

Fluorophordesign und Fluoreszenzmarkierung:

Synthese funktionalisierter BODIPY-Derivate und Markierung von Purinrezeptor-Liganden

DISSERTATION

Zur Erlangung des Doktorgrades
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von
Sven Jan Freudenthal
aus
Rotenburg / Wümme

Bonn 2002

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Prof. Dr. Christa E. Müller
2. Referent: Prof. Dr. Michael Gütschow

Tag der Promotion: 15.02.2002

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1998 bis Februar 2002 am Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn in Poppelsdorf unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Christa. E. Müller durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Christa. E. Müller für die Überlassung des interessanten Themas, ihre Unterstützung, ihre stetige Diskussionsbereitschaft und vor allem ihr Vertrauen, ein neues Themengebiet zum Erfolg führen zu können.

Ebenso möchte ich mich an dieser Stelle bei Herrn Prof. Dr. Gütschow für die freundliche Übernahme des Korreferates bedanken.

*Martina
und meiner Mutter*

Inhaltsverzeichnis

1.	Fluoreszenz	1
1.1.	Die physikalischen Grundlagen	1
1.2.	Geschichte und Verwendung in der Medizinischen Chemie	3
1.3.	Ausgewählte Highlights der aktuellen Forschung	7
2.	Rezeptoren	11
2.1.	Allgemeines	11
2.2.	P1- und P2-Rezeptoren	15
3.	Fluoreszenzmarkierung	19
3.1.	BODIPY	22
4.	Projekt	27
5.	Darstellung neuer BODIPY-Derivate	29
5.1.	8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene	29
5.2.	Derivatisierung der 8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene	36
5.3.	Fluoreszenzeigenschaften der neuen BODIPY-Derivate	38
6.	Fluoreszenzmarkierung von Adenosinrezeptor-Liganden	39
6.1.	Strukturaufklärung und Reinheitsbestimmung der Fluoreszenzliganden	45
6.2.	Fluoreszenzeigenschaften der neuen fluoreszenzmarkierten Adenosinrezeptor-Liganden	48
6.3.	Radioligand-Bindungsstudien	49
7.	Versuche zur Fluoreszenzmarkierung von P2Y ₁₂ -Rezeptor-Liganden	53

8.	Synthesen	59
9.	Zusammenfassung	155
10.	Ausblick	159
11.	Literatur	161

Abkürzungsverzeichnis

AMP	Adenosinmonophosphat
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
AR	Adenosinrezeptor
br	breit
CCPA	2-Chlor-N ⁶ -cyclopentyladenosin
DCM	Dichlormethan
DEAE	Diethylaminoethyl
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMF	N,N-Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDC	N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl
EI	Elektronen-Ionisation
FAB	<i>fast atom bombardment</i>
FCS	<i>fluorescence correlation spectroscopy</i>
FIDA	<i>fluorescence intensity distribution analysis</i>
FISH	Fluoreszenz- <i>in-situ</i> -Hybridisierung
FRET	<i>fluorescence resonance energy transfer</i>
GFP	<i>green fluorescent protein</i>
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HMQC	<i>heteronuclear multiple quantum correlation</i>
HTS	<i>high throughput screening</i>
HR	<i>high resolution</i>
LIF	Laser-induzierte Fluoreszenz
m	Masse
m.p.	Schmelzpunkt
mNBA	meta-Nitrobenzylalkohol
MS	Massenspektrometrie
MSX-2	3-(3-Hydroxypropyl)-7-methyl-8-(m-methoxystyryl)- 1-propagylxanthin

NaOAc	Natriumacetat
NMR	magnetische Kernresonanz
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (<i>polymerase-chain-reaction</i>)
PSB-11	2-Phenyl-8-ethyl-4-methyl-(8 <i>R</i>)-4,5,7,8-tetrahydro- 1 <i>H</i> -imidazo[2,1- <i>l</i>]purin-5-on
RT	Raumtemperatur
SAR	Struktur-Wirkungsbeziehungen (<i>structure activity relationships</i>)
UV	Ultraviolett
iProp	iso-Propanol
z	Ladung
Zers.	Zersetzung
ZM-241385	4-[2-[[7-Amino-2-(furyl)1,2,4-triazolo[2,3- <i>a</i>]1,3,5-tri- azin-5-yl]amino]ethyl]phenol

Glossar

Quenchen	Löschung der Fluoreszenz durch Wechselwirkung mit einem anderen Molekül, welches in der Lage ist, die Anregungsenergie aufzunehmen (proportional zur Stoßwahrscheinlichkeit).
Autoquenching	Selbstlöschung durch ein anderes Fluorophormolekül.
Bleaching	Nachlassen der Fluoreszenz durch die Bestrahlung mit Licht (Ausbleichen). Hauptsächlich hervorgerufen durch photoinduzierte chemische Reaktionen des sich im angeregten Zustand befindenden Fluorophors zu einem nicht mehr fluoreszierenden Produkt.
Auxoflor	Erhöhung der Fluoreszenz
Diminoflor	Schwächung der Fluoreszenz
Bathoflor	Verschiebung der Emission nach längeren Wellenlängen

1. Fluoreszenz

Fluoreszenz ist uns heutzutage allgegenwärtig, sei es das strahlend weiße Papier auf das wir schreiben, die leuchtende Wäsche die wir tragen, das Licht, das aus Leuchtstoffröhren unseren Lebensraum erhellt oder der Fernseher bzw. der Computermonitor, der unser Leben bereichert.

Fluoreszenz ist eine vom Mineral Flußspat (Fluorit, CaF_2) abgeleitete Bezeichnung einer Leuchterscheinung von Feststoffen, Flüssigkeiten oder Gasen, die nur solange auftritt, wie diese Stoffe bestrahlt werden. Im Falle des Flußspats ist sie aber auf Verunreinigungen im Kristall zurückzuführen, welche damals noch nicht erkannt wurden.

1.1. Die physikalischen Grundlagen

In den meisten organischen Molekülen sind alle Elektronen gepaart, und befinden sich im Grundzustand. Durch die Einstrahlung von Licht kann ein Elektron aus diesem Zustand in ein unbesetztes Orbital höherer Energie überführt werden. Die Energie des Lichtes läßt sich nach *de Broglie* durch $E = h\nu$ beschreiben. Da auch die Energiezustände in Molekülen gequantelt sind, läßt sich ein Elektron nur mit bestimmten Anregungsenergien in ein höheres Niveau avancieren.

Sind in einem Molekül alle Elektronenspins gepaart so spricht man von Singulett- (S-) Zustand, während man vom Triplett- (T-) Zustand spricht, wenn das Molekül zwei ungepaarte Elektronen mit demselben Spin aufweist. Bei der Anregung aus dem Grundzustand S_0 kann die Anregung nach dem *Franck-Condon-Prinzip* nur senkrecht in einen höheren S_1 -, S_2 -Zustand usw. erfolgen (Abb. 1). Eine direkte Anregung aus dem S_0 -Zustand in einen T-Zustand ist nicht möglich.

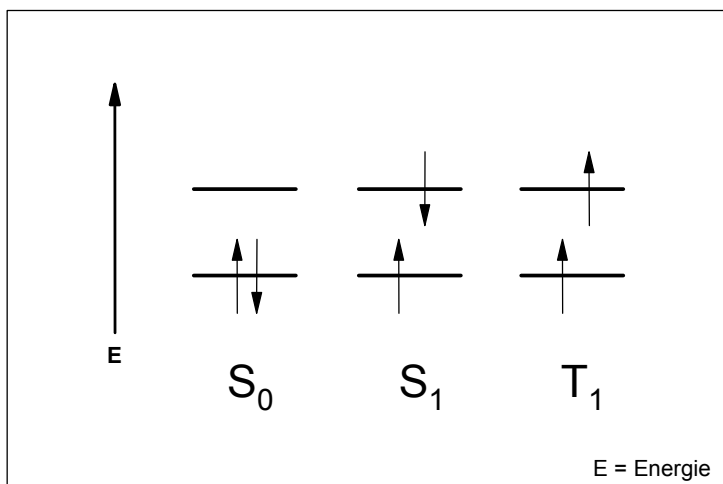


Abb. 1. Elektronenspins von Singulett- und Triplett-Zuständen

Der angeregte Zustand eines Moleküls ist sehr kurzlebig. Bei Anregungen in den S_2 - oder einen höheren Singulettzustand fällt das Elektron innerhalb von 10^{-13} bis 10^{-11} Sekunden in den S_1 -Zustand durch Energietransfer an die Umgebung zurück. Dieser auch als innere Umwandlung bezeichnete Vorgang sorgt auch dafür, daß höhere Schwingungsniveaus des S_1 -Zustandes in den niedrigsten S_1 -Schwingungszustand kaskadieren. Aus diesem Zustand kann das Molekül in einer Vielzahl von physikalischen Prozessen zurück in den Grundzustand gelangen^{1, 2, 3, 4} (Abb. 2):

- Es ist möglich, daß die Energie bis in den Grundzustand über innere Umwandlung abgeführt wird.
- Das Molekül geht durch Interkombinationsübergänge ohne Energieverlust in einen Triplettzustand über, welcher dann in den niedrigsten T_1 -Schwingungszustand kaskadiert. Von hier kann es durch Interkombinationsübergänge oder durch Aussendung von Licht (Phosphoreszenz) in einen niedrigen S_0 -Schwingungszustand gelangen.
- Durch Aussendung von Licht geht das Molekül direkt in einen niedrigen S_0 -Schwingungszustand über. Dieser Vorgang geschieht meist innerhalb von 10^{-9} Sekunden und wird als **Fluoreszenz** bezeichnet.
- Die Anregungsenergie kann aber auch durch Stoß vollständig auf ein anderes Molekül übertragen werden.

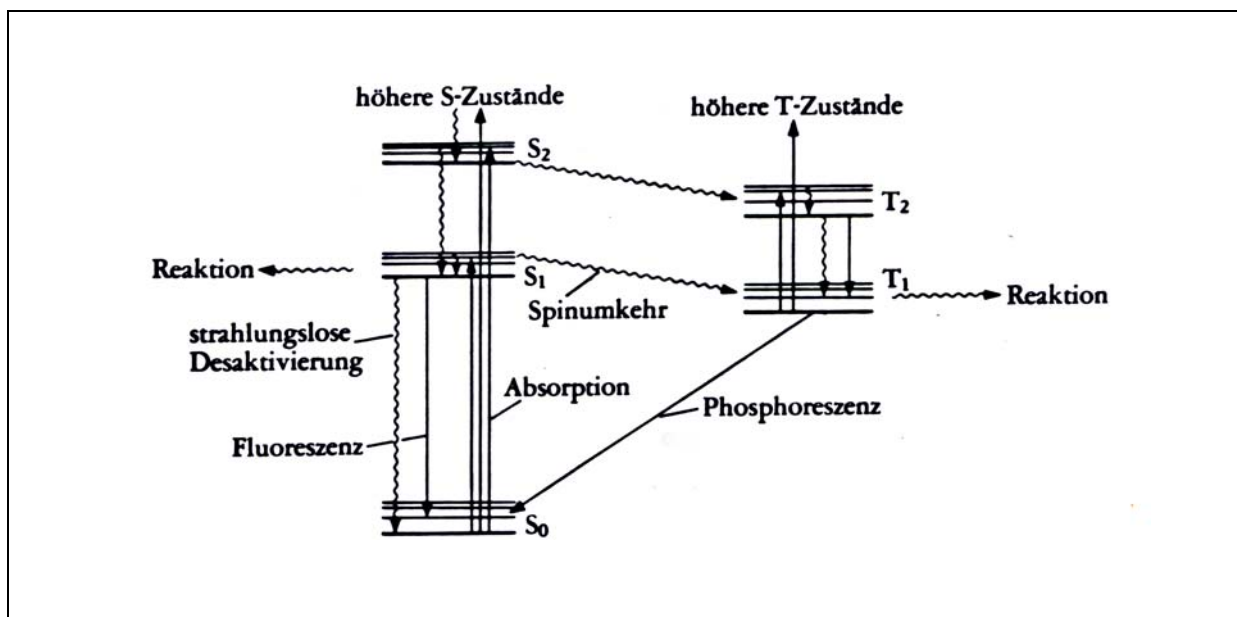


Abb. 2. Jablonski-Diagramm

1.2. Geschichte und Verwendung in der Medizinischen Chemie

Die Lichtemission von Materie ist der Menschheit von jeher bekannt, wie das Wetterleuchten, das Nordlicht, die Lichtemission von Bakterien im Meer oder auch das Leuchten verwesender Materie.

Die wissenschaftliche Auseinandersetzung mit dem Phänomen der Lumineszenz begann jedoch erst im 16. bzw. 17. Jahrhundert. So sind die ersten dokumentierten Beobachtungen der heute als Fluoreszenz bezeichneten Erscheinung auf *Monardes* (1575), *Kircher* (1646) und *Grimaldi* (1665) zurückzuführen^{5, 6}.

