

Schema 2. Stofftransport zwischen wässriger und organischer Phase in Gegenwart eines chemisch modifizierten Cyclodextrins bei der Hydroformylierung von 1-Decen.

clodextrin-Komplex. Dementsprechend sollten die organischen Reaktionspartner und die Cyclodextrine leichter assoziieren und dissoziieren können (Schritte 1 und 3 in Schema 2).

Die ungewöhnlich hohe Selektivität zugunsten der Aldehydbildung ($\leq 90\%$) mit dem teilmethylierten β -Cyclodextrin kann auf dessen tieferen hydrophoben Wirthohlraum zurückgeführt werden, so daß das Olefin vollständig umschlossen und dadurch vor einer Isomerisierung durch den Rhodiumkatalysator geschützt wird^[12]. Die Änderungen im Verhältnis von linearem zu verzweigtem Aldehyd (1.8 bis 3.2) können der Fähigkeit der modifizierten Cyclodextrine, das 1-Decenmolekül im Wirthohlraum sterisch vorzuorientieren, und/oder den Wechselwirkungen zwischen dem Cyclodextrin und dem Katalysator zugeschrieben werden. So kann die Bildung von Cyclodextrin-Einschlußverbindungen durch Wechselwirkungen zwischen dem Cyclodextrin und einem Übergangsmetallkomplex gefördert werden^[10, 13]. Um unsere dahingehende Hypothese zu prüfen, führen wir derzeit NMR-Untersuchungen durch.

Durch die hier vorgestellten Ergebnisse und unsere früheren Arbeiten über die Wacker-Oxidation von höheren Olefinen wird bestätigt, daß die reaktionsfördernde Wirkung von chemisch modifizierten Cyclodextrinen in wässrigen Zweiphasensystemen ein Phänomen von allgemeiner Bedeutung ist. Da diese Cyclodextrine ungiftig, preiswert, biologisch abbaubar und industriell in großen Mengen zugänglich sind, steht einer breiten Anwendung dieser Verbindungen in Übergangsmetallkomplex-katalysierten Zweiphasenreaktionen nichts im Wege. Wegen der Chiralität der Cyclodextrine können zudem weitere interessante Entwicklungen – etwa auf dem Gebiet der asymmetrischen Katalyse – erwartet werden.

Experimentelles

In einem typischen Experiment wurden [Rh(acac)(CO)₂] (0.16 mmol; acac = Acetylacetonat), P(*m*-C₆H₄SO₃Na)₃ (0.8 mmol; hergestellt nach der Vorschrift von Gärtner et al. [15]) und ein chemisch modifiziertes Cyclodextrin (1.12 mmol) in 45 mL Wasser gelöst. Die so erhaltene wässrige Phase und eine organische Phase aus 1-Decen (80 mmol) und Undecan (4 mmol; als interner GC-Standard) wurden unter Stickstoff in einen Edelstahlautoklaven (100 mL) gegeben, der auf 80 °C erhitzt und mit einem 1:1-Gemisch aus CO und H₂ bis zu einem Druck von 50 atm befüllt wurde. Das Gemisch wurde mit einem Mehrblattührer mechanisch gerührt (1000 U min⁻¹). Der Gasdruck wurde während der gesamten Reaktionszeit aufrechterhalten (Gasreservoir, Druckregulator). Die Reaktion wurde durch quantitative GC-Analyse (CPSil 5-CB, 25 m, Innendurchmesser 0.32 mm) verfolgt.

Eingegangen am 3. Juni 1995 [Z8059]

Stichworte: Cyclodextrine • Hydroformylierungen • Phasentransferkatalyse • Rhodiumverbindungen • Wacker-Oxidation

