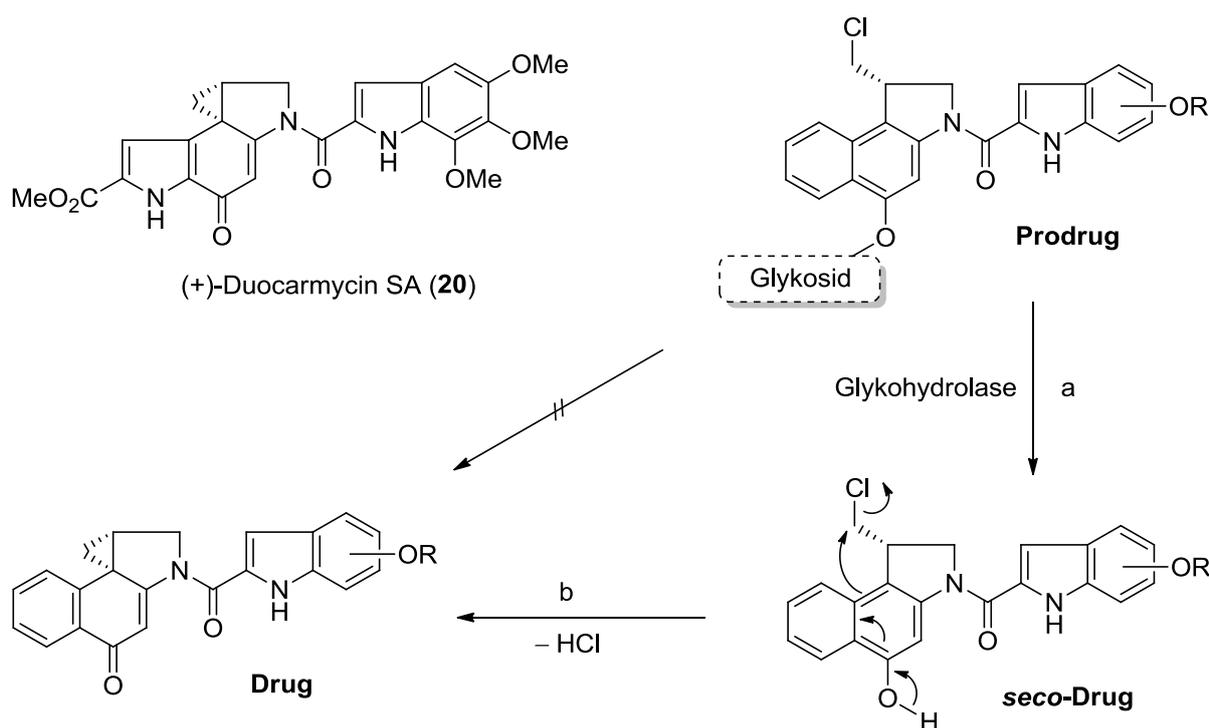


Abbildung 64. Enzymatische Toxifizierung eines glykosidischen Prodrugs a) zum *seco*-Drug und b) *In-situ*-Winstein-Zyklisierung zum zytotoxischen Drug als Analogon des natürlichen Antibiotikums (+)-Duocarmycin SA (**20**).

Die im Arbeitskreis *Tietze* synthetisierten Derivate dieser Naturstoffe tragen keine Spirocyclopropyleinheit, sondern sind als sogenannte *seco*-Vorläufer zu klassifizieren. Charakteristisch für diese *seco*-Verbindungen ist die phenolische Hydroxyfunktion und die Chlormethylgruppe, durch welche sie *in situ* über eine schnelle Spirozyklisierung in die entsprechenden Drugs überführt werden können (Abbildung 64). Unter Berücksichtigung der Anwendung in ADEPT werden darauf aufbauend reversibel detoxifizierbare Prodrugs synthetisiert, die eine im Vergleich zu ihren *seco*-Drugs deutlich verminderte Zytotoxizität aufweisen. Hierbei wird die phenolische Hydroxyfunktion der *seco*-Verbindungen als Glykosid, z.B. als Galaktosid, geschützt und somit eine Zyklisierung zur aktiven Spezies unterbunden. Diese Glykoside können dann im Tumorgewebe durch Antikörper-Glykohydrolase-Konjugate zu den jeweiligen *seco*-Drugs gespalten werden, welche schließlich *in situ* zu den zytotoxischen Spiroverbindungen zyklisieren.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt zwei neue Duocarmycin-analoge Prodrugs sowie neun neue *seco*-Drugs synthetisiert, wobei vier Vertreter eine terminale Alkinfunktion aufweisen. Für die Darstellung der Prodrugs wurden auf die

Galaktose als Glykosideinheit zurückgegriffen, da diese bereits gute Resultate in vorangegangenen Studien gezeigt haben. Zudem wurde ein neuartiges dimeres *seco*-Drug hergestellt, das aus zwei pharmakophoren Einheiten sowie einem verbrückenden Linker mit Alkineinheit besteht. Die jeweiligen *In-vitro*-Zytotoxizitäten sowie die Eignung für eine Anwendung im ADEPT-Ansatz wurde von *I. Schuberth et al.* evaluiert.

Neun der neuen Duocarmycin-Analoga wurden in Form von *seco*- und Prodrugs wurden im Rahmen des aktivitätsbasierten Protein-Profilings von *Sieber et al.* untersucht. Hierbei konnte die Aldehyddehydrogenase 1, welche bereits durch Studien in den Arbeiten von *K. Schmuck* als Target ermittelt wurde, als wichtiges Angriffsziel der Duocarmycin-Familie verifiziert werden.

Um die Duocarmycin-Derivate zu synthetisieren, musste anfangs eine ausreichende Menge an *N*-Boc-geschütztem Pharmakophor (*S*)-*seco*-CBI in enantiomerenreiner Form nach im Arbeitskreis *Tietze* weitgehend etablierten Methoden dargestellt werden. Zur Herstellung der *seco*-Drugs und Prodrugs wurde als Ausgangsmolekül Bromessigsäure-*tert*-butylester **90** (Abbildung 65) verwendet, welcher zunächst zum

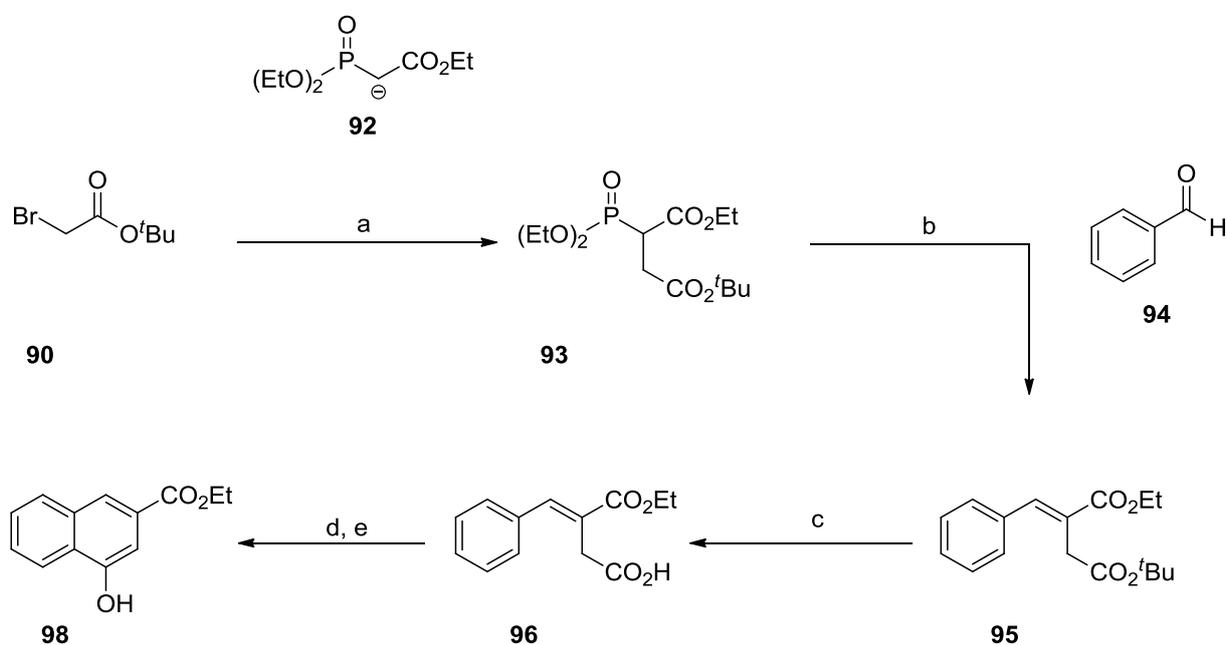


Abbildung 65. Synthese des Naphthols **98**: a) **92**, NaH, THF, 0 C → RT, 18 h; b) **94**, NaH, THF, 0 C → RT, 18 h; c) TFA/H₂ (9:1), RT, 20 h; d) Ac₂O, KOAc, Rückfluss, 2.5 h; e) K₂CO₃, EtOH, Rückfluss, 3 h, 13% über fünf Stufen.

Phosphonat *tert*-Butyl-3-carboxyethyl-3-(diethylphosphono)-propionat **93** umgesetzt wurde. Das in 68% Ausbeute erhaltene Phosphonat **93** wurde daraufhin mit Benzaldehyd in einer *Wittig-Horner*-Reaktion zum gemischten Estern **95** umgesetzt, der nach Spaltung unter Verwendung von TFA die Carbonsäure **96** lieferte. Durch intramolekulare *Friedel-Crafts*-Acylierung und anschließende Deacetylierung mit Kaliumacetat wurde das Naphthol **98** in 13% Ausbeute über fünf Stufen erhalten.

Das Naphthol **98** wurde im Anschluss in einen Benzylether überführt und die Ethylestergruppe mit Lithiumhydroxid verseift. Die darauffolgende *Curtius*-Umlagerung unter Umsetzung mit DPPA führte zum Boc-geschützten Amin, welches den Iodaromaten **102** durch eine Iodierung nach *Königstein* in einer Gesamtausbeute von 32% lieferte (Abbildung 66).

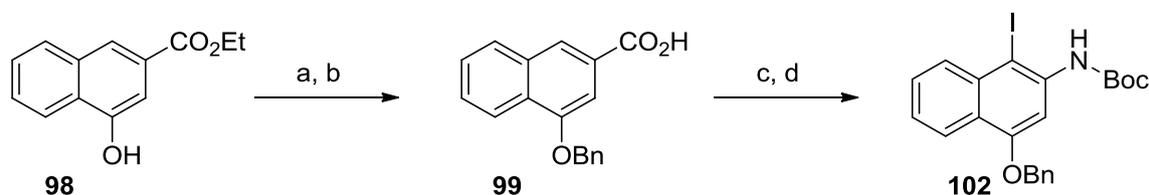


Abbildung 66. Synthese des Aryliodids **102**: a) BnBr, K₂CO₃, TBAI, DMF, RT, 17 h; b) LiOH·H₂O, THF/MeOH/H₂O (3:1:1), RT, 3 d; c) DPPA, NEt₃, ^tBuOH, MS (4 Å), Rückfluss, 3 d, 95%; d) HIO₃, I₂, MeOH/H₂O, Rückfluss, 1.5 h, 32% über vier Stufen.

Für die *N*-Alkylierung mit dem (+)-(*S*)-*para*-Nosylat **104** (99% *ee*), welches in sehr guter Ausbeute (90%) aus (+)-(*R*)-Glycidol **103** über eine nukleophile Substitution erhalten wurde, konnte das Epoxid **105** isoliert werden (Abbildung 67).

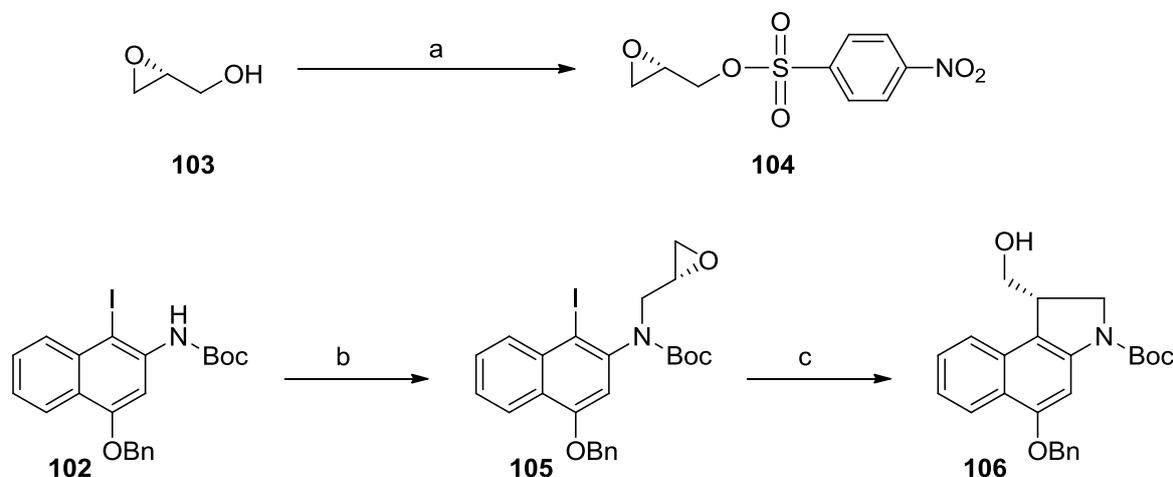


Abbildung 67. Asymmetrische Synthese des benzylierten *N*-Boc-*seco*-CBI **106**: a) ^pNsCl, NEt₃, Toluol, 0 °C → RT, 1 h, 93%; b) NaH, DMF, RT, 1 h, dann **104**, RT, 21 h, 88%; c) Li₂Zn(SCN)Me₃, THF, -78 °C → RT, 12 h, 42%.

Dieses wurde in einer nachfolgenden Zinkat-vermittelten 5-*exo*-Zyklisierung zum Alkohol **106** (36% über zwei Stufen) umgesetzt (Abbildung 67). Als Nebenprodukt bildete sich ebenso das 6-*endo*-Prudukt, welches sich durch herkömmliche Säulen-chromatographie nicht abtrennen ließ.

Für die weiteren Umsetzungen wurde die Hydroxymethyl- in eine Chlormethylgruppe überführt und nachfolgend der Benzylether hydrogenolytisch gespalten (Abbildung 68). Vorteilhafter ist jedoch zuerst die Debenzylierung und danach die Überführung in die Chlormethylgruppe durchzuführen, da hierbei beim ersten Ansatz als Nebenreaktion erfolgende Dechlorierung vermieden werden kann. Außerdem lässt sich der Alkohol **109** sehr gut umkristallisieren, so dass auf eine Aufreinigung durch HPLC verzichtet werden kann.

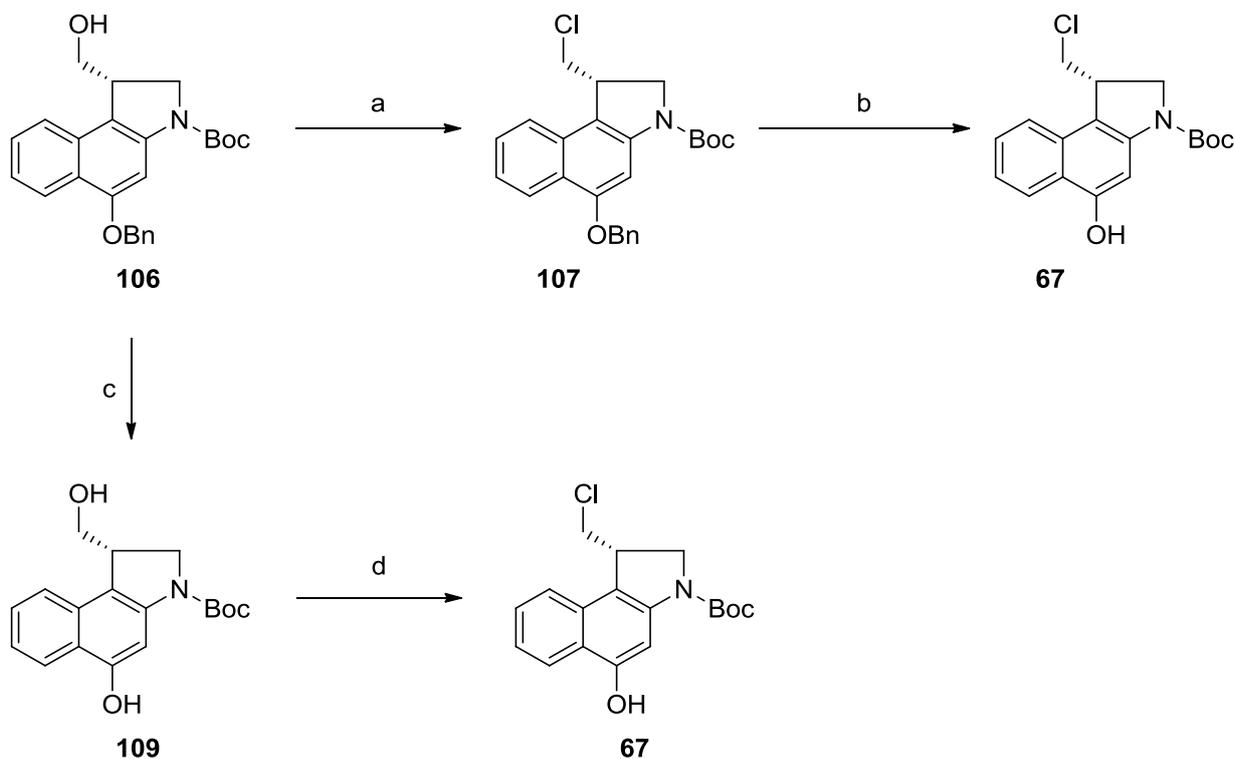


Abbildung 68. Syntheseverfahren für die Depotverbindung *seco*-CBI **67**: a) CCl₄, PPh₃, CH₂Cl₂, RT, 2 h, 77%; b) Pd/C, H₂ (0.2 bar), THF, 3 h, 40 °C, präp. HPLC, 92%; c) Pd/C, NH₄CO₂H, THF, 5 h, 40 °C, 48%; d) CCl₄, PPh₃, CH₂Cl₂, RT, 2 h, 70%.

Zur Synthese der *seco*-Drugs **109-117** ohne DNA-bindende Einheit wurde die Boc-Schutzgruppe in **67** abgespalten und das gebildete sekundäre Amin EDC-vermittelt mit verschiedenen Fettsäureresten umgesetzt (Abbildung 69, Tabelle 4).

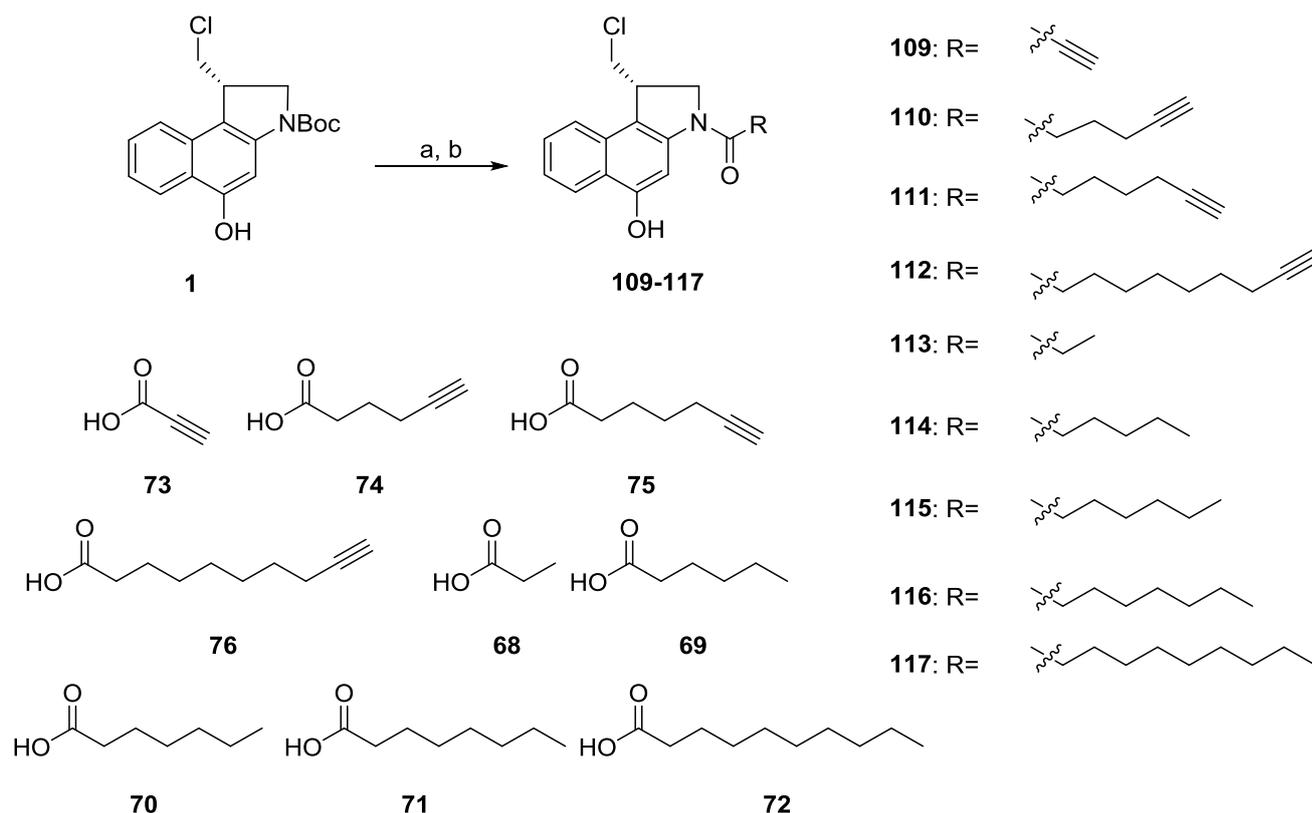


Abbildung 69. Synthese der *seco*-Drugs **109-117** a) 4 M HCl/ EtOAc, RT, 4 h; b) **68-76**, EDC·HCl, DMF, RT, 18 h, Umkristallisation (MeOH/DMF), Ausbeuten siehe Tabelle 4.

Tabelle 4. Produkte und Ausbeuten der *seco*-Drugsynthesen aus Abbildung 69.

<i>seco</i> -Alkin-CBI	Ausbeute (über zwei Stufen)	<i>seco</i> -Alkan-CBI	Ausbeute (über zwei Stufen)
109	73%	113	90%
110	67%	114	29%
111	88%	115	57%
112	31%	116	51%
		117	92%

Die *seco*-Drugs wurden sowohl in *In-vitro*-Studien auf ihre Zytotoxizität untersucht (Tabelle 5) als auch in ABPP-Studien von Sieber *et al.* auf Target und Wirkort getestet (mit Ausnahme von **116**). Hierbei wurden die Alkinderivate als Sonde nach Bindung an ein Protein mittels Click-Chemie kupferkatalysiert an einen Fluoreszenzfarbstoff gekuppelt und das Konjugat wurde detektiert. Die Ergebnisse zeigen, dass DNA-binderfreie *seco*-Drugs die Aldehyddehydrogenase 1 inhibieren und sich nicht im Zellkern akkumulieren.

Tabelle 5. Zytotoxizitätsergebnisse der *seco*-Drugs **112-117**.

<i>seco</i> -Alkin-CBI	IC ₅₀ [nM]	<i>seco</i> -Alkan-CBI	IC ₅₀ [nM]
109	2.7	113	8.1
110	5.3	114	17.5
111	0.071	115	2.7
112	1.6	116	t.b.a.
		117	t.b.a.

Für die Darstellung der Prodrugs mit Galaktose als Zuckereinheit musste zunächst der Glykosyldonor hergestellt werden. Ausgehend von der kommerziell erhältlichen D-Galaktose konnte das Trichloracetimidat **77** nach Peracetylierung mit Essigsäureanhydrid, anomerer Entschützung mit Hydrazinacetat und Überführung in den Donor mit Trichloracetonitril in einer Gesamtausbeute von 59% hergestellt werden (Abbildung 70).

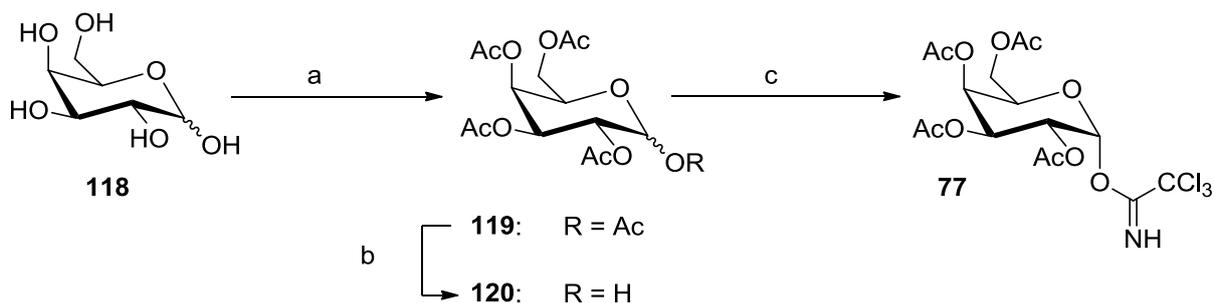


Abbildung 70. Darstellung des Glykosiddonors **77** a) Ac₂O, DMAP, py, RT, 18 h, 95%; b) NH₂NH₂·HOAc, DMF, RT, 20 h, 85; c) CCl₃CN, DBU, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 73%.

Die Prodrugs wurden nach einem Drei-Stufen-Protokoll synthetisiert, in dem das enantiomerenreine *N*-Boc-*seco*-CBI-Pharmakophor **67** zuerst mit dem Trichloracetimidat **77** der Galaktose unter BF₃·OEt₂-Katalyse glykosidiert, anschließend durch einen Überschuss BF₃·OEt₂ Boc-entschützt und das erhaltene sekundäre Amin mit den Fettsäuren **75** und **70** unter Carbodiimid-Aktivierung gekuppelt wurde (Abbildung 71). Abschließend wurden die Prodrug-Vorläufer in einer basenkatalysierten Solvolyse Acetyl-entschützt und die Rohprodukte mittels präparativer HPLC an der Umkehrphase gereinigt, um eine hohe Reinheit für die Zellstudien zu garantieren.

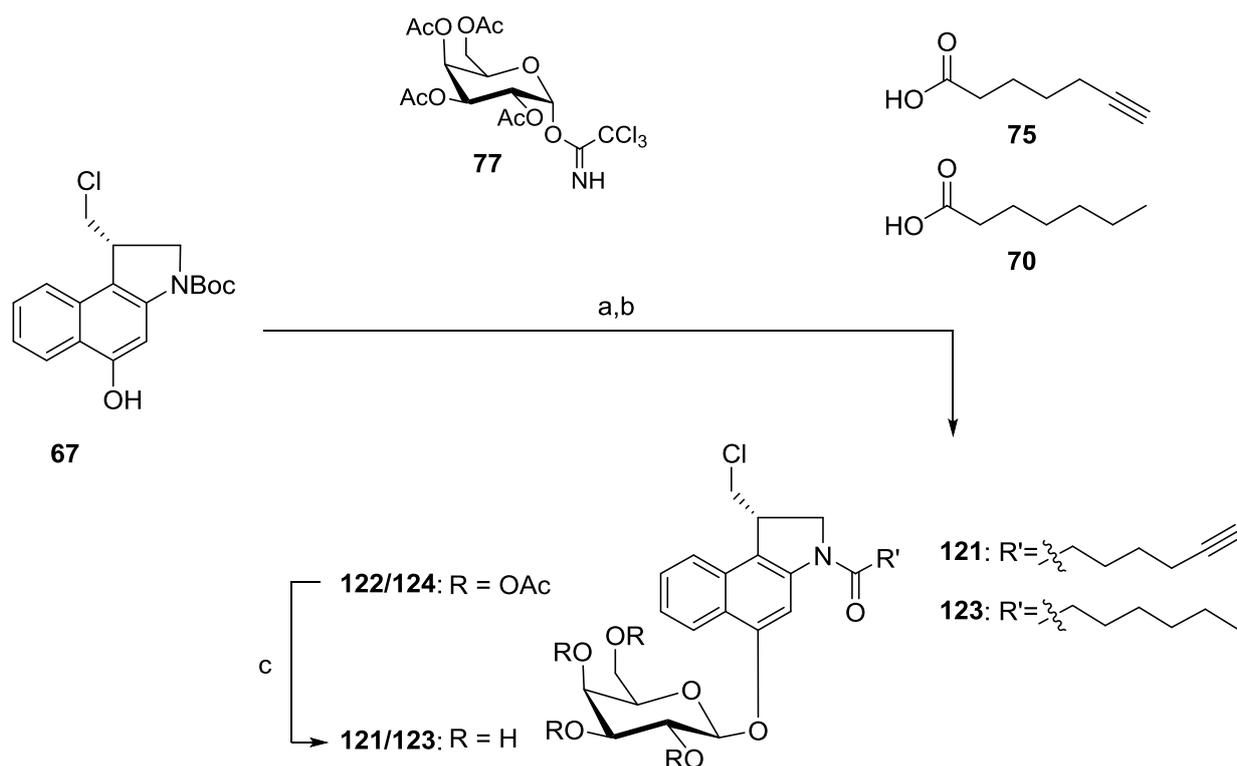


Abbildung 71. Synthese der glykosidischen Prodrugs **121** und **123**: a) **77**, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0.5 Äq.), CH_2Cl_2 , -10°C , 4.5 h; b) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (3.0 Äq.), CH_2Cl_2 , RT, 13 h; c) **75** oder **70**, EDC·HCl, DMF, RT, 18 h; c) NaOMe, MeOH, RT, 30 min, präp. HPLC (RP-C18) **121**: 48%, **123**: 60%.