Athanasius Kircher, ein deutscher Jesuit, dokumentierte eine interessante Beobachtung, die er bei einem Extrakt von *Lignum nephriticum* (Blaues Sandelholz) machte. Er stellte fest, daß eine wässrige Lösung dieses Extraktes blaues Licht reflektiert, jedoch gelbes Licht transmittiert. Im Jahre 1845 beobachtete *Sir John Frederick William Herschel* die Oberflächenfärbung einer sonst vollständig farblosen Chinin-Lösung. Er beobachtete zwar diese

einzigartige Eigenschaft, verstand sie jedoch nicht. Wenige Jahre später, 1852, gab *George Gabriel Stokes* eine Erklärung für dieses Phänomen, denn er erkannte als Erster den Unterschied zwischen der Fluoreszenz, die mit einer Veränderung der Wellenlänge einhergeht, und der Lichtstreuung^{5, 6, 7}. Er postulierte, daß bei der Fluoreszenz das emittierte Licht immer langwelliger als das absorbierte ist. Weiterhin beschrieb er schon in dieser Zeit die Phänomene der Konzentrationslöschung und der Fremdlöschung, die er beim Versetzen von Chininsulfatlösung mit Salzsäure beobachtete^{8, 9}. Diese Phänomene beruhen auf der einfachen Stoßtheorie, welche besagt, daß die Löschung der Fluoreszenz proportional zur Stoßwahrscheinlichkeit des Fluorophors mit sich selbst oder einem anderen Molekül ist, welches in der Lage ist, die Anregungsenergie aufzunehmen².

Ein englischer Chemiker namens *William Perkin* stellte 1856 den ersten synthetischen Fluorophor, Anilinviolett **1**, dar (Abb. 3). 1871 war die Geburtsstunde des Fluoresceins, das von dem deutschen Chemiker *Adolph von Baeyer* synthetisiert wurde. Die Firma Dr. G. Greublers Chemisches Laboratorium begann 1880 damit, die von den Biologen und medizinischen Forschern gewünschten Fluoreszenzfarbstoffe zu vertreiben. So nutzte *Paul Ehrlich* zum erstenmal 1882 einen von ihm entwickelten Farbstoff, das Uranin (Natriumsalz des Fluoresceins **2**), zu *In-vivo*-Experimenten an Tieren, um den Weg der Sekretion der intraocularen Flüssigkeit aufzuklären. 1884 entwickelte der dänische Arzt *Hans Gram* die nach ihm benannte Gram-Färbung von Bakterien mit Kristallviolett **3**⁶.

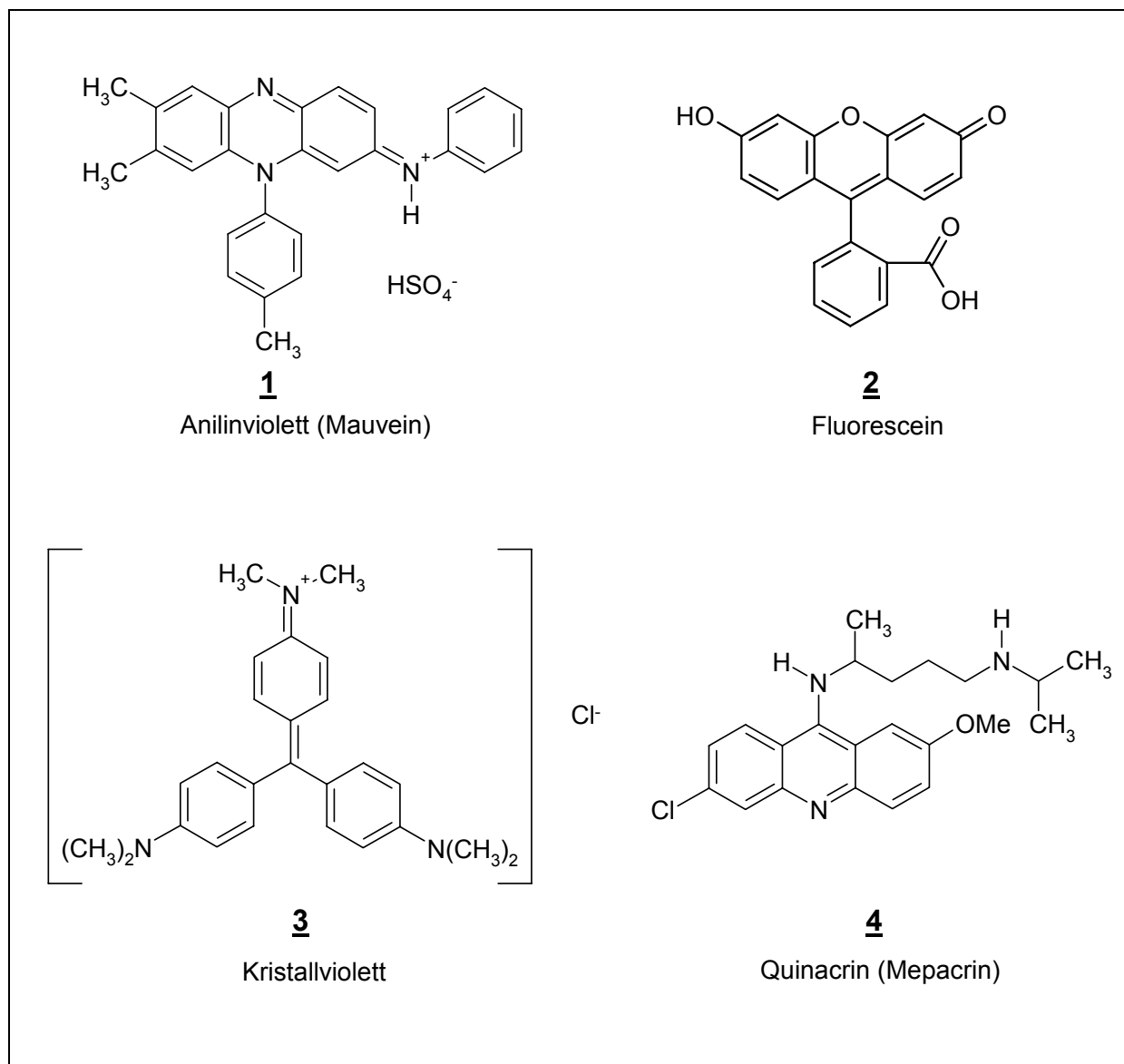


Abb. 3. Historisch bedeutsame Fluorophore

Ebenfalls 1880, als mittlerweile schon eine größere Zahl organischer Fluoreszenzfarbstoffe bekannt waren, machte sich *Liebermann* daran, eine empirische Beziehung zwischen Fluoreszenz und Konstitution aufzustellen. So stellte er fest, daß in einem ausgedehnten konjugierten π -System das Auftreten von $-OH$, $-OCH_3$, $=CH_2$, $-NH_2$ und $-CN$ Radikalen eine Erhöhung (auxoflor) und eine Verschiebung der Emission nach längeren Wellenlängen (bathoflor) zur Folge hat. Die Radikale $-CO$ und $-COOH$ schwächen hingegen die Fluoreszenz (diminoflor), verschieben aber auch nach längeren Wellenlängen. Wenn $=CO$ und $-OH$ gemeinsam in einem Molekül vorkommen, so scheinen sie sich gegenseitig zu neutralisieren. Ungesättigte Radikale

zeigen sichtbare Fluoreszenz, wenn sie in Seitenketten vorkommen und Halogene vermindern die Intensität der Fluoreszenz, ohne das Spektrum zu ändern^{8, 9}.

Nachdem schon *Lommel* 1883 die Fluoreszenz von Iod in der Gasphase beobachtete, beschrieben *Wiedemann* und *Schmidt* im Jahre 1895 auch die Fluoreszenz organischer Stoffe, wie z.B. Anthracen und Antrachinon in der Gasphase. Die Reihe der bekannten fluoreszierenden Stoffe wurde durch die Arbeiten von *Stark* und *Meyer* massiv erweitert, da diese 1907 die UV-Fluoreszenz von Benzol und vieler seiner Derivate entdeckten⁹.

Im Laufe der Jahre 1911-1913 wurde von den beiden deutschen Physikern *O. Heimstädt* und *H. Lehmann* das erste Fluoreszenzmikroskop entwickelt. Es war eine Weiterentwicklung des in den Jahren 1901-1904 entwickelten UV-Mikroskops. Seine damaligen Einsatzgebiete waren die Beobachtung der Autofluoreszenz von Bakterien, Pflanzen, Tiergeweben und bioorganischen Substanzen wie Albumin, Elastin und Keratin⁶.

Einen riesigen Sprung vorwärts machte die experimentelle Cytologie 1914 durch *S. von Provaszek*. Er nutzte das Fluoreszenzmikroskop, um die Bindung von Fluorophoren an lebende Zellen zu studieren. Er konnte zeigen, daß in die Zelle eingeführte Fluorophore die Teilfunktionen der einzelnen Untereinheiten sichtbar machen können⁶.

Das Interesse der Physiker war zu Beginn des 20. Jahrhunderts vor allem auf die Untersuchung von Atomen und zweiatomigen Molekülen konzentriert. Die Entdeckung der Resonanzfluoreszenz durch *Wood* 1905, die quantitative Untersuchung der Lumineszenz durch Elektronenstoß von *Franck* und *Hertz* 1914 sowie die Entdeckung der sensibilisierten Fluoreszenz durch *Franck* und *Cairo* 1922 stellen die wichtigsten Ergebnisse dieses Zeitabschnitts dar⁹.

In der Pharmazie wurde die Fluoreszenzanalyse schon damals als eine Methode mit großem Potential zum Nachweis von Inhaltsstoffen von Salben und Tinkturen erkannt, wie z.B. Veröffentlichungen von *Wasicky* (1913) und *Lehmann* (1914) belegen. Einen echten Aufschwung erlebte die Fluoreszenz in der Pharmazie erst mit der Entwicklung der Kapillaranalyse gegen Ende der zwanziger Jahre⁸.

1929 modifizierten der Pharmakologe *Philipp Ellinger* und der Anatom *August Hirt* das Fluoreszenzmikroskop so, daß mit ihm auch undurchsichtige Proben von den meisten lebenden Organen betrachtet werden konnten. Es wurde "Intravital-Mikroskop" genannt und gilt als das erste Epifluoreszenzmikroskop. Im Zuge der intensiven Studien des Chinins als Antimalaria-Medikament kam es dann 1950 zur Entwicklung des ersten Spektrofluorometers⁷. 1970 entdeckte *T. Caspersson* einen für Nukleobasen selektiven Fluoreszenzfarbstoff, das Quinacrin 4. Damit gefärbt, zeigt jedes Chromosom ein spezifisches Muster von Querstreifen. Durch diese Banden konnte man zum ersten Mal alle 22 Autosomenpaare und die zwei Geschlechtschromosomen des Menschen unterscheiden¹⁰. Dieses Verfahren stellte die Grundlage der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) dar.

Die von *Watson* und *Crick* 1953 vorgestellte DNA als Erbgutträger^{11, 12} rückte Mitte der achtziger Jahre durch die Entwicklung der Polymerase-Ketten-(Chain)-Reaktion (PCR) durch *Mullins*¹³ wieder verstärkt in den Mittelpunkt des Interesses. Mit Hilfe der PCR war es plötzlich möglich, DNA in größerem Maßstab zu erhalten. Mit der genaueren Untersuchung der DNA-Struktur und seiner Funktion und der Studie des menschlichen Genoms im Rahmen des humanen Genomprojekts¹⁴ ging seit Mitte der achtziger Jahre eine explosionsartige Entwicklung neuer Fluoreszenzmethoden einher.

1.3. Ausgewählte Highlights der aktuellen Forschung

Unbestritten dürfte es sein, daß die automatisierte Sequenzierung der DNA mittels fluoreszenzmarkierter DNA-Fragmente^{15, 16, 17} zu den Highlights der letzten zwanzig Jahre gehört, denn nur mit dieser Methode war es möglich, das menschliche Genom in so kurzer Zeit zu entschlüsseln. Seit dem 26. Juni 2000 liegt die Rohfassung des menschlichen Genoms mit einer Sequenzgenauigkeit von 90 % vor. Die endgültige Version soll später eine Genauigkeit von 99,99 % aufweisen¹⁸.

In den letzten Jahren hat sich das *green fluorescent protein* (GFP) (Abb. 4) der Qualle *Aequorea victoria* als ein Standardwerkzeug zur Beobachtung intrazellulärer Funktionen entwickelt ¹⁹.

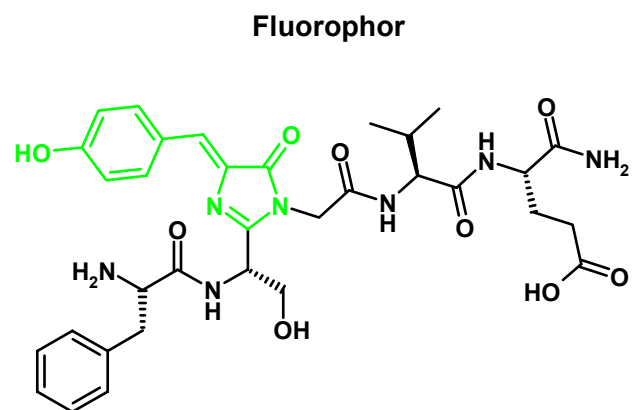


Abb. 4. Kristallstruktur (PDB id: 1ema) und Fluorophor des GFP's ²⁰.