- [1] a) W. A. Herrmann, C. W. Kohlpaintner, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1588; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1524; b) B. Cornils, E. Wiebus, *Chemtech* **1995**, *33*; c) *Chem. Ing. Tech.* **1994**, *66*, 916; d) W. A. Herrmann, C. W. Kohlpaintner, R. B. Manetsberger, H. Bahrman, H. Kottman, *J. Mol. Catal.* **1995**, *97*, 65.
- [2] S. S. Divekar, B. M. Bhanage, R. M. Deshpande, R. V. Gholap, R. V. Chaudhari, *J. Mol. Catal.* **1994**, *91*, 11.
- [3] a) M. J. H. Russel, B. A. Murrer (Johnson Matthey), US-A 4399312, **1983** [*Chem. Abstr.* **1982**, *97*, P23291n]; b) H. Bahrman, P. Lappe (Hoechst AG), *Eur. Pat. Appl.* 602463, **1994** [*Chem. Abstr.* **1994**, *121*, P107982r]; c) T. Bartik, B. Bartik, B. E. Hanson, *J. Mol. Catal.* **1994**, *88*, 43.
- [4] R. V. Chaudhari, B. M. Bhanage, R. M. Deshpande, H. Delmas, *Nature* **1995**, *373*, 501.
- [5] a) H. Ding, B. E. Hanson, T. Bartik, B. Bartik, *Organometallics* **1994**, *13*, 3761; b) H. Ding, T. E. Glass, B. E. Hanson, *Inorg. Chem. Acta* **1995**, *229*, 3289; c) B. Fell, G. Papadogianakis, *J. Mol. Catal.* **1991**, *66*, 143; d) H. Bahrman, G. Deckers, W. Greb, P. Heymanns, P. Lappe, T. Mueller, J. Szameitat, E. Weibus (Hoechst AG), *Eur. Pat. Appl.* 602442, **1994** [*Chem. Abstr.* **1994**, *121*, P107978u].
- [6] J. P. Arhancet, M. E. Davis, J. S. Merola, B. E. Hanson, *J. Catal.* **1990**, *121*, 327.
- [7] F. Monteil, R. Queau, P. Kalck, *J. Organomet. Chem.* **1994**, *480*, 177.
- [8] a) E. Monflier, E. Blouet, Y. Barbaux, A. Mortreux, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2183; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2100; b) E. Monflier, S. Tilloy, G. Fremy, Y. Barbaux, A. Mortreux, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 387.
- [9] E. Monflier, Y. Castanet, A. Mortreux (Centre National de la Recherche Scientifique), FR-A 9500466, **1995**.
- [10] Die fehlende Aktivität von α -Cyclodextrin wurde bereits bei der Zweiphasen-Hydroformylierung von 1-Hexen festgestellt: J. R. Anderson, E. M. Campi, W. R. Jackson, *Catal. Lett.* **1991**, *9*, 55.
- [11] a) D. Duchene, D. Wouessidjewe, *J. Coord. Chem.* **1992**, *27*, 223; b) H. Ikeda, R. Kojin, C. J. Yoon, T. Ikeda, *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **1989**, *7*, 11; c) C. M. Spencer, J. F. Stoddart, R. Zarzycki, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **1987**, 1323; d) Y. Kubota, T. Tanimoto, S. Horiyama, K. Koizumi, *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, 159.
- [12] M. Czugler, E. Ecke, J. J. Stezowski, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 1294.
- [13] H. M. Colquhoun, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 483; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 487.
- [14] G. Wenz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 851; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 803.
- [15] R. Gärtner, B. Cornils, H. Springer, P. Lappe (Ruhchemie AG), DE-B 3235030, **1982** [*Chem. Abstr.* **1984**, *101*, P55331f].

Optimierung der biologischen Aktivität von kombinatorischen Verbindungsbibliotheken durch einen genetischen Algorithmus**

Lutz Weber*, Sabine Wallbaum, Clemens Broger und Klaus Gubernator

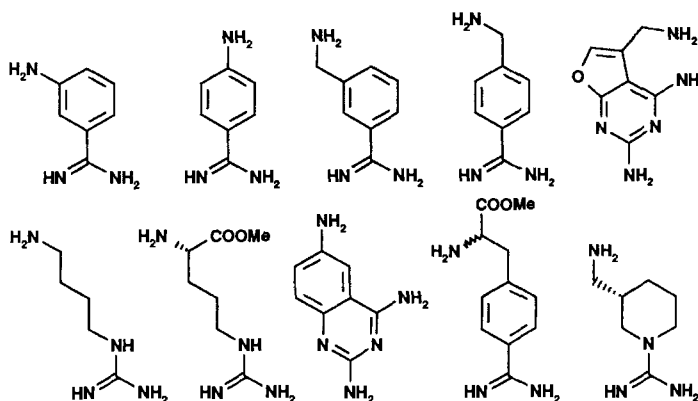
Professor Ivar Ugi zum 65. Geburtstag gewidmet

