

Zusammenfassung der Dissertation

**Entwicklung organokatalysierter
Annelierungs- und Dominoreaktionen
zur Synthese
naturstoffinspirierter Substanzsammlungen**

von

Heiko Dückert

Die naturstoffinspirierte Synthese ist ein Werkzeug zur Planung der Synthese von Naturstoffanaloga. Ziel dieser Methode ist es, auf einfachem Wege Substanzsammlungen zu synthetisieren, die eine strukturelle Ähnlichkeit mit dem zugrundeliegenden Naturstoff aufweisen. Dieser und ähnliche Ansätze zur Synthese biologisch relevanter Substanzsammlungen basiert auf der inhärenten biologischen Aktivität der Naturstoffe. Diese kommt dadurch zustande, dass ihr Nutzen für den entsprechenden Organismus *in* einer Interaktion mit Biomolekülen liegt und ihre Biosynthese *aus* einer Interaktion mit Proteinen hervorgeht.

Dem Prinzip der naturstoffinspirierten Synthese folgend, wurde eine Substanzsammlung synthetisiert, die sich strukturell an einer interessanten Gruppe tricyclischer Naturstoffe orientiert. Die dazu entwickelte chemische Methodik nutzt mit der Organokatalyse ein modernes chemisches Verfahren. Die Umpolung elektronenarmer Alkine mit *Lewis*-Basen als Katalysatoren führte zu einem nucleophilen Zwitterion, welches mit dem ebenfalls elektronenarmen 3-Formylchromon im Sinne einer [4+2] Annelierungsreaktion zu einem Pyranochromanon reagiert (Abbildung 1).

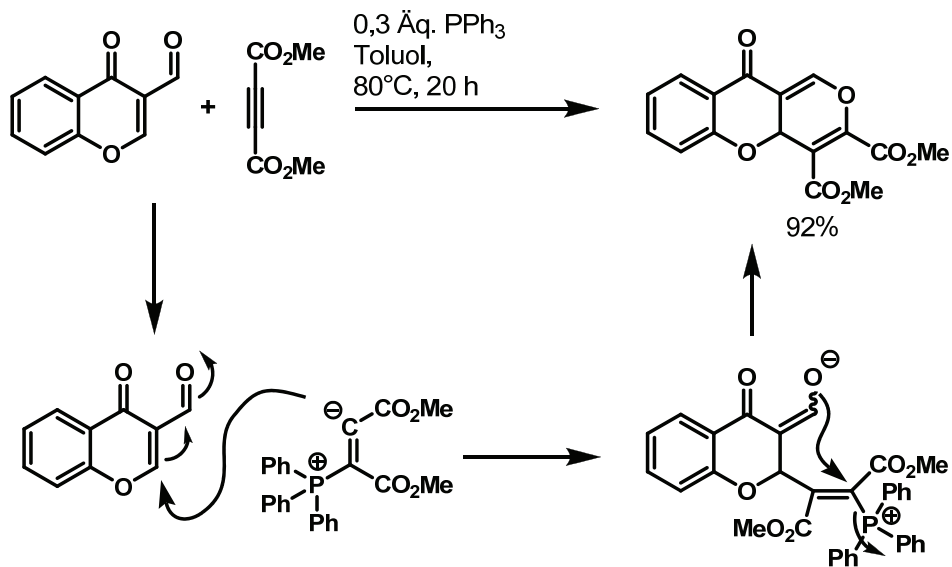


Abbildung 1: Synthese eines Pyranochromanons. Das nucleophile Zwitterion, gebildet aus DMAD und Triphenylphosphin, greift am 3-Formylchromon an. Substitution des Phosphins durch den Enolat-Sauerstoff führt zum Produkt.