Es ist hiermit möglich, sowohl die Genexpression zu lokalisieren als auch Interaktionen von Molekülen und Proteinen zu visualisieren ²¹. GFP exprimierende Nacktmäuse sind mittlerweile sogar online über das Internet zu erwerben (Abb. 5).



Abb. 5. GFP exprimierende Nacktmäuse^{22, 23}

Mit Hilfe von *fluorescence resonance energy transfer-* (FRET-) ^{24, 25, 26} Messungen lassen sich Strukturaufklärungen an großen Biomolekülen betreiben ²⁷, Wechselwirkungen in Zellmembranen beobachten ^{28, 29}, wie z.B. zwischen Rezeptor und Ligand ^{30, 31, 32, 33, 34}, oder auch optische Biosensoren konstruieren ³⁵. Diese Methode beruht auf Doppelmarkierungsexperimenten, wobei ein Fluorophor als Donor und ein weiterer als Akzeptor wirkt. Die Fluoreszenz des Donors muß hierbei im Absorptionsbereich des Akzeptors liegen. Eine Fluoreszenz des Akzeptors kommt nur dann zustande, wenn sich die beiden Fluorophore in räumlicher Nähe zueinander befinden (1-10 nm) ^{24, 25, 26}.

Mit der Entdeckung der *fluorescence correlation spectroscopy* (FCS) im Jahre 1974 ^{36, 37, 38} konnte nicht nur die Nachweisgrenze auf einzelne Moleküle gesenkt werden, sondern sie ermöglicht auch die Messung von Einzelereignissen ^{39, 40, 41, 42}. Im Laufe ihrer Entwicklung hat diese Messmethode schon in viele Arbeitsgebiete Einzug gehalten. So konnten dadurch

neue Einblicke in die Diffusion, die Aggregation, die Konformationsanalyse sowie in einzelne chemische Reaktionen erhalten werden. Durch die direkte Beobachtungsmöglichkeit einzelner Moleküle, z.B. an Membranoberflächen, ist die FCS in jüngster Zeit zu einem attraktiven Instrumentarium für Bindungsstudien geworden^{43, 44, 45, 46, 47}. Die FCS beruht auf der Beobachtung der Diffusionsgeschwindigkeit in sehr kleinen Volumina (1 fL) mittels stark gebündelter Laserstrahlen. Da die Diffusionsgeschwindigkeit umgekehrt proportional zur Masse ist, lassen sich hieraus entsprechende Rückschlüsse ziehen.

Mittels *fluorescence intensity distribution analysis* (FIDA) sind in neuester Zeit auch Rezeptor-Ligand-Interaktionen auf molekularer Ebene in direkten Messungen möglich geworden. FIDA basiert auf der FCS und stellt eine für diesen Einsatz weiterentwickelte Methode dar. Der Unterschied zur FCS liegt darin, daß ein Probenvolumen gescannt wird und somit eine Intensitätsverteilung ermittelt werden kann. Hieraus läßt sich dann direkt ein Verhältnis von gebundenem zu ungebundenem Liganden ermitteln.

Diese Methode ist auf dem Wege, sich auch für *high throughput screening* (HTS) zu qualifizieren⁴⁸.

2. Rezeptoren

2.1. Allgemeines

Rezeptoren sind Strukturen in Organismen bzw. Zellen, die in der Lage sind, spezifische Reize zu empfangen und daraufhin Folgereaktionen zu vermitteln. Der Name Rezeptor ist aus dem Lateinischen *receptor* für Empfänger abgeleitet^{1, 49}.

Die Rezeptoren lassen sich in zwei Hauptgruppen unterteilen:

Exterorezeptoren detektieren Reize aus der Umwelt, wie z.B. Licht, Druck, Wärme oder auch chemische Reize. Sie leiten elektrische Impulse an Nervenzellen weiter, die über das Reizleitungssystem auf verschiedenen Bewußtseisebenen Folgereaktionen hervorrufen können^{1, 49, 50}.

Für die Pharmaforschung sind jedoch hauptsächlich die Enterorezeptoren interessant, die auf elektrische oder chemische Signale innerhalb des Organismus reagieren. Je nach Typ dieser Rezeptoren haben sie regulative, Reizweiterleitungs- bzw. Verstärkungsfunktionen.

Auf Zellebene lassen sich die intrazellulären Rezeptoren, die sich innerhalb von Zellen befinden, von den Membranrezeptoren, die aus Proteinen bestehen, welche in die Zellmembran eingelassen sind, unterscheiden.

Die Gemeinsamkeit der Rezeptoren liegt darin, daß sie die Fähigkeit besitzen, eine spezifische physiologische Substanz (Ligand) zu erkennen und durch die Bildung eines Rezeptor-Ligand-Komplexes eine Reaktion in der Zelle auszulösen^{1, 49, 50, 51}.

Intrazelluläre Rezeptoren binden Liganden, die in der Lage sind, die Zellmembran zu durchdringen, so zum Beispiel Hormone. Steroidhormonrezeptoren befinden sich sowohl als lösliche Proteine im Zytoplasma als auch im Zellkern. Durch die Wanderung des Rezeptor-Hormon-Komplexes in den Zellkern werden dort Gene aktiviert, die die Produktion von Proteinen

veranlassen. Meistens handelt es sich hierbei um Enzyme, die wiederum entsprechende Stoffwechselfvorgänge einleiten^{1, 51}.

Bindet ein physiologischer Ligand extrazellulär an einen Membranrezeptor, so führt dies zu einer Konformationsänderung des Rezeptors. Je nach Typ des Rezeptors hat das unterschiedliche Konsequenzen. Befindet sich innerhalb der Zelle ein Effektor, der an den Rezeptor gekoppelt ist, so bewirkt die Bildung des Rezeptor-Ligand-Komplexes eine Aktivierung des Effektors, der seinerseits weitere Reaktionen, wie die Freisetzung von sekundären Botenstoffen, auslöst. Man spricht hierbei von G-Protein gekoppelten Rezeptoren (Abb. 6)^{1, 50, 51}. Anstelle von physiologischen Liganden können auch Pharmaka mit den Membranrezeptoren nach dem Schlüssel-Schloß-Prinzip⁵² interagieren. Das große Potential von selektiven Liganden zur medikamentösen Behandlung vieler Krankheiten hat diesen Forschungsbereich zu einem der Kernbereiche der aktuellen Pharma-Forschung werden lassen. Da es bei zahlreichen Erkrankungen zu einer Störung der interzellulären Kommunikation kommt, werden die Neurotransmitter-Rezeptoren in verstärktem Maße untersucht. Diese Neurotransmitter-Rezeptoren lassen sich in zwei Gruppen unterteilen:

Ionenkanalrezeptoren (Ligand-gesteuerte Ionenkanäle) bilden Kanäle durch die Zellmembran. Diese erfahren durch die Interaktion mit dem Liganden eine Konformationsänderung, welche zu einer Modifikation des Öffnungszustandes der Kanäle führt. Die Folge ist eine Änderung des Ein- bzw. Ausstroms von Ionen, entsprechend den unterschiedlichen Konzentrationen extra- und intrazellulär^{50, 51}.

G-Protein gekoppelte Rezeptoren, wie die adrenergen, Muscarin-, Histamin-, Serotonin- und Adenosin-Rezeptoren, weisen sieben transmembranäre Domänen auf. Der Signaltransfer beruht auf der Rezeptor-Ligand-Komplex-aktivierten Stimulierung bzw. Inhibierung der Ausschüttung von sekundären Botenstoffen wie z.B. cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) oder Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP₃), vermittelt über ein Guanin-Nukleotid-bindendes-Protein (z.B. G_s, G_i, G_q). Durch die Änderung der Konzentration dieser Botenstoffe können dann weitere physiologische Effekte ausgelöst

werden. G-Protein-gekoppelte Rezeptoren können auch über ein G-Protein mit einem Ionenkanal als Effektorsystem gekoppelt sein (Abb. 6)^{50, 51}.

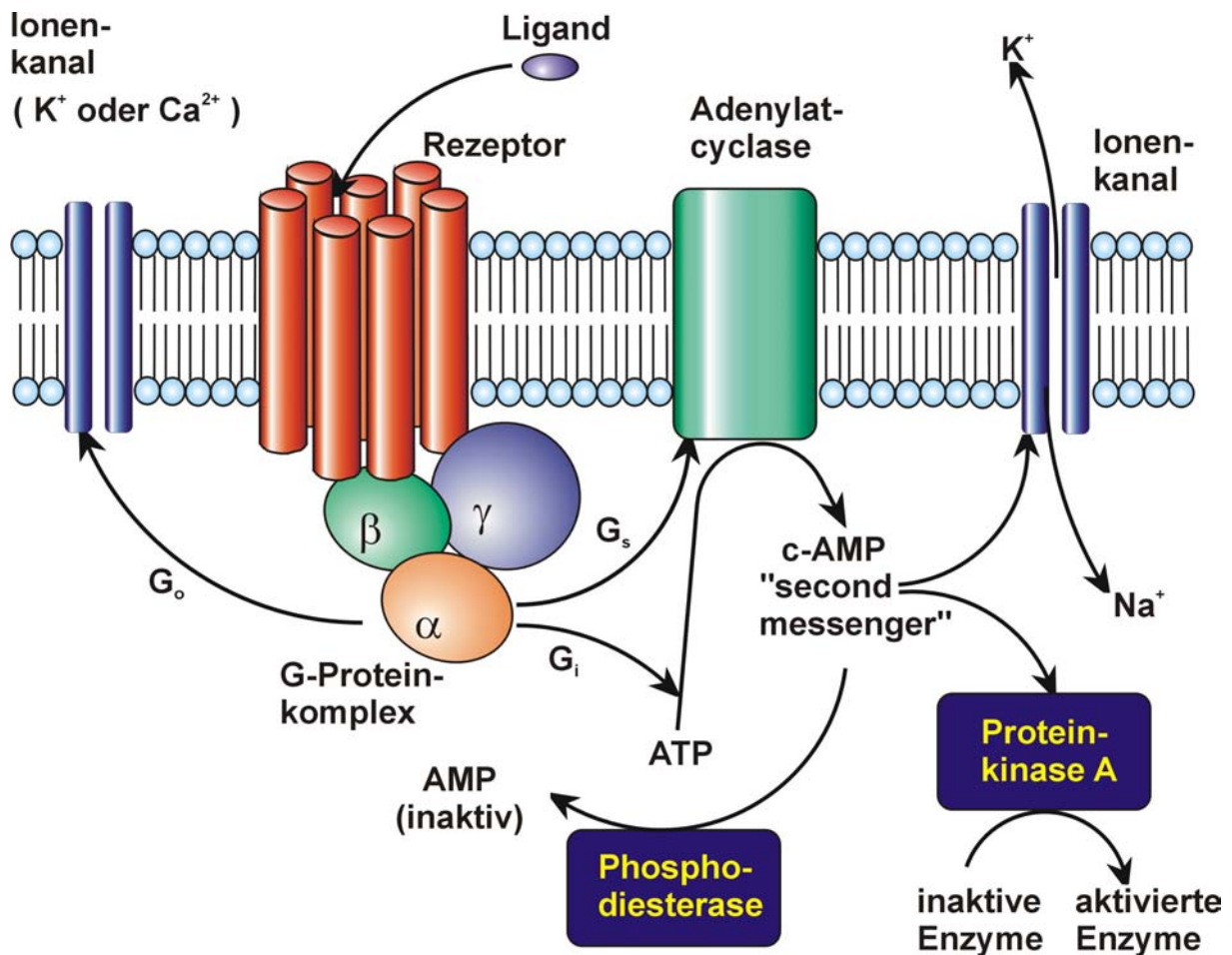


Abb. 6. Beispiele für die Signaltransduktion von G-Protein gekoppelten Rezeptoren

Anders als beim physiologischen Liganden, der am Rezeptor einen Effekt auslöst, unterscheidet man bei Pharmaka zwischen (partiellen) Agonisten und Antagonisten. Die Agonisten stimulieren den Rezeptor so wie die physiologischen Liganden, Antagonisten hingegen blockieren den Rezeptor, sodaß der physiologische Agonist keine Effekte mehr auslösen kann. Viele Antagonisten, die als Arzneistoffe eingesetzt werden, zeigen invers agonistische Aktivität, das heißt sie verändern die Konformation des Rezeptors von einer aktiven hin zu einer inaktiven Form⁵³.

Da Kristallstrukturen von Rezeptorproteinen nur schwer zu erhalten sind und außerdem nicht zu erwarten ist, daß sie die Konformation *in vivo*

widerspiegeln, ist es schwierig, präzise Rezeptor-Ligand-Bindungsmodelle zu erstellen.