Bei Untersuchungen zur *In-vitro*-Zytotoxizität an humanen Bronchialkarzinomzellen (A549) in HTCFA-Tests zeigten die Prodrugs **121** und **123** nur geringere QIC_{50} -Werte (= therapeutische Breite, $\text{QIC}_{50} = \text{IC}_{50}(\text{Prodrug}) / \text{IC}_{50}(\text{Prodrug in Anwesenheit des aktivierenden Enzyms})$), die für eine Verwendung der Prodrugs nach dem ADEPT-Konzept nicht geeignet erscheinen lassen.

Schließlich wurde ein bifunktionales *seco*-Drug **143** mit einer Alkingruppe synthetisiert. Jeweils zwei mittels HCl in Essigester Boc-entschützte pharmakophore Einheiten **67** wurden mit dem in zwei Stufen hergestellten Linker, der eine terminale Alkinfunktion trägt, unter EDC-Aktivierung verknüpft. Nach Aufreinigung mittels präparativer HPLC an der Umkehrphase konnte das dimere *seco*-Drug **143** in moderaten Ausbeuten von 31% erhalten werden (Abbildung 72).

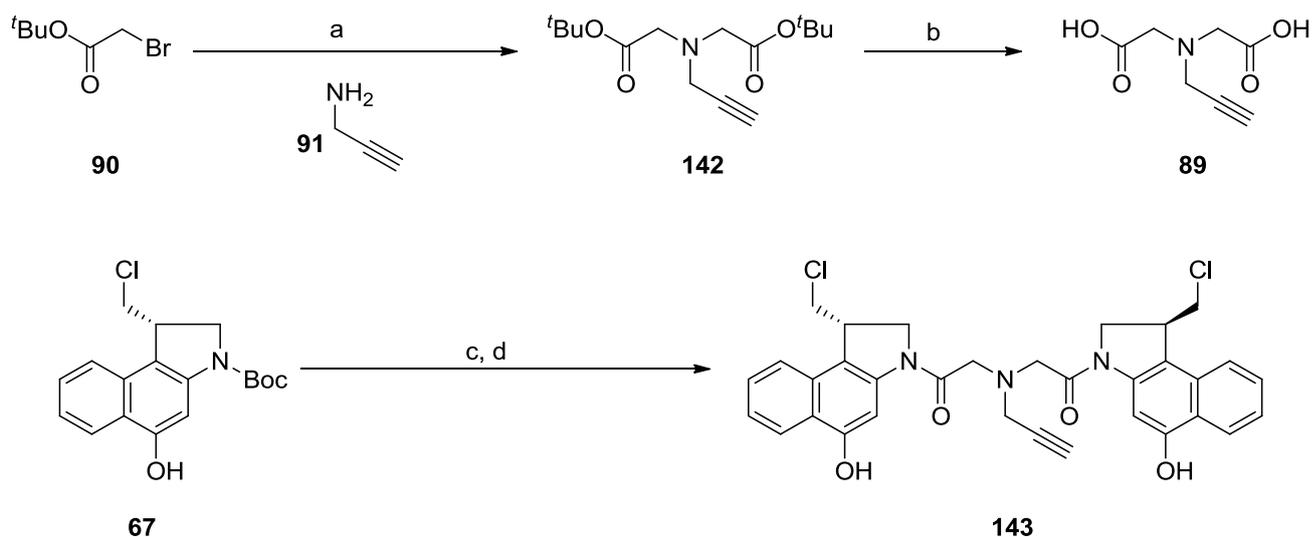


Abbildung 72. Synthese des bifunktionalen *seco*-Drugs **143**: a) **91**, K₂CO₃, MeCN, 90 °C, 24 h, 76%; b) konc. HCl, CH₂Cl₂, RT, 18 h, 83%; c) 4 M HCl/EtOAc, RT, 3 h; d) **89**, EDC·HCl, DMF, RT, 18 h, präp. HPLC (RP-C18), 31%.

Das so synthetisierte *seco*-Drug **143** zeigte im HTCFA-Test eine Zytotoxizität von IC₅₀ = 120 pM* (* vorläufiges Ergebnis). Durch den Propargylsubstituenten stellt diese Verbindung eine Sonde für Untersuchungen mittels ABPP dar und ist gleichzeitig den Wirkstoffen aus den Arbeiten von *M. von Hof* strukturell ähnlich. Damit besteht unter der Verwendung der Sonde **143** die Möglichkeit nach dem ABPP-Verfahren (ABPP)¹⁴⁸ nachzuweisen, ob die dimeren Verbindungen von Typ **143** ebenfalls die Aldehyddehydrogenase 1A1 angreifen.

D. EXPERIMENTELLER TEIL

1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

Die Umsetzungen wurden, soweit nötig, in ausgeheizten Glasapparaturen unter einem leichten Argon-Überdruck (ca. 0.2 bar) durchgeführt. Die Lösungsmittel wurden entsprechend den üblichen Laboratoriumsmethoden getrocknet und destilliert¹⁶⁷ bzw. als *p.a.*-Ware über Molekularsieb gelagert. Soweit nicht anders vermerkt, wurden kommerziell erhältliche Produkte ohne weitere Reinigung eingesetzt. Das Entgasen von Lösungsmitteln geschah durch Einleiten eines Argon-Gasstroms über einen längeren Zeitraum (ca. 15 min). Konzentrationsangaben beziehen sich, sofern nicht anders erwähnt, auf wässrige Lösungen.

1.1 Verwendete Geräte

Drehwerte: Drehwerte wurden mit einem Polarimeter Modell 241 der Firma *Perkin-Elmer* sowie P-2000 der Firma *Jasco* gemessen.

Infrarotspektren: Sofern „(KBr)“ oder „(Film)“ hinter der Bezeichnung „IR“ vermerkt ist, wurden die Infrarotspektren mit dem Modell Vector 22 der Firma *Bruker* aufgenommen, wobei Feststoffe als KBr-Presslinge und Flüssigkeiten als Film zwischen KBr-Platten gemessen wurden. Findet sich der Hinweis „(neat)“ hinter der Bezeichnung „IR“, wurden die Infrarotspektren mit dem ATR-Gerät Modell FT/IR-4100 der Firma *Jasco* ohne KBr-Optik (neat) aufgenommen.

UV/VIS-Spektren: Die Aufnahme der UV/Vis-Spektren erfolgte mit dem Modell Lambda 2 der Firma *Perkin-Elmer* und V-630 der Firma *Jasco*.

¹H-NMR-Spektren: Die ¹H-NMR-Spektren wurden mit den Modellen Mercury 300, Mercury-vx 300, Unity 300, Vnmrs 300 (jeweils 300 MHz) sowie Inova 600 (600 MHz) der Firma *Varian* von in deuterierten Solventien gelösten Proben aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der δ -Skala angegeben und auf das Signal des angegebenen Lösungsmittels referenziert. Zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), dd (Dublett von Dublett), dt (Dublett von Triplet) usw. Signale, die durch Überlagerung entstanden oder Anteile höherer Ordnung nicht eindeutig interpretierbar waren, wurden mit m (Multiplet) bzw. m_c (symmetrisches, zentriertes Multiplet) bezeichnet und verbreiterte Signale durch den Zusatz br indexiert. Zur Bezeichnung aromatischer Protonen oder Kohlenstoffatome werden

folgende Abkürzungen verwendet: *i* (ipso), *o* (ortho), *m* (meta), *p* (para). Sofern nicht anders angegeben, beziehen sich alle Kopplungskonstanten auf ^1H - ^1H -Kopplungen.

^{13}C -NMR-Spektren: Die, soweit nicht anders vermerkt, ^1H -Breitband-entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit den Geräten Unity 300 (75 MHz), Inova 500 (125 MHz) und Inova 600 (150 MHz) der Firma *Varian* aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der δ -Skala angegeben. Als interner Standard diente das verwendete Lösungsmittel.

Massenspektren: Zur Aufnahme der EI- und EI-HRMS-Spektren diente das Time-of-Flight Massenspektrometer AccuTOF der Firma *Jeol*. ESI-Spektren wurden mit dem Ion-Trap-Massenspektrometer LCQ der Firma *Finnigan* sowie dem Time-of-Flight Massenspektrometer micrOTOF der Firma *Bruker* aufgenommen. Die Messung der ESI-HRMS-Spektren erfolgte an dem 7-Tesla-Fourier-Transform-Ion-Cyclotron-Resonance (FTICR)-Massenspektrometer APEX IV der Firma *Bruker* und am micrOTOF-Gerät. Angegeben sind die Quotienten aus Masse zu Ladung sowie in Klammern die relativen Intensitäten bezogen auf den Basispeak ($I = 100$).

Kältetechnik: Die Reaktionsführung bei konstant tiefen Temperaturen über einen längeren Zeitraum erfolgte unter Einsatz des Kryostaten. Benutzt wurde das Modell EK 90 der Firma *Haake*. Darüber hinaus wurden übliche Kältemischungen wie Eis/Wasser- und Aceton/ Trockeneis-Gemische zur temporären Kühlung verwendet.

1.2 Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie (DC): Es wurden Aluminium-Fertigfolien Kieselgel 60 F₂₅₄ der Firma *Merck* verwendet. Angegeben sind R_f -Werte (Laufhöhe relativ zur Laufmittelfront). Neben der UV-Detektion dienten eine Vanillin-Schwefelsäure-Lösung (0.5 g Vanillin, 3 mL konz. H_2SO_4 , 85 mL MeOH und 10 mL HOAc) sowie eine Ninhydrin-Lösung (0.2% in Ethanol) als Anfärbereagenzien.

Säulenchromatographie: Alle säulenchromatographischen Trennungen wurden mit Kieselgel 60 (Korngröße: 0.032–0.063 mm) der Firma *Merck* durchgeführt.

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC):

Analytische HPLC: Analytische Trennungen wurden auf einer HPLC-Anlage der Firma *Jasco*, ausgestattet mit einer Lösungsmittelpumpe PU-2080, einer Mischkammer LG-1590-04, einem Multiwellenlängendetektor MD-2010 Plus und der Steuerung LC-Net II/ADC vorgenommen. Für die Injektion wurde ein automatischer Proben-

wechsler (Autosampler AS-2055) derselben Firma verwendet. Zur Bedienung, Datenerfassung und Datenauswertung wurden die Computerprogramme Borwin PDA, HSS 2000 und Borwin Chromatography der Firma *Jasco* eingesetzt. Für die analytischen Messungen wurden die Säulen Chiralcel[®] OD (250 × 4.6 mm, 5 µm, *Daicel Chemical Industries Ltd.*), Chiralpak[®] IA (250 × 4.6 mm, 5 µm, *Daicel Chemical Industries Ltd.*) mit chiraler stationärer Phase und Kromasil[®] 100 C18 (5 µm, 250 × 4 mm, *Jasco*). Angegebene Lösungsmittel waren von HPLC-Qualität und das Wasser war bidestilliert. Alle Proben wurden membranfiltriert mit Polytetrafluorethylen-(PTFE)-Filtern der Firma *Roth* (Ø 25 mm, 0.2 µm) bzw. *VWR* (Ø 13 mm, 0.2 µm).

Präparative HPLC: Präparative Trennungen wurden auf einem HPLC-System der Firma *Jasco*, ausgestattet mit zwei Lösungsmittelpumpen Modell PU-2087 PLUS und einem UV-Detektor Modell UV-2075 PLUS, vorgenommen. Verwendet wurden die Säulen Chiralpak[®] IA (250 × 20 mm, 5 µm, *Daicel Chemical Industries Ltd.*) mit chiraler stationärer Phase und Kromasil[®] 100 C18 (7 µm, 250 × 20 mm, *Jasco* und *Dr. Maisch GmbH*). Angegebene Lösungsmittel waren von HPLC-Qualität und das Wasser war bidestilliert. Alle Proben wurden vor der Trennung membranfiltriert (siehe analytische HPLC).

1.3 Materialien für die *In-vitro*-Zytotoxizitätsuntersuchungen

Zelllinie: A549, ATCC-CCL 185 (American Type Culture Collection Certified Cell Lines), eine 1972 aus einem kanzerogenen Tumorexplantat der Lunge eines 58-jährigen männlichen Patienten etablierte, epithelähnliche, adhärent in Monolayern wachsende Zelllinie. Herkunft: Institut für Zellbiologie der Universität Essen.

Medien: Alle Pulvermedien wurden in bidestilliertem Wasser angesetzt, mit HCl auf pH 7.4 titriert und sterilfiltriert.

Kulturmedium für A549: DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) mit 4.5 g L⁻¹ Glucose (*Biochrom*, T043-10). Das Medium wurde mit 4 mM L-Glutamin und 3.7 g L⁻¹ Natriumhydrogencarbonat supplementiert.

Medium-Zusätze: 10% FKS (fötales Kälberserum) der Firma *Biochrom*, 30 min inaktiviert bei 56 °C.

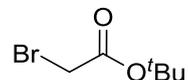
Enzyme: 4.0 U mL⁻¹ β-D-Galaktosidase (EC 3.2.1.23) aus *Escherichia coli* G 5635 (*Sigma*), Aktivität: 250-600 Units (U) pro mg Protein bei pH 7.3 und 37 °C, 1 U = 1 µmol Substratumsatz pro Minute.

Zellzählkammer: Netzeinteilung nach *Bürker* der Firma *Assistent*.

Testplatten: 6-well Testplatten der Firma *TPP* (über *Biochrom*).

2 Synthese des (*S*)-*seco*-CBI-Grundgerüsts

2.1 Bromessigsäure-*tert*-butylester (**90**)



Zu einer Lösung von *tert*-Butylalkohol (461 mL, 4.82 mol, 1.3 Äq.) und *N,N*-Dimethylanilin (515 mL, 4.08 mol, 1.1 Äq.) in absolutem THF (640 mL) wurde bei 0 °C Bromoacetyl bromid (323 mL, 3.71 mol, 1.0 Äq.) hinzugetropft. Nach 22 h Rühren bei Raumtemperatur wurde Wasser (200 mL) hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde mit MTBE (4 × 200 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit 10%iger H₂SO₄ (5 × 200 mL) sowie gesättigter NaCl-Lösung (200 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels Destillation unter vermindertem Druck gereinigt. Die Zielverbindung **90** (492 g, 2.52 mol, 68%) konnte als farblose Flüssigkeit erhalten werden.

$R_f = 0.64$ (CH₂Cl₂/EtOAc 20:1).

Sdp.: 67–75 °C (20–30 mbar).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.46 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.73 (s, 2 H, CH₂).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.7 (CH₂), 27.8 (C(CH₃)₃), 82.9 (C(CH₃)₃), 166.2 (C=O).

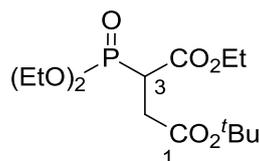
MS (ESI): m/z (%) 217.0 (100) [M+Na]⁺.

C₆H₁₁BrO₂ (195.05)

ber.: 216.9836

gef.: 216.9867, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

2.2 *tert*-Butyl-3-carboxyethyl-3-(diethylphosphono)-propionat (**93**)



Zu einer Suspension von NaH (53.8 g, 0.82 mol, 1.1 Äq. als 60%ige Suspension in Mineralöl) in absolutem THF (500 mL) wurde bei 0 °C langsam

Triethylphosphonoacetat **92** (135 mL, 153 g, 0.68 mol, 1.0 Äq.) hinzugegeben und 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt und eine Lösung von Bromessigsäure-*tert*-butylester **90** (145 g, 0.74 mol, 1.1 Äq.) in absolutem THF (86 mL) hinzugetropf. Nach 14 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Essigester (300 mL) aufgenommen. Anschließend wurde die organische Phase mit Wasser (250 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (250 mL) gewaschen sowie die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt (205 g, 0.61 mol, 82%) wurde als braunes Öl erhalten und nur eine geringe Menge für analytische Zwecke aufgereinigt.

$R_f = 0.77$ (CH₂Cl₂/EtOAc 20:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.23–1.28 (m, 9 H, 3 × OCH₂CH₃), 1.38 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 2.64 (ddd, $J = 15.0, 9.0, 3.0$ Hz, 1 H, 2-H_a), 2.83–2.93 (m, 1 H, 3-H), 3.31 (ddd, $J = 24.0, 12.0, 3.0$ Hz, 1 H, 2-H_b), 4.02–4.26 (m, 6 H, 3 × OCH₂CH₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 13.9 (CO₂CH₂CH₃), 16.1 (d, $J_{C,P} = 3.7$ Hz, OCH₂CH₃), 16.2 (d, $J_{C,P} = 3.4$ Hz, OCH₂CH₃), 27.8 (C(CH₃)₃), 32.4 (d, $J_{C,P} = 2.5$ Hz, C-2), 41.3 (d, $J_{C,P} = 131$ Hz, C-3), 61.5 (CO₂CH₂CH₃), 62.7, 62.8 (2 × d, $J_{C,P} = 4.2$ Hz, POCH₂CH₃), 81.2 (C(CH₃)₃), 168.1 (d, $J_{C,P} = 5.3$ Hz, CO₂CH₂CH₃), 169.9 (d, $J_{C,P} = 19.7$ Hz, C-1).

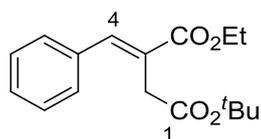
MS (ESI): m/z (%) 361.1 (55) [M+Na]⁺, 699.3 (100) [2M+Na]⁺.

C₁₄H₂₇O₇P (338.33)

ber.: 361.1387

gef.: 361.1387, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

2.3 (*E*)-*tert*-Butyl-3-(ethoxycarbonyl)-4-phenyl-3-butenolat (**95**)



Zu einer Suspension aus NaH (27.3 g, 1.13 mol, 1.9 Äq. als 60% ige Suspension in Mineralöl) in absolutem THF (500 mL) wurde bei 0 °C das *tert*-Butyl-3-carboxyethyl-3-(diethylphosphono)propionat **93** (205 g, 610 mmol, 1.0 Äq.) als Rohprodukt gegeben. Es wurde 5 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend erneut auf 0 °C gekühlt,

Benzaldehyd **94** (67.7 mL, 71.1 g, 673 mol, 1.1 Äq.) hinzutropft und 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt der Rückstand in CH₂Cl₂ (500 mL) aufgenommen, mit Wasser gewaschen (4 × 500 mL) und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt **95** (128 g, 440 mmol, 72%) als orangenes Öl isoliert und ohne weitere Aufreinigung im Folgeschritt eingesetzt. Für die Charakterisierung wurde lediglich eine geringe Menge säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 15:1) gereinigt.

$R_f = 0.27$ (Petrolether/EtOAc 15:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.31 (t, $J = 6.0$ Hz, 3 H, OCH₂CH₃), 1.43 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.43 (s, 2 H, 2-H₂), 4.26 (q, $J = 6.0$ Hz, 2 H, OCH₂CH₃), 7.30–7.40 (m, 5 H, 5 × PhH), 7.82 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.2 (OCH₂CH₃), 28.0 (C(CH₃)₃), 34.8 (C-2), 61.0 (OCH₂CH₃), 80.9 (C(CH₃)₃), 126.8 (C-3), 128.5, 128.6, 129.0 (2 × Ph-C_o, 2 × Ph-C_m, Ph-C_p), 135.2 (Ph-C_i), 141.1 (C-4), 167.5 (CO₂CH₂CH₃), 170.3 (C-1).

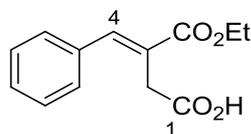
MS (ESI): m/z (%) 313.2 (28) [M+Na]⁺, 603.3 (100) [2M+Na]⁺.

C₁₇H₂₂O₄ (290.35)

ber.: 313.1410

gef.: 313.1411, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

2.4 (E)-3-Ethoxycarbonyl-4-phenyl-3-butencarbonsäure (96)



Das (*E*)-*tert*-Butyl-3-(ethoxycarbonyl-4-phenyl-3-butenoat) **95** (128 g, 0.44 mol, 1.0 Äq.) wurde in TFA/H₂O 9:1 (555 mL) gelöst und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand zur azeotropen Entfernung von TFA in Toluol (2 × 150 mL) aufgenommen und erneut unter vermindertem Druck eingengt. Nach Zugabe von gesättigter NaHCO₃-Lösung (250 mL) wurde bis pH ≈ 1 2 N HCl hinzugegeben und mit Lösung mit Essigester (4 × 250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen

Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (250 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt **96** als braunes Öl (103 g) erhalten und ohne Reinigung im Folgeschritt eingesetzt. Für die analytische Charakterisierung wurde eine geringe Menge säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 5:1) gereinigt.

$R_f = 0.27$ (Petrolether/EtOAc 2:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.32 (t, $J = 6.0$ Hz, 3 H, OCH₂CH₃), 3.56 (s, 2 H, 2-H₂), 4.28 (q, $J = 6.0$ Hz, 2 H, OCH₂CH₃), 7.24–7.45 (m, 5 H, 5 × Ph-H), 7.90 (s, 1 H, 4-H), 10.20 (s_{br}, 1 H, CO₂H).

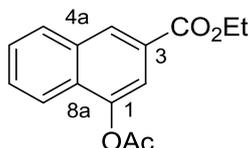
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.1 (OCH₂CH₃), 33.5 (C-2), 61.3 (OCH₂CH₃), 125.6 (C-3), 128.6 (2 × Ph-C_o), 128.8, 129.0 (2 × Ph-C_m, Ph-C_p), 134.7 (Ph-C_i), 142.2 (C-4), 167.4 (CO₂CH₂CH₃), 177.1 (C-1).

C₁₃H₁₄O₄ (234.25)

ber.: 257.0780

gef.: 257.0782, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

2.5 Ethyl-1-acetoxy-3-naphthalincarboxylat (**97**)



(*E*)-3-Ethoxycarbonyl-4-phenyl-3-butencarbonsäure **96** (103 g, 0.44 mol, 1.0 Äq.) wurde in Acetanhydrid (1.0 L) gelöst, mit Kaliumacetat (65.0 g, 0.66 mol 1.5 Äq.) versetzt, für 2.5 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit Eiswasser versetzt (1.0 L). Nach 14 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung mit CH₂Cl₂ (3 × 500 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung (500 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt **97** (89 g, 0.34 mol, 78%) als braunes Öl erhalten und ohne weitere Aufreinigung im Folgeschritt eingesetzt. Für die anschließende Charakterisierung wurde eine geringe Menge säulenchromatographisch (Kieselgel, Petrolether/EtOAc 3:1) gereinigt.

$R_f = 0.44$ (Petrolether/EtOAc 3:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.42 (t, $J = 6.0$ Hz, 3 H, OCH_2CH_3), 2.47 (s, 3 H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 4.42 (q, $J = 6.0$ Hz, 2 H, OCH_2CH_3), 7.59 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 7.81 (s, 1 H, 2-H) 7.82–7.85 (m, 1 H, 5-H), 7.96–7.99 (m, 1 H, 8-H), 8.50 (s, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.4 (OCH_2CH_3), 21.0 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 61.4 (OCH_2CH_3), 117.5 (C-2), 121.2 (C-8), 127.2 (C-6), 127.7 (C-3), 128.7, 128.9, 129.5 (C-4, C-5, C-7), 129.0 (C-8a), 133.7 (C-4a), 146.7 (C-1), 165.9 ($\text{CO CH}_2\text{CH}_3$), 169.3 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$).

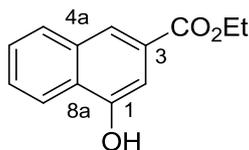
MS (ESI): m/z (%) 539.2 (100) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 281.1 (32) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ (258.27)

ber.: 281.0784

gef.: 281.0785, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

2.6 Ethyl-1-hydroxy-3-naphthalincarboxylat (**98**)



Zu einer Lösung Ethyl-1-acetoxy-3-naphthalincarboxylat **97** (89 g, 341 mmol, 1.0 Äq.) in Ethanol (1.0 L) wurde K_2CO_3 (113 g, 818 mmol, 2.4 Äq.) gegeben und 3 h unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit Eiswasser (2.0 L) versetzt und mit halbkonzentrierter HCl angesäuert auf pH = 1. Der ausgefallene braune Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser (300 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurden mit Essigester (3×750 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet. Das Produkt **98** konnte als hellbraune Kristalle (18.6 g, 86.1 mmol, 25%) erhalten werden, die am Hochvakuum getrocknet wurden.

$R_f = 0.32$ (Petrolether/EtOAc 5:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.43 (t, $J = 6.0$ Hz, 3 H, OCH_2CH_3), 4.45 (q, $J = 6.0$ Hz, 2 H, OCH_2CH_3), 6.90 (s_{br} , 1 H, OH), 7.50–7.64 (m, 3 H, 2-H, 6-H, 7-H), 7.80–7.98 (m, 1 H, 5-H), 8.18 (s, 1 H, 4-H), 8.24–8.27 (m, 1 H, 8-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.3 (OCH_2CH_3), 61.5 (OCH_2CH_3), 107.6 (C-2), 122.1 (C-8), 123.3 (C-4), 127.1, 127.5 (C-6, C-7), 126.9, 127.6 (C-3, C-8a), 129.1 (C-5), 133.8 (C-4a), 152.2 (C-1), 167.5 (C=O).

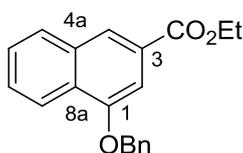
MS (ESI): m/z (%) 239.1 (61) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 455.2 (100) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (216.23)

ber.: 239.0679

gef.: 239.0680, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

2.7 Ethyl-1-benzyloxy-3-naphthalincarboxylat (**99**)



Das Naphthol **98** (33.1 g, 153 mmol, 1.0 Äq.) wurde in absolutem DMF (250 mL) gelöst und nacheinander mit K_2CO_3 (31.7 g, 229 mmol, 1.5 Äq.) und TBAI (1.92 g, 6.12 mmol, 0.04 Äq.) versetzt. Anschließend wurde Benzylbromid (20.1 mL, 169 mmol, 1.1 Äq.) vorsichtig zugetropft und 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (100 mL) versetzt, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und in Essigester (500 mL) aufgenommen. Das Filtrat wurde mit Essigester (3×150 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung (2×300 mL) gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum ohne weitere Aufreinigung lieferte den Benzylether **99** als braune Flüssigkeit (52.1 g, 170 mmol, quant).

$R_f = 0.59$ (Petrolether/EtOAc 3:1).