Der Schlüsselschritt zu Beginn einer Suche nach biologischen Wirkstoffen besteht in der Identifizierung eines eng bindenden Liganden für ein biologisches Zielmolekül. Die Nutzung molekularer Diversität durch den Einsatz von kombinatorischen Verbindungsbibliotheken wurde vorgeschlagen, um solche neuen, prototypischen Liganden schneller entwickeln zu können. Verbindungsbibliotheken werden entweder als komplexe

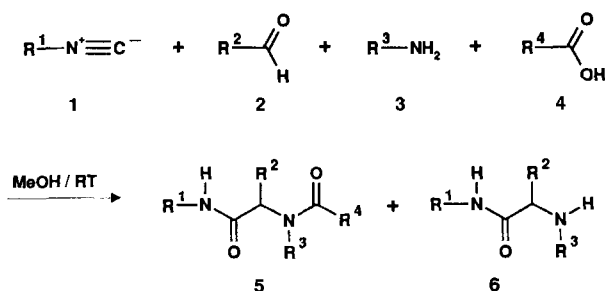
[*] Dr. L. Weber, Dr. S. Wallbaum, Dr. C. Broger, Dr. K. Gubernator
Präklinische Forschung, Pharma Division, F. Hoffmann-La Roche AG
CH-4002 Basel (Schweiz)
Telefax: Int. + 41/61-6888714
E-mail: lutz.weber@roche.com

[**] Wir danken Dr. David Weininger, Daylight Chemical Information Systems, Irvine (USA), für hilfreiche Diskussionen.

Mischungen nach der „Teilen-und-Mischen“-Methode (zumeist durch Festphasensynthese) oder als Einzelverbindungen durch in Lösung durchgeführte parallele Synthesen hergestellt^[1]. Während die „Teilen-und-Mischen“-Methode Synthesesequenzen für die Herstellung einer großen Zahl von Verbindungen nutzt, werden zur parallelen Synthese von vielen Verbindungen idealerweise vielseitige Eintopfreaktionen verwendet. Cycloadditionen und Reaktionen mit noch mehr Komponenten, wie die Asinger- oder die Ugi-Kaskadenreaktion, liefern unterschiedliche Produkte in einem Eintopfverfahren und sind deshalb für parallele Synthesen besonders geeignet^[2, 3]. So können durch die Ugi-Reaktion viele parallele Reaktionen durch das Mischen eines Isocyanides, eines Aldehydes, eines Amins und einer Carbonsäure bei Raumtemperatur in Methanol schnell angesetzt werden (Schema 1). Durch Kombination von



Schema 2. Die zehn beim genetischen Algorithmus eingesetzten Amine 3.



Schema 1. Die Vierkomponenten-Ugi-Reaktion. RT = Raumtemperatur.

10 Isocyaniden, 40 Aldehyden, 10 Aminen und 40 Carbonsäuren sind so 160 000 unterschiedliche Ugi-Reaktionen möglich. Wir stellen hier ein Such- und Syntheseverfahren vor, durch das mit dieser Bibliothek aus 160 000 Reaktionen biologisch aktive Verbindungen erhalten werden können, wobei nur ein kleiner Teil aller möglichen Reaktionsprodukte hergestellt und getestet wird.

Wie gezeigt wurde, sind genetische Algorithmen besonders geeignet, um komplexe, mehrdimensionale Probleme optimal zu lösen^[4]. Nach den Regeln der Genetik (Replikation, Crossover und Mutation) werden neue Generationen von Verbindungen parallel hergestellt, die günstigere Eigenschaften als ihre Elternverbindungen aufweisen sollten. Ein Enzymassay zur Prüfung der biologischen Aktivität wird als evolutionäre Rückkopplungsschleife genutzt, um nach solchen Ausgangsverbindungen für die Ugi-Reaktion zu suchen, deren Produkte eine hohe Enzym-Inhibitor-Aktivität aufweisen. Wir wählten die Serin-Protease Thrombin als biochemisches Zielsystem^[5]. Ihre zentrale Rolle in der Blutkoagulationskaskade und in verwandten pathogenen thrombotischen Prozessen macht die Identifizierung von Thrombin-Inhibitoren zu einem attraktiven Ziel für die Entwicklung von therapeutischen Antikoagulantien.