2.2. P1- und P2-Rezeptoren

Der regulatorische Effekt von Adenosin bzw. Adenosinphosphaten auf das Herz wurde bereits 1929 von Drury und Szent-Györgyi entdeckt⁵⁴, doch bedurfte es noch weiterer vier Jahrzehnte, bis die Ergebnisse von Sattin und Rall zur Entdeckung der Adenosinrezeptoren führten⁵⁵. Ende der 70er Jahre postulierte *Burnstock* zusätzlich membranständige Rezeptoren für die Adenin-Nukleotide ATP und ADP⁵⁶ und schlug eine Unterteilung der "Purinergen Rezeptoren" in zwei Subfamilien vor, in die P1- (Adenosin-) und die P2- (ATP- und ADP-) Rezeptoren.

Adenosinrezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die in den Zellmembranen zahlreicher Organe und Gewebe von Säugetieren exprimiert werden. Vier verschiedene Subtypen sind bisher aufgrund genetischer und pharmakologischer Befunde klassifiziert worden: A₁, A_{2A}, A_{2B} und A₃⁵⁷.

Die A₁- und A₃-Rezeptoren sind G_i-Protein-gekoppelt und hemmen somit die Adenylatcyclase (AC) während die A_{2A}- und A_{2B}-Rezeptoren über das G_s-Protein die Adenylatcyclase stimulieren können^{58, 59, 60}. Zusätzlich sind die Adenosinrezeptoren aber noch an weitere "second messenger"-Systeme gekoppelt. Die A_{2B}- und A₁-Rezeptoren können an Calciumionenkanäle (A₁-Rezeptor auch an Kaliumionen-Kanäle), die A₁-, A_{2B}- und A₃-Rezeptoren an die Phospholipase C (PLC), der A₃-Rezeptors auch an die Phospholipase D gekoppelt sein (Tab. 1)⁶¹.

Der physiologische Agonist Adenosin weist an den Adenosinrezeptoren stark unterschiedliche Aktivitäten auf, deshalb kann man die Rezeptoren in "high affinity"- (EC₅₀-Werte: A₁ 73 nM und A_{2A} 150 nM) und "low affinity"-Rezeptoren (EC₅₀-Werte: A_{2B} 5,1 µM und A₃ 6,5 µM) unterteilen^{62, 63}. Die EC₅₀-Werte hängen von der Expressionsdichte der Rezeptoren ab. In künstlichen Systemen mit hoher Rezeptorexpressionsrate erwies sich der A₃-Rezeptor ebenfalls als ein schon bei niedrigen Adenosinkonzentrationen aktivierbarer

Rezeptor, während der A_{2B}-Adenosinrezeptor auch unter diesen Bedingungen sehr hohe (micromolare) Konzentrationen zur Aktivierung benötigte^{64, 65, 66}.

	A₁-Rezeptor	A_{2A}-Rezeptor	A_{2B}-Rezeptor	A₃-Rezeptor
Verteilung im Menschen	ZNS : <i>Cortex, Cerebellum, Hippocampus, Rückenmark</i> Peripherie: Fettgewebe, Herz, Niere...	ZNS : <i>Putamen, Nucleus caudatus, Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium</i> Peripherie: Thrombozyten, Herz, Lunge, Niere, Milz...	ZNS : ubiquitär (geringe Dichte) Peripherie: Dickdarm, Blase, Lunge, Mastzellen...	ZNS : nur in geringer Dichte Peripherie: Lunge, Leber, Plazenta, Aorta, Niere...
Signaltransduktion	G _{i/o} G _q	G _s	G _s G _q	G _i G _q
Effektor	AC ↓ K ⁺ -Kanäle ↑ Ca ²⁺ -Kanäle ↑ PLC ↑	AC ↑	AC ↑ PLC ↑ Ca ²⁺ -Kanäle ↑	AC ↓ PLC ↑

Tab. 1. Charakterisierung der Adenosinrezeptor-Subtypen^{60, 61, 64, 66, 67, 68}

Aufgrund ihres pharmakologischen Profils bieten sich Adenosinrezeptor-Agonisten und Antagonisten als vielversprechende Therapeutika an, die bei zahlreichen Indikationen Anwendung finden könnten^{61, 69}.

Von zentraler Bedeutung für die Erforschung der Adenosinrezeptoren sind hochaffine Liganden (K_i im pikomolaren bis nanomolaren Bereich) mit großer Subtypenselektivität sowohl zur Untersuchung der Rezeptorfunktionen als auch zur Entwicklung neuer Pharmaka. Selbst für den am besten erforschten A₁-Rezeptor, hat der sich zum Standard etablierte Agonist N⁶-Cyclopentyladenosin (CPA) bei humanen Rezeptoren nur eine geringe

Selektivität gegenüber dem A_3 -Rezeptor⁶⁴. Es existieren bis heute weder hochselektive Agonisten für den A_{2A} - noch für den A_{2B} -Rezeptor⁶⁴. Erst jüngste Veröffentlichungen zeigen die Verfügbarkeiten selektiver A_{2B} -Antagonisten, wovon einer radioaktiv markiert wurde, um den A_{2B} -Rezeptor in Bindungsstudien besser charakterisieren zu können^{70, 71, 72}.

3. Fluoreszenzmarkierung

Zur Erforschung von Rezeptoren und zur Entwicklung neuer Wirkstoffe in der Pharma-Forschung haben sich aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit Radioligand-Bindungsstudien etabliert. Sie werden zur Untersuchung von Rezeptordichten, deren Subtypverteilung und dem Bindungsverhalten von Liganden genutzt⁷³. Diese Methodik birgt jedoch auch erhebliche Nachteile.

- Stetig steigende Sicherheitsstandards beim Arbeiten mit radioaktiven Isotopen lassen die schon jetzt immensen Forschungskosten immer weiter ansteigen.
- Im Laufe der Experimente nimmt die Radioaktivität bei kurzlebigen Nukliden rasch ab.
- Es fehlt die Möglichkeit, bestimmte Membrandomänen in lebenden Zellen direkt zu untersuchen.
- Nicht zuletzt sind die Strahlenbelastung der Mitarbeiter und die daraus eventuell resultierenden Spätfolgen ein erheblicher Nachteil.

Fluoreszenzmarkierte Liganden werden immer wichtiger bei der Erforschung der Rezeptorfunktionen und ihrer Regulation, denn sie haben gegenüber Radioaktivmethoden deutliche Vorteile^{21, 74}.

- Fluoreszenzliganden lassen sich mit einfachen Mitteln in größeren Maßstäben produzieren und sind dadurch deutlich günstiger als Radioliganden.
- Mit diesen Liganden lassen sich z.B. mittels konfokaler Mikroskopie Vorgänge an Rezeptoren in lebenden Zellen beobachten. Auf diese Weise lassen sich auch Änderungen von Proteinstrukturen untersuchen.
- Bei Verwendung der Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie ist im Gegensatz zu herkömmlichen Assays eine vorherige Separation von

gebundenem und ungebundenem Liganden nicht nötig und Messungen unterhalb femtomolarer Konzentrationen sind möglich.

- Es entfallen durch die Radioaktivität hervorgerufene Folgekosten, die aus den hohen Sicherheitsanforderungen entstehen, wie die Vorsorgeuntersuchungen der Mitarbeiter oder auch Genehmigungsverfahren und Abfallentsorgung.

Diese Gründe haben dazu geführt, daß ein stetig wachsendes Interesse an neuen Fluoreszenzmethoden zu verzeichnen ist. Es ist daher kaum verwunderlich, daß die Entwicklung neuer Anwendungsmethoden zu einem rasch wachsenden Forschungsgebiet wurde.

Im Laufe der letzten Jahre sind auf diesem Gebiet etliche Fortschritte erzielt worden. Durch Verwendung von Fluoreszenzliganden ist es auch mit Fluoreszenzuntersuchungen möglich geworden, die Assoziations- und Dissoziationskinetik von Ligand-Rezeptor-Komplexen zu untersuchen⁷⁵. Zusätzlich konnten Informationen über die Wechselwirkung von Ligand, Rezeptor und G-Protein erhalten werden^{76, 77}. Weiterhin sind sowohl die Mobilität von Rezeptoren^{78, 79, 80} und G-Proteinen⁸¹ in der Membran als auch die Phospholipidverteilung um die Rezeptoren untersucht worden^{82, 83}. Mit Hilfe von FRET-Messungen ließ sich das aktive Zentrum einiger Rezeptoren lokalisieren, woraus man wertvolle Informationen über den Aufbau und die Funktion der Rezeptoren erhielt^{84, 85}.

Erste kompetitive Bindungsassays konnten in jüngster Zeit die Leistungsfähigkeit von fluoreszenzmarkierten Liganden bei der Suche nach neuen Leitstrukturen unter Beweis stellen^{86, 87, 88, 89, 90, 91}. Sogar erste Assays für Mikrotiterplatten, die auch im high throughput screening Verwendung finden können, sind schon etabliert worden⁹².

Bei der Entwicklung von Fluoreszenzmethoden kam es aber auch zu Rückschlägen, denn nicht jeder Fluorophor ist zur Markierung von Liganden geeignet. Beispielsweise ist der Versuch, einen Opioidrezeptor mit Dansyl-Enkephalin zu markieren gescheitert^{86, 93}. Einerseits war aufgrund der Auto-

fluoreszenz des Gewebes, welche durch natürlich vorhandene Fluorophore wie Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NADH), Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADPH), Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) oder Pyridoxal-phosphat^{94, 95} hervorgerufen wird, keine weitere Fluoreszenz mehr sichtbar und andererseits kam es durch die Einstrahlung von UV-Licht zur Zerstörung des Opioidrezeptors.

Aufgrund der bekannten Problematiken sind wir bei der Auswahl des Fluorophors für die Markierung von Adenosinrezeptor-Liganden davon ausgegangen, daß er möglichst folgende Bedingungen erfüllen sollte:

- hohe Quantenausbeute; pro eingestrahltm Lichtquant sollen möglichst viele Quanten wieder als Fluoreszenzlicht emittiert werden;
- eine Anregungs- und Emissionswellenlänge, die weder durch die Autofluoreszenz des Gewebes gestört wird noch die Eigenschaften der zu untersuchenden Zellen beeinflusst;
- geringer sterischer Anspruch;
- geringer Verlust an Absorptions- und Emissionsfähigkeit durch die Lichtquelle (*photobleaching*);
- unkompliziert in größerem Maßstab herstellbar;
- leicht veränderbare Struktur, um eine Wechselwirkung des Fluorophors mit dem Rezeptor vermeiden zu können;
- hohe Hydrolysestabilität des Kopplungsprodukts zwischen Ligand und Fluorophor.

Ein für unsere Zwecke optimaler Fluorophor schien das 4,4'-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen (BODIPY) zu sein, welches eine hohe Quantenausbeute, eine geringe Anregungs- und Emissionsenergie und eine geringe Molekülgröße aufweist.

3.1. BODIPY

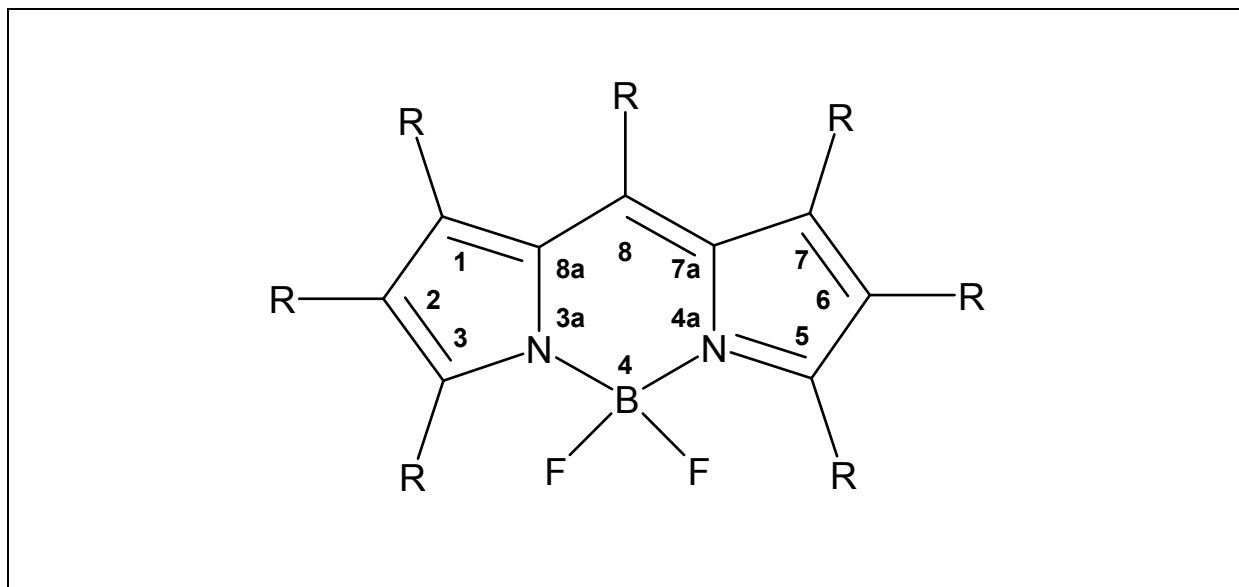


Abb. 7. Grundstruktur des 4,4'-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacens (BODIPY)

Das 4,4'-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen (Abb. 7) wurde erstmals 1968 von *Treibs* und *Kreuzer*⁹⁶ synthetisiert. 1974 wurden von *Falk et al.* weitere Derivate dieser Substanzklasse beschrieben⁹⁷. Die explizite Untersuchung der Fluoreszenzeigenschaften und die Synthese weiterer Derivate gehen auf *Vos de Wael* aus dem Jahre 1977⁹⁸ zurück. Für den Einsatz in der rasch wachsenden Biotechnologie wurden 1985 von *Worries et al.*⁹⁹ ionische Derivate dargestellt (Abb. 8).