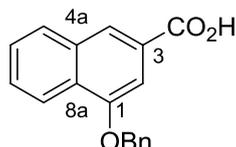
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.45 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, OCH_2CH_3), 4.44 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, OCH_2CH_3), 5.30 (s, 2 H, CH_2Ph), 7.38–7.64 (m, 8 H, 2-H, 6-H, 7-H, $5 \times \text{Ph-H}$), 7.86–7.95 (m, 1 H, 5-H), 8.24 (s, 1 H, 4-H), 8.30–8.40 (m, 1 H, 8-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 14.4 (OCH_2CH_3), 61.1 (OCH_2CH_3), 70.3 (OCH_2Ph), 104.1 (C-2), 122.3 (C-8), 123.7 (C-4), 127.1, 128.2 (2 Signale), 128.9 (C-5, C-6, C-7, Ph- C_p), 127.5 ($2 \times \text{Ph-C}_o$), 127.9 (2 Signale) (C-3, C-8a), 128.6 ($2 \times \text{Ph-C}_m$), 133.5 (C-4a), 136.6 (Ph- C_i), 154.6 (C-1), 166.8 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 329.1 (59) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 635.3 (100) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$C_{20}H_{18}O_3$ (306.35)

ber.: 329.1148

gef.: 329.1150, $[M+Na]^+$ (ESI-HRMS).**2.8 1-Benzoyloxy-3-naphthalincarbonsäure (100)**

Das benzylgeschützte Naphtholderivat **99** (29.8 g, 97.3 mmol, 1.0 Äq.) wurde in einem Lösungsmittelgemisch aus THF/MeOH/H₂O (3:1:1, 500 mL) gelöst und nach Zugabe von LiOH·H₂O (16.3 g, 389 mol, 4.0 Äq.) 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionsmischung mit Wasser (200 mL) versetzt und mit konz. HCl auf pH ≈ 1 angesäuert. Der ausgefallene braune Feststoff wurde abfiltriert und mit 0.2 M HCl (400 mL) gewaschen sowie die wässrige Phase mit Essigester (3 × 250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (2 × 200 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der Feststoff und die extrahierten eingeeengten Phasen erbrachten nach Umkristallisation aus EtOAc/*n*-Hexan die Carbonsäure **100** (19.3 g, 69.2 mmol, 71%) als brauner Feststoff.

 $R_f = 0.57$ (EtOAc/MeOH 10:1).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 5.36 (s, 2 H, CH₂Ph), 7.31–7.47 (m, 3 H, Ph-H_p, 6-H, 7-H), 7.51 (d, $J = 1.0$ Hz, 1 H, 2-H), 7.54–7.68 (m, 4 H, 4 × Ph-H), 8.03–8.09 (m, 1 H, 5-H), 8.24–8.28 (m, 2 H, 4-H, 8-H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 69.6 (CH₂Ph), 104.4 (C-2), 121.6 (C-8), 123.1 (C-4), 127.0 (C-8a), 127.3, 127.8, 128.5 (C-6, C-7, Ph-C_p), 127.4 (2 × Ph-C_o), 128.5 (2 Signale) (C-3, 2 × Ph-C_m), 129.1 (C-5), 133.1 (C-4a), 136.8 (Ph-C_i), 153.9 (C-1), 167.4 (C=O).

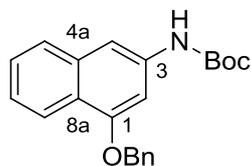
MS (ESI): m/z (%) 301.1 (100) $[M+Na]^+$, 579.2 (40) $[2M+Na]^+$.

 $C_{18}H_{14}O_3$ (278.30)

ber.: 301.0835

gef.: 301.0830, $[M+Na]^+$ (ESI-HRMS).

2.9 3-Amino-1-benzyloxy-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-naphthalin (101)



Zu einer Suspension der Carbonsäure **100** (12.0 g, 43.2 mmol, 1.0 Äq.) in absolutem *tert*-Butylalkohol (800 mL) wurde aktiviertes Molekularsieb (4 Å, 80 g), Triethylamin (7.2 mL, 51.9 mmol, 1.2 Äq.) und DPPA (10.2 g, 47.3 mmol, 1.1 Äq.) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 d unter Rückfluss erhitzt, nach Abkühlen auf Raumtemperatur durch Celite filtriert, das gründlich mit Essigester (1.0 L) gewaschen wurde. Die vereinigten Filtrate wurden unter reduziertem Druck eingeeengt, der Rückstand in Essigester (500 mL) aufgenommen und mit 2 N HCl (2 × 250 mL), gesättigter NaHCO₃-Lösung (2 × 200 mL), Wasser (400 mL) sowie gesättigter NaCl-Lösung (400 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Umkristallisation des aus EtOAc/*n*-Hexan wurde das Boc-geschützte Amin **101** (14.3 g, 40.9 mmol, 95%) als hellbrauner Feststoff erhalten.

$R_f = 0.32$ (*n*-Pentan/EtOAc 10:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.54 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 5.22 (s, 2 H, CH₂Ph), 6.59 (s_{br}, 1 H, NH), 7.05 (d, $J = 1.5$ Hz, 1 H, 2-H), 7.32–7.41 (m, 8 H, 4-H, 6-H, 7-H, 5 × Ph-H), 7.68 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 5-H), 8.21 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 8-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.4 (C(CH₃)₃), 70.1 (C(CH₃)₃), 80.6 (CH₂Ph), 99.2 (C-2), 106.9 (C-4), 122.0, 123.7 (C-7, C-8), 122.5 (C-8a), 126.8, 127.0, 127.9 (C-5, C-6, Ph-C_p), 127.4 (2 × Ph-C_o), 128.5 (2 × Ph-C_m), 134.7 (C-4a), 136.2, 136.8 (C-3, Ph-C_i), 152.8 (C=O), 155.1 (C-1).

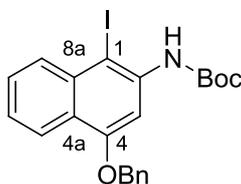
MS (ESI): m/z (%) 348.1 [M–H][–], 372.3 (100) [M+Na]⁺, 721.4 (34) [2M+Na]⁺.

C₂₂H₂₃NO₃ (349.42)

ber.: 372.1570

gef.: 372.1576, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

2.10 2-Amino-4-benzyloxy-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-1-iod-naphthalin (102)



Zu einer Lösung des Naphthalinderivates **101** (14.3 g, 40.9 mmol, 1.0 Äq.) in MeOH/H₂O (4:1, 750 mL) wurden HIO₃ (1.44 g, 8.18 mmol, 0.2 Äq.) und Iod (4.15 g, 16.4 mmol, 0.4 Äq.) gegeben und das Gemisch 1.5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das ausgefallene Rohprodukt abfiltriert und gründlich mit Wasser (2 × 500 mL) sowie Na₂S₂O₃-Lösung (100 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Essigester (4 × 250 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Umkristallisation des Rückstandes aus EtOAc/*n*-Hexan lieferte das Iodid **102** (10.7 g, 22.4 mmol, 55%) als bräunliche Kristalle.

$R_f = 0.79$ (*n*-Pentan/EtOAc 10:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.58 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 5.27 (s, 2 H, CH₂Ph), 7.31 (s_{br}, 1 H, NH), 7.33–7.57 (m, 7 H, 6-H, 7-H, 5 × Ph-H), 8.02 (d, $J = 7.7$ Hz, 1 H, 8-H), 8.03 (s, 1 H, 3-H), 8.23 (dd, $J = 8.3, 0.9$ Hz, 1 H, 5-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.4 (C(CH₃)₃), 70.4 (C(CH₃)₃), 80.2 (C-1), 81.2 (CH₂Ph), 100.0 (C-3), 122.7 (C-5), 123.7 (C-4a), 124.5 (C-6), 127.8 (2 × Ph-C_o), 128.1 (Ph-C_p), 128.6 (2 × Ph-C_m), 128.6 (C-7), 131.2 (C-8), 134.8 (C-8a), 136.6 (Ph-C_i), 138.3 (C-2), 152.8 (C=O), 155.7 (C-4).

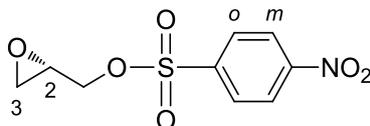
MS (ESI): m/z (%) 498.1 (100) [M+Na]⁺, 973.1 (64) [2M+Na]⁺.

C₂₂H₂₂INO₃ (475.32)

ber.: 474.0572

gef.: 474.0581, [M+H]⁺ (ESI-HRMS).

2.11 (+)-(S)-Glycidyl-3-nitrobenzolsulfonat (**103**)



Zu einer Lösung von (+)-(R)-Glycidol (**103**) ($> 99\%$ *ee*, 5.00 mL, 75.3 mmol, 1.0 Äq.) und Triethylamin (12.4 mL, 89.5 mmol, 1.2 Äq.) in Toluol (200 mL) wurde bei 0 °C portionsweise *p*-Nitrophenylsulfonylchlorid (17.4 g, 78.6 mmol, 1.05 Äq.) gegeben und die Mischung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die orangefarbene Suspension wurde über Celite filtriert, das mit Toluol (1.0 L) gewaschen wurde. Nach Entfernen des Lösungsmittels der vereinigten Filtrate unter reduziertem Druck und Säulenchromatographie an Kieselgel (*n*-Pentan/EtOAc 5:1→2:1) wurde das Nosylat (+)-(2'S)-**104** (17.7 g, 68.1 mmol, 90%) als hellgelber Feststoff erhalten.

$R_f = 0.57$ (CH_2Cl_2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +30.8^\circ$ (c 0.78, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.59 (dd, $J = 4.7, 2.7$ Hz, 1 H, 3- H_a), 2.81 (dd, $J = 4.7, 4.2$ Hz, 1 H, 3- H_b), 3.18 (dt, $J = 5.0, 4.2, 2.7$ Hz, 1 H, 2-H), 3.99 (dd, $J = 11.6, 6.0$ Hz, 1 H, 1- H_a), 4.44 (dd, $J = 11.6, 2.7$ Hz, 1 H, 1- H_b), 8.10 (d, $J = 9.0$ Hz, 2 H, $2 \times \text{Ph-H}_o$), 8.38 (d, $J = 9.0$ Hz, 2 H, $2 \times \text{Ph-H}_m$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 44.5 (C-3), 48.7 (C-2), 71.7 (C-1), 124.5 ($2 \times \text{Ph-C}_m$), 129.3 ($2 \times \text{Ph-C}_o$), 141.6 (Ph-C_{*i*}), 150.9 (Ph-C_{*p*}).

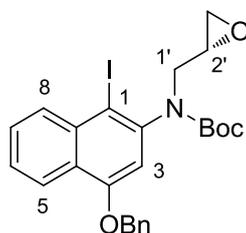
MS (ESI): m/z (%) 282.1 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_6\text{S}$ (259.24)

ber.: 282.0043

gef.: 282.0049, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

2.12 (+)-(R)-2-Amino-4-benzyloxy-N-(tert-butyloxycarbonyl)-N-(2,3-epoxypropyl)-1-iod-naphthalin (**105**)



Eine Lösung von 2-Amino-4-benzyloxy-1-iod-N-(tert-butoxycarbonyl)-naphthalin **102** (19.8 g, 41.7 mmol, 1.0 Äq) in DMF (150 mL) wurde bei 0 °C mit NaH (60%ige Suspension in Mineralöl, 6.65 mL, 167 mmol, 4.0 Äq) versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde (+)-(2'S)-Glycidyl-4-itiobenzolsulfonat (**104**) (16.2 g, 62.5 mmol, 1.5 Äq) hinzugegeben und weitere 21 h bei Raumtemperatur erührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃-Lösung (200 mL) beendet, der Rückstand in Wasser (100 mL) gelöst und mit EtOAc (4 × 250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 5:1) lieferte die das Produkt **105** (18.9 g, 35.6 mmol, 85%) als Gemisch zweier Atropisemere in Form eines gelben Feststoffes.

$R_f = 0.57$ (CH₂Cl₂).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +11.3^\circ$ (*c* 1.03, CHCl₃).

¹H-NMR (300 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C; die jeweiligen Signale der beiden Atropisomere sind mit (a) und (b) bezeichnet): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, 2 × C(CH₃)₃), 2.45 (dd, *J* = 7.0, 4.5 Hz, 2 H, 3'-H_a(a), 3'-H_a(b)), 2.69 (t, *J* = 4.5 Hz, 1 H, 3'-H_b(a)), 2.76 (t, *J* = 4.5 Hz, 1 H, 3'-H_b(b)), 3.15 (m_c, 1 H, 2'-H(a)), 3.28 (dd, *J* = 14.7, 6.5 Hz, 1 H, 1'-H_a(a)), 3.37 (m_c, 1 H, 2'-H(b)), 3.48 (dd, *J* = 14.7, 5.0 Hz, 1 H, 1'-H_a(b)), 4.12 (dd, *J* = 14.7, 5.0 Hz, 2 H, 1'-H_b(a), 1'-H_b(b)), 5.31 (m_c, 4 H, CH₂Ph(a), CH₂Ph(b)), 6.87, 6.98 (2 × s, 2 H, 3-H(a), 3-H(b)), 7.35–7.65 (m, 14 H, 6-H(a), 6-H(b), 7-H(a), 7-H(b), 5 × Ph-H(a), 5 × Ph-H(b)), 8.24 (dd, *J* = 8.1, 5.2 Hz, 2 H, 8-H(a), 8-H(b)), 8.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H, 5-H(a)), 8.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H, 5-H(b)).

¹³C-NMR (150 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C; die jeweiligen Signale der beiden Atropisomere sind mit (a) und (b) bezeichnet): δ [ppm] = 28.9, 29.0 (2 × C(CH₃)₃), 46.5, 46.7 (C-3'(a), C-3'(b)), 50.2 (C-2'(a)), 50.7 (C-2'(b)), 52.2 (C-1'(b)), 53.6 (C-1'(a)), 71.4, 71.5 (2 × CH₂Ph), 81.3 (2 Signale) (2 × C(CH₃)₃), 95.4, 95.9 (C-1(a), C-1(b)), 108.9

(2 Signale) (C-3(a), C-3(b)), 123.1 (C-5(a), C-5(b)), 126.4 (C-4a(a), C-4a(b)), 126.8, 126.9, 127.8, 128.0, 128.6, 129.0, 129.1, 129.2 (2 Signale), 133.3 (C-6(a), C-6(b), C-7(a), C-7(b), C-8(a), C-8(b), $2 \times \text{Ph-C}_o(\text{a})$, $2 \times \text{Ph-C}_o(\text{b})$, $2 \times \text{Ph-C}_m(\text{a})$, $2 \times \text{Ph-C}_m(\text{b})$, $\text{Ph-C}_p(\text{a})$, $\text{Ph-C}_p(\text{b})$), 136.1 (2 Signale) (C-8a(a), C-8a(b)), 137.1, 137.2 ($\text{Ph-C}_i(\text{a})$, $\text{Ph-C}_i(\text{b})$), 144.0, 144.5 (C-2(a), C-2(b)), 154.2, 154.4 (C=O(a), C=O(b)), 156.2, 156.3 (C-4(a), C-4(b)).

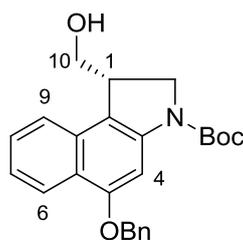
MS (ESI): m/z (%) 554.1 (40) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1085.2 (100) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{INO}_4$ (531.38)

ber.: 554.07987

gef.: 554.07993, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

2.13 (+)-(S)-5-Benzyloxy-3-(*tert*-butoxycarbonyl)-1-hydroxymethyl-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol (106)



Trockenes ZnCl_2 (10.9 g, 80.2 mmol, 2.1 Äq.) wurde in THF (400 mL) gelöst, bei 0 °C MeLi (200 mL einer 1.6 M Lösung in Et_2O , 320 mmol, 8.5 Äq) hinzugetropt und 30 min gerührt. Anschließend wurde bei -78 °C TMS-NCS (10.5 g, 80.2 mmol, 2.1 Äq.) hinzugegeben und weitere 5 min gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C erwärmt und 30 min gerührt. Nach erneutem Kühlen auf -78 °C wurde eine Lösung von (+)-(2*R*)-2-Amino-4-benzyloxy-*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-*N*-(2',3'-epoxypropyl)-1-iod-naphthalin (**105**) (12.2 g, 30.1 mmol, 1.0 Äq.) in THF (100 mL) hinzugegeben 30 min bei dieser Temperatur, dann 1 h bei 0 °C und schließlich 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung (300 mL) beendet und die Lösung mit CH_2Cl_2 (3×250 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 4:1) wurde die Zielverbindung **106** (5.14 g, 12.7 mmol, 42%) als farbloser Schaum isoliert.

$R_f = 0.21$ (Petrolether/EtOAc 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4.5^{\circ}$ (c 1.75, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.59 (s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.68–3.85 (m, 2 H, 1-H, 10- H_a), 3.92 (m_c, 1 H, 10- H_b), 4.06–4.14 (m, 2 H, 2- H_a , 2- H_b), 5.25 (s, 2 H, CH_2Ph), 7.28–7.56 (m, 7 H, 7-H, 8-H, $5 \times \text{Ph-H}$), 7.69 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 9-H), 7.89 (s_{br}, 1 H, 4-H), 8.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 28.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 41.3 (C-1), 52.4 (C-2), 64.7 (C-10), 70.2 (CH_2Ph), 80.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 96.5 (C-4), 114.3 (C-9b), 122.2 (C-5a), 122.5 (C-9), 122.9 (C-7), 123.3 (C-6), 127.3 (C-8), 127.5, 127.9, 128.5 ($5 \times \text{Ph-CH}$), 130.6 (C-9a), 136.9 (Ph- C_i), 141.9 (C-3a), 152.7 (C=O), 155.6 (C-5).

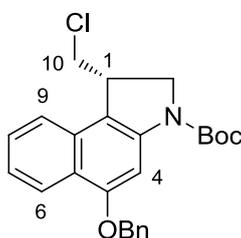
MS (ESI): m/z (%) 428.2 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NO}_4$ (405.49)

ber.: 428.1845

gef.: 428.1845, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

2.14 (–)-(S)-5-Benzyloxy-3-(tert-butoxycarbonyl)-1-chlormethyl-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (107)



Zu einer Lösung des Alkohols (+)-(S)-**106** (0.89 g, 2.20 mmol, 1.0 Äq.) in CH_2Cl_2 (30 mL) wurden PPh_3 (1.73 g, 6.60 mmol, 3.0 Äq.) sowie CCl_4 (3.05 g, 1.91 mL, 19.8 mmol, 9.0 Äq.) gegeben und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsgemisch wurde durch Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck direkt an Kieselgel (10 g) adsorbiert. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (n -Pentan/EtOAc 10:1) lieferte das Chlorvid (–)-(S)-**107** (722 mg, 1.70 mmol, 77%) als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.75$ (n -Pentan/EtOAc 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.2^{\circ}$ (c 0.31, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.60 (s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.43 (t, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 10- H_a), 3.90–4.00 (m, 2 H, 1-H, 10- H_b), 4.08–4.12 (m, 1 H, 2- H_a), 4.28 (d, $J = 9.0$ Hz,

1 H, 2-H_b), 5.26 (s, 2 H, OCH₂Ph), 7.30–7.65 (m, 7 H, 7-H, 8-H, 5 × Ph-H), 7.65 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 9-H), 7.85 (s_{br}, 1 H, 4-H), 8.29 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 28.5$ (C(CH₃)₃), 41.6 (C-1), 46.5 (C-10), 53.0 (C-2), 70.3 (OCH₂Ph), 81.2 (C(CH₃)₃), 96.4 (C-4), 114.0 (C-9b), 122.4 (C-5a), 121.7, 123.1, 123.6 (C-6, C-7, C-9), 127.5 (2 × Ph-C_o), 127.6 (C-8), 128.0 (Ph-C_p), 128.5 (2 × Ph-C_m), 130.2 (C-9a), 136.7 (Ph-C_i), 143.4 (C-3a), 152.6 (C=O), 156.0 (C-5).

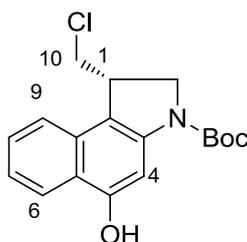
MS (ESI): m/z (%) 446.2 (100) [M+Na]⁺, 869.3 (10) [2M+Na]⁺.

C₂₅H₂₆ClNO₃ (423.94)

ber.: 446.1493

gef.: 446.14986, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

2.15 (–)-(S)-3-(tert-Butoxycarbonyl)-1-chlormethyl-5-hydroxy-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (67)



Eine Lösung des Benzylethers (–)-(1S)-**107** (0.18 mg, 0.43 mmol, 1.0 Äq.) in THF (30 mL) wurde mit Palladium auf Aktivkohle (10%-ig, 90.0 mg, 85 μ mol, 0.2 Äq. bez. Pd) versetzt und 3 h unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck und 40 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Abfiltrieren der Aktivkohle durch Celite beendet und der Rückstand gründlich mit Aceton (600 mL) gespült. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (*n*-Pentan/EtOAc 10:1) und nach weiterer Aufreinigung mittels präp. HPLC wurde die Zielverbindung (–)-(1S)-**67** (129 mg, 0.39 mmol, 92%) als hellgelber Feststoff isoliert.

R_f: 0.21 (*n*-Pentan/EtOAc 8:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{25} = -38.6^\circ$ (c 1.07, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.62$ (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.40 (t, $J = 12.0$ Hz, 1 H, 10-H_a), 3.89–3.96 (m, 2 H, 1-H, 10-H_b), 4.10 (t, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 2-H_a), 4.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 2-H_b), 7.32 (dt, $J = 8.2, 1.2$ Hz, 1 H, 7-H), 7.47 (dt, $J = 8.2, 1.2$ Hz, 1 H, 8-H), 7.62 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 9-H), 7.78 (s_{br}, 1 H, 4-H), 8.19 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ = 28.6 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 41.9 (C-1), 46.5 (C-10), 53.2 (C-2), 81.8 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 99.2 (C-4), 114.4 (C-9b), 121.5 (C-5a), 121.7, 122.9, 123.5 (C-6, C-7, C-9), 127.5 (C-8), 130.3 (C-9a), 141.0 (C-3a), 153.0 (C=O), 153.8 (C-5).

MS (ESI): m/z (%) = 332.1 (100) $[\text{M-H}]^-$, 687.2 (40) $[2\text{M}+\text{Na}-2\text{H}]^-$.

$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClNO}_3$ (333.81)

ber.: 332.1059

gef.: 332.1063, $[\text{M-H}]^-$ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch): Säule: Chiralcel[®] OD, 250 × 4.6 mm, 5 μm

Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 98:2

Fluss: 0.8 mL min^{-1}

t_{R} : 25.4 min, (*S*)-Enantiomer

HPLC (präparativ):

Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 20 mm, 5 μm

Vorsäule: Vorsäulenkartusche Si60

Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 97:3

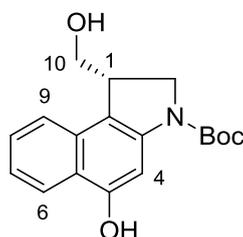
Fluss: 18 mL min^{-1}

λ : 254 nm

t_{R} : 13.5 min

Fraktion: 13.2–17.0 min

2.16 (–)-(*S*)-3-(*tert*-Butoxycarbonyl)-1-Hydroxymethyl-5-Hydroxy-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol (**109**)



Eine entgaste Lösung des Benzylethers **106** (619.82 mg, 48.9 mmol, 1.0 Äq.) in absolutem THF (150 mL) wurde mit Pd/C (10%ig, 10.4 mg, 9.78 mmol, 0.2 Äq. bezügl. Pd) sowie 25%iger Ammoniumformiatlösung (200 mL) versetzt und 5 h bei 40 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung über Celite filtriert und die Zielverbindung **109** (7.38 mg, 23.4 mmol, 48%) durch Umkristallisation (*n*-Hexan/EtOAc) als farbloser Feststoff isoliert.

$R_f = 0.24$ (Petrolether/EtOAc 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{25} = -13.3^\circ$ (c 0.26, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 1.58 (s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.40 (dd, $J = 10.9$, 8.8 Hz, 1 H, 10- H_a), 3.71 (m, 1 H, 1-H), 3.88 (dd, $J = 10.9$, 3.7 Hz, 1 H, 10- H_b), 3.99 (dd, $J = 11.4$, 8.9 Hz, 1 H, 2- H_a), 4.20 (dd, $J = 11.4$, 2.2 Hz, 1 H, 2- H_b), 7.24 (m, 1 H, 7-H), 7.41 (ddd, $J = 8.4$, 6.5, 1.3 Hz, 1 H, 8-H), 7.53 (s_{br} , 1 H, 4-H), 7.67 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 9-H), 8.12 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 28.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 42.8 (C-1), 53.5 (C-2), 64.8 (C-10), 81.8 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 99.7 (C-4), 115.8 (C-5a), 123.1 (C-9b), 123.4 (C-7), 123.6 (C-9), 124.3 (C-6), 127.0 (C-8), 132.2 (C-9a), 142.4 (C-3a), 154.2 (C=O), 155.5 (C-5).

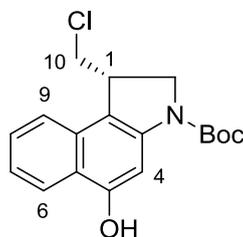
MS (ESI): m/z (%) 338.1 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ (315.15)

ber.: 316.1543

gef.: 316.1543, $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ESI-HRMS).

2.17 (–)-(S)-3-(tert-Butoxycarbonyl)-1-chlormethyl-5-hydroxy-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (**67**)



Das Hydroxy-CBI **109** (1.35 mg, 4.29 μmol , 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (150 mL) gelöst und mit PPh_3 (3.38 mg, 12.9 μmol , 3.0 Äq.) versetzt. Nachdem Zutropfen von CCl_4 (5.94 mg, 38.6 μmol , 9.0 Äq.) wurde das Reaktionsgemisch 3(Petrolether/EtOAc 3:1) das Chlorid **67** (1.00 mg, 3.00 μmol , 70%) als weißen Feststoff.

$R_f = 0.44$ (Petrolether/EtOAc 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{25} = -16.7^\circ$ (c 0.27, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.61 (s, 9 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.40 (t, $J = 11.5$ Hz, 1 H, 10- H_a), 3.89–3.97 (m, 1 H, 1-H), 3.91 (d, $J = 10.5$ Hz, 1 H, 10- H_b), 4.10 (dd, $J = 11.5$, 9.8 Hz, 1 H, 2- H_a), 4.23 (d, $J = 10.5$ Hz, 1 H, 2- H_b), 7.28–7.34 (m, 1 H, 7-H),

7.44–7.50 (m, 1 H, 8-H), 7.53 (s_{br}, 1 H, 4-H), 7.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 9-H), 8.20 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 6-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.5 (C(CH₃)₃), 41.8 (C-1), 46.5 (C-2), 53.1 (C-10), 81.8 (C(CH₃)), 99.2 (C-4), 114.4 (C-5a), 121.7 (C-9b), 122.9 (C-7), 123.6 (C-9), 127.6 (C-6), 130.4 (C-8), 133.8 (C-9a), 141.0 (C-3a), 153.1 (C=O), 153.9 (C-5).

MS (ESI): m/z (%) 332.1 (100) [M-H]⁻.

C₁₈H₂₀ClNO₃ (333.81)

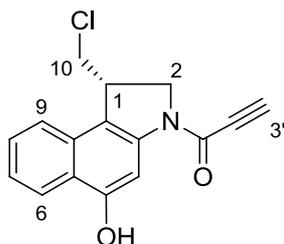
ber.: 356.1024

gef.: 356.1026, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

3 Synthese der *seco*-CBI-Fettsäure-Drugs

3.1 Synthese der Alkinfettsäure-*seco*-Drugs 109-112

3.1.1 (*S*)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-propiolyl-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol (109)



Das Boc-geschützte Naththol **67** (100 mg, 300 μmol , 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (20 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt, bis die Lösung eine grüne Färbung zeigte. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und 1 h am Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in DMF (10 mL) aufgenommen, die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (173 mg, 900 μmol , 3.0 Äq.) sowie Propiolsäure **73** (27.3 mg, 392 μmol , 1.3 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und erneut für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrol-ether/EtOAc 5:1, 1% HCl) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH wurde das *seco*-Drug **109** (62.2 mg, 218 μmol , 73%) als weißer Feststoff erhalten.