Die Entwicklung eines stereoselektiven Katalysators für die oben gezeigte, racemische Synthese verlief über erfolglose Versuche mit chiralen Phosphinen bis hin zu geringfügig stereoselektiven Versuchen mit chiralen Pyrrolidinen. Die weitere Entwicklung führte über die nativen Cinchona-Alkaloide, die keine katalytische Aktivität zeigten, zu den stärker nucleophilen β -*iso*-Cinchona-Alkaloiden. Die besten Ergebnisse hinsichtlich Stereoselektivität wurden mit neuartigen, arylsubstituierten Derivaten der β -*iso*-Cinchona-Alkaloide erzielt. Nach weiterer Optimierung der Reaktionsbedingungen wurde eine kleine Substanzsammlung mit 10 Verbindungen in mittleren bis guten Ausbeuten und Stereoselektivitäten zwischen 81 und 87%*ee* synthetisiert (Abbildung 2).

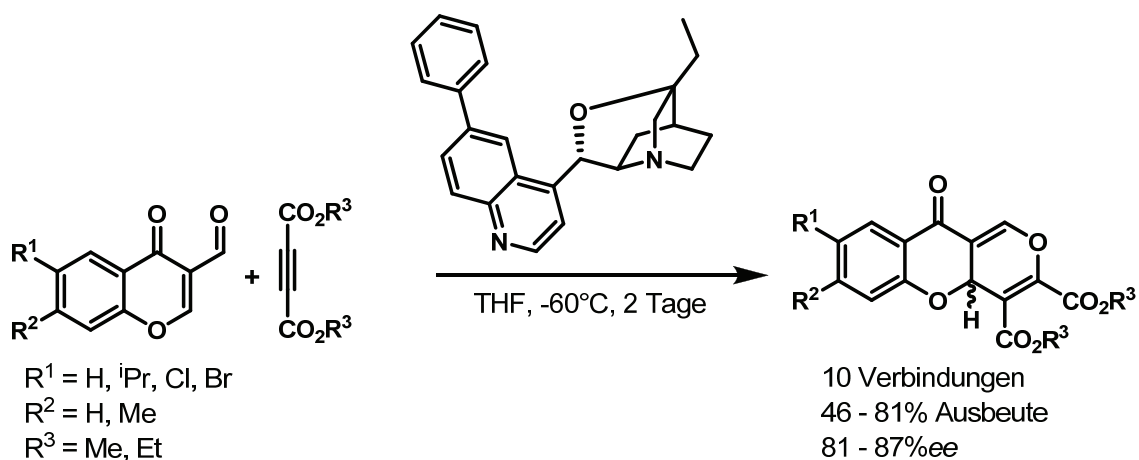


Abbildung 2: Stereoselektive [4+2]-Annelierung zur Synthese einer Substanzsammlung

Untersuchungen zur Erweiterung des Substratspektrums der Annelierungsreaktion wurden sowohl für die α,β -ungesättigten Dicarboyle als auch für die elektronenarmen Alkine durchgeführt. Hinsichtlich der α,β -ungesättigten Dicarboyle konnten die substituierten 3-Formylchromone als Substrate bestätigt werden, jedoch ließ sich die Reaktion im Rahmen dieser Arbeit nicht auf andere α,β -ungesättigte Dicarboylverbindungen übertragen. Die Untersuchungen bezüglich der elektronenarmen Alkine allerdings ergaben eine Erweiterung des Substratspektrums. So wurden neben den Acetylendicarbonsäurediestern auch Propiolsäureester und Phenylacetylene, die als elektronenziehende Gruppe einen Aldehyd, eine Nitrilgruppe oder einen Carbonsäureester tragen, erfolgreich umgesetzt.