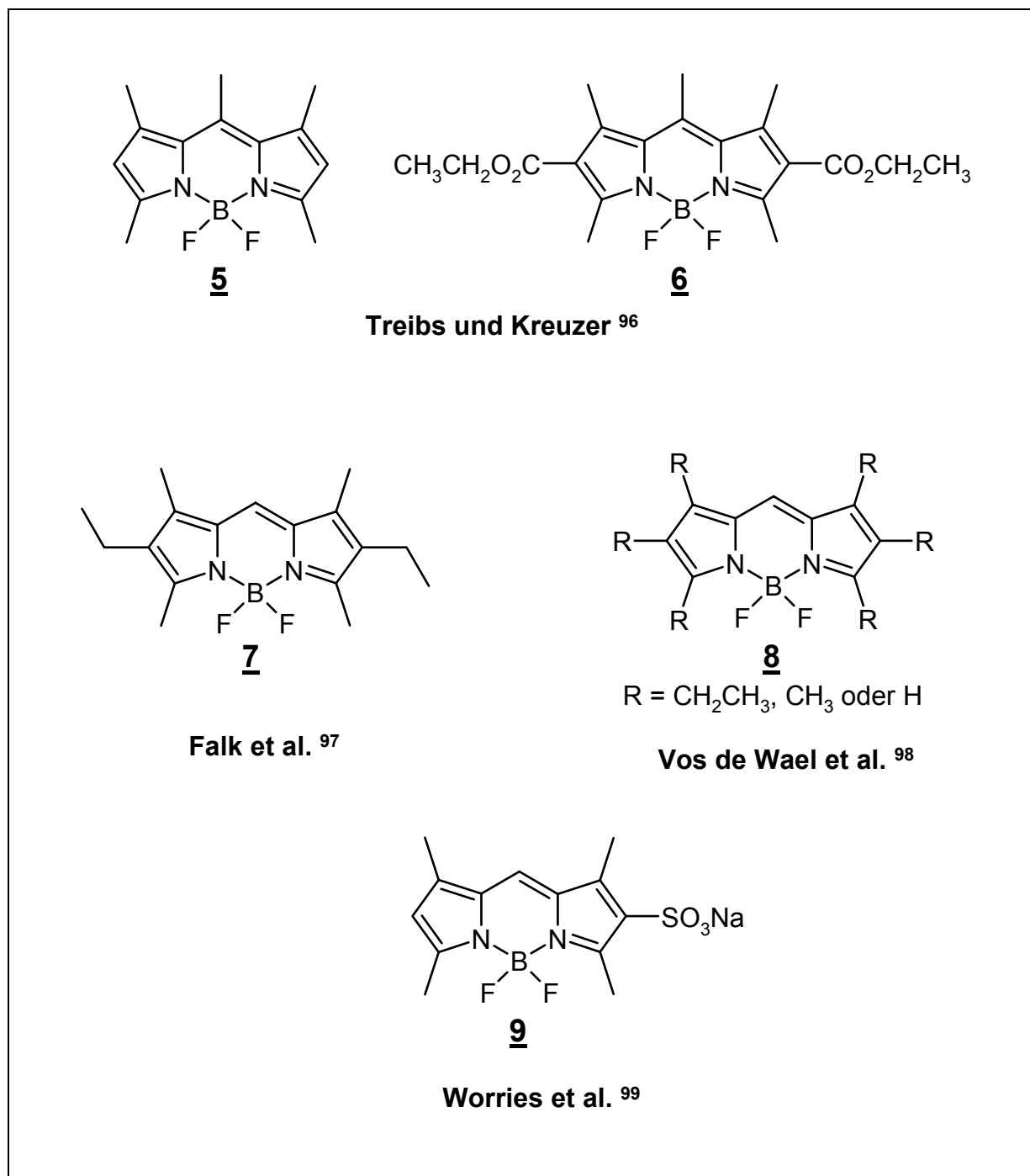
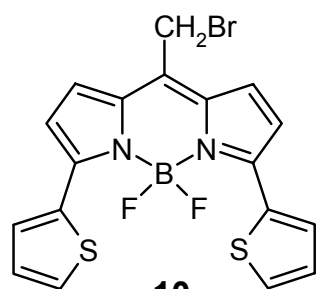
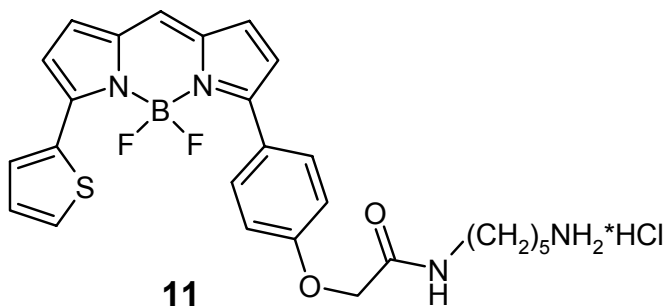


Abb. 8. Entwicklung von BODIPY-Derivaten

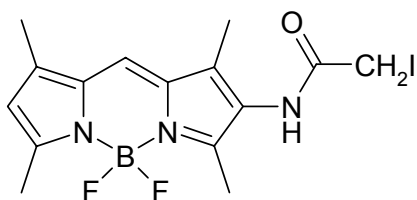
Seit 1988 wurden viele unterschiedliche Derivate von *Haughland* und *Kang* patentiert ^{100, 101, 102, 103} und werden seitdem von *Molecular Probes* ¹⁰⁴ unter dem Handelsnamen BODIPY[®] vertrieben. Da diese Derivate in Kleinstmengen für biochemische Experimente zu einem exorbitanten Preis (Abb. 9) verkauft werden, verbietet es sich, diese in für organisch präparative Maßstäbe üblichen Mengen zu erwerben.



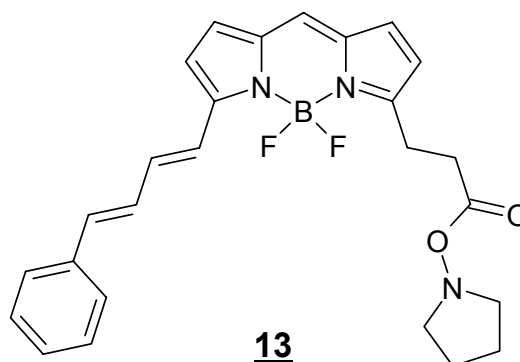
B - 22802
209 € / 1mg



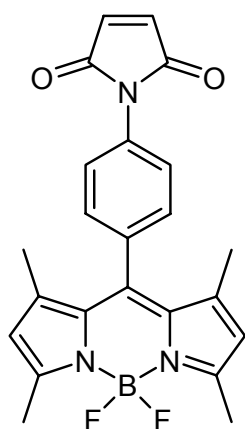
D - 6251
170 € / 5mg



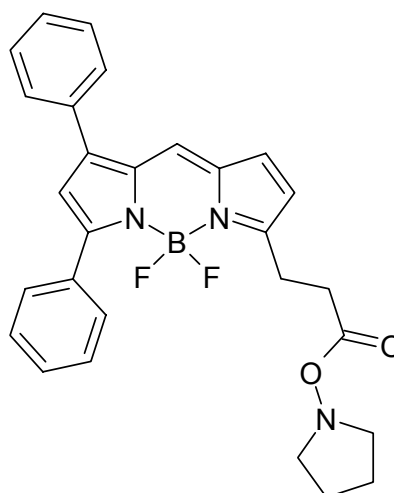
D - 6004
170 € / 5mg



D - 2228
244 € / 5mg



D - 20350
170 € / 5mg



D - 2187
244 € / 5mg

Abb. 9. Beispiele für die bei Molecular Probes erhältlichen BODIPY-Derivate

Mit dieser Problematik sahen sich auch andere Arbeitsgruppen konfrontiert und haben sich bemüht, neue BODIPY-Derivate zu synthetisieren (Abb. 10).

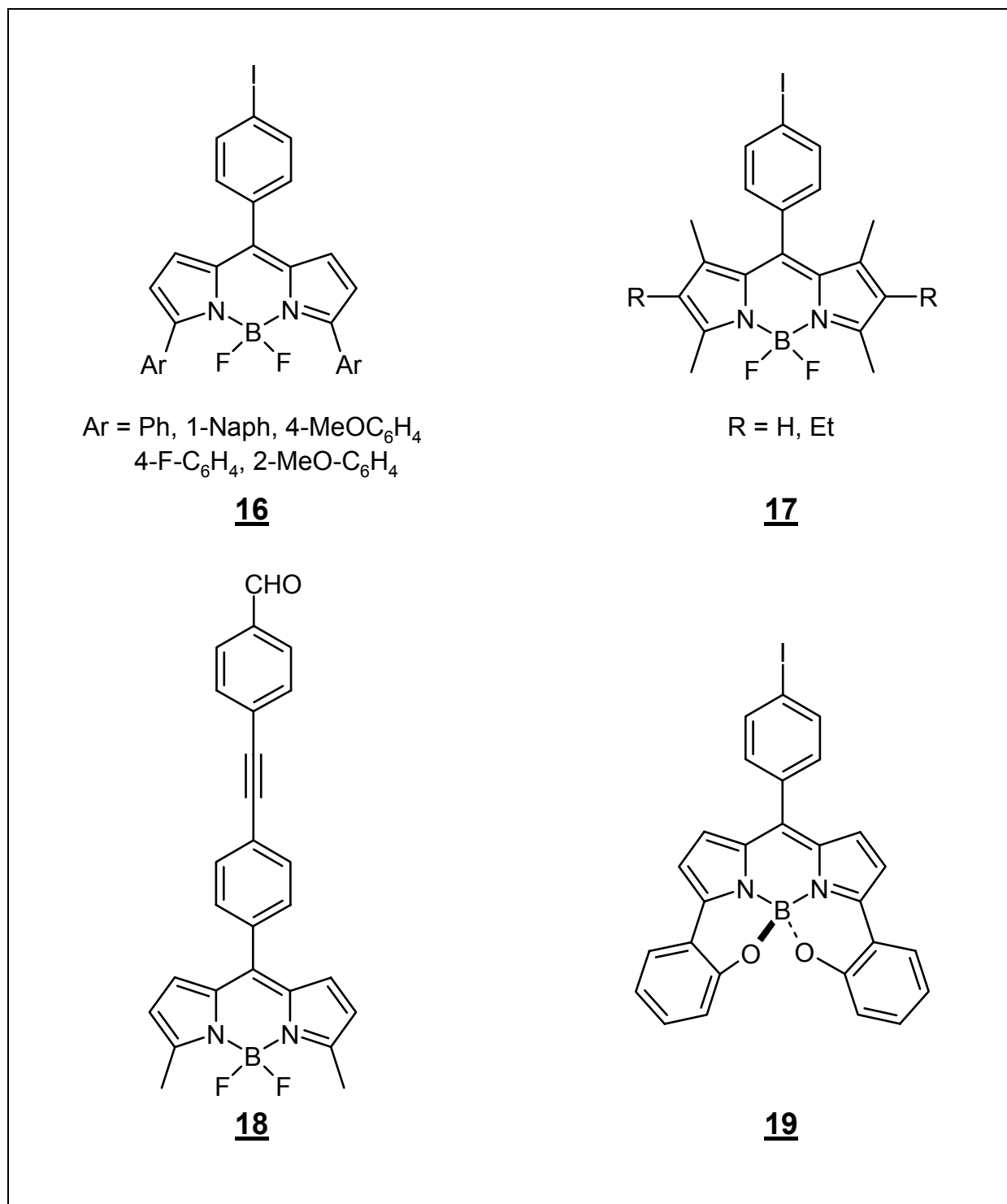


Abb. 10. Alternative neue BODIPY-Derivate von Burgess et al. und Lindsey et al. 105, 106, 107, 108, 109

Da es sich bei den Rezeptor-Liganden, welche fluoreszenzmarkiert werden sollen, um vergleichsweise kleine Moleküle handelt, ist die leichte Variation des Fluorophors von besonderer Wichtigkeit. Eine geringfügige Änderung der Struktur des Rezeptor-Liganden kann eine massive Änderung der Aktivität bewirken.

Der Fluorophor soll zwar gut detektierbar sein, aber weder die Bindungseigenschaften des Liganden zum Rezeptor behindern noch selbst mit ihm in Wechselwirkung treten. Die käuflich zu erwerbenden BODIPY-Derivate eignen sich hauptsächlich zur Fluoreszenzmarkierung von großen Biomolekülen, vor allem von Proteinen.