Die kommerziell erhältlichen Reagentien 1 (10), 2 (40), 3 (10) und 4 (40 Verbindungen) wurden so ausgesucht, daß man für jede Komponente 1–4 eine breite Auswahl hinsichtlich Größe, Hydrophobie, Donor- und Acceptoreigenschaften erhielt. Diese allgemeine Bibliothek wurde nur dadurch eingeschränkt, daß das Amin 3 eine donorreiche, basische Seitenkette aufweist (Schema 2), die bekanntlich eine Inhibitor-Aktivität gegenüber trypsinartigen Serin-Proteasen induziert^[6].

Die experimentellen Bedingungen wurden nach eine Serie von Testreaktionen und chromogenen Thrombinassays mit den ungereinigten Reaktionsmischungen bestimmt^[7]. Schwach nucleophile Amine wie 4-Aminobenzamidin lieferten nach dem Verdünnen der Reaktionsmischung mit einem wäßrigen Puffer zwei

Hauptprodukte, ein Vierkomponentenaddukt 5 und ein Dreikomponentenprodukt 6, bei dem der Carbonsäurerest fehlt (Schema 1)^[8]. Störungen durch Reste an nicht umgesetzten Reagentien, die im Enzymassay nur eine schwache Inhibitor-Aktivität aufweisen, konnten durch Kontrollexperimente ausgeschlossen werden.

Ein einfacher genetischer Algorithmus wurde angewendet^[9]. Die Reagentien wurden durch ein willkürliches Bitmuster kodiert, z. B. 0010 für Benzylisocyanid. Die Länge der Bitmuster wurde entsprechend gewählt, um jeden möglichen Substituenten (d. h. jedes Reagens) an jeder der vier Positionen R¹–R⁴ zu kodieren, und das zusammengesetzte Bitmuster kodiert die Reaktionsmischung aus vier spezifizierten Reagentien 1, 2, 3 und 4, z. B. 0010 011100 0111 010011 für die Ausgangsverbindungen Benzylisocyanid, Salicylaldehyd, Agmatin [(4-Amino-*n*-butyl)guanidin] und Propionsäure. Das Fortbestehen der Muster, die Replikation, wird in unserem Experiment durch das Speichern aller experimentellen Befunde in einer Datenbank gewährleistet. Crossover und Mutationen sind nur für solche Bitmuster (Reaktionen) erlaubt, die im Thrombinassay eine hohe Inhibitor-Aktivität aufweisen. Ein Crossover wird durch das Zerschneiden von zwei Bitmustern an einer zufälligen Position und den Austausch der zerschnittenen Stücke unter Bildung von zwei neuen Bitmustern erreicht. Eine Mutation besteht in der Umkehrung eines Bits in einer zufälligen Position eines gegebenen Bitmusters. Reaktionen werden dann durchgeführt, wenn ein neues Bitmuster tatsächlichen Ausgangsverbindungen entspricht, andernfalls wird das Verfahren wiederholt. Die veränderbaren Parameter dieses genetischen Algorithmus, die Populationsgröße (Zahl der parallel auszuführenden Reaktionen) und die Mutationsgeschwindigkeit, wurden in mehreren Testläufen mit einem Datensatz aus 160 000 virtuellen Verbindungen ausgewählt, deren Aktivitäten mit unterschiedlichen Testfunktionen – z. B. überlagerte Sinusfunktionen in vier Dimensionen – berechnet wurden. Für das hier vorgestellte Vierkomponentenproblem wurde die aktivste Einzelverbindung mit einer Populationsgröße von 20, einer Crossover-Wahrscheinlichkeit von 100 % und einer Mutationswahrscheinlichkeit von 1 % nach 20 bis 50 Generationen erhalten.