R_f: 0.38 (Petrolether/EtOAc 2:1, 1% HCl).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 3.87 (dd, J = 11.2, 7.4 Hz, 1 H, 10-*H*_a), 4.04 (dd, J = 11.2, 3.2 Hz, 1 H, 10 *H*_b), 4.14–4.24 (m_c, 1 H, 1-*H*), 4.38 (dd, J = 11.4, 2.6 Hz, 1 H, 2-*H*_a), 4.47 (dd, J = 11.3, 8.8 Hz, 1 H, 2-*H*_b), 4.75 (d, J = 0.6 Hz, 1 H C \equiv CH), 7.37 (m_c, 1 H, 7-*H*), 7.52 (m_c, 1 H, 8-*H*), 7.82 (s, 1 H, 4-*H*), 7.83 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, 9-*H*), 8.11 (d, J = 9.1 Hz, 1 H, 6-*H*), 10.45 (s, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 39.5 (C-1), 47.5 (C-10), 54.0 (C-2), 77.0 (C-3'), 84.3 (C-2'), 99.7 (C-9b), 113.5 (C-4), 121.4 (C-5b), 122.3 (C-7), 122.4, 122.9 (C-9, C-6), 127.3 (C-8), 129.6 (C-9a), 140.2 (C-3), 149.2 (C-5), 154.2 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 284.0 (100) [2M-H]⁻, 569.1 (94) [M-H]⁻.

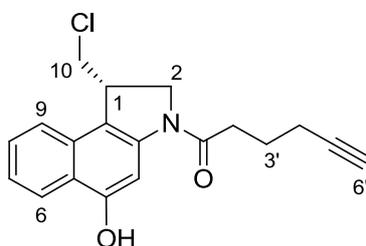
$C_{16}H_{12}ClNO_2$ (285.72)

ber.: 284.0484

gef.: 284.0479, $[M-H]^-$ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μm
Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10
Fluss: 0.8 mL min⁻¹
*t*_R: 18.6 min

3.1.2 (–)-(S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-hex-5-inoyl-1,2-dihydro-3H-benz[*e*]indol (**110**)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (100 mg, 0.30 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (20 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum für 1 h wurde der Rückstand in DMF (10 mL) aufgenommen, die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (172.5 mg, 0.90 mmol, 3.0 Äq.) sowie 5-Hexinsäure **74** (27.3 mg, 0.39 mmol, 1.3 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 8:1, 1% HCl) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH ergab das *seco*-Drug **110** (64.4 mg, 0.20 mmol, 67%) als hellgelben Feststoff.

R_f: 0.49 (Petrolether/EtOAc 2:1, 1% HCl).

Drehwert: $[\alpha]_D^{24} = -17.0^\circ$ (*c* 0.24, DMSO).

UV (MeOH): λ_{\max} (lg ε) = 204 nm (4.216), 226 (4.054), 256 (4.502), 317 (3.792).

IR (neat): ν [cm⁻¹] = 3278 (C≡C), 3110, 1725, 1671, 1625, 1580, 1518, 1384, 1248, 1124, 1075, 858, 770, 752, 716, 660, 633.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.81 (quint, $J = 7.1$ Hz, 2 H, 3'-H₂), 2.29 (dt, $J = 7.2, 2.6$ Hz, 2 H, 4'-H₂), 2.52–2.68 (m, 2 H, 2'-H₂), 2.80 (t, $J = 2.6$ Hz, 1 H, 6'-H), 3.79 (dd, $J = 11.0, 7.9$ Hz, 1 H, 10-H_a), 3.99 (dd, $J = 11.0, 3.1$ Hz, 1 H, 10-H_b), 4.12–4.16 (m, 2 H, 1-H, 2-H_a), 4.32 (t, $J = 10.1$ Hz, 1 H, 2-H_b), 7.31 (m_c, 1 H, 7-H), 7.48 (m_c, 1 H, 8-H), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 9-H), 7.98 (s, 1 H, 4-H), 8.08 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 6-H), 10.30 (s_{br}, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 17.2 (C-4'), 23.3 (C-3'), 33.9 (C-2'), 40.7 (C-1), 47.6 (C-10), 52.6 (C-2), 71.4 (C-6'), 84.0 (C-5'), 99.7 (C-9b), 113.6 (C-4), 121.5 (C-5a), 122.3 (C-7), 122.4, 122.9 (C-9, C-6), 127.0 (C-8), 129.7 (C-9a), 141.7 (C-3a), 154.0 (C-5), 170.0 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 326.1 (100) [M-H]⁻, 653.2 (43) [2M-H]⁻.

C₁₉H₁₈ClNO₂ (327.80)

ber.: 350.0918

gef.: 350.0919, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

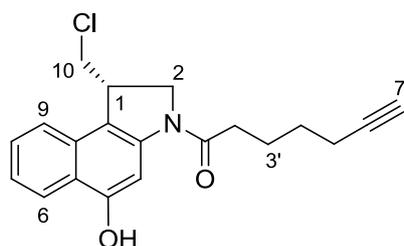
HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μ m

Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10

Fluss: 0.8 mL min⁻¹

t_R : 35.6 min

3.1.3 (S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-hept-6-inoyl-1,2-dihydro-3H-benz[*e*]indol (111)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (200 mg, 600 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (18 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand 1 h am Hochvakuum getrocknet. Dieser wurde in DMF (15 mL) aufgenommen, die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (688 mg, 3.59 mmol, 6.0 Äq.) sowie 6-Heptinsäure **75** (226 mg, 1.79 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und

anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrol-ether/EtOAc 8:1, 1% HCl) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH wurde das *seco*-Drug **111** (182 mg, 532 μmol , 88%) als weißer Feststoff erhalten.

R_f: 0.39 (Petrolether/EtOAc 3:1, 1% HCl).

UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 206 nm (4.317), 229 (4.184), 257 (4.668), 319 (4.033).

IR (neat): ν [cm^{-1}] = 3272 (C \equiv C), 2109 (C–H), 1633, 1579, 1522, 1429, 1395, 1399, 1263, 1133, 863, 753.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.56 (quint, J = 7.3 Hz, 2 H, 4'-H₂), 1.72 (dt, J = 14.1, 7.2 Hz, 2 H, 5'-H₂), 2.23 (dt, J = 7.3, 2.6 Hz, 2 H, 3'-H₂), 2.41–2.61 (m, 2 H, 2-H₂), 2.74 (t, J = 2.6 Hz, 1 H, 7'-H), 3.78 (dd, J = 11.1, 8.1 Hz, 1 H, 10'-H_a), 3.98 (dd, J = 11.1, 3.1 Hz, 1 H, 10-H_b), 4.09–4.18 (m, 2 H, 1-H, 2-H_a), 4.32 (t, J = 10.2 Hz, 1 H, 2-H_b), 7.31 (m_c, 1 H, 7-H), 7.48 (m_c, 1 H, 8-H), 7.77 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 9-H), 7.98 (s, 1 H, 4-H), 8.08 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, 6-H), 10.29 (s_{br}, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 17.6 (C-5'), 23.2 (C-3'), .5 (C-4'), 34.5 (C-2'), 40.7 (C-1), 47.6 (C-2), 52.6 (C-10), 71.0 (C-7'), 84.3 (C-6'), 99.7 (C-4), 113.5 (C-5a), 121.4 (C-9b), 122.3 (C-7), 122.4, 122.9 (C-9, C-6), 127.0 (C-8), 129.8 (C-9a), 141.8 (C-3a), 154.0 (C-5), 170.4 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 340.1 (100) [M–H][–], 681.2 (68) [2M–H][–].

C₂₀H₂₀ClNO₂ (341.83)

ber.: 364.1070

gef.: 364.1065, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

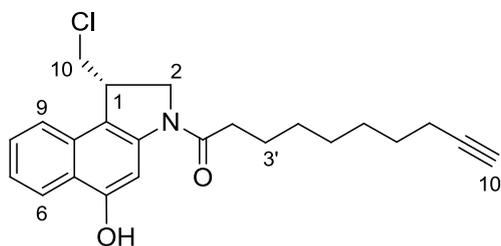
HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μm

Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10

Fluss: 0.8 mL min^{–1}

*t*_R: 35.2 min

3.1.4 (–)-(S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-dec-9-inoyl-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (112)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (101 mg, 331 μmol , 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (8 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum für 1 h wurde der Rückstand in DMF (7 mL) aufgenommen, die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (174 mg, 913 μmol , 3.0 Äq.) sowie 9-Decinsäure (71.6 mg, 392 μmol , 1.3 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 3:1) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH lieferte das *seco*-Drug **112** (38.4 mg, 103 μmol , 31%) als weißen Feststoff.

R_f: 0.44 (PE/EtOAc 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -24.2^{\circ}$ (*c* 0.15, DMSO).

UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 207 nm (4.08), 257 (4.501), 319 (3.85).

IR (neat): ν [cm^{-1}] = 3293 (C≡C), 3107, 2108 (C–H), 1624, 1579, 1427, 1392, 1250, 1130, 856, 755, 624.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.30–1.60 (m, 8 H, 4'-H₂, 5'-H₂, 6'-H₂, 7'-H₂), 1.84 (quint., *J* = 7.6 Hz, 2 H, 3'-H₂), 1.91 (t, *J* = 2.7 Hz, 1 H, 10-H), 2.14 (dt, *J* = 7.1, 2.6 Hz, 2H, 8'-H₂), 2.55 (dt, *J* = 15.2, 7.6 Hz, 1H, 2'-H_a), 2.63 (dt, *J* = 15.3, 7.7 Hz, 1H, 2'-H_b), 3.38 (t, *J* = 11.0 Hz, 1 H, 10-H_a), 3.94 (dd, *J* = 11.3, 2.7 Hz, 1 H, 10-H_b), 4.00 (m_c, 1 H, 1-H), 4.21 (m_c, 1 H, 2-H_a), 4.30 (dd, *J* = 10.8, 1.8 Hz, 1 H, 2-H_b), 7.37 (m_c, 1 H, 7-H), 7.49 (m_c, 1 H, 8-H), 7.63 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H, 9-H), 8.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 8.38 (s, 1 H, 4-H), 10.04 (s_{br}, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 18.5 (C-8), 25.0 (C-3), 28.5, 28.8, 29.0, 29.3 (C-4, C-5, C-6, C-7), 36.5 (C-2), 42.3 (C-1'), 46.3 (C-10'), 53.6 (C-2'), 68.1 (C-10),

84.7 (C-9), 100.6(C-9b'), 114.5 (C-4'), 121.9 (C-5a'), 122.8 3 (C-7'), 123.3, 123.9 (C-9', C-6'), 127.4 (C-8'), 129.9 7 (C-9a'), 141.1 (C-3'), 155.3 (C-5'), 173.2 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 384.2 (100) $[M+Na]^+$.

C₂₃H₂₆ClNO₂ (383.91)

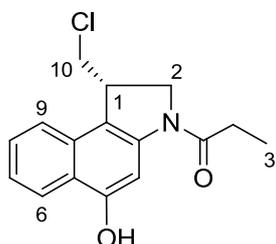
ber.: 384.1725

gef.: 384.1719, $[M+H]^+$ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μm
Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10
Fluss: 0.8 mL min⁻¹
 t_R : 10.9 min

3.2 Synthese der Alkanfettsäure-*seco*-Drugs 113-117

3.2.1 (–)-(S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-propionyl-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol (113)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (191 mg, 573 μmol, 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (20 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und 1 h am Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in DMF (15 mL) aufgenommen, die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (659 mg, 3.44 mmol, 6.0 Äq.) sowie Propionsäure **68** (127 mg, 1.71 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 18 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether /EtOAc 3:1) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH wurde das *seco*-Drug **113** (149 mg, 513 μmol, 90%) als hellgelber Feststoff erhalten.

R_f: 0.30 (Petrolether /EtOAc 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{24} = -34.6^\circ$ (*c* 0.22, DMSO).

UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 207 nm (4.208), 257 (4.664), 319 (4.005).

IR (neat): ν [cm^{-1}] = 3235, 1678, 1579, 1424, 1389, 1363, 1245, 1134, 870, 815, 770, 751, 713.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.10 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H, 3'-H₃), 2.41–2.63 (m, 2 H, 2'-H₂), 3.77 (dd, $J = 10.9, 8.0$ Hz, 1 H, 10-H_a), 3.98 (dd, $J = 10.9, 2.9$ Hz, 1 H, 10-H_b), 4.10–4.17 (m, 2 H, 1-H, 2-H_a), 4.31 (t, $J = 10.1$ Hz, 1 H, 2-H_b), 7.31 (t, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 7-H), 7.48 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 8-H), 7.77 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 9-H), 7.99 (s_{br}, 1 H, 4-H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 6-H), 10.29 (s_{br}, 1 H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.6 (C-3'), 28.3 (C-2'), 40.7 (C-1), 47.6 (C-10), 52.5 (C-2), 99.7 (C-4), 113.5 (C-9b), 121.5 (C-6), 122.4 (C-5a), 122.5 (C-9), 123.0 (C-7), 127.1 (C-8), 129.9 (C-9a), 142.0 (C-3a), 154.2 (C-5), 171.4 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 312.14 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 601.2 (42) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

C₁₆H₁₆ClNO₂ (289.76)

ber.: 312.0762

gef.: 312.0766, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

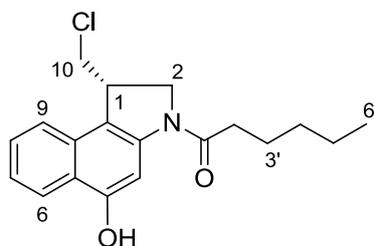
HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μm

Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10

Fluss: 0.8 mL min⁻¹

t_R : 33.9 min

3.2.2 (S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-hexanoyl-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (114)



Das Boc-geschützte Napthol **67** (100 mg, 0.30 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (8 mL) 2 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum

für 1 h wurde der Rückstand in DMF (7 mL) aufgenommen, die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (158 mg, 823 µmol, 3.0 Äq.) sowie Hexansäure **69** (27.3 mg, 0.39 mmol, 1.3 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 8:1, 1% HCl) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH wurde das *seco*-Drug **114** (25.8 mg, 77.7 µmol, 29%) als hellgelber Feststoff erhalten.

R_f: 0.38 (Petrolether/EtOAc 2:1, 1% HCl).

UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 207 nm (4.171), 224 (4.029), 257 (4.568), 263 (4.581), 320 (3.933).

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.94 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, 6'-H₂), 1.36-1.48 (m, 4 H, 4'-H₂, 5'-H₂), 1.82-1.90 (m, 2 H, 3'-H₂), 2.55 (dt, J = 15.3, 7.6 Hz, 1 H, 2'-H_a), 2.62 (dt, J = 15.3, 7.6 Hz, 1 H, 2'-H_b), 3.38 (t, J = 11.0 Hz, 1 H, 10-H_a), 3.94 (dd, J = 11.0, 2.9 Hz, 1 H, 10-H_b), 3.96–4.03 (m, 1 H, 1-H), 4.17–4.24 (m, 1 H, 2-H_a), 4.30 (dd, J = 10.7, 1.7 Hz, 1 H, 2-H_b), 7.36 (m_c, 1 H, 7-H), 7.49 (m_c, 1 H, 8-H), 7.63 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 9-H), 8.30 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 8.38 (s, 1 H, 4-H), 10.06 (s_{br}, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.0 (C-6'), 22.5 (C-5'), 24.7 (C-3'), 31.6 (C-4'), 36.5 (C-4'), 42.3 (C-1), 46.3 (C-10), 53.6 (C-2), 100.7 (C-4), 114.5 (C-5a), 121.9 (C-9b), 122.8 (C-7), 123.3, 123.9 (C-6, C-9), 127.4 (C-8), 129.9 (C-9a), 141.2 (C-3a), 155.3 (C-5), 173.3 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 661.2 (34) [2M-H]⁻, 330.1 (100) [M-H]⁻.

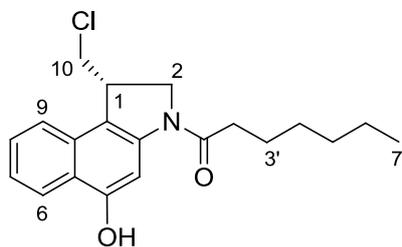
C₁₉H₂₂CINO₂ (331.84)

ber.: 330.1266

gef.: 330.1262, [M-H]⁻ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 µm
Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10
Fluss: 0.8 mL min⁻¹
 t_R : 21.8 min

3.2.3 (S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-heptanoyl-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (115)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (91.9 mg, 275 μmol , 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (8 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum für 1 h wurde der Niederschlag in DMF (10 mL) aufgenommen, die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (158 mg, 826 μmol , 3.0 Äq.) sowie Heptansäure **70** (46.6 mg, 358 μmol , 1.3 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 3:1) sowie Kristallisation (DMF/MeOH) lieferte das *seco*-Drug **115** (53.9 mg, 156 μmol , 57%) als hellgelben Feststoff erhalten.

R_f: 0.59 (Petrolether/EtOAc 2:1).

UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 205 nm (3.839), 224 (3.672), 257 (4.183), 263 (4.153), 320 (3.553).

IR (KBr): ν [cm^{-1}] = 2954, 2924, 1625, 1581, 1390, 1263, 859, 734, 704.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.94 (t, J = 7.0 Hz, 3 H, 7'-H₂), 1.17-1.30 (m, 2 H, 6'-H₂), 1.36-1.48 (m, 4 H, 4'-H₂, 5'-H₂), 1.86 (m_c, 2 H, 3'-H₂), 2.55 (dt, J = 15.3, 7.7 Hz, 1 H, 2'-H_a), 2.62 (dt, J = 15.4, 7.7 Hz, 1 H, 2'-H_b), 3.38 (t, J = 11.0 Hz, 1 H, 10-H_a), 3.94 (dd, J = 11.3, 3.0 Hz, 1 H, 10-H_b), 4.00 (m_c, 1 H, 1-H), 4.14-4.25 (m, 1 H, 2-H_a), 4.30 (dd, J = 10.8, 1.6 Hz, 1 H, 2-H_b), 7.37 (m_c, 1 H, 7-H), 7.49 (m_c, 1 H, 8-H), 7.63 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 9-H), 8.30 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 8.38 (s, 1 H, 4-H), 10.06 (s_{br}, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.2 (C-7'), 22.6 (C-5'), 25.0 (C-3'), 29.1 (C-6'), 31.6 (C-4'), 36.6 (C-2'), 42.3 (C-1), 46.3 (C-10), 53.6 (C-2), 100.7 (C-4), 114.4

(C-5a), 121.9 (C-9b), 122.8 (C-7), 124.0(2 Signale) (C-6, C-9), 127.4 (C-8), 129.8 (C-9a), 141.1 (C-3a), 155.4 (C-5), 173.3 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 344.1 (100) $[M-H]^-$, 689.2 (44) $[M-H]^-$.

C₂₀**H**₂₄**ClNO**₂ (345.86)

ber.: 344.1423

gef.: 344.1412, $[M-H]^-$ (ESI-HRMS).

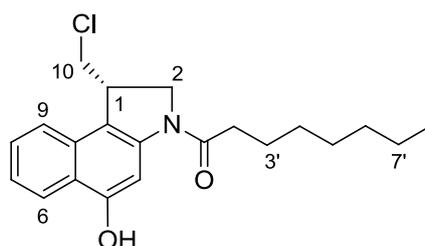
HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μm

Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10

Fluss: 0.8 mL min⁻¹

t_R : 33.9 min

3.2.4 (S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-octanoyl-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (116)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (110 mg, 330 μmol, 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (10 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum für 1 h wurde der Niederschlag in DMF (7 mL) aufgenommen, auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (190 mg, 994 μmol, 3.0 Äq.) sowie Octansäure **71** (61.9 mg, 430 μmol, 1.3 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und nach säulenchromatischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 3:1) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH wurde das *seco*-Drug **116** (60.0 mg, 167 μmol, 51%) als weißer Feststoff isoliert.

R_f: 0.51 (Petrolether/EtOAc 2:1).

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.88 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, 8'-H₂), 1.26–1.34 (m, 4 H, 6'-H₂, 7'-H₂), 1.30–1.41 (m, 2 H, 5'-H₂), 1.42–1.49 (m, 2 H, 4'-H₂), 1.85 (m_c, 2 H,

3'-H₂), 2.54 (dt, $J = 15.3, 7.7$ Hz, 1 H, 2'-H_a), 2.61 (dt, $J = 15.4, 7.8$ Hz, 1 H, 2'-H_b), 3.37 (t, $J = 11.0$ Hz, 1 H, 10-H_a), 3.94 (dd, $J = 11.3, 3.0$ Hz, 1 H, 10-H_b), 3.99 (m_c, 1 H, 1-H), 4.18 (m_c, 1 H, 2-H_a), 4.29 (dd, $J = 10.8, 1.7$ Hz, 1 H, 2-H_b), 7.36 (m_c, 1 H, 7-H), 7.49 (m_c, 1 H, 8-H), 7.62 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 9-H), 8.31 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 6-H), 8.40 (s, 1 H, 4-H), 10.16 (s_{br}, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 14.2 (C-8'), 22.8 (C-7'), 25.0 (C-3'), 29.1, 29.4 (C-4', C-5'), 31.7 (C-6'), 36.6 (C-2'), 42.0 (C-1), 46.3 (C-10), 53.0 (C-2), 100.7 (C-4), 114.4 (C-9b), 121.9 (C-5a), 122.8 (C-7), 123.2, 124.0 (C-6, C-9), 127.4 (C-8), 129.9 (C-9a), 141.1 (C-3a), 155.3 (C-5), 173.3 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 358.3 [M-H]⁻, 717.5 (100) [2M-H]⁻.

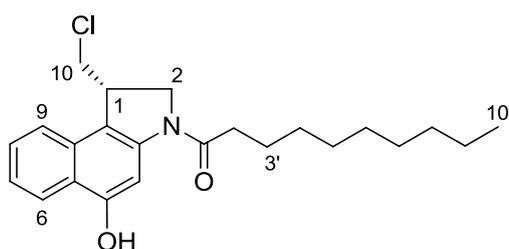
C₂₁H₂₆ClNO₂ (359.89)

ber.: 360.1725

gef.: 360.1725, [M+H]⁺ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μ m
 Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10
 Fluss: 0.8 mL min⁻¹
 t_R: 11.3 min

3.2.5 (–)-(S)-1-Chlormethyl-5-hydroxy-3-decanoyl-1,2-dihydro-3H-benz[e]indol (117)



Das Boc-geschützte Napthol **67** (199 mg, 596 μ mol, 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (18 mL) 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand 1 h am Hochvakuum getrocknet und dann in DMF (15 mL) aufgenommen. Die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (685 mg, 3.57 mmol, 6.0 Äq.) sowie Decansäure **72** (308 mg, 1.79 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach Rühren bei dieser Temperatur für 1 h wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromato-

graphische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 8:1, 1% HCl) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH lieferte das *seco*-Drug **117** (212 mg, 547 μ mol, 92%) als weißen Feststoff.

R_f: 0.59 (Petrolether/EtOAc 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{24} = -31.7^\circ$ (*c* 0.28, DMSO).

UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 207 nm (4.257), 257 (4.686), 319 (4.040).

IR (KBr): ν [cm^{-1}] = 3284, 1645, 1579, 1422, 1390, 1244, 1135, 1077, 865, 767, 751.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 0.86 (*m_c*, 3 H, 10'-H₃), 1.20-1.39 (*m*, 12 H, 4-H₂, 5'-H₂, 6'-H₂, 7'-H₂, 8'-H₂, 9'-H₂), 1.62 (*m_c*, 2 H, 3'-H₂), 2.44 (*m_c*, 1 H, 2'-H_a), 2.52 (*m_c*, 1 H, 2'-H_b), 3.77 (dd, *J* = 10.5, 8.4 Hz, 1 H, 10-H_a), 3.98 (dd, *J* = 11.1, 2.9 Hz, 1 H, 10-H_b), 4.08–4.18 (*m_c*, 2 H, 1'-H, 2-H_a), 4.31 (*m_c*, 1 H, 2-H_b), 7.31 (*m_c*, 1 H, 7-H), 7.48 (*m_c*, 1 H, 8-H), 7.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, 9-H), 7.98 (s, 1 H, 4-H), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, 6-H), 10.28 (*s_{br}*, 1 H, OH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 13.9 (C-10'), 22.0 (C-9'), 24.1 (C-3'), 28.6, 28.6, 28.8, 28.9 (C-4', C-5', C-6', C-7'), 31.2 (C-8'), 35.1 (C-2'), 40.7 (C-1), 47.6 (C-10), 52.6 (C-2), 99.8 (C-4), 113.6 (C-9b), 121.5 (C-5a), 122.4 (C-7), 123.0, 127.0 (C-6, C-9), 127.1 (C-8), 129.9 (C-9a), 142.0 (C-3), 154.2 (C-5), 173.3 (C=O).

MS (ESI): *m/z* (%) 410.2 (100) [M+Na]⁺.

C₂₃H₃₀ClNO₂ (387.94)

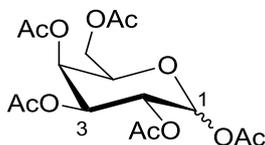
ber.: 410.1857

gef.: 410.1858, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch): Säule: Chiralpak[®] IA, 250 × 4.6 mm, 5 μ m
Eluent: *n*-Hexan/*i*-PrOH 90:10
Fluss: 0.8 mL min⁻¹
t_R: 17.00 min

4 Synthese des Galaktosyldonors 77

4.1.1 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- α/β -D-galaktopyranose (119)



D-Galaktose **118** (75.0 g, 416 mmol, 1.0 Äq.) wurde in Acetanhydrid (460 mL, 4.16 mol, 10.0 Äq.) gelöst und mit 4-Dimethylaminopyridin (5.00 g, 42.0 mmol, 0.1 Äq.) sowie Pyridin (500 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend auf Eis gegossen und mit CH₂Cl₂ (500 mL) verdünnt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (3 × 500 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (500 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Toluol/Ethanol codestilliert und unter vermindertem Druck zur Trockene eingengt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 1:1) wurde die peracetylierte Galaktose **119** (155 g, 397 mmol, 95%) in Form eines weißen Feststoffs isoliert.

$R_f = 0.40$ (Petrolether/EtOAc 1:1)

β -Anomer:

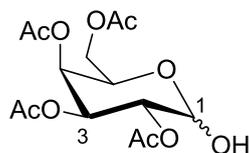
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.96, 2.01 (2 Signale), 2.08, 2.13 (5 × s, 5 × 3 H, 5 × C(O)CH₃), 3.98–4.15 (m, 3 H, 5-H, 6-H₂), 5.04 (dd, $J = 10.4, 3.4$ Hz, 1 H, 3-H), 5.30 (dd, $J = 10.4, 8.3$ Hz, 1 H, 2-H), 5.39 (dd, $J = 3.4, 1.0$ Hz, 1 H, 4-H), 5.66 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 1-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 20.5, 20.6 (2 Signale), 20.7 (2 Signale) (5 × C(O)CH₃), 61.0 (C-6), 66.7 (C-4), 67.8 (C-2), 70.8 (C-3), 71.6 (C-5), 92.1 (C-1), 168.9, 169.3, 169.9, 170.0, 170.3 (5 × C(O)CH₃).

MS (ESI): m/z (%) 413.1 (100) [M+Na]⁺.

C₁₆H₂₂O₁₁ (390.34).

4.1.2 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α/β -D-galaktopyranose (**120**)



Zu einer Lösung der peracetylierten Galaktose **119** (100.0 g, 256 mmol, 1.0 Äq.) in DMF (1100 mL) wurde Hydrazinacetat (30.2 g, 327.7 mmol, 1.28 Äq.) gegeben und 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde mit Essigester (500 mL) sowie Eiswasser (300 mL) verdünnt. Die organischen Phasen wurden mit gesättigte NaHCO_3 -Lösung (300 mL), Eiswasser (300 mL), 1 M Salzsäure (300 mL) und gesättigte NaCl -Lösung (3×300 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 1:1) lieferte die anomer-entschützte Galaktose **120** (75.8 g, 217.6 mmol, 85%) in Form eines weißen Schaums.

$R_f = 0.25$ (Petrolether /EtOAc 1:1)

α -Anomer:

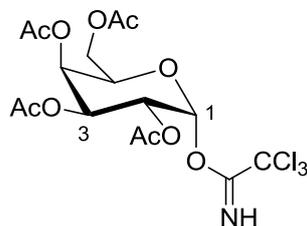
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.96, 2.02, 2.07, 2.12 ($4 \times s$, 4×3 H, $4 \times \text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 3.49 (s_{br} , 1 H, OH), 4.07 (dd, $J = 11.9, 6.6$ Hz, 2 H, 6- H_2), 4.40–4.47 (m, 1 H, 5-H), 5.12 (dd, $J = 10.7, 3.6$ Hz, 1 H, 2-H), 5.40 (dd, $J = 10.7, 3.4$ Hz, 1 H, 3-H), 5.44 (dd, $J = 3.4, 1.3$ Hz, 1 H, 4-H), 5.48 (t, $J = 3.5$ Hz, 1 H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 20.6, 20.7 (2 Signale), 20.8 ($4 \times \text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 61.8 (C-6), 66.1 (C-5), 67.2 (C-3), 68.2 (C-2), 68.3 (C-4), 90.6 (C-1), 169.9, 170.1, 170.2, 170.4 ($4 \times \underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$).