4. Projekt

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Fluoreszenzmarkierung von Purinrezeptorliganden (P1 und P2), die dazu genutzt werden sollen, die Funktions- und Regulationsmechanismen dieser Rezeptoren besser charakterisieren zu können. Aufgrund der komplexen Struktur von Rezeptoren und ihren spezifischen Wechselwirkungen mit den Liganden war es das Ziel, neue Fluorophore zu entwickeln, die kovalent an Liganden gekoppelt werden können. Die Fluorophore sollten dabei weder die Bindungseigenschaften des Liganden zum Rezeptor verändern noch selbst mit dem Rezeptor in Wechselwirkung treten. Hierzu sollte der Fluorophor selbst einen möglichst geringen räumlichen Anspruch haben. Zur Vermeidung von Störungen durch die Autofluoreszenz der natürlichen Fluorophore in biologischem Material sollte der zu entwickelnde Fluorophor ein möglichst langwelliges Absorptions- und Emissionsspektrum aufweisen.

Eine Markierung von Liganden sollte so erfolgen, daß dieser ohne Affinitätsverlust mit dem Rezeptor wechselwirkt und der gebundene Fluorophor außerhalb der Bindungstasche zur Beobachtung der Rezeptorfunktion zur Verfügung steht. Hieraus ergab sich die Notwendigkeit, Fluorophore mit variabler Spacer-Kettenlänge zu synthetisieren.

Die zur Markierung zur Verfügung stehenden unterschiedlichen Substituenten der einzelnen Purinrezeptorliganden machten auch eine unterschiedliche Funktionalität der Fluorophore notwendig.

Die aus der Kopplung von Fluorophor und Ligand erhaltenen Produkte sollten zur Bestimmung ihrer Affinität und Selektivität in Radioligand-Bindungstudien untersucht werden, um ihr Potential für weitergehende Fluoreszenzuntersuchungen der Rezeptoren einschätzen zu können.

5. Darstellung neuer BODIPY-Derivate

5.1. 8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

Ausgehend von der Prämisse, möglichst einfach produzierbare und preiswerte Derivate darzustellen, ergaben sich folgende Synthesestrategien, die es auch ermöglichen würden, einen längeren Spacer zwischen Fluorophor und Pharmakon einzubringen:

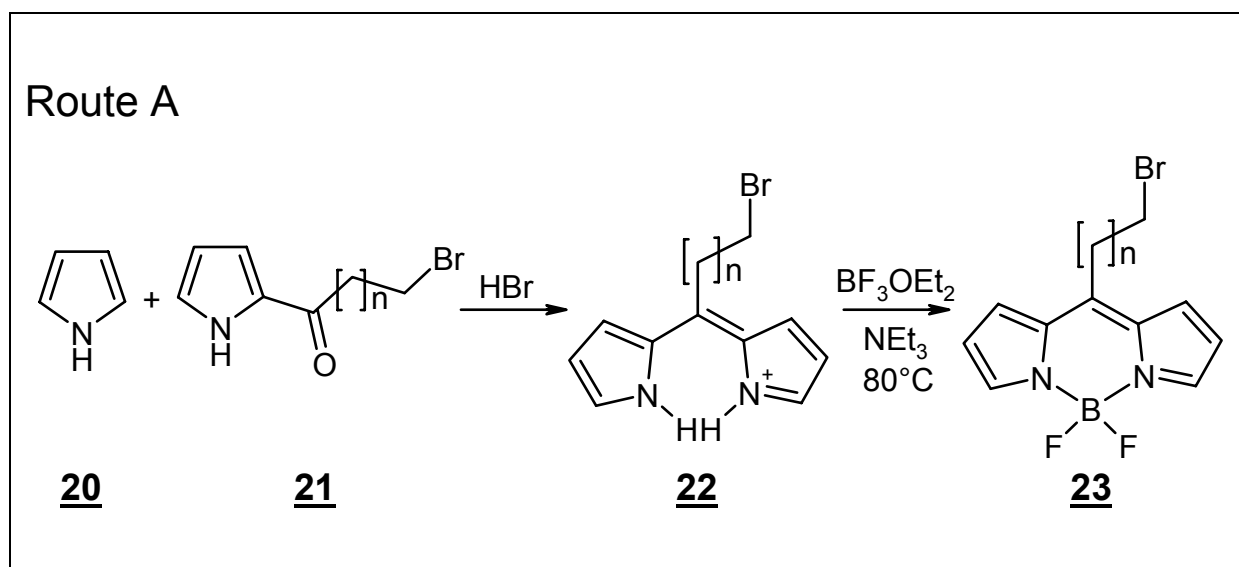


Abb. 11. Syntheseroute A zur Darstellung von BODIPY-Derivaten mit variabler Kettenlänge ausgehend vom unsubstituierten Pyrrol

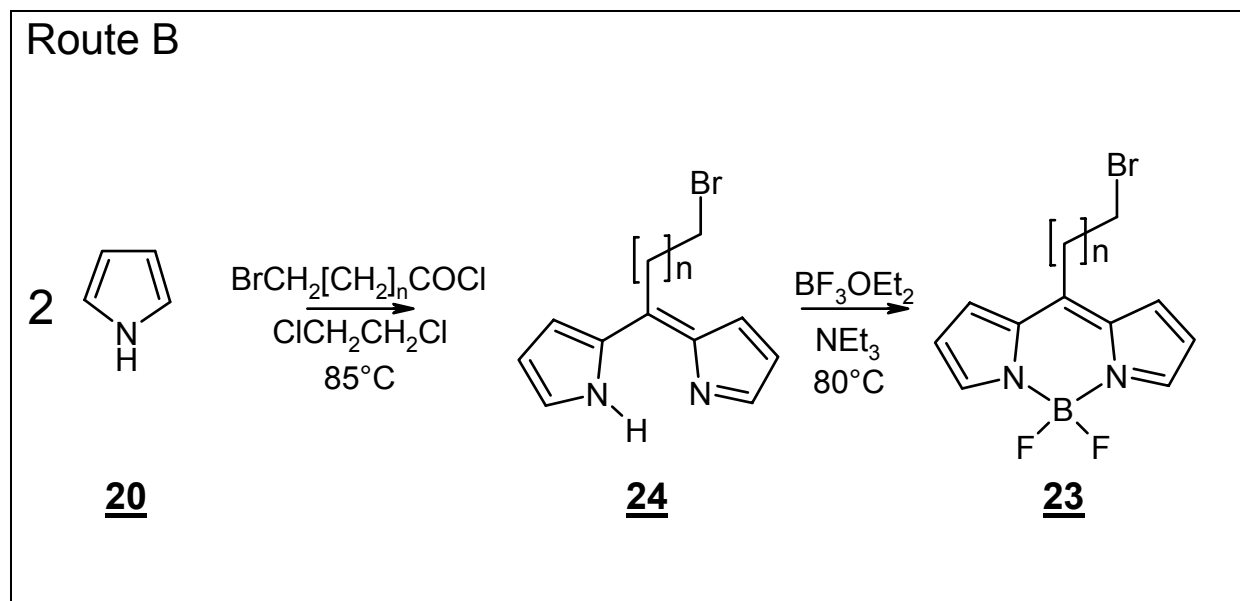


Abb. 12. Syntheseroute B zur Darstellung von BODIPY-Derivaten mit variabler Kettenlänge ausgehend vom unsubstituierten Pyrrol

Die Reaktionswege A (Abb. 11) und B (Abb. 12) entsprechen denen, wie sie auch in der Literatur beschrieben worden sind^{103, 105, 106, 107}. Es sollte uns hiermit möglich sein, mittels konvergenter Synthese eine Vielzahl von Fluoreszenzliganden zu erhalten.

Die auch für asymmetrisch substituierte BODIPY-Derivate geeignete Synthesevariante A bedarf zwar eines zusätzlichen Syntheseschrittes, der Darstellung der ω -Brom-alkylpyrrol-2-yl-ketone 21, ist aber strukturell variabler. Die Darstellung der entsprechenden Chloride ist in der Literatur oftmals beschrieben und über verschiedene Reaktionswege möglich^{110, 111, 112}.

Die Variante B hat jedoch den Vorteil von Eintopfsynthesen und beinhaltet mit dem Bromid eine gut zu derivatisierende Abgangsgruppe. Man erhält auf unkomplizierte Art und Weise das gewünschte Produkt ohne zusätzliche Aufreinigungsschritte. Aus diesem Grunde präferierten wir die Route B. Jedoch stellte sich das zunächst verwendete unsubstituierte Pyrrol 20 aufgrund seiner hohen Reaktivität in beiden Reaktionswegen als ungeeignetes Edukt heraus. Es neigt unter den gegebenen Reaktionsbedingungen eher zur Bildung von Porphyrinderivaten. Das gewünschte Produkt entsteht nur in extrem geringem Maße, wie eine Ansatzgröße von 0,1 Mol Pyrrol zeigte, bei

dem zwar die Fluoreszenz des Produkts sichtbar, die Produktmenge jedoch nicht mehr wägbare war (Ausbeute <0,001%).

Durch die Wahl von 2,4-Dimethylpyrrol (**25**) und milderer Reaktionsbedingungen (0°C bis Raumtemperatur) konnte dieses vermieden und das entsprechende Produkt in zufriedenstellenden bis guten Ausbeuten (12 bis 61 %) erhalten werden (Abb. 13).

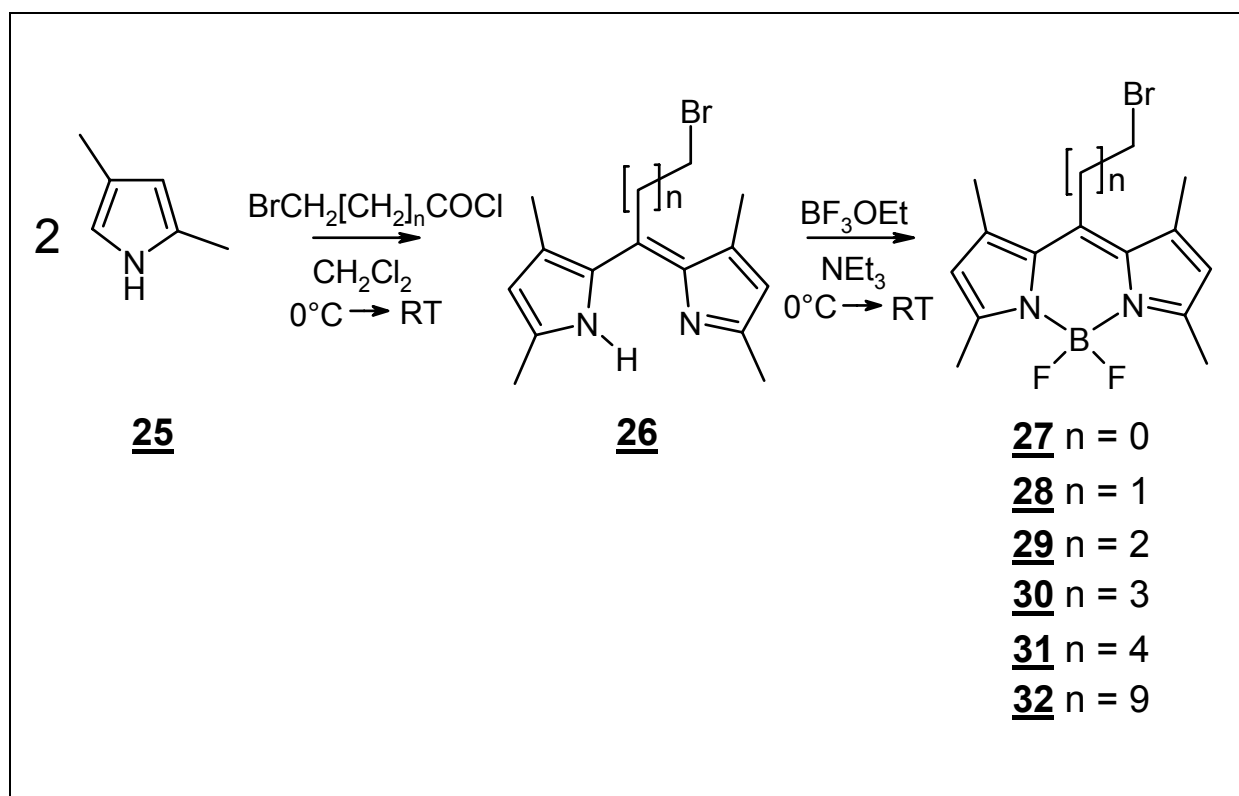


Abb. 13. Darstellung der 8-(ω -Bromoalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

Mit dieser Synthese ließen sich das literaturbekannte Derivat mit $n = 0$ (**27**)¹⁰³ und die Derivate mit $n = 1 - 4$ und $n = 9$ darstellen, wobei auf die Darstellung der Derivate mit $n = 5$ bis 8 verzichtet wurde, da bereits eine Gesamtkettenlänge von $(\text{CH}_2)_5$ als Spacer zur Vermeidung von Störungen durch den Fluorophor ausreichend sein dürfte. Für Fälle in denen das nicht der Fall sein sollte, wurde noch das wesentlich längere Derivat mit $n = 9$ dargestellt. Ein weiteres Derivat ergab sich unerwartet als Nebenprodukt bei der Synthese des

Derivates mit $n = 2$ durch Erhöhung der Reaktionszeit auf drei Stunden (Abb. 14). Hierbei griff das entstandene Produkt **29** ein weiteres Molekül des Brombutyrylchlorids **33** an und bildete einen langkettigen Ester **34**. Dieses Ergebnis führte zu der Erkenntnis, daß bei der Synthese des einfachen Bromides die Reaktionszeit von entscheidender Rolle ist. Durch kontinuierliche Reaktionskontrolle und das Abbrechen der Reaktion zum richtigen Zeitpunkt, lassen sich die Ausbeuten an den gewünschten Produkten **27** bis **32** deutlich erhöhen.

