

| Zusammenfassung |

7 Zusammenfassung

Ausgehend von an der estrogenabhängigen MCF-7-2a Zelllinie agonistisch wirksamen $(4R,5S)/(4S,5R)$ -4,5-Diaryl-2-imidazolinen wurden im Rahmen dieser Arbeit weitere 2-Imidazoline synthetisiert. Es wurde versucht, die agonistische Wirkung durch Einführung von Alkylresten in den Imidazolinring an $N1$, $C2$ und $N3$ zu steigern. Ferner sollte der Einfluss der Konfiguration an den Stereozentren $C4$ und $C5$ untersucht werden.

Ein weiteres Ziel war es, antagonistisch wirksame Strukturen zu erhalten. Dazu wurden basische Seitenketten, die für die antagonistische Wirkung in SERM verantwortlich sind, in ausgewählte Verbindungen integriert.

Die Synthese der eingangs erwähnten Verbindungen erfolgte durch Zyklisierung von 1,2-Diamino-1,2-diarylethanen, die im Rahmen dieser Arbeit dargestellt wurden. Dazu wurden Orthoester bzw. Iminoester eingesetzt und 2-H- und 2-Alkylimidazoline erhalten. Mit Hilfe von *n*-Chloralkyliminoestern wurden Diaryltetrahydropyrroloimidazole und Diarylhexahydroimidazopyridine dargestellt. *N*-Alkylierte sowie *N,N'*-dialkylierte Verbindungen ließen sich aus 2-Imidazolinen durch Addition von Alkyljodiden an im stark alkalischen gebildete Imidazolinide darstellen. Die Zyklisierung *N*-alkylierter Diaminoethane zu *N*-Alkylimidazolinen mit Orthoestern stellte sich als alternativer Syntheseweg für *N*-Alkylimidazoline heraus.

Durch Reaktion hydroxysubstituierter 2-Imidazoline mit Alkylchloriden in Natriumethanolat wurden 2-Imidazoline mit verschiedenen basischen Seitenketten hergestellt.

Des Weiteren wurde die Stabilität der Verbindungen mit einer dazu entwickelten HPLC-Methode untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass Imidazoline unter den Bedingungen der pharmakologischen Untersuchungen hydrolysieren. Das Hydrolyseprodukt des 2-Imidazolins **70** wurde synthetisiert und als ringoffenes Formamid **100** identifiziert. Auch *N*-Alkylimidazoline zeigen Hydrolyse. Sie sind jedoch deutlich stabiler als am Imidazolinring nicht alkylierte 2-Imidazoline. Für *C*-Alkyl-Imidazoline, *N,N'*-Dialkyl-4,5-diarylimidazoliniumsalze sowie Diarylimidazopyridine konnte kein Abbauprodukt nachgewiesen werden.

Eingehende Strukturuntersuchungen anhand spektroskopischer und theoretischer Methoden ergaben, dass sowohl $(4R,5S)/(4S,5R)$ -konfigurierte als auch $(4R,5R)/(4S,5S)$ -konfigurierte 4,5-Diaryl-2*H*-imidazoline einen nahezu planaren, mesomeriestabilisierten Imidazolinring aufweisen. An diesem Ring sind die Substituenten an $C4$ und $C5$ pseu-

doaxial angeordnet. Dieser strukturelle Aufbau des Imidazolinrings wird durch weitere Veränderungen des Rings, die in dieser Arbeit durchgeführt wurden, nicht beeinflusst. Alle Verbindungen wurden pharmakologischen Untersuchungen am Estrogenrezeptor unterzogen. Dabei stellte sich in Bezug auf die agonistische Wirkung eine *(4R,5S)/(4S,5R)*-Konfiguration der 2-Imidazoline als deutlich überlegen gegenüber einer *(4R,5R)/(4S,5S)*-Konfiguration heraus. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Wirkung der instabilen Verbindungen, nur zu einem geringen Teil von den Hydrolyseprodukten verursacht wird.