MS (ESI): m/z (%) 371.1 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 719.2 (27) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ (348.30).

4.1.3 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galaktopyranosyl-trichloracetimidat (77)



Die anomer-entschützte Galaktose **120** (16.72.00 g, 48.1 mmol, 1.0 Äq.) wurde in absolutem CH_2Cl_2 (420 mL) gelöst und mit DBU (3.66 g, 24.1 mmol, 0.5 Äq.) sowie Trichloracetonitril (28.9 mL, 287 mmol, 6.0 Äq.) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die braune Suspension wurde durch Celite filtriert, das Celite mit CH_2Cl_2 gewaschen und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrol-ether/EtOAc 3:1, 1% NEt_3) wurde das Trichloracetimidat **77** (17.3 g, 35.1 mmol, 73%) als weißer Feststoff erhalten.

$R_f = 0.20$ (Petrolether/EtOAc 3:1)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.96 (2 Signale), 1.97, 2.11 ($4 \times s$, 4×3 H, $4 \times \text{C(O)CH}_3$), 4.03 (dd, $J = 11.3, 6.7$ Hz, 1 H, 6- H_a), 4.11 (dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz, 1 H, 6- H_b), 4.39 (dd, $J = 6.6, 0.9$ Hz, 1 H, 5-H), 5.30 (dd, $J = 10.8, 3.6$ Hz, 1 H, 2-H), 5.37 (dd, $J = 10.9, 3.2$ Hz, 1 H, 3-H), 5.50 (dd, $J = 3.2, 1.3$ Hz, 1 H, 4-H), 6.54 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, 1-H), 8.62 (s_{br} , 1 H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 20.5, 20.6 (3 Signale) ($4 \times \text{C(O)CH}_3$), 61.2 (C-6), 66.8 (C-2), 67.3, 67.6 (C-3, C-4), 68.9 (C-5), 90.7 (CCl_3), 93.4 (C-1), 160.7 (C=NH), 169.7, 169.8 (2 Signale), 170.0 ($4 \times \text{C(O)CH}_3$).

MS (ESI): m/z (%) 514.1 (63) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($3 \times {}^{35}\text{Cl}$), 1007.1 (100) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ ($5 \times {}^{35}\text{Cl}$, $5 \times {}^{37}\text{Cl}$).

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{Cl}_3\text{NO}_{10}$ (492.69)

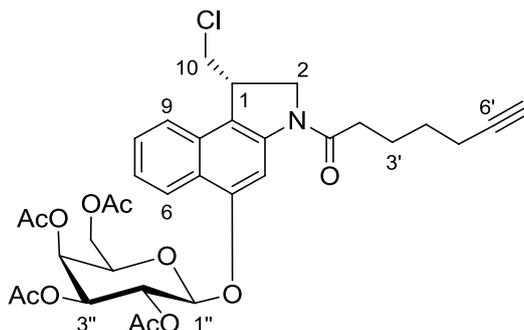
ber.: 514.0045

gef.: 514.0040, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

5 Synthese glykosidischer *seco*-CBI-Fettsäure-Prodrugs

5.1 Synthese des Galaktosid-Prodrugs 121

5.1.1 [(1*S*)-1-Chlormethyl-3-(hept-6-inoyl)-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol-5-yl]-2,3,4,6-tera-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosid (122)



Eine Lösung von Naphthol **67** (213 mg, 639 μ mol, 1.0 Äq.) in absolutem CH_2Cl_2 (25 mL) wurde 1 h bei Raumtemperatur über aktiviertem Molekularsieb (4 Å, 2.0 g) gerührt und danach das Trichloracetimidat **77** (347 mg, 703 μ mol, 1.1 Äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde auf $-10\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und langsam eine auf $-10\text{ }^\circ\text{C}$ vorgekühlte Lösung von $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (45.0 μ L, 320 μ mol, 0.5 Äq.) in absolutem CH_2Cl_2 (4 mL) zutropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur und 5.5 h Rühren bei dieser Temperatur wurde weiteres $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (205 μ L, 1.62 mmol, 3.0 Äq.) in absolutem CH_2Cl_2 (2.4 mL) bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ zugegeben und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 13 h Rühren wurde das Reaktionsgemisch vom Molekularsieb abgetrennt. Das Molekularsieb wurde mit CH_2Cl_2 (2×10 mL) gewaschen und das anschließend Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde 1 h im Vakuum getrocknet und in DMF (30 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und mit EDC·HCl (735 mg, 3.83 mmol, 6.0 Äq.) sowie 6-Heptinsäure **75** (250 mg, 1.92 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach 18 h Rühren bei Raumtemperatur wurde Kieselgel (0.5 g) hinzugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromato-graphische Reinigung an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 25:1) lieferte das leicht verunreinigte Produkt **122** (579 mg) als hellgelben Feststoff.

R_f : 0.38 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1).

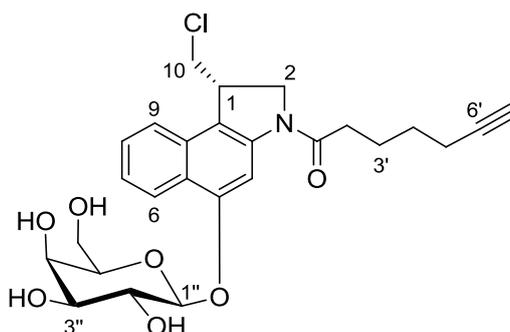
MS (ESI): m/z (%) 642.2 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$C_{34}H_{38}ClNO_{11}$ (672.12)

ber.: 694.2026

gef.: 694.2026, $[M+Na]^+$ (ESI-HRMS).

5.1.2 (–)-[(1*S*)-1-Chlormethyl-3-(hept-6-inoyl)-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol-5-yl]-β-*D*-galaktopyranosid (**121**)



Eine Lösung des acetylgeschützten Prodrugs **122** (430 mg, 653 μ mol, 1.0 Äq.) in MeOH (30 mL) wurde auf 0 °C gekühlt, mit NaOMe (240 μ L einer 30%igen Lösung in MeOH, 1.31 mmol, 2.0 Äq.) versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 30 min Rühren bei dieser Temperatur trat eine Gelbfärbung auf und nach 2 h wurde die Reaktionslösung mit Wasser (3 mL) verdünnt und Amberlite-IR[®] 120 (saurer Ionentauscher) bis zur Neutralisation hinzugegeben. Anschließend wurde das Gemisch vom Ionenaustauscher abgetrennt und dieser mit MeOH (3 \times 5 mL) gewaschen. Nach Vereinigung der organischen Phasen, Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Reinigung mittels präparativer HPLC wurde das Galaktose-Prodrug **121** (154 mg, 314 μ mol, 48% über zwei Stufen) als weißer Feststoff erhalten.

R_f: 0.21 (CH₂Cl₂/MeOH 10:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{25} = -54.4^\circ$ (*c* 0.17, DMSO).

UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 194 nm (4.187), 210 (4.329), 255 (4.707), 262 (4.694), 304 (4.062), 315 (4.116).

IR (KBr): ν [cm⁻¹] = 3287, 1627, 1579, 1470, 1406, 1202, 1118, 1071, 1034, 934, 850, 635, 622.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.56 (quint, *J* = 7.6 Hz, 2 H, 4'-H₂), 1.72 (m_c, 2 H, 3'-H₂), 2.23 (m_c, 2 H, 5'-H₂), 2.45–2.54 (m, 1 H, 2'-H_a), 2.54–2.62 (m, 1 H, 2'-H_b), 2.74 (s, 1 H, 7'-H), 3.46–3.56 (m, 2 H, 3''-H, 6''-H_a), 3.55–3.66 (m, 2 H, 5''-H,

6''-H_b), 3.73–3.82 (m, 2 H, 2''-H, 4''-H), 3.84 (dd, $J = 11.1, 9.1$ Hz, 1 H, 10-H_a), 4.01 (dd, $J = 11.1, 2.7$ Hz, 1 H, 10-H_b), 4.16–4.24 (m_c, 2 H, 1-H, 2-H_a), 4.36 (m_c, 1 H, 2-H_b), 4.51 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, OH), 4.54 (s, 1 H, OH), 4.83 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, OH), 4.93 (d, $J = 7.3$ Hz, 1 H, 1''-H), 5.27 (d, $J = 4.8$ Hz, 1 H, OH), 7.38 (m_c, 1 H, 7-H), 7.54 (m_c, 1 H, 8-H), 7.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 9-H), 8.29 (s_{br}, 1 H, 6-H), 8.30 (s, 1 H, 4-H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 17.5 (C-5'), 23.2 (C-3'), 27.4 (C-4'), 34.5 (C-2'), 40.7 (C-1), 47.6 (C-10), 52.6 (C-2), 59.6 (C-6''), 67.6 (C-2''), 70.4 (C-4''), 71.1 (C-7'), 73.1 (C-3''), 75.1 (C-5''), 84.4 (C-6'), 101.2 (C-4), 101.9 (C-1''), 116.6 (C-5a), 122.5 (2 Signale) (C-9, C-9b), 123.3 (2 Signale) (C-6, C-7), 127.3 (C-8), 129.5 (C-9a), 141.8 (C-3a), 153.8 (C-5), 170.8 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 526.2 (100) [M+Na]⁺, 1029.3 (18) [2M+Na]⁺.

C₂₆H₃₀ClNO₇ (503.97)

ber.: 526.1603

gef.: 526.1599, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch):

Säule:	Kromasil [®] 100 C18, 250 × 4.6 mm, 5 μm	
Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0–15	70/30 → 0/100
	15–22	0/100
	22–23	0/100 → 70/30
	23–230	70/30

Fluss: 0.8 mL min⁻¹

t_R : 15.4 min

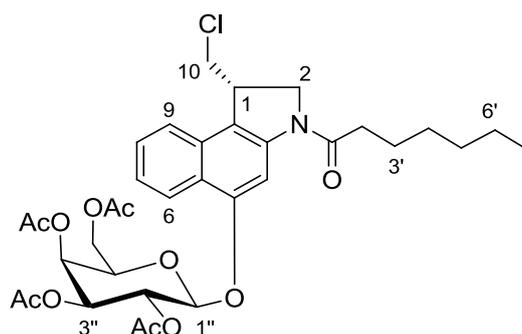
HPLC (präparativ):

Säule:	Kromasil [®] 100 C18, 250 × 20 mm, 7 μm	
Vorsäule:	Kromasil [®] 100 C18, 50 × 20 mm, 5 μm	
Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0–15	70/30 → 0/100
	15–22	0/100
	22–23	0/100 → 70/30
	23–230	70/30

Fluss:	12 mL min ⁻¹
λ :	254 nm
t_R :	10.3 min
Fraktion:	9.5–11.00min
Inj.-Lösung:	Rohprodukt in DMF (3.0 mL, ~0.1 M)
Inj.-Volumen:	0.5 mL

5.2 Synthese des Galaktosid-Prodrugs zu *seco*-Drug 123

5.2.1 [(1*S*)-1-Chlormethyl-3-(heptanoyl)-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol-5yl]-2,3,4,6-tera-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosid (124)



Eine Lösung von Naphthol **67** (213 mg, 639 μ mol, 1.0 Äq.) in absolutem CH₂Cl₂ (25 mL) wurde 1 h bei Raumtemperatur über aktiviertem Molekularsieb (4 Å, 2.0 g) gerührt und danach das Trichloracetimidat **77** (347 mg, 703 μ mol, 1.1 Äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde auf –10 °C gekühlt und langsam eine auf –10 °C vorgekühlte Lösung von BF₃·OEt₂ (45.0 μ L, 320 μ mol, 0.5 Äq.) in absolutem CH₂Cl₂ (4 mL) zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur und 5.5 h Rühren bei dieser Temperatur wurde weiteres BF₃·OEt₂ (205 μ L, 1.62 mmol, 3.0 Äq.) in absolutem CH₂Cl₂ (2.4 mL) bei 0 °C zugegeben und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 13 h Rühren wurde das Reaktionsgemisch vom Molekularsieb abgetrennt. Das Molekularsieb wurde mit CH₂Cl₂ (2 \times 10 mL) gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde 1 h im Vakuum getrocknet und in anschließend DMF (30 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (735 mg, 3.83 mmol, 6.0 Äq.) sowie Heptansäure **70**

(250 mg, 1.92 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Nach 18 h Rühren bei Raumtemperatur wurde Kieselgel (0.5 g) hinzugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 25:1) lieferte das leicht verunreinigte Produkt **124** (545 mg) als hellgelben Feststoff.

R_f: 0.53 (CH₂Cl₂/MeOH 50:1).

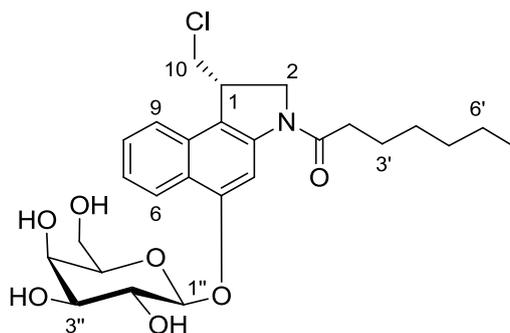
MS (ESI): *m/z* (%) 698.2 (100) [M+Na]⁺, 1373.5 (43) [2M+Na]⁺.

C₃₄H₄₂ClNO₁₁ (676.15)

ber.: 698.2339

gef.: 698.2343, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

5.2.2 (–)-[(1*S*)-1-Chlormethyl-3-(heptanoyl)-1,2-dihydro-3*H*-benz[*e*]indol-5yl]-β-D-galaktopyranosid (**123**)



Zu einer Lösung des acetylgeschützten Prodrugs **124** (423 mg, 639 μmol, 1.0 Äq.) in MeOH (30 mL) wurde NaOMe (240 μL einer 30%igen Lösung in MeOH, 1.31 mmol, 2.0 Äq.) bei 0 °C hinzugegeben und das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 30 min Rühren bei dieser Temperatur trat eine Gelbfärbung auf und nach 2 h wurde die Reaktionslösung mit Wasser (3 mL) verdünnt und Amberlite-IR[®] 120 (saurer Ionenaustauscher) bis zur Neutralisation hinzugegeben. Daraufhin wurde das Gemisch vom Ionenaustauscher abgetrennt und dieser mit MeOH (3 × 5 mL) gewaschen. Nach Vereinigung der organischen Phasen, Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Reinigung mittels präparativer HPLC wurde das Galaktose-Prodrug **123** (190 mg, 385 μmol, 60% über zwei Stufen) als weißer Feststoff erhalten.

R_f: 0.26 (CH₂Cl₂/MeOH 10:1).

Drehwert: [α]_D²³ = –48.5° (*c* 0.24, DMSO).

UV (MeOH): λ_{\max} ($\lg \epsilon$) = 195 nm (4.357), 208 (4.3867), 255 (4.702), 262 (4.691), 304 (4.068), 315 (4.130).

IR (neat): ν [cm^{-1}] = 3164, 1625, 1515, 1471, 1417, 1399, 1072, 1041, 1014, 854, 805, 758.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 3 H, 7'-H₃), 1.27-1.37 (m_c, 4 H, 5'-H₂, 6'-H₂), 1.37 (m_c, 2 H, 4'-H₂), 1.52-1.69 (m, 2 H, 3'-H₂), 2.41-2.61 (m, 2 H, 2'-H₂), 3.46-3.54 (m, 2 H, 3''-H, 6''-H_a), 3.56-3.66 (m, 2 H, 5''-H, 6''-H_b), 3.74-3.82 (m, 2 H, 2''-H, 4''-H), 3.85 (m_c, 1 H, 10-H_a), 4.01 (dd, J = 11.1, 2.8 Hz, 1 H, 10-H_b), 4.15-4.25 (m, 2 H, 1-H, 2-H_a), 4.35 (m_c, 1 H, 2-H_b), 4.52 (d, J = 4.3 Hz, 1 H, OH), 4.55 (s, 1 H, OH), 4.84 (s, 1 H, OH), 4.93 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, 1'-H), 5.28 (d, J = 3.8 Hz, 1 H, OH), 7.38 (m_c, 1 H, 7-H), 7.53 (m_c, 1 H, 8-H), 7.84 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 9-H), 8.29 (s_{br}, 1 H, 6-H), 8.30 (s, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 13.8 (C-7'), 22.0 (C-6'), 24.0 (C-3'), 28.3 (C-4'), 31.1 (C-5'), 35.1 (C-2'), 40.7 (C-1), 47.6 (C-10), 52.6 (C-2), 59.7 (C-6''), 67.6 (C-2''), 70.5 (C-4''), 73.2 (C-3''), 75.2 (C-5''), 101.3 (C-4), 102.0 (C-1''), 116.6 (C-5a), 122.5 (2 Signale) (C-9, C-9b), 123.3 (C-6, C-7), 127.3 (C-8), 129.5 (C-9a), 141.8 (C-3a), 153.8 (C-5a), 171.0 (C=O).

MS (ESI): m/z (%) 530.2 (100) [$\text{M}+\text{Na}$]⁺, 1037.4 (59) [$2\text{M}+\text{Na}$]⁺.

C₂₆H₃₄ClNO₇ (508.00)

ber.: 530.1916

gef.: 530.1907, [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ (ESI-HRMS).

HPLC (analytisch):

Säule:	Kromasil [®] 100 C18, 250 × 4.6 mm, 5 μm	
Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0-15	70/30 → 0/100
	15-22	0/100
	22-23	0/100 → 70/30
	23-230	70/30

Fluss: 0.8 mL min⁻¹

t_{R} : 18.1 min

HPLC (präparativ):

Säule: Kromasil[®] 100 C18, 250 × 20 mm, 7 μm

Vorsäule: Kromasil[®] 100 C18, 50 × 20 mm, 5 μm

Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0–15	70/30 → 0/100
	15–22	0/100
	22–23	0/100 → 70/30
	23–230	70/30

Fluss: 12 mL min⁻¹

λ: 254 nm

t_R: 18.1 min

Fraktion: 17.5–18.5 min

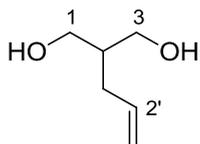
Inj.-Lösung: Rohprodukt in DMF (3.0 mL, ~0.1 M)

Inj.-Volumen: 0.5 mL

6 Syntheserouten zu propargylierten Linkern

6.1 Syntheseroute B

6.1.1 2-Allylpropan-1,3-diol (**128**)



In einem Kolben wurde LiAlH_4 (1.40 g, 37.5 mmol, 1.5 Äq.) in Et_2O (40 mL) bei 0 °C vorgelegt und der kommerziell erhältliche 2-Allylmalonsäurediethylester **84** (5.00 g, 25.0 mmol, 1.0 Äq.) in Et_2O (10 mL) via Spritzenpumpe zugetropft. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch 1 h bei 0 °C gerührt und dann auf Raumtemperatur erwärmt. Nach weiteren 14 h wurde die Lösung erneut auf 0 °C gekühlt und die Reaktion durch Zugabe von Wasser (15 mL) beendet. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3 × 50 mL) extrahiert. Nach Codestillation mit CHCl_3 (3 × 50 mL) wurde das Diol **128** (2.85 g, 24.5 mmol, 98%) als gelbes Öl erhalten.

$R_f = 0.05$ (Petrolether/EtOAc 5:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.02 (t, $J = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H₂), 3.03 (s_{br}, 2 H, OH), 3.56–3.66 (m, 2 H, 1-H_a, 3-H_a), 3.75 (dd, $J = 10.7, 4.0$ Hz, 2 H, 1-H_b, 3-H_b), 4.97–5.08 (m, 2 H, 3'-H₂), 5.76 (m_c, 1 H, 2'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 32.5 (C-1'), 41.7 (C-2), 65.4 (C-1, C-3), 116.5 (C-3'), 136.1 (C-2').

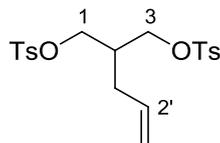
MS (ESI): m/z (%) 139.1 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 255.2 (78) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$ (116.16)

ber.: 139.0730

gef.: 139.0733, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

6.1.2 Bis(toluolsulfonsäure)-(2-allylpropan-1,3-diyl)diester (**129**)



Zu einer Lösung von Diol **128** (2.78 g, 24.0 mmol, 1.0 Äq.) in CHCl_3 (10 mL) wurden bei 0 °C Pyridin (5.70 g, 72.0 mmol, 3.0 Äq.) sowie Tosylchlorid (11.4 g, 60.0 mmol, 2.5 Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 14 h bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit EtOAc (20 mL) sowie gesättigter NaCl-Lösung (70 mL) verdünnt. Nach Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3×50 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 5:1) wurde das Bistosylat **129** (5.80 g, 13.7 mmol, 57%) als blassgelbliches Öl isoliert.

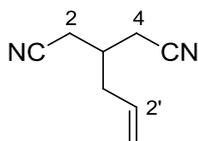
$R_f = 0.48$ (Petrolether/EtOAc 2:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.95–2.03 (m, 3 H, 2-H, 1'-H₂), 2.43 (s, 6 H, 2 \times CH₃), 3.56–3.66 (m, 2 H, 1-H_a, 3-H_a), 3.75 (dd, $J = 10.7, 4.0$ Hz, 2 H, 1-H_b, 3-H_b), 4.97–5.08 (m, 2 H, 3'-H₂), 5.76 (m_c, 1 H, 2'-H), 7.32 (d, $J = 8.2$ Hz, 4 \times Ph-H_m), 7.71 (d, $J = 8.2$ Hz, 4 \times Ph-H_o).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 21.7 (2 \times CH₃), 31.5 (C-1'), 37.7 (C-2), 68.4 (C-1, C-3), 118.4 (C-3'), 127.8 (4 \times Ph-C_o), 129.8 (4 \times Ph-C_m), 132.4 (C-2'), 133.4 (4 \times Ph-C_p), 144.9 (2 \times Ph-C_i).

$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{S}_2$ (424.53).

6.1.3 3-Allylpentan-1,5-dinitril (**130**)



Das Bistosylat **129** (5.56 g, 13.1 mmol, 1.0 Äq.) wurde in DMF (70 mL) aufgenommen und mit NaCN (2.60 g, 53.01 mol, 4.0 Äq.) versetzt. Das

Reaktionsgemisch wurde 24 h bei 170 °C unter Rückfluss erhitzt und die Reaktionlösung nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit EtOAc (50 mL) sowie Wasser (50 mL) verdünnt. Nach Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit EtOAc (3 × 80 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether /EtOAc 5:1) lieferte das Dinitril **130** (1.44 g, 730 μmol, 82%) als farbloses Öl.

$R_f = 0.27$ (Petrolether/EtOAc 3:1).

IR: ν [cm⁻¹] = 2248, 1642, 1443, 1423, 998, 924, 651, 623.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.13–2.22 (m, 1 H, 3-H), 2.24–2.32 (m, 2 H, 1'-H₂), 2.48 (dd, $J = 17.2, 6.2$ Hz, 1-H_a, 3-H_a), 2.56 (dd, $J = 17.1, 6.0$ Hz, 1-H_b, 3-H_b), 5.13–5.23 (m, 2 H, 3'-H₂), 5.58–5.75 (m, 1 H, 2'-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 21.2 (C-2, C-4), 32.4 (C-3), 37.0 (C-1'), 116.8 (C-3'), 119.8 (2 × CN), 132.5 (C-2').

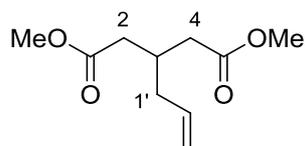
MS (ESI): m/z (%) 94.1 (100) [M-CH₂CN]⁻.

C₈H₁₀N₂ (134.18)

ber.: 94.0657

gef.: 94.0651, [M-CH₂CN]⁻ (ESI-HRMS).

6.1.4 3-Allylglutarsäuredimethylester (**83**)



Zu einer Lösung des Dinitrils **130** (1.40 g, 10.4 μmol, 1.0 Äq.) in MeOH (20 mL) wurde TsOH·H₂O (5.95 g, 31.3 μmol, 30.0 Äq.) gegeben und das Gemisch 3 d unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionlösung mit EtOAc (30 mL) verdünnt und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (30 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (2 × 30 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Die Zielverbindung **83** (1.69 g, 8.42 μmol, 81%) konnte nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether /EtOAc 1:7) als farblose Flüssigkeit erhalten werden.

$R_f = 0.34$ (Petrolether/EtOAc 1:7).

IR (neat): ν [cm^{-1}] = 1732, 1436, 1153, 995, 917.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.07–2.14 (m, 2 H, 1'-H₂), 2.28–2.46 (m, 5 H, 2-H₂, 3-H, 4-H₂), 3.64 (s, 6 H, 2 × OCH₃), 4.98–5.06 (m, 1 H, 3'-H₂), 5.62–5.81 (m, 1 H, 2'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 31.7 (C-3), 37.9 (C-2, C-4), 38.3 (C-1'), 51.5 (2 × OCH₃), 117.6 (C-3'), 135.2 (C-2'), 171.7 (2 × C=O).

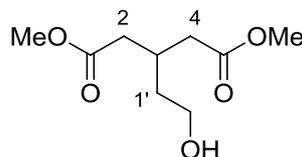
MS (ESI): m/z (%) 223.1 (32) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 423.2 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (200.23)

ber.: 223.0941

gef.: 223.0943, $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ESI-HRMS).

6.1.5 Dimethyl-3-(2-hydroxyethyl)pentanedioat (131)



Der Ester **83** (472 g, 2.35 mmol, 1.0 Äq.) wurde in CH_2Cl_2 (10 mL, mit 10% MeOH) gelöst und auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. In die entgaste Lösung wurde so lange Ozon geleitet, bis eine leichte Blaufärbung beobachtet werden konnte und durch Zugabe von PPh_3 (803 mg, 3.06 mmol, 1.3 Äq.) wurde die Reaktion beendet. Das Reaktionsgemisch wurde über 18 h auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend wurde die Lösung mit MeOH (10 mL) verdünnt sowie erneut auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt, NaBH_4 (88.9 mg, 2.35 mmol, 1.0 Äq.) hinzugegeben und 45 min bei gleicher Temperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung (10 mL) beendet, die Phasen getrennt und daraufhin die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 ($3 \times 20\text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung (30 mL) gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether /EtOAc 2:1) wurde der Hydroxyester **131** (343 mg, 1.78 mmol, 72%) als gelbes Öl erhalten.

$R_f = 0.39$ (Petrolether/EtOAc 5:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.59 (m_c , 2 H, 1'-H₂), 2.28–2.46 (m, 4 H, 2-H₂, 4-H₂), 3.61–3.68 (m, 2 H, 1'-H₂), 3.64 (s, 6 H, 2 \times OCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 28.8 (C-3), 37.0 (C-1'), 38.5 (C-2, C-4), 51.7 (2 \times OCH₃), 60.2 (C-2'), 172.9 (2 \times C=O).

MS (ESI): m/z (%) 205.1 (5) [M+H]⁺, 227.1 (9) [M+Na]⁺, 431.2 (100) [2M+Na]⁺.

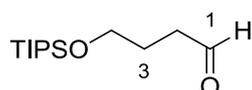
C₉H₁₆O₅ (204.22)

ber.: 205.1071

gef.: 205.1076, [M+H]⁺ (ESI-HRMS).

6.2 Syntheseroute C

6.2.1 4-(Trisisopropylsilyloxy)butanal (135)



Zu einer auf -78 °C gekühlten Lösung von Dimethylsulfoxid (33.9 mL, 477 mmol, 3.2 Äq.) in Dichlormethan (100 mL) wurde eine -78 °C kalte Lösung von Oxalyldichlorid (21.0 mL, 240 mmol, 1.6 Äq.) in Dichlormethan (200 mL) gegeben. Nach 30 min wurde bei -78 °C eine Lösung von 4-(Trisisopropylsilyloxy)butanol **134** (36.8 g, 149 mmol, 1.0 Äq.) in CH_2Cl_2 (300 mL) langsam hinzugefügt. Nach weiteren 90 min bei -78 °C wurde zum Reaktionsgemisch langsam Triethylamin (82.8 mL, 597 mmol, 4.0 Äq.) zugetropft. Nach weiteren 5 min Rühren bei -78 °C und 30 min bei Raumtemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser (200 mL) beendet. Anschließend wurde nach der Phasentrennung die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3 \times 200 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung (200 mL) gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether/Essigester 10:1) lieferte den Aldehyd **135** (8.08 g, 131 mmol, 88%) als gelbes Öl.