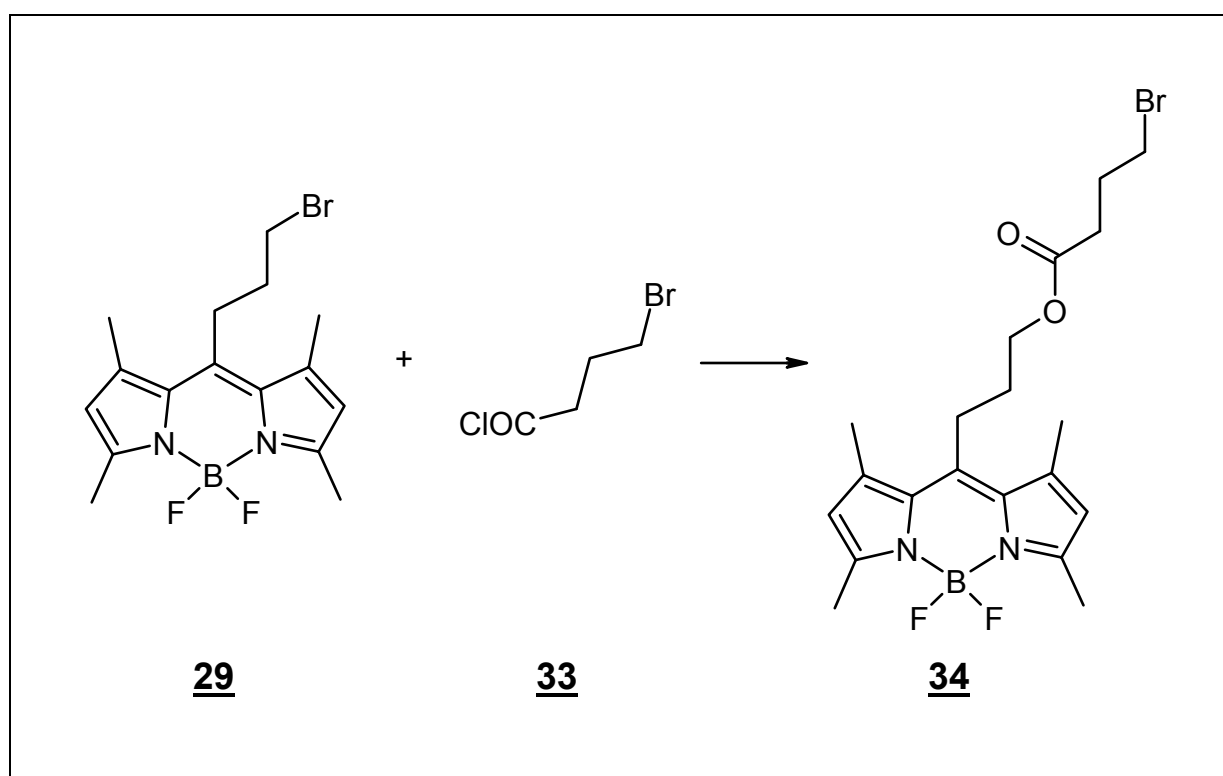


Abb. 14. Bildung des Nebenprodukts 4-Brombuttersäure-3-[(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen)-8-yl]propylester **34**.

Das 8-(5-Bromopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **31** (Abb. 13 und 15) bildete zentrosymmetrische trikline Kristalle mit der Raumgruppe Nr.14, $P\bar{1}$, während der Ester **34** (Abb.14 und 16) monokline Kristalle mit der Raumgruppe Nr.2, $P2_{1/a}$ bildete. Die Kristalle wurden mittels Röntgenstrukturanalyse am Mineralogischen Institut der Universität Bonn im Arbeitskreis von Prof. Dr. Kirfel vermessen. Man erkennt deutlich die planaren aromatischen Strukturelemente des BODIPY sowie die lang gestreckte Form

der Alkylketten, wo das endständige Bromatom nur intermolekular mit anderen BF_2 -Komplexen wechselwirkt, wie aus den Strukturdaten ersichtlich wird.

Bemerkenswert ist, daß zwar in beiden Kristallen vier Formeleinheiten pro Elementarzelle vorkommen, beim 8-(5-Bromopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen (**31**), aber zwei Moleküle vollständig innerhalb der Elementarzelle zu finden sind (Abb. 13).

C18 H24 N2 B F2 Br

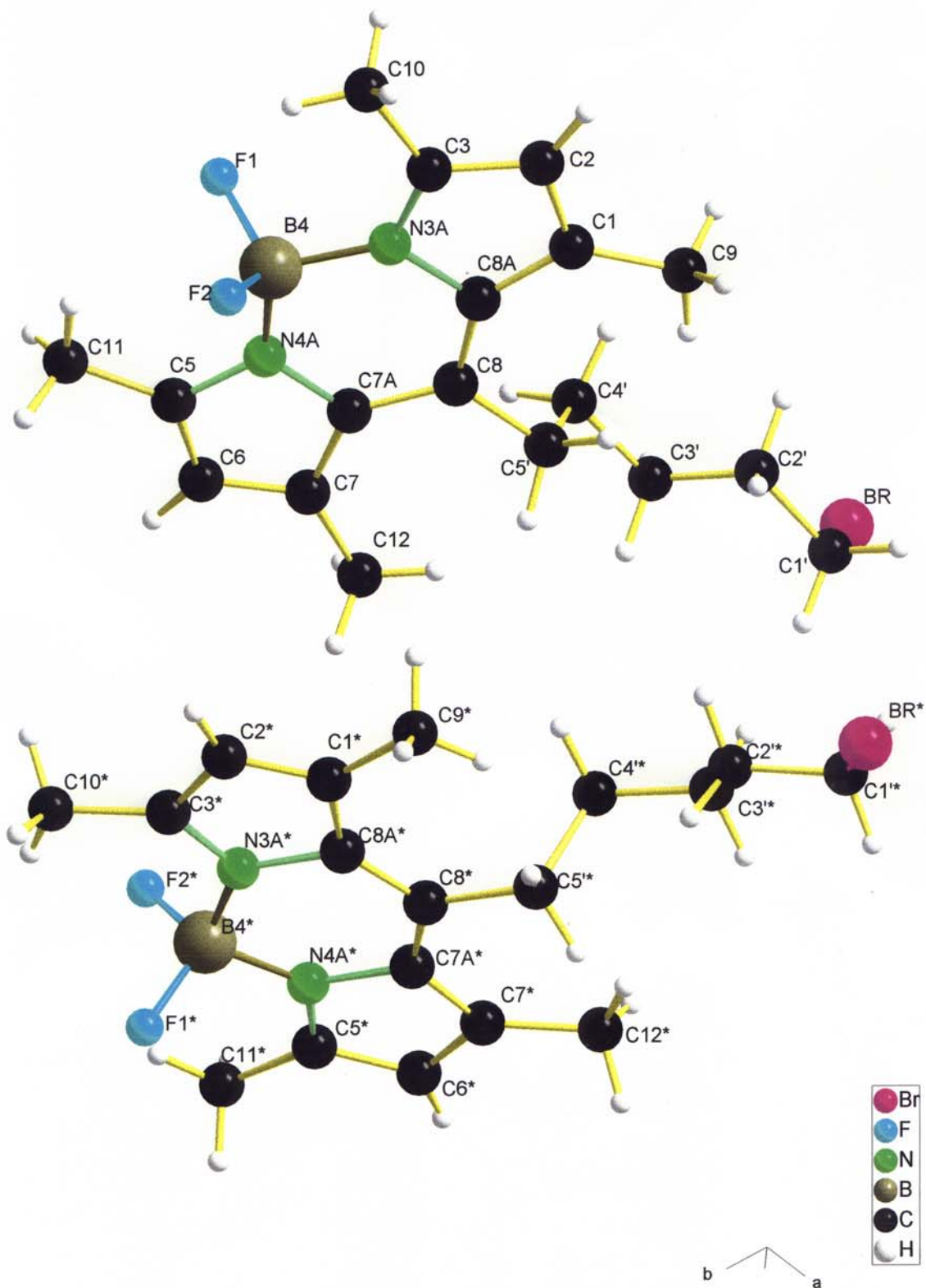


Abb. 15. Röntgenstrukturanalyse des 8-(5-Bromoethyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacens (27) mit zwei Molekülen innerhalb der Elementarzelle

C20 H26 N2 O2 B F2 Br

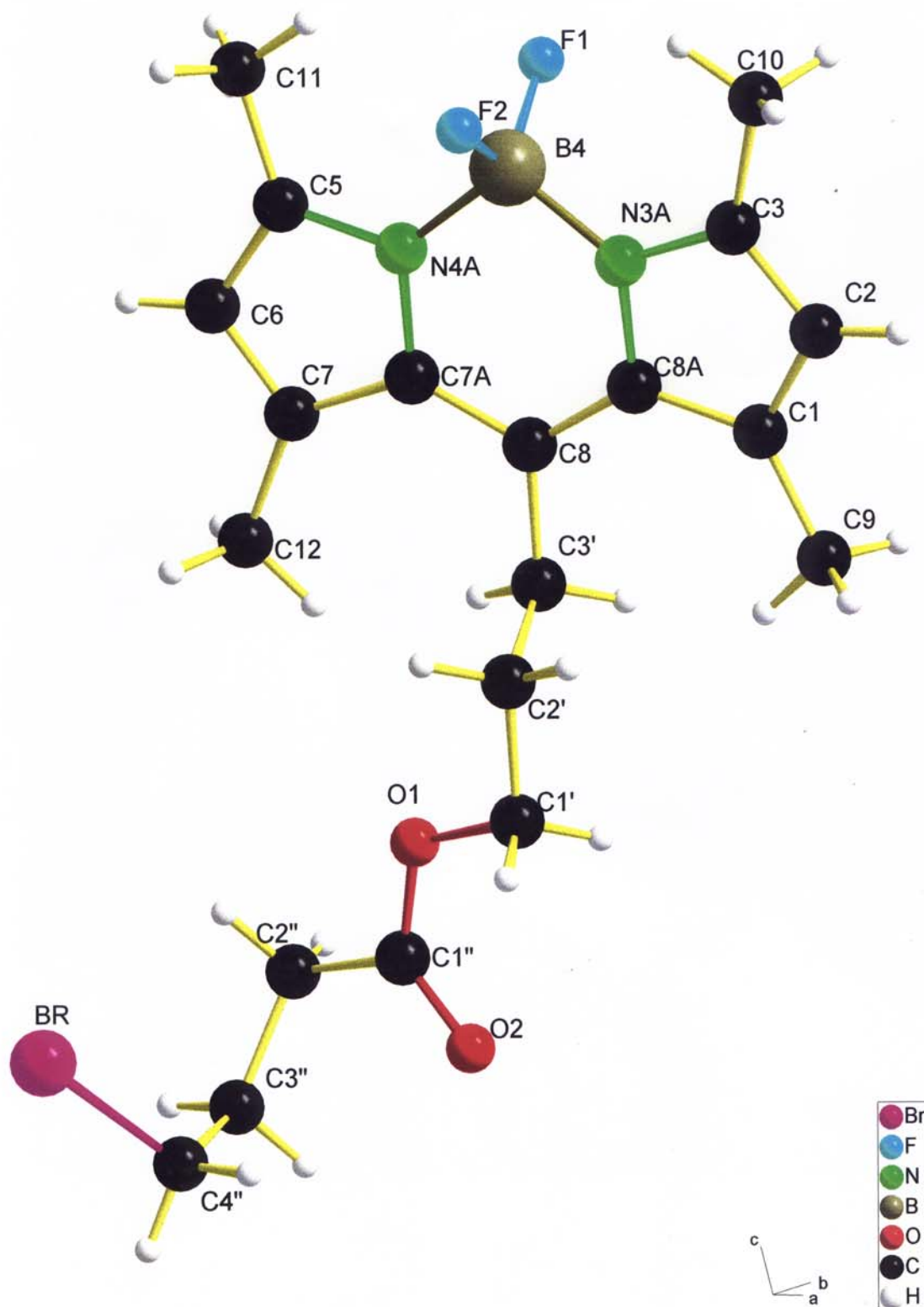


Abb. 16. Röntgenstrukturanalyse des 4-Brombuttersäure-3-[(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen)-8-yl]propylesters (30)