Als besonders günstig für die agonistische Wirkung erwiesen sich die *N*-Alkylierungen des 2-Imidazolinrings, die eine deutliche Verstärkung der Wirkung zur Folge hatten. Dadurch wurde *(4R,5S)/(4S,5R)*-*N*-Ethyl-4,5-bis(2-chlor-4-hydroxyphenyl)-2-imidazolin **86**, die wirksamste Verbindung der Arbeit erhalten (EC_{50} : $1.5 \cdot 10^{-8}$ M). Die *N,N'*-diethylierte Verbindung **88** mit ionischer Struktur zeigt eine dem Imidazolin ohne Alkylreste **70** vergleichbare Aktivität (EC_{50} : $5 \cdot 10^{-7}$ M). Alkylierungen an C2, wie auch Einbindungen von N1 und C2 in einen weiteren Ring, führten dagegen zu einer Abschwächung der agonistischen Wirkung.

In dieser Arbeit konnten keine am ER antagonistisch wirksamen Verbindungen dargestellt werden. Die zu diesem Zweck durchgeführte Einführung basischer Seitenketten resultierte in am ER agonistisch und antagonistisch inaktiven Verbindungen.

Durch die Aufklärung von Röntgenkristallstrukturen der mit verschiedenen Liganden kokristallisierten Ligandenbindungsdomäne des ER, sind Aussagen über Wechselwirkungen dieser Liganden mit der LBD möglich. Zusammen mit den Ergebnissen der Strukturaufklärung und den Ergebnissen der pharmakologischen Untersuchungen wurden diese Kristallstrukturen verwendet, um Bindungsmodelle für die in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen zu entwickeln.

Die in dieser Arbeit hergestellten agonistisch wirksamen Verbindungen lassen sich in zwei Gruppen einteilen:

- Typ-I-Estrogene sind Verbindungen, die analog zu Estradiol an die LBD binden. Alle Diaryldiaminoethane dieser Arbeit sowie die Hydrolyseprodukte der 2-Imidazoline wurden dieser Gruppe zugeordnet.
- Typ-II-Estrogene sind Verbindungen, die auf Grund ihrer räumlichen Struktur nicht in der Lage analog zu E2 an den ER zu binden. Alle *(4R,5S)/(4S,5R)*-kon-

figurierten Imidazoline dieser Arbeit wurden dieser Gruppe von Estrogenen zugeordnet.

Typ-II-Estrogene sind über Wasserstoffbrückenbindungen zu Glu 353 und Arg 394 an die LBD des ER α gebunden. Eine weitere Wasserstoffbrücke zwischen der zweiten OH-Gruppe der Verbindungen und Asp 351 wurde auf Grund theoretischer Überlegungen postuliert. Berechnungen mit CHARMM ergaben dagegen Wasserstoffbrückenbindungen zu Glu 353, Arg 394 und Thr 347. Die Bindung der Imidazoline wird durch lipophile Wechselwirkungen stabilisiert. Im Gegensatz zur Bindung von Typ-I-Estrogenen kommt es hierbei nicht zu einem Kontakt zu His 524.

Die in dieser Arbeit gewonnen Erkenntnisse über die Wirkung von 2-Imidazolinen am Estrogenrezeptor können als Grundlage für die Entwicklung weiterer wirksamer Verbindungen verwendet werden. Insbesondere das wirksamste 2-Imidazolin **86** stellt einen gut geeigneten Ausgangspunkt für die Entwicklung weiterer Agonisten und Antagonisten dar.

Neben den Untersuchungen am Estrogenrezeptor wurde die Wirkung an der TGF- β -Signalkaskade von zwei Verbindungen untersucht. Dabei stellte sich das Diaryltetrahydropyrroloimidazol **62** als potenter, nicht toxischer Inhibitor einer durch TGF- β stimulierten Migration von Keratinozyten dar.

Zusätzliche Untersuchungen an der TGF- β -Signalkaskade sind notwendig, um genauere Aussagen über die Wirkungsweise dieser Verbindungen machen zu können. Mit Hilfe weiterer Testsysteme sollte geklärt werden, wie die beobachtete Hemmung der Migration zustande kommt. Außerdem sollten weitere Verbindungen dieser Arbeit auf ihre Wirkung an der TGF- β -Signalkaskade untersucht werden. Die daraus abgeleiteten Struktur-Wirkungsbeziehungen können den Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer an der TGF- β -Kaskade wirksamer Verbindungen darstellen.