R_f = 0.27 (Petrolether/EtOAc 5:1).

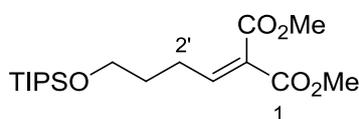
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.01–1.03 (m, 21 H, Si(CH(CH₃)₂)₃), 1.84 (tt, J = 7.1, 5.9 Hz, 2 H, 3-H₂), 2.51 (dt, J = 7.1, 1.7 Hz, 2 H, 2-H₂), 3.70 (t, J = 5.9 Hz, 2 H, 4-H₂), 9.76 (t, J = 1.7 Hz, 1 H, 1-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 11.9 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2)_3$), 17.7 ($\text{Si}(\text{C}\underline{\text{H}}(\text{CH}_3)_2)_3$), 25.6 (C-3), 40.7 (C-2), 62.3 (C-4), 202.73 (C-1).

MS (ESI): m/z (%) 575.4 (100) $[2\text{M}+\text{Na}+2 \text{ MeOH}]^+$, 543.4 (13) $[2\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$, 299.2 (41) $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$, 267.2 (26) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 245.2 (12) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{Si}$ (244.45).

6.2.2 2-(4-((Triisopropylsilyloxy)butyliden)malonsäuredimethylester (87)



Zu einer Lösung von 4-(Trisisopropylsilyloxy)butanal **135** (5.01 g, 20.5 mmol, 1.0 Äq.) in CH_2Cl_2 (25 mL) wurde bei 0 °C Malonsäuredimethylester **136** (2.56 mL, 22.4 mmol, 1.1 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min gerührt und anschließend sukzessiv mit Essigsäure ($3 \times 116 \mu\text{L}$, 10 mol%) und Piperidin ($3 \times 202 \mu\text{L}$, 10 mol%) zugefügt und jeweils eine Stunde bei 0 °C gerührt. Nach 1 h Rühren des Reaktionsgemisches bei Raumtemperatur wurde H_2O (15 mL) zugegeben und nach der Phasentrennung die wässrige Phase mit EtOAc ($3 \times 15 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H_2O (15 mL), 1 M HCl (15 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen. Nach Trocknen der vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 20:1) konnte der Diester **87** (4.50 g, 12.5 mmol, 61 %) als gelbliches Öl erhalten werden.

$R_f = 0.60$ (Petrolether/EtOAc 5:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.01–1.02 (m, 21 H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2)_3$), 1.59–1.76 (m, 2 H, 3'- H_2), 2.34 (q, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2 H, 2'- H_2), 3.69 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2 H, 4'- H_2), 3.74 (s, 3 H, OCH_3), 3.79 (s, 3 H, OCH_3), 7.07 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1 H, 1'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 11.9 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2)_3$), 17.7 ($\text{Si}(\text{C}\underline{\text{H}}(\text{CH}_3)_2)_3$), 26.8 (C-2'), 31.6 (C-3'), 52.2 (OCH_3), 52.3 (OCH_3), 62.5 (C-4'), 127.9 (C-2), 150.5 (C-1'), 164.4 (C=O), 165.9 (C=O).

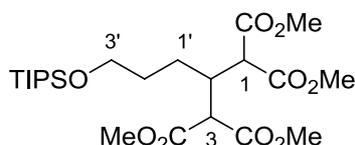
MS (ESI): m/z (%) 771.5 (10) $[2M+Na+MeOH]^+$, 739.5 (100) $[2M+Na]^+$, 381.2 (53) $[M+Na]^+$, 359.2 (9) $[M+H]^+$.

C₂₃H₄₂O₉Si (358.55)

ber.: 381.2068

gef.: 381.2071 $[M+Na]^+$ (ESI-HRMS).

6.2.3 2,4-Bis(methoxycarbonyl)-3-((3-(triisopropylsilyl)oxy)propyl)glutarsäuredimethylester (**86**)



Zu einer Lösung von 2-(4-((Triisopropylsilyl)oxy)butyliden)malonsäuredimethylester **87** (3.36 g, 9.42 mmol, 1.0 Äq.) und Malonsäuredimethylester **136** (10.8 mL, 94.2 mmol, 10.0 Äq.) in CH_2Cl_2 (20 mL) wurde langsam Piperidin (933 μ L, 9.42 mmol, 1.0 Äq.) hinzugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck eingedunstet, mit Diethylether (3×10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (10 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen. Nach Trocknen der vereinigten organischen Phasen über $MgSO_4$ und anschließende säulenchromatographische Aufreinigung an Kieselgel (Petrolether/Essigester 10:1) ergab den Tetramethylester **86** (2.64 g, 5.37 mmol, 57%) als farbloses Öl.

$R_f = 0.25$ (Petrolether/EtOAc 4:1).

¹H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 1.03–1.04 (m, 21 H, $Si(CH_2(CH_3)_2)_3$), 1.50–1.65 (m, 4 H, 1'-H₂, 2'-H₂), 2.91–2.97 (m, 1 H, 2-H), 3.63 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, 3'-H), 3.72 (s, 12 H, $4 \times OCH_3$), 3.80 (d, $J = 6.1$ Hz, 2 H, 1-H, 3-H).

¹³C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 11.9 ($Si(CH_2(CH_3)_2)_3$), 18.0 ($Si(CH_2(CH_3)_2)_3$), 26.7 (C-1'), 31.2 (C-2'), 37.9 (C-2), 52.4 ($2 \times OCH_3$), 52.5 ($2 \times OCH_3$), 53.0 (C-1, C-3), 63.1 (C-3'), 168.8 ($2 \times C=O$), 168.9 ($2 \times C=O$).

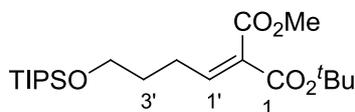
MS (ESI): m/z (%) 1003.6 (100) $[2M+Na]^+$, 513.3 (84) $[M+Na]^+$.

C₂₃H₄₂O₉Si (490.66)

ber.: 513.2496

gef.: 513.2490, $[M+Na]^+$ (ESI-HRMS).

6.2.4 (*E*)-2-(4-((Trispropylsilyl)oxy)butyliden)malonsäure-*tert*-butylmethylester (**138**)



Zu einer Lösung von 4-(Trispropylsilyloxy)butanal **135** (4.94 g, 20.2 mmol, 1.0 Äq.) in CH₂Cl₂ (25 mL) wurde bei 0 °C *tert*-Butylmethylmalonat **137** (3.87 g, 22.2 mmol, 1.1 Äq.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde nach 10 min gerührt und anschließend sukzessiv mit Essigsäure (3 × 121 mg, 10 mol%) und Piperidin (3 × 172 mg, 10 mol%) versetzt und jeweils 1 h bei 0 °C gerührt. Nach 18 h Rühren des Reaktionsgemisches bei Raumtemperatur wurde H₂O (15 mL) zugegeben und nach der Phasentrennung die wässrige Phase mit EtOAc (3 × 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H₂O (15 mL), 1 M HCl (15 mL) und gesättigter NaCl Lösung (15 mL) gewaschen. Nach Trocknen der vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und säulenchromatographischer Reinigung (Petrolether/EtOAc 20:1) konnte der gemischten Diester **138** (5.25 g, 13.1 mmol, 65%) als gelbliches Öl erhalten werden.

$R_f = 0.46$ (Petrolether/EtOAc 5:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.98–1.06 (m, 21 H, Si(CH(CH₃)₂)₃), 1.39–1.47 (m, 2 H, 3'-H₂), 1.50 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 1.63–1.74 (m, 2 H, 2'-H₂), 3.61–3.78 (m, 5 H, 4-H₂, OCH₃), 6.87–6.99 (m, 1 H, 1'-H).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.01–1.02 (m, 21 H, Si(CH(CH₃)₂)₃), 1.59–1.76 (m, 2 H, 3'-H₂), 2.34 (q, $J = 7.5$ Hz, 2 H, 2'-H₂), 3.69 (t, $J = 6.0$ Hz, 2 H, 4'-H₂), 3.74 (s, 3 H, OCH₃), 3.79 (s, 3 H, OCH₃), 7.07 (t, $J = 7.8$ Hz, 1 H, 1'-H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 11.9 (Si(CH(CH₃)₂)₃), 17.7 (Si(CH(CH₃)₂)₃), 26.4 (C-2'), 30.0 (C(CH₃)), 31.7 (C-3'), 52.1 (OCH₃), 62.7 (C-4'), 83.1 (C(CH₃)), 129.5 (C-1'), 147.9 (C-2), 164.7 (C=O).

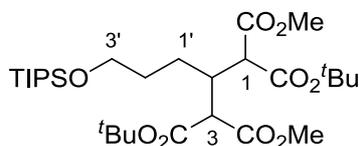
MS (ESI): m/z (%) 423.3 (41) [M+Na]⁺, 823.5 (100) [2M+Na]⁺.

C₂₁H₄₀O₅Si (400.62)

ber.: 423.2537

gef.: 3423.2541, [M-H]⁻ (ESI-HRMS).

6.2.5 2,4-Bis(methoxycarbonyl)-3-((3-(triisopropylsilyl)oxy)propyl)glutarsäure-bis(*tert*-butylester) (**139**)



Zu einer Suspension von NaH (12.0 mg, 60%ige Suspension in Mineralöl, 50.0 μmol , 0.2 Äq.) in THF (15 mL) wurde nach 30 min rühren Malonsäure-*tert*-butylmethylester **137** (64.5 mL, 370 mmol, 1.0 Äq.) bei 0 °C langsam hinzugeetropt und erneut 30 min gerührt. Anschließend wurde eine Lösung des gemischten Esters **138** (100 mg, 251 μmol , 1.0 Äq.) in (15 mL) THF (10 mL) bei Raumtemperatur hinzugegeben und daraufhin bei 70 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach 3 h wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und gesättigte NaCl-Lösung (35 mL) hinzugegeben. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3 \times 30 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Petrolether/Essigester 10:1) wurde der Ester **139** (97.6 mg, 171 μmol , 68%) als farbloses Öl erhalten.

$R_f = 0.73$ (Petrolether/EtOAc 5:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.00–1.03 (m, 21 H, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2)_3$), 1.43 (s, 18 H, $2 \times \text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 1.50–1.65 (m, 4 H, 1'- H_2 , 2'- H_2), 2.82 (m_c , 1 H, 2-H), 3.56–3.62 (m, 2-H, 4-H, 3'- H_2), 3.68 (s, 6 H, $2 \times \text{OCH}_3$), 3.69 (s, 2 H, 1-H, 3-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 11.9 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2)_3$), 17.9 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2)_3$), 26.6 (C-1'), 27.8 ($2 \times \text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 31.6 (C-2'), 37.6 (C-2), 52.1 ($2 \times \text{OCH}_3$), 54.6 (C-1, C-3), 63.4 (C-3'), 81.1 ($2 \times \underline{\text{C}}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 167.3 (C=O), 167.5 (C=O), 169.3 (C=O), 169.4 (C=O).

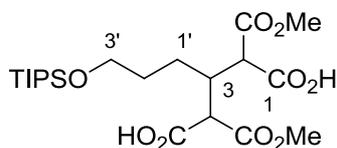
MS (ESI): m/z (%) 597.4 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1171.7 (9) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$\text{C}_{29}\text{H}_{54}\text{O}_9\text{Si}$ (574.82).

ber.: 597.3429

gef.: 597.34200, $[\text{M}-\text{H}]^-$ (ESI-HRMS).

6.2.6 2,4-Bis(methoxycarbonyl)-3-((3-(triisopropylsilyl)oxy)propyl)glutarsäure (**140**)



Der Ester **139** (45.0 mg, 78 μmol , 1.0 Äq.) wurde in abs. CH_2Cl_2 (2 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde TFA (1 mL) hinzugegeben und nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Ohne weitere Aufreinigung wurde die freie Säure **140** (26.9 g, 58 μmol , 75%) erhalten.

$R_f = 0.13$ ($\text{CH}_3\text{Cl}/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 7:2:1).

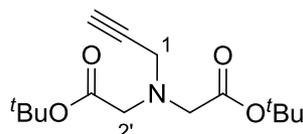
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.02–1.12 (m, 21 H, $\text{Si}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_3$), 1.49–1.86 (m, 4 H, 1'- H_2 , 2'- H_2), 1.73–1.85 (m, 2 H, 3'- H_2), 2.79–2.87 (m, 1 H, 3-H), 2.82 (m_c , 2 H, 2-H, 4-H), 3.69–3.72 (m, 2 H, 3'- H_2), 3.71 (s, 6 H, 2 \times OCH_3), 4.33 (m_c , 2 H, 3'- H_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 11.6 ($\text{Si}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_3$), 16.8 ($\text{Si}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_3$), 25.7 (C-1'), 26.6 (C-2'), 36.8 (C-3), 51.5 (2 \times OCH_3), 54.6 (C-2, C-4), 67.7 (C-3'), 169.3 (C=O), 169.4 (C=O), 169.9 (C=O), 170.0 (C=O).

$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_9\text{Si}$ (462.61).

6.3 Synthese des Aminpropargyllinkers **89**

6.3.1 Propargylamindiessigsäure-*tert*-butylester (**142**)



Propargylamin **91** wurde (0.58 g, 10.6 mmol, 1.0 Äq.) in MeCN (30 mL) gelöst und mit K_2CO_3 (1.75 g, 12.7 mmol, 1.1 Äq.) versetzt. Nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wurde Bromessigsäure-*tert*-Butylester **90** (4.12 g, 21.1 mmol,

2.0 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch 24 h bei 90 °C unter Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde gesättigte NaCl-Lösung (30 mL) zugegeben und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (2 × 30 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Petrolether/EtOAc 20:1→10:1) wurde der *tert*-Butylester **142** (2.30 g, 8.10 mmol, 76%) wurde als gelbes Öl erhalten.

R_f = 0.25 (Petrolether/EtOAc 10:1).

UV (CH₃CN): λ_{max} (lg ε) = 193 nm (0.135645).

IR: ν [cm⁻¹] = 2978, 1740, 1727, 1367, 1217, 1135, 990, 851, 837, 753.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.42 (s, 18 H, C(CH₃)₃), 2.20 (t, *J* = 2.4 Hz, 1 H, 3-H), 3.39 (s, 4 H, 2 × 2'-H₂), 3.62 (d, *J* = 2.4 Hz, 2 H, 1-H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.1 (2 × C(CH₃)₃), 43.0 (C-1), 54.9 (2 × C-2'), 73.3 (C-3), 78.7 (C-2), 81.1 (2 × C(CH₃)₃), 169.5 (2 × C=O).

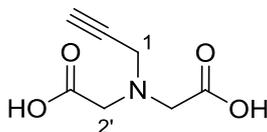
MS (ESI): *m/z* (%) 284.2 (25) [M+H]⁺, 306.2 (19) [M+Na]⁺, 589.4 (100) [2M+Na]⁺.

C₁₅H₂₅O₄ (283.36)

ber.: 306.1679

gef.: 306.1678, [M+Na]⁺ (ESI-HRMS).

6.3.2 Propargylamindiessigsäure (**89**)



Der *tert*-Butylester **142** (143 mg, 503 μmol, 1.0 Äq.) wurde in CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit konz. HCl (2 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 18 h gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck sowie durch Lyophilisation entfernt. Die freie Disäure **89** wurde als weißer Feststoff isoliert (94.8 mg, 417 μmol, 83%).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.57 (s, 1 H, 3''-H), 3.83 (s, 4 H, 2-H, 2'-H₂), 3.95 (d, *J* = 2.2 Hz, 1'-H), 5.50 (s_{br}, 2 H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 43.5 (C-1), 53.3 ($2 \times$ C-2'), 75.3 (C-3), 79.3 (C-2), 168.64 ($2 \times$ C=O).

MS (ESI): m/z (%) 172.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 194.1 (18) $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

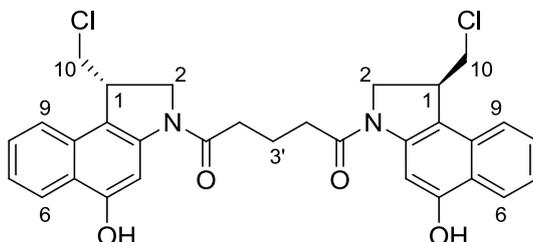
$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_4$ (171.15)

ber.: 172.0604

gef.: 172.0605, $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ESI-HRMS).

7 Synthese der dimeren *seco*-CBI-Drugs **66** und **143**

7.1 (-)-1,5-{Bis[(*S*)-1-(Chloromethyl)-5-hydroxy-1,2-dihydro-3*H*-benzo[*e*]indol-3-yl]pentan-1,5-dion} (**66**)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (25.3 mg, 75.8 μmol , 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (2 mL) 2 h bei Raumtemperatur gerührt und im Anschluss das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Trocknung am Hochvakuum für 1 h wurde der Niederschlag in DMF (3 mL) aufgenommen, die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit Glutaryldichlorid (6.4 mg, 37.9 μmol , 0.5 Äq.) sowie Pyridin (12.0 mg, 152 μmol , 2.0 Äq.) versetzt. Nach 1 h Rühren bei dieser Temperatur wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend für 17 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1) sowie Umkristallisation aus DMF/MeOH oder Aufreinigung mittels präp. HPLC an der Umkehrphase lieferte das *seco*-Drug **66** (15.0 mg, 26.6 μmol , 70%) als weißen Feststoff.

R_f: 0.32 (PE/EtOAc 4:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -32.7^\circ$ (*c* 0.26, DMSO).

UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 204.5 nm (4.550), 222.5 (4.406), 256.5 (4.909), 264.5 (4.921), 319.0 (4.332).

IR (KBr): ν [cm^{-1}] = 3122, 2926, 1633, 1584, 1522, 1459, 1426, 1394, 1253, 1131, 1075, 1024, 857, 756, 717.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.98 (*m_c*, 2 H, 3'-H₂), 2.53–2.55 (*m*, 2 H, 2'-H_a, 4'-H_a), 2.67–2.75 (*m*, 2 H, 2'-H_b, 4'-H_b), 3.79 (*dd*, *J* = 10.8, 8.2 Hz, 2 H, 2 × 10-H_a), 3.99 (*dd*, *J* = 11.0, 2.9 Hz, 2 H, 2 × 10-H_b), 4.12–4.22 (*m*, 4 H, 2 × 1-H, 2 × 2-H_a), 4.34 (*m_c*, 2 H, 2 × 2-H_b), 7.32 (*m_c*, 2 H, 2 × 7-H), 7.49 (*m_c*, 2 H, 2 × 8-H),

7.78 (d, $J = 8.2$ Hz, 2 H, 2 \times 9-H), 8.02 (s, 2 H, 2 \times 4-H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 2 H, 2 \times 6-H), 10.31 (s_{br} , 2 H, 2 \times OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 19.3 (C-3'), 34.4 (C-2', C-4'), 40.7 (2 \times C-1), 47.6 (2 \times C-10), 52.6 (2 \times C-2), 99.7 (2 \times C-4), 113.5 (2 \times C-5a), 121.4 (2 \times C-9b), 122.3 (2 \times C-9), 122.4 (2 \times C-7), 122.9 (2 \times C-6), 126.9 (2 \times C-8), 129.7 (2 \times C-9a), 141.8 (2 \times C-3a), 154.0 (2 \times C 5), 170.4 (2 \times C=O).

MS (ESI): m/z (%) 585.2 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (100).

$\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$ (563.47)

ber.: 585.1318

gef.: 585.1303, [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ESI-HRMS).

HPLC (präparativ):

Säule: Kromasil[®] 100 C18, 250 \times 20 mm, 7 μm

Vorsäule: Kromasil[®] 100 C18, 50 \times 20 mm, 5 μm

Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0–6	30/70 \rightarrow 0/100
	6–9.5	0/100
	9.5–10	0/100 \rightarrow 30/70
	10–15	30/70

Fluss: 12 mL min $^{-1}$

λ : 254 nm

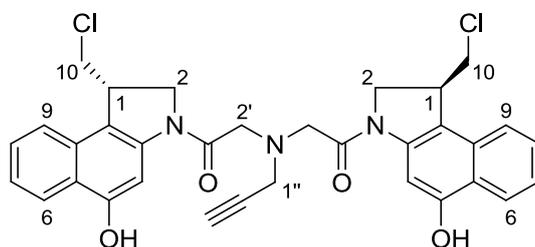
t_R : 8.4 min

Fraktion: 7.5–9.5 min

Inj.-Lösung: Rohprodukt in DMF (2.0 mL, \sim 0.05 M)

Inj.-Volumen: 0.5 mL

7.2 1,5-Bis[(S)-1-(Chloromethyl)-5-hydroxy-1,2-dihydro-3H-benzo[e]indol-3-yl)-2,2-(prop-2-in-1-ylazandiyl)diethan-1-on (143)



Das Boc-geschützte Naphthol **67** (216 mg, 647 μmol , 1.0 Äq.) wurde in 4 M HCl/EtOAc (18 mL) 3 h bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand nach Trocknung am Hochvakuum für 1 h getrocknet und anschließend in DMF (15 mL) aufgenommen. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt und mit EDC·HCl (1.49 g, 7.77 mmol, 12.0 Äq.) sowie der Disäure **89** (55.4 mg, 321 μmol , 0.5 Äq.) versetzt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 18 h Rühren bei dieser Temperatur wurde Kieselgel (0.5 g) hinzugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Anschließende säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1) sowie mittels präparativer HPLC an der Umkehrphase ergab das *seco*-Drug **143** (60.2 mg, 100 μmol , 31%) als weißen Feststoff.

R_f: 0.35 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3.22 (t, J = 2.1 Hz, 1 H, 3''-H), 3.69–3.82 (m, 8 H, 2 \times 2'-H₂, 2 \times 10-H_a, 1''-H₂), 3.96 (dd, J = 11.0, 2.9 Hz, 2 H, 2 \times 10-H_b), 4.15 (m_c, 2 H, 2 \times 1-H), 4.30 (dd, J = 10.4, 2.0 Hz 2 H, 2 \times 2-H_a), 4.36 (m_c, 2 H, 2 \times 2-H_b), 7.32 (m_c, 2 H, 2 \times 7-H), 7.49 (m_c, 2 H, 2 \times 8-H), 7.78 (d, J = 8.4 Hz, 2 H, 2 \times 9-H), 7.99 (s, 2 H, 2 \times 4-H), 8.09 (d, J = 8.4 Hz, 2 H, 2 \times 6-H), 10.33 (s_{br}, 2 H, 2 \times OH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 41.0 (2 \times C-1), 42.6 (C-1''), 47.5 (2 \times C-10), 52.1 (2 \times C 2), 56.2 (C-2', C-4'), 76.1 (C-3''), 79.3 (C-2''), 99.8 (2 \times C-4), 113.8 (2 \times C-5a), 121.8 (2 \times C-9b), 122.5 (2 \times C-9), 122.7 (2 \times C-7), 123.0 (2 \times C-6), 127.2 (2 \times C-8), 129.8 (2 \times C-9a), 141.9 (2 \times C-3a), 154.2 (2 \times C-5), 167.8 (2 \times C=O).

MS (ESI): m/z (%) 602.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1205.3 (16) $[2\text{M}+\text{H}]^+$ (3 \times ³⁵Cl, 1 \times ³⁷Cl).

C₃₃H₂₉Cl₂N₃O₄ (602.51)

ber.: 602.1608

gef.: 602.1581, [M+H]⁺ (ESI-HRMS).**HPLC** (analytisch):Säule: Kromasil[®] 100 C18, 250 × 4.6 mm, 5 μm

Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0–6	30/70 → 0/100
	6–9.5	0/100
	9.5–10	0/100 → 30/70
	10–15	30/70

Fluss: 0.8 mL min⁻¹*t_R*: 10.2 min**HPLC** (präparativ):Säule: Kromasil[®] 100 C18, 250 × 20 mm, 7 μmVorsäule: Kromasil[®] 100 C18, 50 × 20 mm, 5 μm

Gradient:	Zeit [min]	H ₂ O/MeOH
	0–6	30/70 → 0/100
	6–9.5	0/100
	9.5–10	0/100 → 30/70
	10–15	30/70

Fluss: 12 mL min⁻¹

λ: 254 nm

t_R: 10.30 min

Fraktion: 9.5–11.0 min

Inj.-Lösung: Rohprodukt in DMF (3.0 mL, ~0.05 M)

Inj.-Volumen: 0.5 mL

E. ANHANG

1 *In-vitro*-Zytotoxizitätstests

Die Zytotoxizität der synthetisierten *seco*-Drugs und Prodrugs wurde mit Hilfe des HTCFA-Assays an humanen Bronchialkarzinomzellen der Linie A549 bestimmt. Angegeben sind die aus mindestens drei voneinander unabhängig durchgeführten Experimenten gemittelten relativen Klonbildungsraten (Kapitel B 5.1). Wurden die Ergebnisse aus weniger Experimenten bestimmt, so sind diese als vorläufig gekennzeichnet.

Die Untersuchungen wurden von *Dr. I. Schubert*, *A. Rübeling* und *A. Herdlitschke* in der Abteilung für Zellkultur des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen durchgeführt.