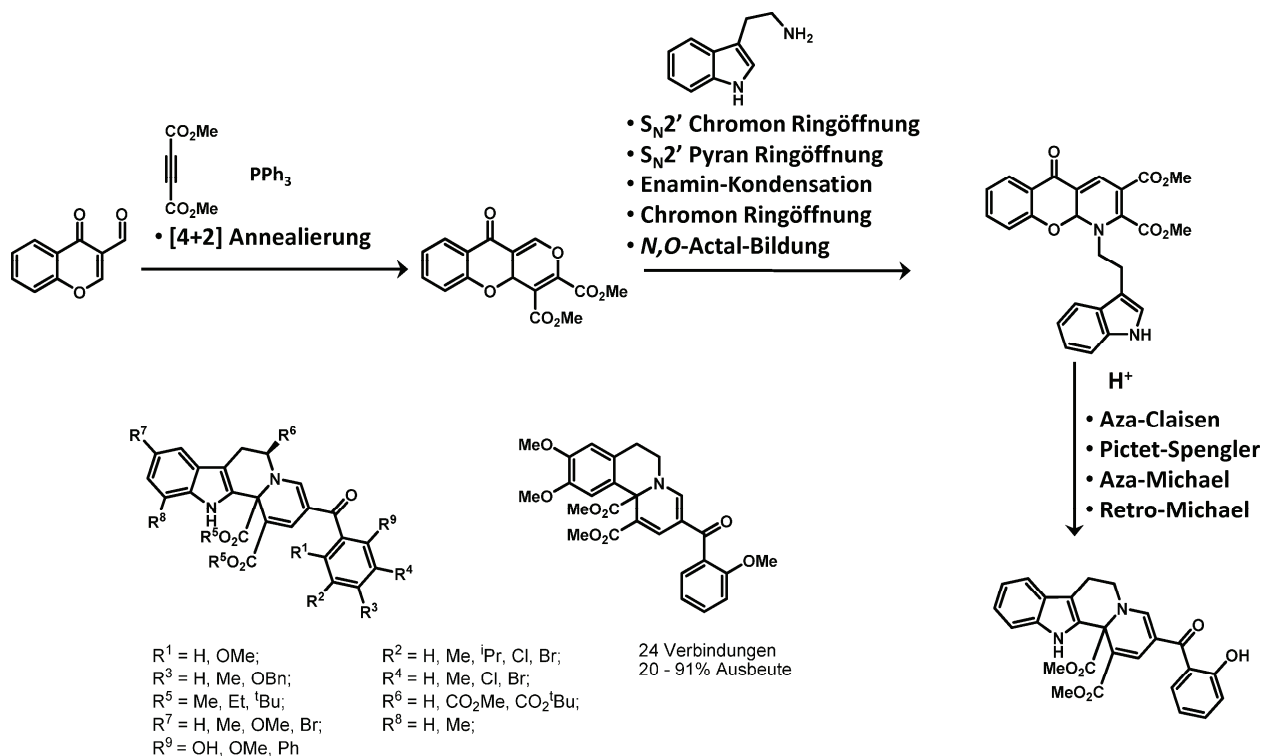
Untersuchungen zum Scale-up der Reaktion zeigten, dass ein lineares Erhöhen der Ansatzgröße nicht zum Erfolg führte, auch die langsame Zugabe von Reagenzien führte nur zu unvollständigem Umsatz. Erst die Umstellung des Katalysators ergab einen vollständigen Umsatz der Annelierungsreaktion in größerem Maßstab.

Während der Arbeiten zum Quenchen dieser Reaktion wurde die säurekatalysierte, quantitative Umlagerung der Produkte zu einem Chromon-Ketoester beobachtet. Diese Umlagerung findet auch in Gegenwart von Spuren von Säure allmählich statt. Aufgrund der geringen Stabilität gegenüber Säuren sollten die hergestellten Pyranochromane weniger als Substanzsammlung im Sinne der chemischen Biologie gesehen werden, sondern eher als reaktive Zwischenstufen für weitere Synthesen.

Ein Einsatz der Pyranochromanone in diesem Sinne erfolgte in der Entwicklung einer Dominoreaktion zur Synthese indolalkaloidinspirierter Indolochinolizine. Diese Produkte ähneln den natürlich vorkommenden, in der Humanmedizin eingesetzten, Indolalkaloiden Reserpin und Yohimbin. Das in Abbildung 3 gezeigte Produkt zeigte in zellulären Assays eine starke Beeinträchtigung der Zellteilung von HeLa-Zellen, es wurden eine Fehlansrichtung der Chromosomen und die Bildung eines multipolaren Spindelapparates beobachtet.