Das Experiment wurde mit einer zufälligen Auswahl der ersten 20 Bitmuster begonnen. Die entsprechenden Reaktionen wurden durchgeführt und die Rohprodukte getestet. Die erhaltenen Daten wurden in den genetischen Algorithmus eingegeben, durch den dann die nächsten 20 Bitmuster durch Crossover und Mutationen berechnet wurden. Die Bitmuster der 20 aktivsten der 40 Reaktionsprodukte wurden als Eltern für die Berechnung und Synthese der nächsten Generation verwendet. Dieses Verfahren wurde 20 Generationen fortgeführt,

so daß insgesamt 400 unterschiedliche Ugi-Reaktionen durchgeführt wurden.

Bereits nach 16 Generationen lag die durchschnittliche effektive Inhibitor-Aktivität (EC_{50}) der 20 aktivsten Produkte im Thrombinassay im submikromolaren Bereich (Abb. 1). Das aktivste Reaktionsprodukt aus allen 400 Reaktionen wurde in der 18. Generation gefunden. Diese Reaktion wurde im größeren

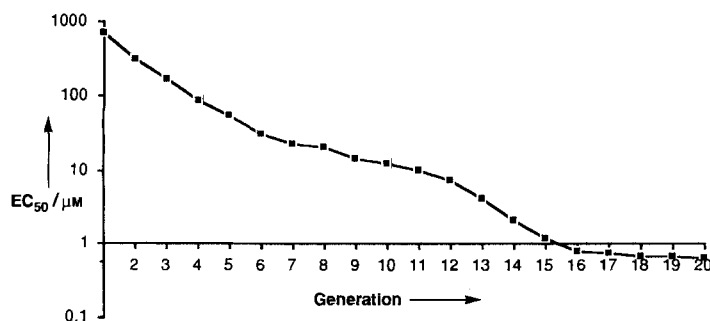
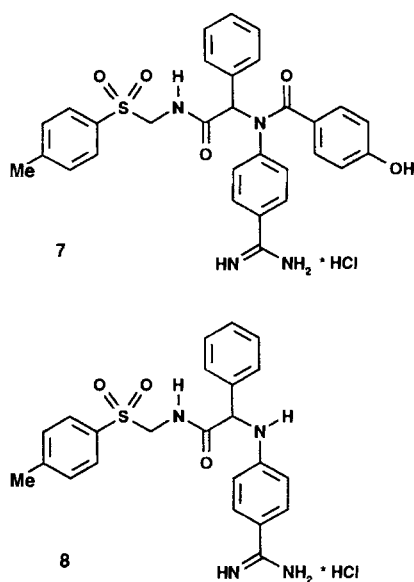


Abb. 1. Durchschnittliche Inhibitor-Aktivität der 20 besten Ugi-Reaktionsprodukte im chromogenen Thrombinassay. Die effektiven Inhibitor-Konzentrationen (EC_{50}) sind in μM angegeben.

Maßstab durchgeführt, und die erwarteten Produkte wurden isoliert und gereinigt. Die Inhibitor-Aktivität (K_i) des neuartigen, racemischen Vierkomponentenadduktes **7** und die der Dreikomponentenverbindung **8** wurden zu 1.4 bzw. 0.22 μM bestimmt. Beide Verbindungen weisen Strukturmerkmale bereits bekannter Thrombin-Inhibitoren auf^[5] und können als prototypische Verbindungen angesehen werden, die für weitere Optimierungen durch klassische Methoden der Medizinischen Chemie geeignet sind.



Wir haben mit der beschriebenen Methode nicht notwendigerweise die aktivste Verbindung aus allen möglichen 160000 Reaktionen entdeckt. Die Methode kann allerdings einfach modifiziert werden, indem man weitere Generationen herstellt, die Populationsgröße und/oder die Mutationswahrscheinlichkeit ändert oder andere geeignete Ausgangsverbindungen einsetzt. Mit modernen, roboterunterstützten Bioassays ist diese Methode einschließlich der automatisierten Synthese und Testverfahren

leicht durchzuführen und sollte daher zu einem Standardverfahren werden können. Der Entwurf von Mehrkomponentenreaktionen und Bibliotheken aus Ausgangsverbindungen, die aufgrund von Informationen über die Struktur von Biomolekülen begrenzt wurden, könnte so zu einem wichtigen Hilfsmittel in der pharmazeutischen Forschung werden.