1.1 Ergebnisse für die *seco*-Alkinfettsäure-CBI-Drugs 109-112

1.1.1 *seco*-Drug 109

Konzentration	rel. Klonbildungsrate
[nM]	[%]
0	100
0.035	99.1
0.35	93.4
0.88	88.3
1.75	70.7
3.5	40.1
8.75	4.7
14.0	0.7
17.5	0.2

$IC_{50} = 2.7 \text{ nM}$

1.1.2 *seco*-Drug 110

Konzentration	rel. Klonbildungsrate
[nM]	[%]
0	100
0.31	101.5
1.53	100.3
3.05	80.2
6.1	43.9
9.15	22.3
12.2	7.6
15.25	2.2
18.3	0.6
21.35	0.2

$IC_{50} = 5.3 \text{ nM}$

1.1.3 *seco*-Drug 111

Konzentration	rel. Klonbildungsrate
[nM]	[%]
0	100
0.0029	102.1
0.015	95.1
0.022	92.1
0.029	83.4
0.073	50.7
0.146	18.8
0.22	9.3
0.29	5.3
0.73	0.3

IC50 = 71 pm

1.1.4 *seco-Drug 112*

Konzentration rel. Klonbildungsrate	
[nM]	[%]
0	100
0.13	105.8
0.26	100.0
0.65	89.5
1.3	61.8
1.95	36.7
2.6	25.9
5.21	6.3
7.81	1.0
13.02	0.0

$IC_{50} = 1.6 \text{ nM}$

1.2 Ergebnisse für die *seco*-Alkanfettsäure-CBI-Drugs 113-115

1.2.1 *seco*-Drug 113

Konzentration [nM]	rel. Klonbildungsrate [%]
0	100
0.345	95.2
1.73	91.1
3.45	84.5
5.177	74.9
8.63	46.7
17.26	15.4
25.88	4.3
34.51	0.7

IC₅₀ = 8.1 nM

1.2.2 *seco*-Drug 114

Konzentration	rel. Klonbildungsrate
[nM]	[%]
0	100
3.01	101.5
9.04	80.3
15.07	62.8
24.11	31.5
30.14	16.5
36.16	8.3
45.2	1.9
51.23	0.9
60.27	0.0

IC₅₀ = 17.5 nM

1.2.3 *seco-Drug 115*

Konzentration [nM]	rel. Klonbildungsrate [%]
0	100
0.289	99.5
0.72	88.4
1.45	70.2
2.17	52.6
2.89	40.3
4.34	26.7
5.78	16.8
8.67	4.3
11.57	12.0
14.46	0.3
17.35	0.0

$IC_{50} = 2.7 \text{ pM}$

1.3 Ergebnisse für die *seco*-Fettsäure-CBI-Prodrugs 121 und 123

1.3.1 Heptin-Gal-Prodrug 121

ohne β -D-Galaktosidase		mit β -D-Galaktosidase (0.4 U mL ⁻¹)	
Konzentration	rel. Klonbildungsrate	Konzentration	rel. Klonbildungsrate
[nM]	[%]	[nM]	[%]
0	100	0	100
1.98	87.6	0.50	105.4
4.96	66.0	0.99	95.1
9.92	37.6	1.98	89.0
14.88	13.3	4.96	53.5
19.84	12.1	9.92	21.5
39.68	0.5	14.88	2.5
59.53	0.0	19.84	0.2
IC ₅₀ = 7.3 nM		IC ₅₀ = 5.3 nM	
QIC₅₀ = 1.4			

1.3.2 Heptan-Gal-Prodrug 123

ohne β -D-Galaktosidase		mit β -D-Galaktosidase (0.4 U mL ⁻¹)	
Konzentration [nM]	rel. Klonbildungsrate [%]	Konzentration [nM]	rel. Klonbildungsrate [%]
0	100	0	100
0.20	68.4	0.20	104.3
0.98	61.7	0.98	70.5
1.48	30.9	1.48	58.3
1.97	29.0	1.97	37.3
2.95	20.4	2.95	16.9
3.94	9.0	3.94	8.9
5.91	1.8	5.91	2.1
7.87	0.3	7.87	0.2
9.84	0.1	9.84	0.0
IC ₅₀ = 1.1 nM		IC ₅₀ = 1.7 nM	
QIC₅₀ = 0.65			

1.4 Ergebnisse für das bifunktionale *seco*-Drug 143

Konzentration [nM]	rel. Klonbildungsrate [%]
0	100.0
0.0017	95.6
0.017	86.4
0.083	66.7
0.166	33.9
0.33	10.5
0.499	1.9
0.66	0.2
0.83	0.0

$IC_{50} = 120^{[a]} \text{ pM}$

^[a] vorläufiges Ergebnis

2 Abkürzungen und Akronyme

A	Adenin
A549	humane Bronchialkarzinom-Zellen der Linie A549
ABPP	<i>activity-based protein profiling</i>
Ac	Acetyl
ADEPT	<i>antibody-directed enzyme prodrug therapy</i>
Äq.	Äquivalente
APT	<i>attached proton test</i>
aq.	wässrig
atm	Atmosphäre
ATR	attenuated total reflection
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
BuLi	Butyllithium
CBI	Cyclopropabenzindol
CBIQ	Cyclopropabenzochinolin
CI	Cyclopropaindol
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
CPI	Cyclopropapyrroloindol
CPyI	7-Methoxycarbonyl-cyclopropapyridoindol
CT	Computertomographie
Cys	Cystein
DA	Duocarmycin A
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DMAI	5-[2-(<i>N,N</i> -Dimethylamino)-ethoxy]-1 <i>H</i> -indol
DMBI	5-[2-(<i>N,N</i> -Dimethylamino)-ethoxy]-6-benzyloxy-1 <i>H</i> -indol
DMEM	<i>Dulbeccos</i> Modified Eagles Medium
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMMI	5-(2- <i>N,N</i> -Dimethylaminoethoxy)-6-methoxy-1 <i>H</i> -indol
DMSO	Dimethylsulfoxid

DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPPA	Diphenylphosphorylazid
DSA	Duocarmycin SA
EDC·HCl	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylcarbodiimid-Hydrochlorid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
<i>ee</i>	Enantiomerenüberschuss
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
EtOAc	Essigsäureethylester
Gal	Galaktosyl
GDEPT	<i>gene-directed enzyme prodrug therapy</i>
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
GlcA	Glucuronyl
HER2	<i>human epidermal growth factor receptor 2</i>
HMBC	<i>heteronuclear multiple-bond correlation</i>
HOAc	Eisessig
HPLC	<i>high performance (pressure) liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
HSQC	<i>heteronuclear single-quantum correlation</i>
HTCFA	<i>human tumor colony forming ability</i>
Hz	Hertz
<i>i</i>	<i>ipso</i>
IC ₅₀	<i>inhibitory concentration</i> ; Toxinkonzentration, bei der das Zellwachstum um 50% unterbunden wird
Ind ₂	Bisindol-
Inj.	Injektion
<i>i.p.</i>	intraperitoneal
<i>i.v.</i>	intravenös
<i>in vitro</i>	außerhalb lebender Organismen; hier: Versuche an lebenden Zellen in Zellkultur
<i>in vivo</i>	im lebenden Organismus
IR	Infrarot-Spektroskopie
<i>m</i>	<i>meta</i>
kat.	katalytische Mengen

konz.	konzentriert
L1210	murine Leukämie-Zellen der Linie L1210
Man	Mannosyl
MCBI	7-Methoxy-CBI
MCCPI	Methoxycarbonyl-CPI
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MMI	5-Methoxy-1 <i>H</i> -indol
MPMI	5-[2-(<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -propargylamino)ethoxy]-6-methoxy-1 <i>H</i> -indol
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Molsieb
MS	Massenspektrometrie
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
Ns	Nosyl (Nitrophenylsulfonyl)
<i>o</i>	<i>ortho</i>
<i>p</i>	<i>para</i>
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> , phosphatgepufferte NaCl-Lösung
PDE	Pyrrolodihydroindol
PET	Positronenemissionstomographie
Ph	Phenyl
PS-DBU	<i>polymer-supported</i> DBU
QIC ₅₀	IC ₅₀ (Prodrug) / IC ₅₀ (Prodrug in Anwesenheit des aktivierenden Enzyms)
RAS	<i>rat sarcoma</i>
R _f	Retentionswert für DC
t _R	Retentionszeit für HPLC
RNA	Ribonucleinsäure
RP	<i>reversed-phase</i> (Umkehrphase)
RT	Raumtemperatur
SDS-PAGE	<i>sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis</i>
<i>seco</i>	Präfix zur Bezeichnung von Vorstufen zyklischer Verbindungen (Ringöffnung)
siRNA	<i>small interfering ribonucleic acid</i>
Std.	Standard

T	Thymin
TBAF	Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid
TBAI	Tetra- <i>n</i> -butylammoniumiodid
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
<i>tert</i>	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydro-2-pyranyl
TMI	5,6,7-Trimethoxy-1 <i>H</i> -indol
TMS	Trimethylsilyl
TMS-NCS	Trimethylsilylisothiocyanat
TOCSY	<i>total correlation spectroscopy</i>
Tr	Triphenylmethyl (trityl)
Ts	Tosyl (Toluolsulfonyl)
UV	Ultraviolett-Spektroskopie

3 Literatur

- ¹ Graphik aus Abbildung 1 entnommen aus: <http://www.vfa.de/de/wirtschaftspolitik/strukturdaten/kompakt-patienten>, 09.11.2012, 20:51 Uhr.
- ² a) L. F. Tietze, K. Schmuck, *Curr. Pharm. Des.* **2011**, *17*, 3527–3547; b) L. F. Tietze, B. Krewer, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2009**, *9*, 304–325; c) L. F. Tietze, B. Krewer, *Chem. Biol. Drug Des.* **2009**, *74*, 205–211; d) L. F. Tietze, T. Feuerstein, *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 2155–2175; e) L. F. Tietze, T. Feuerstein, *Aust. J. Chem.* **2003**, *56*, 841–854.
- ³ Kapitel A.2, Teile von A.3 (bis A.3.3.1) und A.4 wurden in weiten Teilen übernommen aus: a) K. Schmuck, *Dissertation*, Göttingen **2011**, a) B. Krewer, *Dissertation*, Göttingen **2008**; b) J. M. von Hof, *Dissertation*, Göttingen **2009**; c) F. Major, *Dissertation*, Göttingen **2006**.
- ⁴ W. Pschyrembel, *Pschyrembel*, de Gruyter, 261. Auflage, Berlin **2007**, S. 714, 1315.
- ⁵ a) S. Grimm, *Chem. Unserer Zeit* **2003**, *37*, 172–178; b) A. Lawen, *Bioassays* **2003**, *25*, 888–896; c) A. Gewies, *ApoReview* **2003**, 1–26.
- ⁶ E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting, *Mutschler Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, 9. Auflage, Stuttgart **2008**, S. 907, 919, 923.
- ⁷ C. Lengauer, K. W. Kinzler, B. Vogelstein, *Nature* **1998**, *396*, 643–649.
- ⁸ H.-G. Neumann, *Chem. Unserer Zeit* **1991**, *25*, 102–107.
- ⁹ D. M. Prescott, A. S. Flexer, *Krebs*, Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft, Heidelberg, **1990**.
- ¹⁰ W. Burkart, *Spektrum der Wissenschaft* **1994**, *12*, 112–120.
- ¹¹ L. M. Coussens, Z. Werb, *Nature* **2002**, *420*, 860–867.
- ¹² G. Löffler, *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie*, Springer Verlag, Berlin **2000**.
- ¹³ P. Tiollais, M. Buendia in *Krebs – Forschung, Diagnostik, Therapie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **1992**.
- ¹⁴ a) R. A. Weinberg in *Spektrum der Wissenschaft Spezial: Krebsmedizin*, Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft, Heidelberg, **1996**; b) W. W. Gibbs in *Spektrum der Wissenschaft Spezial: Krebsmedizin II*, Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft, Heidelberg **2003**.

- ¹⁵ H. Varmus, R. A. Weinberg, *Gene und Krebs – Biologische Wurzeln der Tumorentstehung*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **1996**.
- ¹⁶ a) R. A. Weinberg, *Science* **1985**, *230*, 770–776; b) L. Römer, C. Klein, A. Dehner, H. Kessler, J. Buchner, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6590–6611.
- ¹⁷ O. D. Schärer, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3052–3082.
- ¹⁸ K. E. Hellström, I. Hellström, *Tumor Antigens*, in J. R. Bertino, *Encyclopedia of Cancer*, 1. Auflage, Academic Press, San Diego **1997**.
- ¹⁹ L. J. van't Veer, R. Bernards, *Nature* **2008**, *452*, 564–570.
- ²⁰ a) C. Nieder, N. Wieden Andratschke, M. Molls, *Cancer Treatment Rev.* **2003**, *32*, 348–364; b) C. Verhoef, J. H. W. de Wilt, H. M. W. Verheul, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12*, 2623–2630; c) F. Hillen, A. W. Griffioen, *Cancer Metast. Rev.* **2007**, *26*, 489–502.
- ²¹ a) S. P. Davies, H. Reddy, M. Caivano, P. Cohen, *Biochem. J.* **2000**, *351*, 95–105; b) M. Deininger, E. Buchdunger, B. J. Druker, *Blood* **2005**, *105*, 2640–2653; c) V. Gandhi, J. M. Kilpatrick, W. Plunkett, M. Ayres, L. Harman, M. Du, S. Bantia, J. Davisson, W. G. Wierda, S. Faderl, H. Kantarjian, D. Thomas, *Blood* **2005**, *106*, 4253–4260.
- ²² a) *Spektrum der Wissenschaft Spezial 5: Krebsmedizin*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **1996**; b) E. Jäger, D. Jäger, A. Knuth, *Int. J. Cancer* **2003**, *106*, 817–820; c) L. Gattinoni, D. J. Powell Jr., S. A. Rosenberg, N. P. Restifo, *Nat. Rev. Immunol.* **2006**, *6*, 383–393.
- ²³ a) S. Kumar, M. Shelley, C. Harrison, B. Coles, T. J. Wilt, M. D. Mason, *Cochrane database Syst. Rev.* **2006**, *4*, CD006019; b) C.-H. Lai, H.-J. Huang, *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* **2006**, *18*, 29–34; c) S. B. Decruze, J. A. Green, *Int. J. Gynecol. Canc.* **2007**, *17*, 964–978; d) R. E. Greene, *J. Pharm. Pract.* **2008**, *21*, 36–45.
- ²⁴ K. Aktories, U. Förstermann, F. Hofmann, K. Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Urban & Fischer, 10. Auflage, München **2009**, S. 233 f., 948, 970.
- ²⁵ a) O. M. Friedman, A. M. Seligman, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 655–658; b) H. Arnold, F. Bourseaux, *Angew. Chem.* **1958**, *70*, 539–544; c) H. Arnold, F. Bourseaux, N. Brock, *Nature* **1958**, *181*, 931.

- 26 a) A. I. Pinto, S. J. Lippard, *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, 780, 167–180; b) S. E. Sherman, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **1987**, 87, 1153–1181; c) J. P. Caradonna, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **1988**, 27, 1454–1466.
- 27 C. Bystroff, S. J. Oatley, J. Kraut, *Biochemistry* **1990**, 29, 3263–3277.
- 28 E. K. Rowinsky, R. C. Donehower, *Pharmac. Ther.* **1991**, 52, 35–84.
- 29 a) J. Rohr, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2284–2289; b) K. C. Nicolaou, R. K. Guy, P. Potier, *Sci. Am.* **1996**, 272, 84–88; c) M. E. Wall, M. C. Wani, *Cancer Res.* **1995**, 55, 753–760; d) K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, R. K. Guy, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 38–69; e) A. G. Chaudhary, M. M. Gharpure, J. M. Rimoldi, M. D. Chordia, A. A. L. Gunatilaka, D. G. I. Kingston, S. Grover, C. M. Lin, E. Hamel, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4097–4098; f) K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, R. K. Guy, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 38–69; g) D. G. I. Kingston, *Pharmac. Ther.* **1991**, 52, 1–34; h) S. B. Horwitz, I. Ringel, *J. Nat. Cancer Inst.* **1991**, 83, 288–291; i) M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon, A. T. McPhail, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 2325–2327.
- 30 R. C. Young, R. F. Ozols, C. E. Myers, *New Eng. J. Med.* **1981**, 305, 139–153.
- 31 H. Zur Hausen, *Krebs – Forschung, Diagnostik, Therapie*, Spektrum Akad. Vlg., Heidelberg **1992**.
- 32 a) M. Frank, A. Ihan, *Radiol. Oncol.* **2006**, 40, 219–229; b) J. Stanley, *Essentials of Immunology & Serology*, Delmar, 1. Auflage, Albany **2002**, S. 440.
- 33 a) P. C. Cander, *Nutr. Rev.* **1998**, 56, 70–83; b) T. Boon, P. G. Coulie, B. Van den Eynde, *Immunol. Today* **1997**, 18, 267–268.
- 34 J. S. Ross, K. Gray, D. Schenkein, B. Greene, G. S. Gray, J. Shulok, P. J. Worland, A. Celniker, M. Rolfe, *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2003**, 3, 107–121.
- 35 G. Köhler, C. Milstein, *Nature* **1975**, 256, 495–497.
- 36 A. Brufsky, *Am. J. Clin. Oncol.* **2010**, 33, 186–195; b) D. J. Slamon, G. M. Clark, S. G. Wong, W. J. Levin, A. Ulrich, W. L. McGuire, *Science* **1987**, 235, 177–182.
- 37 D. J. Slamon, G. M. Clark, S. G. Wong, W. J. Levin, A. Ulrich, W. L. McGuire, *Science* **1987**, 235, 177–182.
- 38 H. Cortes-Funes, *Clin. Transl. Oncol.* **2009**, 11, 349–355.

- 39 H. Kirchner, A. Kruse, P. Neustock, L. Rink, *Cytokine und Interferone*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **1994**.
- 40 D. Ockert, M. Schmitz, M. Hampl, E. P. Rieber, *Immunol. Today* **1999**, *20*, 63–65.
- 41 R. T. Costello, L.-A. Gastaut, D. Olive, *Immunol. Today* **1999**, *20*, 488–493.
- 42 P. Sanderson, G. G. MacPherson, C. H. Jenkins, P. C. Calder, *J. Leuk. Biol.* **1997**, *62*, 771–777.
- 43 A. Kugler, G. Stuhler, *Nat. Med.* **2000**, *6*, 332–336.
- 44 Abbildung übernommen aus der Arbeit von K. Schmuck, *Dissertation*, Göttingen **2011**, in Anlehnung an: a) Literaturstelle 40; b) P. Carter, *Nature Rev. Cancer* **2001**, *1*, 118–129.
- 45 a) L. Ducry, B. Stump, *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 5–13; b) J. M. Lambert, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 543–549; c) B. Hughes, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2010**, *9*, 665–667; d) P. R. Hamann, *Expert Opin. Ther. Patents* **2005**, *15*, 1087–1103.
- 46 J. K. McGavin, C. M. Spencer, *Drugs* **2001**, *61*, 1317–1322.
- 47 I. E. Krop, M. Beeram, S. Modi, S. F. Jones, S. N. Holden, W. Yu, S. Girish, J. Tibbitts, J.-H. Yi, M. X. Sliwkowski, F. Jacobson, S. G. Lutzker, H. A. Burris, *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 2698–2704.
- 48 R. A. Herbertson, N. C. Tebbutt, F.-T. Lee, D. J. MacFarlane, B. Chappell, N. Micallef, S.-T. Lee, T. Saunder, W. Hopkins, F. E. Smyth, D. K. Wyld, J. Bellen, D. S. Sonnichsen, M. W. Brechbiel, C. Murone, A. M. Scott, *Clin. Cancer Res.* **2009**, *15*, 6709–6715.
- 49 A. Albert, *Nature* **1958**, *182*, 421–423.
- 50 a) K. D. Bagshawe, *Br. J. Cancer* **1987**, *56*, 531–532; b) K. D. Bagshawe, *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2006**, *6*, 1421–1431; c) K. D. Bagshawe, *Curr. Drug Targets* **2009**, *10*, 152–157; d) K. D. Bagshawe, S. K. Sharma, R. H. J. Begent, *Expert Opin. Biol. Ther.* **2004**, *4*, 1777–1789; e) T. W. Doyle, *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, *83*, 67–123; f) P. D. Senter, C. J. Springer, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *53*, 247–264.
- 51 a) J. C. Reubi, H. R. Mäcke, E. P. Krenning, *J. Nucl. Med.* **2005**, *46*, 67–75; b) M. Dyba, N. I. Tarasova, C. J. Michejda, *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 2311–2334; c) J. C. Reubi, *Endocr. Rev.* **2003**, *24*, 389–427; d) J. C. Reubi, B. Waser, *Eur. J. Nucl. Med.* **2003**, *30*, 781–793; e) M. Langer, A. G. Beck-Sickinger,

- Curr. Med. Chem.* **2001**, *1*, 71–93; f) W. A. P. Breeman, M. de Jong, D. J. Kwekkeboom, R. Valkema, W. H. Bakker, P. P. M. Kooij, T. J. Visser, E. P. Krenning, *Eur. J. Nucl. Med.* **2001**, *28*, 1421–1429; g) A. Heppeler, S. Froidevaux, A. N. Eberle, H. R. Maecke, *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 971–994; h) A. V. Schally, A. Nagy, *Eur. J. Endocrin.* **1999**, *141*, 1–14; i) G. S. Baldwin, A. Shulkes, *Gut* **1998**, *42*, 581–584.
- 52 a) F. Kratz, I. A. Müller, C. Ryppa, A. Warnecke, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 20–53; b) Y. Singh, M. Palombo, P. J. Sinko, *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 1802–1826; c) G. S. Shukla, D. N. Krag, *Expert Opin. Biol. Ther.* **2006**, *6*, 39–54; d) R. V. J. Chari, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1998**, *31*, 89–104; e) A. T. de Albuquerque Silva, M. C. Chung, L. F. Castro, R. V. Carvalho Güido, E. I. Ferriera, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2005**, *5*, 893–914; f) H. Fuchs, C. Bachran, *Curr. Drug Targets* **2009**, *10*, 89–93.
- 53 Abbildung entnommen aus der Arbeit von K. Schmuck, *Dissertation*, Göttingen **2011**.
- 54 O. Warburg, *The Metabolism of Tumors*, Constable, London **1930**.
- 55 a) X. Zhang, Y. Lin, R. J. Gillies, *J. Nucl. Med.* **2010**, *51*, 1167–1170; b) R. J. Gillies, I. Robey, R. A. Gatenby, *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 24–42.
- 56 a) R. K. Jain, *Spektr. Wissensch.* **1994**, *9*, 48–55; b) P. Vaupel, F. Kallinowski, P. Okunieff, *Cancer Res.* **1989**, *49*, 6449–6465.
- 57 M. von Ardenne, P. G. Reitnauer, *Acta Biol. Med. Germ.* **1970**, *25*, 483–493.
- 58 a) S. P. Osinsky, L. N. Bubnovskaja, T. Sergienko, *Anticancer Res.* **1987**, *7*, 199–201; b) S. P. Osinsky, L. N. Bubnovskaja, *Arch. Geschwulst.* **1984**, *54*, 463–469; c) E. Jähde, M. F. Rajewsky, *Cancer Res.* **1982**, *42*, 1505–1512; d) M. von Ardenne, P. G. Reitnauer, *Arch. Geschwulst.* **1975**, *45*, 135–145.
- 59 L. F. Tietze, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1988**, *36*, 728–737.
- 60 a) L. F. Tietze, M. Beller, R. Fischer, M. Löggers, E. Jähde, K. H. Glüsenkamp, M. F. Rajewsky, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 812–813; b) L. F. Tietze, R. Fischer, M. Beller, R. Seele, *Liebigs Ann. Chem.* **1990**, 151–157; c) L. F. Tietze, R. Fischer, H. J. Guder, M. Neumann, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 847–856; d) L. F. Tietze, R. Fischer, H. J. Guder, A. Goerlach, M. Neumann, T. Krach, *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 177–194; e) L. F. Tietze, R. Fischer, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 1002.

- ⁶¹ a) M. Jung, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2001**, *1*, 399–407; b) K. N. Syrigos, A. A. Epenetos, *Anticancer Res.* **1999**, *19*, 605–613; c) G. M. Dubowchik, M. A. Walker, *Pharmacol. Ther.* **1999**, *83*, 67–123; d) L. N. Jungheim, T. A. Shepherd, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1553–1566.
- ⁶² M. P. Napier, S. K. Sharma, C. J. Springer, K. D. Bagshawe, A. J. Green, J. Martin, S. M. Stribbling, N. Cushen, D. O'Malley, R. H. J. Begent, *Clin. Cancer Res.* **2000**, *6*, 765–772.
- ⁶³ S. K. Sharma, R. B. Pedley, J. Bhatia, G. M. Boxer, E. El-Emir, U. Qureshi, B. Tolner, H. Lowe, N. P. Michael, N. Minton, R. H. J. Begent, K. A. Chester, *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 814–825.
- ⁶⁴ T. L. Cheng, S. L. Wei, B. M. Chen, J. W. Chern, M. F. Wu, P. W. Liu, S. R. Roffler, *Br. J. Cancer* **1999**, *79*, 1378–1385.
- ⁶⁵ a) G. Xu, H. L. McLeod, *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 3314–3324; b) I. Niculescu-Duvaz, C. J. Springer, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *26*, 151–172.
- ⁶⁶ L. F. Tietze, T. Herzig, T. Feuerstein, I. Schuberth, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *2002*, 1634–1645.
- ⁶⁷ a) P. Wentworth, A. Datta, D. Blakey, T. Boyle, L. J. Partridge, G. M. Blackburn, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 799–803; b) D. Shabat, C. Rader, B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 6925–6930; c) T. A. Houston, *Curr. Drug Delivery* **2007**, *4*, 264–268.
- ⁶⁸ a) P. M. Wallace, P. D. Senter, *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 349–352; b) H. P. Svensson, J. F. Kadow, V. M. Vrudhula, P. M. Wallace, P. D. Senter, *Bioconjugate Chem.* **1992**, *3*, 176–181.
- ⁶⁹ a) M. A. Smal, Z. Dong, H. T. Cheung, Y. Asano, L. Escoffier, M. Costello, M. H. N. Tattersall, *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *49*, 567–574; b) P. M. Deckert, W. G. Bornmann, G. Ritter, C. Williams Jr, J. Franke, U. Keilholz, E. Thiel, L. J. Old, J. R. Bertino, S. Welt, *Int. J. Oncol.* **2004**, *24*, 1289–1295.
- ⁷⁰ a) J. C. Florent, C. Monneret, *Top. Curr. Chem.* **2008**, *283*, 99–140; b) J. C. Florent, X. Dong, G. Gaudel, S. Mitaku, C. Monneret, J. P. Gesson, J.-C. Jacquesy, M. Mondon, B. Renoux, S. Andrianomenjanahary, S. Michel, M. Koch, F. Tillequin, M. Gerken, J. Czech, R. Straub, K. Bosslet, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3572–3581.
- ⁷¹ P. D. Senter, P. C. D. Su, T. Katsuragi, T. Sakai, W. L. Cosand, I. Hellström, K. E. Hellström, *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 447–451.

- 72 P. D. Senter, M. G. Saulnier, G. J. Schreiber, D. L. Hirschberg, J. P. Brown, I.
Hellström, K. E. Hellström, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1988**, *85*, 4842–4846.
- 73 L. N. Jungheim, T. A. Shepherd, D. L. Meyer, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2334–
2240.
- 74 M. L. Rodrigues, P. Carter, C. Wirth, S. Mullins, A. Lee, B. K. Blackburn,
Chem. Biol. **1995**, *2*, 223–227.
- 75 N. Pessah, M. Reznik, M. Shamis, F. Yantiri, H. Xin, K. Bowdish, N. Shomron,
G. Ast, D. Shabat, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 1859–1866.
- 76 a) C. J. Springer, P. Antoniw, K. D. Bagshawe, F. Searle, G. M. F. Bisset, M.
Jarman, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 677–681; b) D. C. Blakey, B. E. Valcaccia, S.
East, A. F. Wright, F. T. Boyle, C. J. Springer, P. J. Burke, R. G. Melton, K. D.
Bagshawe, *Cell Biophys.* **1993**, *22*, 1–8; c) K. D. Bagshawe, *Adv. Pharmacol.*
1993, *24*, 99–121; d) I. Niculescu-Duvaz, F. Friedlos, D. Niculescu-Duvaz, L.
Davies, C. J. Springer, *Anti-Cancer Drug Des.* **1999**, *19*, 517–538; e) L. A.
Wolfe, R. J. Mullin, R. Laethem, T. A. Blumenkopf, M. Cory, J. F. Miller, B.
R. Keith, J. Humphreys, G. K. Smith, *Bioconj. Chem.* **1999**, *10*, 38–48.
- 77 a) M. L. Rodrigues, P. Carter, C. Wirth, S. Mullins, A. Lee, B. K. Blackburn,
Chem. Biol. **1995**, *2*, 223–227; b) U. M. Vrudhula, H. P. Svensson, K. A.
Kennedy, P. M. Senter, P. M. Wallace, *Bioconj. Chem.* **1993**, *4*, 334–340.
- 78 W. A. Denny, *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 577–595.
- 79 P. M. Deckert, C. Renner, L. S. Cohen, A. Jungbluth, G. Ritter, J. R. Bertino, L.
J. Old, S. Welt, *Brit. J. Cancer* **2003**, *88*, 937–939.
- 80 a) H. B. Bosmann, T. C. Hall, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1974**, *71*, 1833–
1837; b) M. Y. Torgov, S. C. Alley, C. G. Cerveny, D. Farquhar, P. D. Senter,
Bioconjugate Chem. **2005**, *16*, 717–721; c) L. Fang, R. F. Battisti, H. Cheng, P.
Reigan, Y. Xin, J. Shen, D. Ross, K. K. Chan, E. W. Martin Jr., P. G. Wang, D.
Sun, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6290–6297; d) H. Devalapally, R. S. Navath, V.
Yenamandra, R. R. Akkinapally, R. K. Devarakonda, *Ach. Pharm. Res.* **2007**, *6*,
723–732.
- 81 J. Martin, S. M. Stribbling, G. K. Poon, R. H. J. Begent, M. Napier, S. K.
Sharma, C. J. Springer, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1997**, *40*, 189–201.
- 82 N. R. Monks, D. C. Blakey, S. J. East, R. I. Dowell, J. A. Calvete, N. J. Curtin,
Eur. J. Cancer **2002**, *38*, 1543–1552.