Dominoreaktionen stellen eine einfache und schnelle Methode zur Generierung molekularer Komplexität dar. Im Vergleich zu schrittweise durchgeführten Synthesen entfallen Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte der Zwischenprodukte, somit ist also eine möglichst große Zahl an Einzelreaktionen in einer Dominoreaktion erstrebenswert. Durch Einbau der voranstehend geschilderten [4+2]-Annelierung in eine vorher bekannte Synthese des in

Abbildung 3 gezeigten Indolochinolizins, konnte eine Dominoreaktion mit insgesamt 10 Stufen entwickelt werden (Abbildung 3). Die Formulierung eines plausiblen Reaktionsmechanismus wurde erst durch die Strukturaufklärung des intermediären *N,O*-Acetals ermöglicht. Mit dieser Dominoreaktion erfolgte die Synthese einer fokussierten Substanzsammlung unter Verwendung verschiedener Tryptamin-, Acetylendicarboxylat- und 3-Formylchromon-Derivate in Ausbeuten meist zwischen 50 und 80 Prozent.



**Abbildung 3: Zusammenfassung der mechanistischen Schritte der Dominoreaktion;
Zusammenfassende strukturelle Darstellung der Substanzsammlung**

Durch die Verwendung von Dopamin als Edukt der Dominoreaktion konnte deren Substratspektrum auf interessante Weise erweitert werden. Dies und die Synthese einiger Derivate zeigen die Möglichkeit der weiteren Veränderung der Indolochinolizine. Eine stereoselektive Variante ergab lediglich mittlere Enantiomerenüberschüsse, der Zugang zu reinen Enantiomeren der Indolochinolizine wurde schließlich durch die Etablierung einer Racematspaltung mittels präparativer HPLC ermöglicht. Aufgrund der stark unterschiedlich ausgeprägten biologischen Aktivität der reinen Enantiomere, wurde eine Bestimmung der absoluten Konfiguration mittels CD-Spektroskopie durchgeführt. Diese ergab das *R*-Enantiomer als das biologisch aktivere.

Zur Aufklärung der biologischen Aktivität mittels Affinitätschromatographie wurden verschiedene molekulare Sonden synthetisiert. Diese Technik erfordert die Anbringung der molekularen Sonde an eine feste Phase, was hier durch Biotin- und Aminlinker bewirkt wurde (Abbildung 4). Durch die zwei verschiedenen Linker wird die Verwendung zweier verschiedener fester Phasen ermöglicht. Der Punkt der Anknüpfung des Linkers an das Molekül ist dabei von großer Bedeutung, da die Affinität zum Zielprotein erhalten bleiben muss. Der Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Substanzsammlung folgend, wurden die Linker am Indol angeknüpft. Die affinitätschromatographischen Experimente erfordern zudem eine Negativkontrolle, diese sollte der molekularen Sonde möglichst ähnlich sein, ohne jedoch Affinität zum Zielprotein aufzuweisen. Dazu wurden ein enantiomerenreiner und ein racemischer Ansatz verfolgt (Abbildung 4).