Experimentelles

Allgemeine Arbeitsvorschrift: Je 25 μL von Lösungen eines Isocyanids, Aldehyds, Amins und einer Carbonsäure in Methanol werden bei Raumtemperatur 20 h zur Reaktion gebracht. Das Rohprodukt wird in 50 μL Dimethylsulfoxid gelöst und mit Britton-Robinson-Puffer (pH = 7.8) verdünnt, bis die für den Thrombinassay gewünschte Konzentration erreicht wird^[7].

7: Eine Lösung von je 1 mmol Benzaldehyd, 4-Aminobenzamidin-dihydrochlorid, 4-Hydroxybenzoesäure und (*p*-Tolylsulfonyl)methylisocyanid sowie 2 mmol Triethylamin in Methanol wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von einigen Tropfen einer 25proz. HCl-Lösung zu der Reaktionslösung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand an Umkehrphasen-Kieselgel (RP18) mit einem Wasser/Methanol-Gradienten chromatographisch getrennt. Ausbeute: 28%; gelbes Pulver; 1H -NMR (250 MHz, $[D_6]DMSO$, 25 °C, TMS): δ = 2.41 (s, 3 H), 3.72 (s, 2 H), 5.61 (s, 1 H), 6.72–8.01 (m, 18 H), 8.82 (s, br., 2 H), 8.98 (s, br., 2 H); Electrospray(ES)-MS: m/z : 557.7 ($[M + H]^+$, 100%).

8: Nach dem für **7** beschriebenen Verfahren, aber ohne 4-Hydroxybenzoesäure erhält man **8** in 22% Ausbeute als gelbes, amorphes Pulver. 1H -NMR (250 MHz, $[D_6]DMSO$, 25 °C, TMS): δ = 2.37 (s, 3 H), 3.67 (s, 2 H), 5.50 (s, 1 H), 6.83–7.69 (m, 13 H), 8.88 (s, br., 2 H), 9.00 (s, br., 2 H); ES-MS: m/z : 437.6 ($[M + H]^+$, 100%).

Eingegangen am 31. Mai 1995 [Z 8050]

Stichworte: Enzyminhibitoren · Genetischer Algorithmus · Kombinatorische Chemie · Mehrkomponentenreaktionen · Verbindungsbibliotheken

- [1] a) B. A. Bunin, M. J. Plunkett, J. A. Ellman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 92, 4708–4712; b) M. A. Gallop, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, E. M. Gordon, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1233–1251.
- [2] U. Obst, V. Gramlich, F. Diederich, L. Weber, D. W. Banner, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1874–1877; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1739–1742.
- [3] I. Ugi, S. Lohberger, R. Karl in *Comprehensive Organic Synthesis: Selectivity for Synthetic Efficiency*, Vol. 2 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming, C. H. Heathcock), Pergamon, Oxford, **1991**, S. 1083–1109.
- [4] a) D. E. Goldberg, *Genetic Algorithms in Search Optimization and Machine Learning*, Addison Wesley, Reading, MA, **1989**; b) R. P. Sheridan, S. K. Kearsley, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1995**, 35, 310–320; c) V. Venkatasubramanian, K. Chan, J. M. Caruthers, *ibid.* **1995**, 35, 188–195.
- [5] K. Hilpert, J. Ackermann, D. W. Banner, A. Gast, K. Gubernator, P. Hadvary, L. Labler, K. Müller, G. Schmid, T. B. Tschopp, H. van de Waterbeemd, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3889–3901.
- [6] Darüber hinaus könnte die Information über die Struktur des Biomoleküls, z. B. die dreidimensionale Struktur des Zielproteins^[5], für die Einschränkung der Verbindungsbibliothek bezüglich aller Substituenten verwendet werden.
- [7] Chromogenes Substrat S-2238: R. Lottenberg, J. A. Hall, J. W. Fenton, G. M. Jackson, *Thromb. Res.* **1982**, 28, 313.
- [8] Produkt **6** wird mit Wasser statt der Säure als vierte Komponente oder durch Reaktion mit der Iminoester-Vorstufe von **5** gebildet.
- [9] Eine Daylight-Datenbank (Daylight Chemical Information Systems, Irvine, CA) wurde auf einem SiliconGraphics-Onyx-Computer für die Speicherung der chemischen Strukturen und der biologischen Aktivitäten benutzt. Es wurde ein C-Programm für den genetischen Algorithmus geschrieben, das diese Datenbank nutzt.