- 83 A. Mayer, R. J. Francis, S. K. Sharma, B. Tolner, C. J. Springer, J. Martin, G. M. Boxer, J. Bell, A. J. Green, J. A. Hartley, C. Cruickshank, J. Wren, K. A. Chester, R. H. J. Begent, *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 6509–6516.
- 84 a) L. F. Tietze, F. Major, I. Schuberth, D. A. Spiegl, B. Krewer, K. Maksimenka, G. Bringmann, J. Magull, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 4396–4409; b) L. F. Tietze, F. Major, I. Schuberth, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6724–6727; c) L. F. Tietze, B. Krewer, H. Frauendorf, F. Major, I. Schuberth, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6720–6724.
- 85 M. Zientkowska, *Dissertation*, Göttingen **2007**.
- 86 a) S. Schepelmann, I. Niculescu-Duvaz, C. J. Springer, *Suicide Gene Therapy*. In: M. H. Bronchud, M. A. Foote, G. Giaccone, O. Olopade, P. Workman, *Principles of Molecular Oncology*, Humana Press Inc., Totowa **2008**, 367–382; b) C. Altaner, *Cancer Lett.* **2008**, *270*, 191–201; c) G. U. Dachs, J. Tupper, G. M. Tozer, *Anti-Cancer Drugs* **2005**, *16*, 349–359; d) I. Niculescu-Duvaz, C. J. Springer, *Mol. Biotechnol.* **2005**, *30*, 71–88; e) D. Niculescu-Duvaz, I. Niculescu-Duvaz, C. J. Springer, *Methods Mol. Med.* **2004**, *90*, 161–202; f) D. S. Riddick, C. Lee, S. Ramji, E. C. Chinje, R. L. Cowen, K. J. Williams, A. V. Patterson, I. J. Stratford, C. S. Morrow, A. J. Townsend, Y. Jounaidi, C.-S. Chen, T. Su, H. Lu, P. S. Schwartz, D. J. Waxman, *Drug Metab. Dispos.* **2005**, *33*, 1083–1096; g) D. Portsmouth, J. Hlavaty, M. Renner, *Mol. Aspects Med.* **2007**, *28*, 4–41.
- 87 R. Duncan, S. Gac-Breton, R. Keane, R. Musila, Y. N. Sat, R. Satchi, F. Searle, *J. Control. Release* **2001**, *74*, 135–146.
- 88 N. P. Minton, *Nat. Rev. Microbiol.* **2003**, *1*, 237–42.
- 89 S. Patyar, R. Joshi, D. S. Prasad Byrav, A. Prakash, B. Medhi, B. K. Das, *J. Biomed. Sci.* **2010**, *17*, 21.
- 90 Q. Zhang, G. Xiang, Y. Zhang, K. Yang, W. Fan, J. Lin, F. Zeng, J. Wu, *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 2266–2275.
- 91 M. A. Robinson, S. T. Charlton, P. Garnier, X. Wang, S. S. Davis, A. C. Perkins, M. Frier, R. Duncan, T. J. Savage, D. A. Wyatt, S. A. Watson, B. G. Davis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 14527–14532.
- 92 D. Shabat, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 1569–1578.
- 93 a) L. J. Hanka, A. Dietz, S. A. Gerpheide, S. L. Kuentzel, D. G. Martin, *J. Antibiot.* **1978**, *31*, 1211–1217; b) D. G. Martin, C. Biles, S. A. Gerpheide, L. J.

- Hanka, W. C. Krueger, J. P. McGovren, S. A. Mizensak, G. L. Neil, J. C. Stewart, J. Visser, *J. Antibiot.* **1981**, *34*, 1119–1125.
- ⁹⁴ J. P. McGroven, G. L. Clarke, E. A. Pratt, T. F. DeKoning, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 63–70.
- ⁹⁵ M. Ichimura, T. Ogawa, K. Takahashi, E. Kobayashi, I. Kawamoto, T. Yasuzawa, I. Takahashi, H. Nakano, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1037–1038.
- ⁹⁶ a) Y. Igarashi, K. Futamata, T. Fujita, A. Sekine, H. Senda, H. Naoki, T. Furumai, *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 107; b) M. S. Tichenor, D. B. Kastrinsky, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8396–8398.
- ⁹⁷ a) L. H. Hurley, C.-S. Lee, J. P. McGovren, M. A. Warpehoski, M. A. Mitchell, R. C. Kelly, P. A. Aristoff, *Biochemistry* **1988**, *27*, 3886–3892; b) L. H. Hurley, M. A. Warpehoski, C.-S. Lee, J. P. McGovren, T. A. Scahill, R. C. Kelly, M. A. Mitchell, N. A. Wicnienski, I. Gebhard, P. D. Johnson, V. S. Bradford, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4633–4649.
- ⁹⁸ a) Y. Ambroise, D. L. Boger, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 303–306; b) K. Spiegel, *Dissertation*, Triest **2004**; c) K. Spiegel, U. Rothlisberger, P. Carloni, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 3647–3660.
- ⁹⁹ a) W. C. Tse, D. L. Boger, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1607–1617; b) D. L. Boger, D. L. Hertzog, B. Bollinger, D. S. Johnson, H. Cai, J. Goldberg, P. Turnbull, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4977–4986; c) D. L. Boger, B. Bollinger, D. L. Hertzog, D. S. Johnson, H. Cai, P. Mésini, R. M. Garbaccio, Q. Jin, P. A. Kitos, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4987–4998; d) D. L. Boger, R. M. Garbaccio, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 1043–1052.
- ¹⁰⁰ K. S. MacMillan, D. L. Boger, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5771–5780.
- ¹⁰¹ a) K. N. Kirschner, M. Lee, R. C. Stanley, J. P. Bowen, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 329–335; b) P. Cimino, G. Bifulco, R. Riccio, L. Gomez-Paloma, V. Barone, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1242–1251.
- ¹⁰² A. V. Vargiu, P. Ruggerone, A. Magistrato, P. Carloni, *Biophys. J.* **2008**, *94*, 550–561.
- ¹⁰³ J. P. McGovren, G. L. Clarke, E. A. Pratt, T. F. DeKoning, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 63–70.
- ¹⁰⁴ a) J. P. McGovern, G. L. Clarke, E. A. Pratte, T. F. deKoning, *J. Antibiot.* **1983**, *37*, 63–70; b) S. Nagamura, A. Asai, E. Kobayashi, K. Gomi, H. Saito, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 623–630; c) B. Cacciari, R. Romagnoli, P. G. Baraldi, T.

- Da Ros, G. Spalluto, *Exp. Opin. Ther. Pat.* **2000**, *10*, 1853–1871; d) A. Sato, L. McNulty, K. Cox, S. Kim, A. Scott, K. Daniell, K. Summerville, C. Price, S. Hudson, K. Kiakos, L. A. Hartley, T. Asao, M. Lee, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3903–3918; e) P. G. Baraldi, A. Bovero, F. Fruttarolo, D. Preti, M. A. Tabrizi, M. G. Pavani, R. Romagnoli, *Med. Res. Rev.* **2004**, *24*, 475–528; f) W. A. Denny, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 533–544; g) B. S. P. Reddy, S. K. Sharma, J. P. W. Lown, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 475–508.
- ¹⁰⁵ a) D. L. Boger, C. W. Boyce, R. M. Garbaccio, J. A. Goldberg, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 787–828; b) D. L. Boger, D. S. Johnson, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1542–1580; c) S. E. Wolkenberg, D. L. Boger, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2477–2496.
- ¹⁰⁶ N. Ghosh, H. M. Sheldrake, M. Searcey, K. Pors, *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 1494–1524.
- ¹⁰⁷ a) J. P. Parrish, T. V. Hughes, I. Hwang, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 80–81; b) M. S. Tichenor, K. S. MacMillen, J. S. Stover, S. E. Wolkenberg, M. G. Pavani, L. Zanella, A. N. Zaid, G. Spalluto, T. J. Rayl, I. Hwang, P. G. Baraldi, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14092–14099.
- ¹⁰⁸ a) P. G. Baraldi, G. Balboni, M. G. Pavani, G. Spalluto, M. A. Tabrizi, E. De Clercq, J. Balzarini, T. Bando, H. S. R. Romagnoli, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2536–2543; b) J. P. Parrish, D. B. Kastrinsky, F. Stauffer, M. P. Hedrick, I. Hwang, D. L. Boger, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3815–3838; c) Y. Wang, L. Li, W. Ye, Z. Tian, W. Jiang, H. Wang, S. C. Wright, J. W. Larrick, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 634–637.
- ¹⁰⁹ a) D. L. Boger, T. Ishizaki, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 793–796; b) D. B. Kastrinsky, D. L. Boger, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2284–2289.
- ¹¹⁰ a) R. I. Pinto, S. J. Lippard, *Biochem. Biophys. Acta* **1985**, *780*, 167–180; b) S. E. Sherman, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 1153–1181; c) J. P. Caradonna, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1454–1466.
- ¹¹¹ D. L. Boger, D. S. Johnson, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1542–1580.
- ¹¹² a) R. D. Hightower, B. U. Sevin, J. P. Pevras, M. Untch, R. Angioli, H. Averette, *Gynecol. Oncol.* **1992**, *42*, 186–190; b) B. J. Foster, P. M. Larusso, E. Poplin, M. Zalupski, M. Valdivieso, A. Wozniak, L. Flaherty, D. A. Kasunic, R. H. Earhart, L. H. Baker, *Invest. New Drugs* **1996**, *13*, 321–326; c) H. A. Burris, V. C. Dleras, M. Tunca, R. H. Earhart, J. R. Echardt, G. I. Rodriguez, D. S.

- Shaffer, S. M. Fields, E. Campbell, L. Scaaf, D. Kasunic, D. D. Von Hoff, *Anti-Cancer Drugs* **1997**, *8*, 588–596.
- ¹¹³ a) L. H. Li, T. F. deKoning, R. C. Kelly, W. C. Krueger, J. P. McGovren, G. E. Padbury, G. L. Petzold, T. L. Wallace, R. J. Ouding, M. D. Prairie, I. Gebhard, *Cancer Res.* **1992**, *52*, 4904–4913; b) I. Wolff, K. Bench, J. S. Beijnen, U. Brunsch, F. Cavalli, J. de Jong, Y. Groot, O. van Tellingen, J. Wanders, C. Sessa, *Clin. Cancer Res.* **1996**, *2*, 1717–1723; c) O. van Telligen, C. J. A. Punt, A. Awada, D. J. T. Wagener, M. J. Piccart, Y. Groot, L. J. Scaaf, R. E. C. Henrar, W. J. Nooijen, J. H. Beijnen, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1998**, *41*, 377–384.
- ¹¹⁴ a) H. C. Pitot, C. Erlichman, J. M. Reid, J. A. Sloan, M. M. Ames, P. G. Bagniewski, P. Atherton-Skaff, A. A. Adjei, J. Rubin, D. Rayson, R. M. Goldberg, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1999**, *40*, 91; b) H. C. Pitot, J. M. Reid, J. A. Sloan, M. M. Ames, A. A. Adjei, J. Rubin, P. G. Bagniewski, P. Atherton, D. Rayson, R. M. Goldberg, C. Ehrlichman, *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 712–717; c) G. H. Schwartz, A. Patnaik, L. A. Hammond, J. Rizzo, K. Berg, D. D. Von Hoff, E. K. Rowinsky, *Ann. Oncol.* **2003**, *14*, 775–782.
- ¹¹⁵ a) S. R. Alberts, C. Ehrlichman, J. M. Reid, J. A. Sloan, M. M. Ames, R. L. Richardson, R. M. Goldberg, *Clin. Cancer Res.* **1998**, *4*, 2111–2117; b) A. Asai, S. Nagamura, E. Kobayashi, K. Gomi, H. Saito, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2995–2998; c) J. Rubin, S. Alberts, V. Suman, H. Pitot, M. Greene, J. Camoriano, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **2000**, *19*, abstr. 1198; d) S. N. Markovic, V. J. Suman, A. M. Vokov, T. R. Fitch, D. W. Hillman, A. A. Adjei, S. R. Alberts, J. S. Kaur, T. A. Braich, J. M. Leitch, E. T. Creagan, *Am. J. Clin. Oncol.* **2002**, *25*, 308–312.
- ¹¹⁶ R. Baird, S. Winstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 567–578.
- ¹¹⁷ a) L. F. Tietze, M. Lieb, T. Herzig, F. Haurert, I. Schuberth, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1929–1939; b) M. P. Hay, R. F. Anderson, D. M. Ferry, W. R. Wilson, W. A. Denny, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5533–5545; c) S. C. Jeffrey, M. Y. Torgov, J. B. Andreyka, L. Boddington, C. G. Cerveny, W. A. Denny, K. A. Gordon, D. Gustin, J. Haugen, T. Kline, M. T. Nguyen, P. D. Senter, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1344–1358.
- ¹¹⁸ a) M. P. Hay, B. M. Sykes, W. A. Denny, W. R. Wilson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2237–2242; b) W. A. Denny, *J. Biomed. Biotech.* **2003**, *1*, 48–70.

- 119 M. P. Hay, G. J. Atwell, W. R. Wilson, S. M. Pullen, W. A. Denny, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2456–2466.
- 120 a) Y. Wang, J. Jiang, X. Jiang, S. Cai, H. Han, L. Li, Z. Tian, W. Jiang, Z. Zhang, Y. Xiao, S. W. Wright, J. W. Larrick, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6552–6559; b) Y. Wang, L. Li, Z. Tiang, W. Jiang, J. W. Larrick, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7854–7861.
- 121 W. R. Wilson, S. M. Stribbling, F. B. Pruijn, S. P. Syddall, A. V. Patterson, H. D. S. Liyanage, E. Smith, K. J. Botting, M. Tercel, *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8*, 2903–2913.
- 122 a) M. Tercel, S. Yang, G. J. Atwell, E. Smith, Y. Gu, R. F. Anderson, W. A. Denny, W. R. Wilson, F. B. Pruijn, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4997–5006; b) M. Tercel, G. J. Atwell, S. Yang, R. J. Stevenson, K. J. Botting, M. Boyd, E. Smith, R. F. Anderson, W. A. Denny, W. R. Wilson, F. B. Pruijn, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7258–7272.
- 123 J. B. J. Milbank, R. J. Stevenson, D. C. Ware, J. Y. C. Chang, M. Tercel, G.-O. Ahn, W. R. Wilson, W. A. Denny, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6822–6834.
- 124 a) W. Jin, J. D. Trzuppek, T. J. Rayl, M. A. Broward, G. A. Vielhauer, S. J. Weir, I. Hwang, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15391–15397; b) J. P. Lajiness, W. R. Robertson, I. Dunwiddie, M. A. Broward, G. A. Vielhauer, S. J. Weir, D. L. Boger, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7731–7738.
- 125 O. D. Schärer, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 27–32.
- 126 Y. M. Akkari, R. L. Bateman, C. A. Reifsteck, S. B. Olson, M. Grompe, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 8283–8289.
- 127 a) D. B. Zamble, D. Mu, J. T. Reardon, A. Sancar, S. J. Lippard, *Biochemistry*, **1996**, *35*, 10004–10013; b) P. Lehoczký, P. J. McHugh, M. Chovanec, *Microbiol. Rev.* **2007**, *31*, 109–133.
- 128 I. A. Blair, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283* (23), 15545–15549.
- 129 a) J. Verweij, J. den Hartigh, H.M. Pinedo, *Anticancer Antibiotics in Cancer Chemotherapy Principles and Practice*, B. A. Chabner, J. M. Collins, Herausgeber: J. B. Lippincott Company, Philadelphia, PA **1990**, 382–396. b) V. N. Iyer, W. A. Szybalski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1963**, *50*, 355–362. c) H. Y. Kim, F. R. Stermitz, R. A. Coulombe Jr., *Carcinogenesis* **1995**, *16*, 2691–2697; d) H. Y. Kim, F. R. Stermitz, R. J. Molyneux, D. W. Wilson, D. Taylor,

- R. A. Coulombe Jr., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1993**, *122*, 61–69; e) M. J. Kurth, L. A. Milco, R. B. Miller, *Tetrahedron*, **1992**, *48*, 1407–1416.
- 130 a) G.P. Wilkinson, J. P. Taylor, S. Shnyder, P. Cooper, P. W. Howard, D. E. Thurston, T. C. Jenkins, P. M. Loadman, *Invest. New Drugs* **2004**, *22* (3), 231–240; b) S. C. Wilson, P. W. Howard, S. M. Forrow, J. A. Hartley, L. J. Adams, T. C. Jenkins, L. R. Kelland, D. E. Thurston, *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (20), 4028–4041.
- 131 a) S. R. Rajski, R. M. Williams, *Chem. Rev.* **1998**, *98* (8), 2723–2796; b) A. Kamal, M. V. Rao, N. Laxman, G. Ramesh, G. S. K. Reddy, *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents* **2002**, *2* (2), 215–254.
- 132 a) R. P. Hertzberg, S. M. Hecht, V. L. Reynolds, I. J. Molineux, L. H. Hurley. *Biochemistry* **1986**, *25* (6), 1249–1258; b) L. H. Hurley, D. E. Thurston, *Pharm. Res.* **1984**, *1*, 52–59.
- 133 a) S. D. Bose, A. S. Thompson, M. Smellie, M. D. Berardini, J. A. Hartley, T. C. Jenkins, S. Neidle, D. E. Thurston, *Chem. Commun.* **1992**, 1518–1520; b) J. A. Hartley, M. Smellie, M. D. Berardini, S. D. Bose, A. S. Thompson, D. E. Thurston, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1993**, *34*, 368; c) S. J. Gregson, P. W. Howard, K. E. Corcoran, S. Barcella, M. M. Yasin, A. A. Hurst, T. C. Jenkins, L. R. Kelland, D. E. Thurston, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1845; d) S. J. Gregson, P. W. Howard, J. A. Hartley, N. A. Brooks, L. J. Adams, T. C. Jenkins, L. R. Kelland, D. E. Thurston, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 737; e) C. Martin, T. Ellis, C. J. McGurk, T. C. Jenkins, J. A. Hartley, M. J. Waring, D. E. Thurston, *Biochemistry* **2005**, *44*, 4135–4147.
- 134 M.C. Alley, M. G. Hollingshead, C. M. Pacula-Cox, W. R. Waud, J. A. Hartley, P. W. Howard, S. J. Gregson, D. E. Thurston, E. A. Sausville, *Cancer Res.* **2004**, *64* (18), 6700–6706.
- 135 A. C. Tiberghien, D. A. Evans, K. Kiakos, C. R. H. Martin, J. A. Hartely, D. E. Thurston, P. W. Howard, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18* (6), 2073–2077.
- 136 M. A. Mitchell, P. D. Johnson, M. G. Williams, P. A. Aristoff, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6428–6429.
- 137 G. Jia and J. W. Lown, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2000**, *8*, 1607–1617.
- 138 a) J. M. von Hof, *Dissertation*, Göttingen **2009**; b) B. Krewer, *Dissertation*, Göttingen **2008**; c) H. Schuster, *Dissertation*, Göttingen **2008**; d) F. Major, *Dissertation*, Göttingen **2006**; e) O. Panknin, *Dissertation*, Göttingen **2004**; f)

- T. Feuerstein, *Dissertation*, Göttingen **2003**; g) F. Colunga, *Dissertation*, Göttingen **2007**; h) A. Fecher, *Dissertation*, Göttingen **2000**; i) T. Herzig, *Dissertation*, Göttingen **2000**.
- 139 a) L. F. Tietze, T. Herzig, A. Fecher, F. Haunert, I. Schuberth, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 758–765; b) L. F. Tietze, T. Feuerstein, A. Fecher, F. Haunert, O. Panknin, U. Borchers, I. Schuberth, F. Alves, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 785–787; c) L. F. Tietze, T. Herzig, T. Feuerstein, I. Schuberth, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1634–1645.
- 140 L. F. Tietze, J. M. von Hof, B. Krewer, M. Müller, F. Major, H. J. Schuster, I. Schuberth, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 1946–1955.
- 141 L. F. Tietze, H. J. Schuster, B. Krewer, I. Schuberth, *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (2), 537–543.
- 142 L. F. Tietze, H. J. Schuster, K. Schmuck, I. Schuberth, F. Alves, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6312–6318.
- 143 L.F. Tietze, F. Behrendt, G. F. Pestel, I. Schuberth, M. Mitkovski, *Chem. Biodiversity* **2012**, in press.
- 144 a) L. F. Tietze, B. Krewer, H. Frauendorf, F. Major, I. Schuberth, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6720–6724; b) L. F. Tietze, B. Krewer, H. Frauendorf, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 437–448; c) L. F. Tietze, B. Krewer, F. Major, I. Schuberth, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13031–13036; d) L. F. Tietze, B. Krewer, H. Frauendorf, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2009**, *15*, 661–672; e) L. F. Tietze, B. Krewer, J. M. von Hof, H. Frauendorf, I. Schuberth, *Toxins* **2009**, *1*, 134–150.
- 145 L. F. Tietze, J. M. von Hof, M. Müller, B. Krewer, I. Schuberth, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7494–7497.
- 146 a) S. K. Sharma, G. Jia, J. W. Lown, *Curr. Med. Chem. Anti Canc. Agents* **2001**, *1*, 27–45; b) K. M. Rahman, A. S. Thompson, C. H. James, M. Narayana-Swamy, D. E. Thurston, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13756–13766.
- 147 T. Wirth, K. Schmuck, L. F. Tietze, S. A. Sieber, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 2928–2931; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2874–2877.
- 148 T. Böttcher, M. Pitscheider, S. A. Sieber, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2740–2759.
- 149 A. Saghatelian, B. F. Cravatt, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 62–68.
- 150 a) N. Jessani, S. Niessen, B. Q. Wei, M. Nicolau, M. Humphrey, Y. Ji, W. Han, D. Y. Noh, J. R. Yates III, S. S. Jeffrey, B. F. Cravatt, *Nat. Methods* **2005**, *2*,

- 691–697; b) N. Jessani, Y. Liu, M. Humphrey, B. F. Cravatt, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 10335–10340.
- 151 S. A. Sieber, S. Niessen, H. S. Hoover, B. F. Cravatt, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 274–281.
- 152 a) D. Greenbaum, K. F. Medzihradzsky, A. Burlingame, M. Bogyo, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 569–581; b) D. Greenbaum, A. Baruch, L. Hayrapetian, Z. Darula, A. Burlingame, K. F. Medzihradzsky, M. Bogyo, *Mol. Cell. Proteomics* **2002**, *1*, 60–68.
- 153 a) R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213–236; b) W. Dullenkopf, J. C. Castro-Palomino, L. Manzoni, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1996**, *296*, 135–147.
- 154 D. L. Boger, J. A. McKie, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1271–1275.
- 155 H. O. Wirth, O. Königstein, W. Kern, *Ann. Chem.* **1960**, *643*, 84–104.
- 156 a) L. F. Tietze, H. J. Schuster, S. M. Hampel, S. Rühl, R. Pfohl, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 895–901; b) M. Uchiyama, M. Kameda, O. Mishima, N. Yokoyama, M. Koike, Y. Kondo, T. Sakamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4934–4946.
- 157 a) J. M. Klunder, T. Onami, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1295–1304; b) R. M. Hanson, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 437–475.
- 158 L. F. Tietze, H. J. Schuster, J. M. von Hof, S. M. Hampel, J. F. Colunga, M. John, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 12678–12682.
- 159 L. F. Tietze, K. Schmuck, H. J. Schuster, M. Müller, I. Schuberth, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1922–1929.
- 160 J. B. J. Milbank, M. Tercel, G. J. Atwell, W. R. Wilson, A. Hogg, W. A. Denny, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 649–658.
- 161 a) L. F. Tietze, R. Fischer, H.-J. Guder, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4661–4664; b) L. F. Tietze, R. Fischer, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 1002.
- 162 S. J. Danishefsky, M. T. Bilodeau, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1482–1522.
- 163 Thisbe K. Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, WILEY-VCH, Weinheim, **2007**, S. 160–161, 168–171.
- 164 a) F. Jiang, Q. Qiu, A. Khanna, N. W. Todd, J. Deepak, L. Xing, H. Wang, Z. Liu, Y. Su, S. A. Stass, R. L. Katz, *Mol. Cancer. Res.* **2009**, *7*, 330–338; b) A. Yoshida, L. C. Hsu, V. Davé, *Enzyme* **1992**, *46*, 239–244.
- 165 J. S. Moreb, H. V. Baker, L.-J. Chang, M. Amaya, M. C. Lopez, B. Ostmark, W. Chou, *Mol. Cancer* **2008**, *7*, 87.

¹⁶⁶ T. Wirth, unveröffentlichte Ergebnisse.

¹⁶⁷ D. D. Perrin, W. L. F. Arnarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed., Pergamon Press, Oxford, **1988**.

4 Danksagung

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern der analytischen Abteilungen für die Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeiten. Für die NMR-Spektren, mal mit wenig und mal mit ganz wenig Substanzmenge sowie das Express-Spektrum von Zeit zu Zeit. Im besonderen bedanke ich mich bei Reinhard Machinek, Christiane Siebert, Martin Weitemeyer und Carola Zolke sowie Evelyn Pfeil, die auch zahlreiche UV- und IR-Spektren aufgenommen sowie die Drehwerte gemessen hat.

Mein weiterer Dank gilt der Analytikabteilung Massenspektrometrie. Mit Namen sind das Dr. Holm Frauendorf, Frank Hambloch, Gabriele Krökel und Györgyi Sommer-Udvarnoki. Ebenfalls danken möchte ich Olaf Senge für das Anfertigen von HPLC-Messungen.

Ein weiteres Dankeschön geht an die Mitarbeiter des Zelllabors für die Zytotoxizitätsuntersuchungen. Hier seien Dr. Ingrid Schuberth, Anja Herdlitschke und Angela Rübeling genannt.

Großer Dank gilt Martina Pretor, die mir immer bei meinen Computerproblemchen geduldig geholfen hat sowie Frau Schacht, die gute Seele in der Abteilung. Außerdem danke ich unseren Hausmeistern Frank Peters und Wolfram Matthies für die Hilfe bei handwerklichen Problemen und den Mitarbeitern der Werkstätten, die Reparaturen jeglicher Art zügig erledigten. Holger Tucholla und Rupert Schrommek sei für die Ausgabe der Chemikalien und die Anrufe, damit ich die Chemikalien unverzüglich einsetzen konnte, zu danken.

Mein Dank gilt außerdem Prof. S. A. Sieber und Tanja Wirth von der TU München für die hervorragende Kooperation hinsichtlich der ABPP-Studien.

Zu dem bedanke ich mich bei allen Mitgliedern der Abteilung Tietze, mit denen ich lange den Arbeitsplatz geteilt habe.

Dem CC-1065-Team bin ich dankbar für die vielen ergebnisreichen Diskussionen, Tipps und die gute Zusammenarbeit. Insbesondere Kianga Schmuck für das gute Teamwork sowie Michael Müller und Frank Behrendt.

Meinen zahlreichen Laborkollegen danke ich für die stets gute Atmosphäre und Harmonie: Simon Biller, Tobias Nack, Johannes Reiner, Kianga Schmuck, Thomas Wolfram.

Bei meinem Bachelor Tobias von Zons bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit und die Bereitstellung des Pharmakophors sowie bei Marius Hartmer für die gute

Zusammenarbeit, während seiner Masterzeit im AK Tietze. Allen Praktikanten sei für ihre fleißigen Arbeiten im Labor gedankt.

Für das schnelle und akkurate Korrekturlesen danke ich in alphabetischer Reihenfolge Simon Biller, Christoph Eichhorst, Sven Heidemann, Theresa Kaufeld, Vanessa Koch, Johannes Reiner und Thomas Wolfram.

Auch danke ich meinen Freunden für die Unterstützung in und abseits der Uni. Die Ablenkung und eure Freundschaft haben maßgeblich zum erfolgreichen Abschluss meiner Arbeit beigetragen. Im Speziellen seien hier in alphabetischer Order genannt: Cathrin Conrad, Arne Gerdes, Theresa und Uli Kaufeld, Charlene Ketturat, Vanessa Koch, Linda Nacke, Annika Ries, Nina Tölle und Nadine Wedel. Danke!!!

Mein letzter und größter Dank gilt jedoch meiner Familie, die mich die gesamte Zeit unterstützt und gestärkt haben, wenn es nötig war. In jeder Lage konnte ich auf ein offenes Ohr und einen guten Rat zählen. Danke für den Rückhalt, die Motivation und eure bedingungslose Liebe!

Meine akademischen Lehrer waren u. a. die folgenden Professoren und Dozenten:

P. Botschwina, J. Brockmüller, A. de Meijere, U. Diederichsen, G. Eckold, C.-F. Hess, U. Klingebiel, H. Laatsch, J. Magull, F. Meyer, H. W. Roesky, G. M. Sheldrick, M. Suhm, C. Steinem, L. F. Tietze, S. B. Tsogoeva, D. B. Werz.