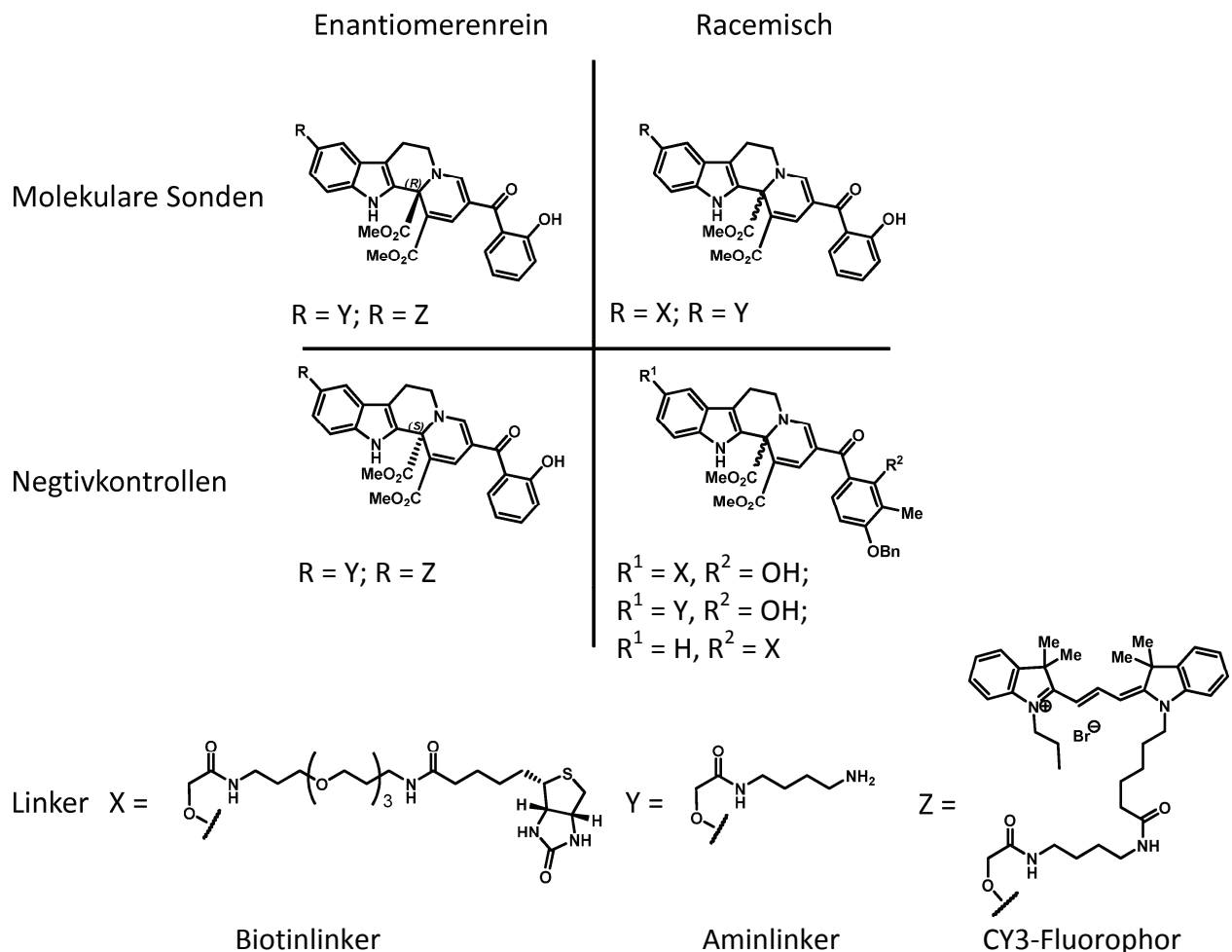


Abbildung 4: Enantiomerenreine und racemische molekulare Sonden und Negativkontrollen; Biotin- und Aminlinker sowie Linker mit CY3-Fluorophor

Beim enantiomerenreinen Ansatz wird jeweils ein reines Enantiomer an den Linker gekuppelt, aus dem aktiven *R*-Enantiomer wurde die molekulare Sonde gewonnen, das biologisch weit weniger aktive *S*-Enantiomer führte zur Negativkontrolle. Im letzten Reaktionsschritt, einer Boc-Entschützung unter sauren Bedingungen, kam es jedoch zu einer geringfügigen Racemisierung der enantiomerenrein hergestellten Produkte. Um daraus resultierende Probleme in biologischen Experimenten zu umgehen, wurde ein robusterer, racemischer Ansatz verfolgt. Auch kam hier neben dem Amin- auch ein Biotinlinker zum Einsatz. Die biologische Inaktivität der Negativkontrollen wurde bei diesem Ansatz durch das Substitutionsmuster erreicht. Ein gleichermaßen substituiertes Indolochinolizin ohne Linker zeigte in zellulären Assays keinerlei biologische Aktivität. Eine Besonderheit zeigt dabei die Negativkontrolle mit Anknüpfung des Linkers am Benzolring, woraus zusätzlich biologische Inaktivität folgt. Molekulare Sonden, die mit Fluorophoren verknüpft sind, bieten Möglichkeiten für vielfältige Experimente zur Validierung von Zielproteinen. Somit wurde, aufbauend auf der Struktur-Wirkungs-Beziehung, ein kompletter Satz molekularer Sonden sowohl für die Identifizierung als auch für die Validierung des Zielproteins der Indolochinolizine synthetisiert.