5.2. Derivatisierung der 8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

Um eine höhere Reaktionsvielfalt bei der Kopplung der neuen Fluorophore mit den Rezeptorliganden zu erhalten, war es das Ziel, die Brom-substituierten BODIPY-Derivate mittels klassischer Methoden in Amine, Alkohole und Thiole zu überführen. Dazu verfolgten wir folgende Ansätze:

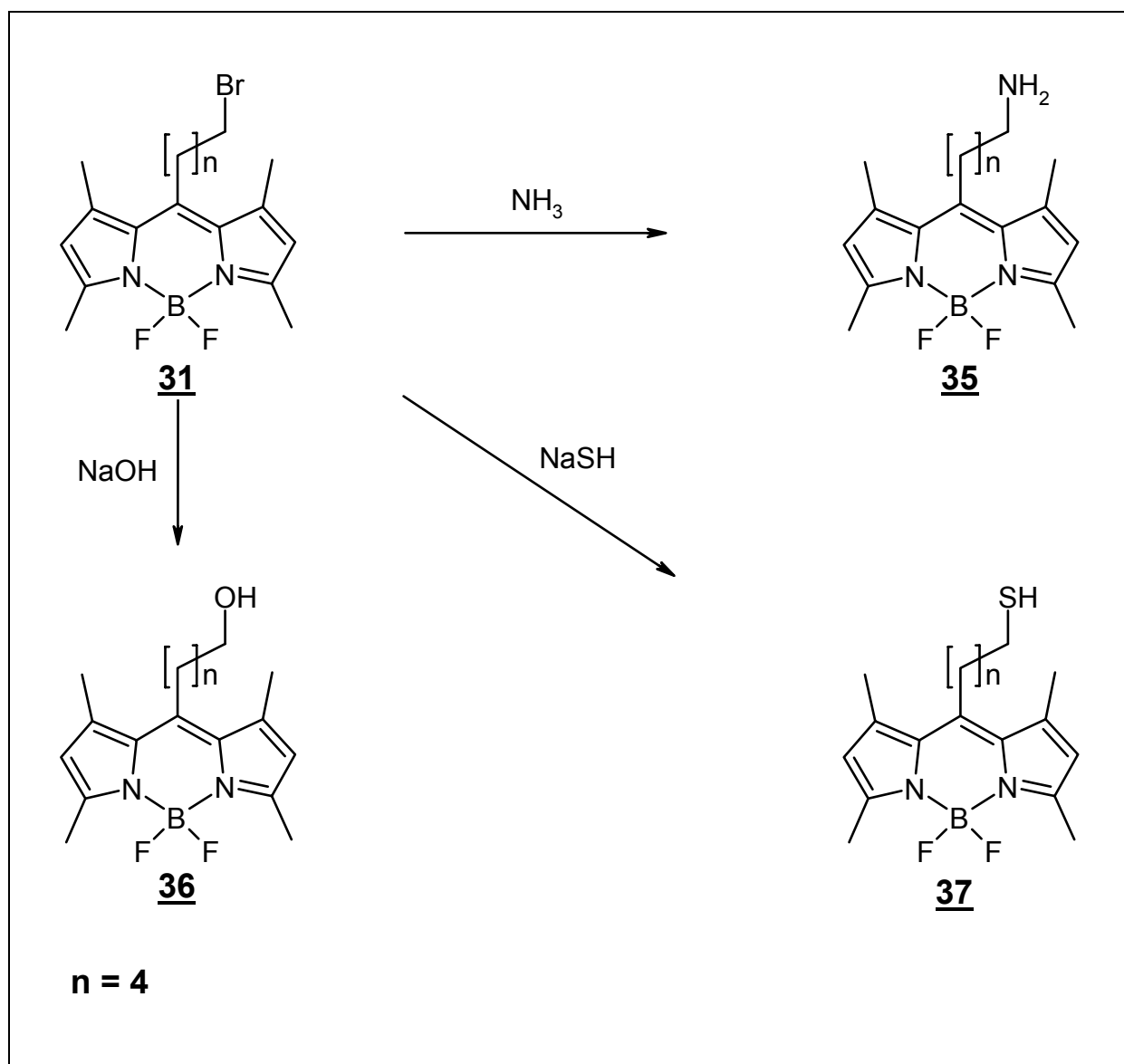


Abb. 17. Synthesestrategien zur Darstellung der Amine, Alkohole und Thiole

Das 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **35** konnte durch Erhitzen mit wässrigem Ammoniak unter Zusatz von Kaliumiodid in Methanol erfolgreich mit einer Ausbeute von 56 % aus der Bromalkylverbindung **31** dargestellt werden. Ebenso ließ sich das 8-(5-Mercaptopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **37**, welches durch Erhitzen einer Suspension von **31** mit Natriumhydrogensulfid und Kaliumiodid in Methanol entsteht, in einer Ausbeute von 71 % erhalten (Abb. 17).

Eine analoge Synthese des Alkohols aus dem Bromid **31** mit Alkalihydroxyd in Methanol führte jedoch zur Bildung des Methylethers. Durch Variation der Reaktionsbedingungen ließ sich mittels alkalischer Hydroxylierung in wässrigem Ethanol mit Natriumethanolat auch das 8-(5-Hydroxypentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **36** in 40%iger Ausbeute synthetisieren.

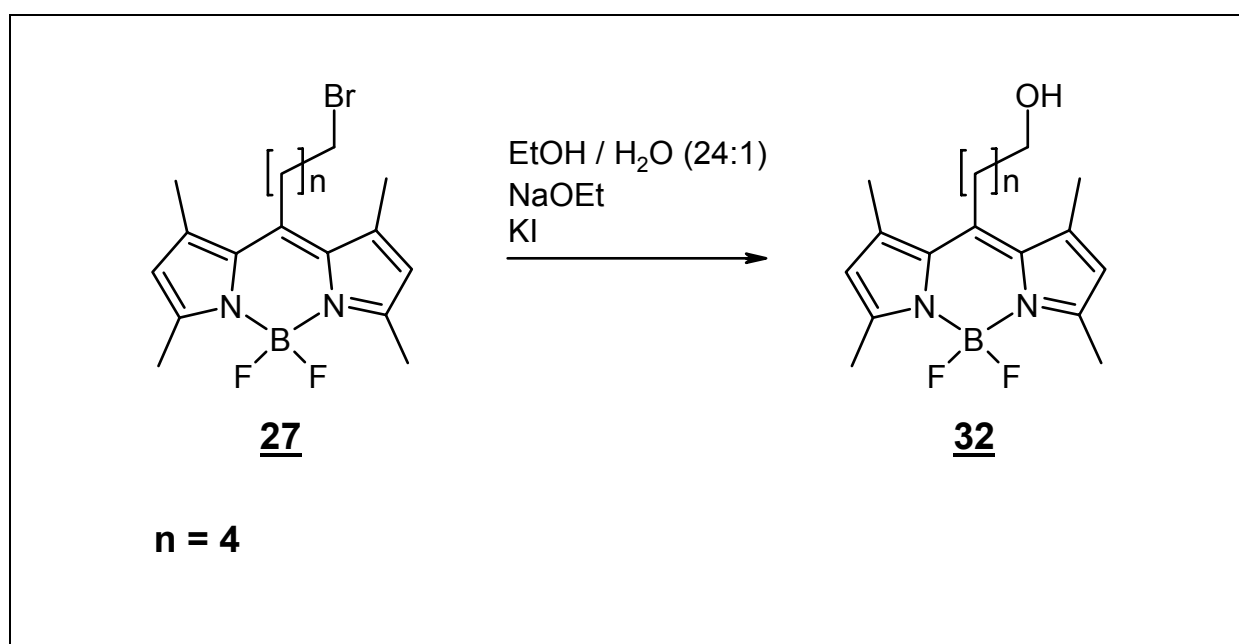


Abb. 18. Darstellung des Alkohols

5.3. Fluoreszenzeigenschaften der neuen BODIPY-Derivate

Fluoreszenzmessungen der neuen BODIPY-Derivate zeigten, daß es sich um stark fluoreszierende Produkte handelt, bei denen weder eine Erhöhung der Kettenlänge, noch die Derivatisierung der funktionellen Gruppe zu einer größeren Verschiebung der Absorptions- und Emissionsmaxima führt. Die Absorptionsmaxima liegen im Bereich zwischen 494 nm und 504 nm, die Emissionsmaxima zwischen 507 nm und 516 nm (Abb. 19).

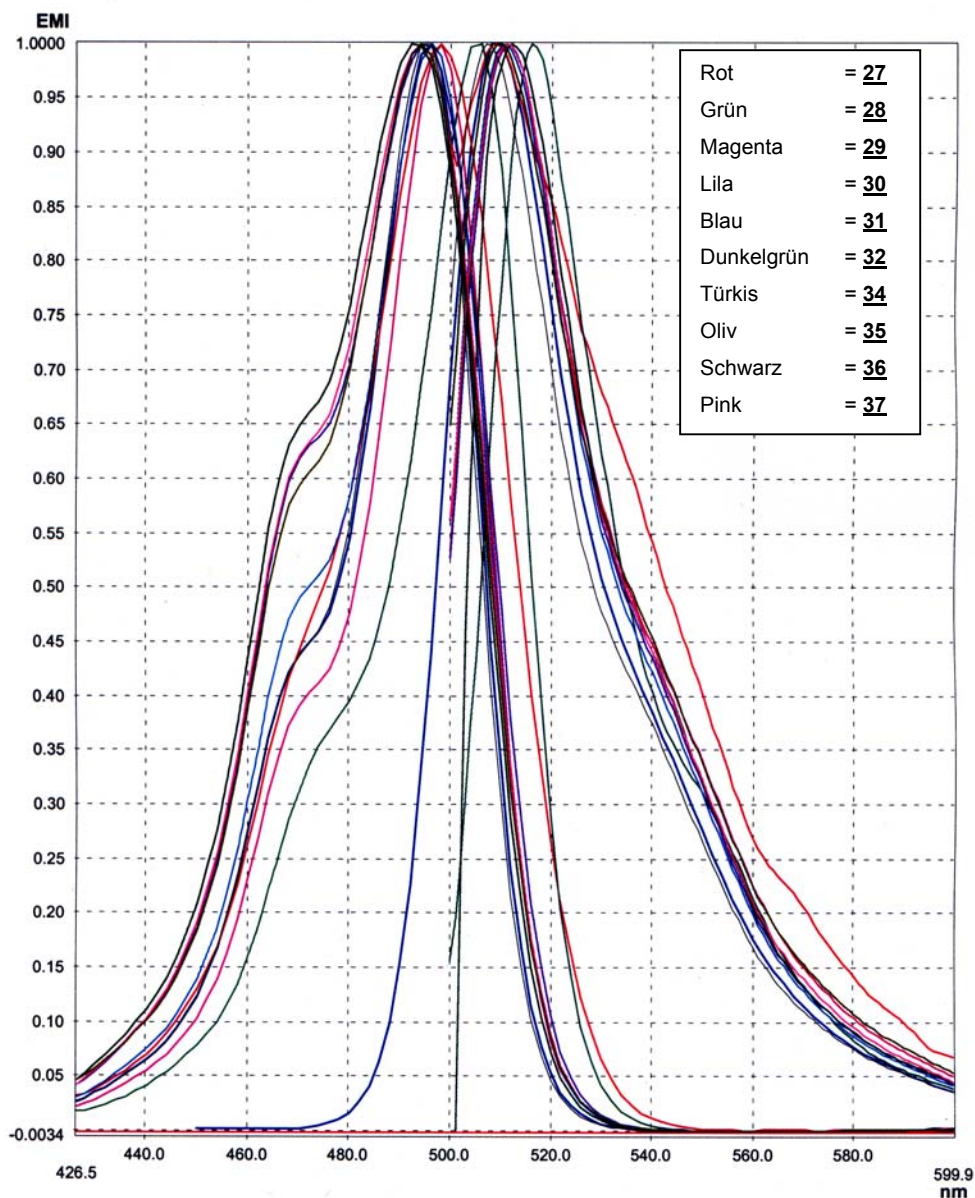


Abb. 19. Absorptions- und Emissionsspektren der neuen BODIPY-Derivate

6. Fluoreszenzmarkierung von Adenosinrezeptor-Liganden

Den Ausgangspunkt für die Fluoreszenzmarkierung stellte ein neuer, hochpotenter Adenosinrezeptor-Ligand ($K_i A_1 = 81 \text{ nM}$; $K_i A_{2B} = 10,8 \text{ nM}$) dar, die 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-phenoxyessigsäure **39**, welche in unserem Arbeitskreis synthetisiert worden ist ⁷⁰. Diese wurde zunächst in einer Modellreaktion mit 4-Phenylbutylamin **38** umgesetzt (Abb. 20), das einen ähnlichen sterischen Anspruch und eine ähnliche Elektronendichteverteilung wie das 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **35** besitzt.

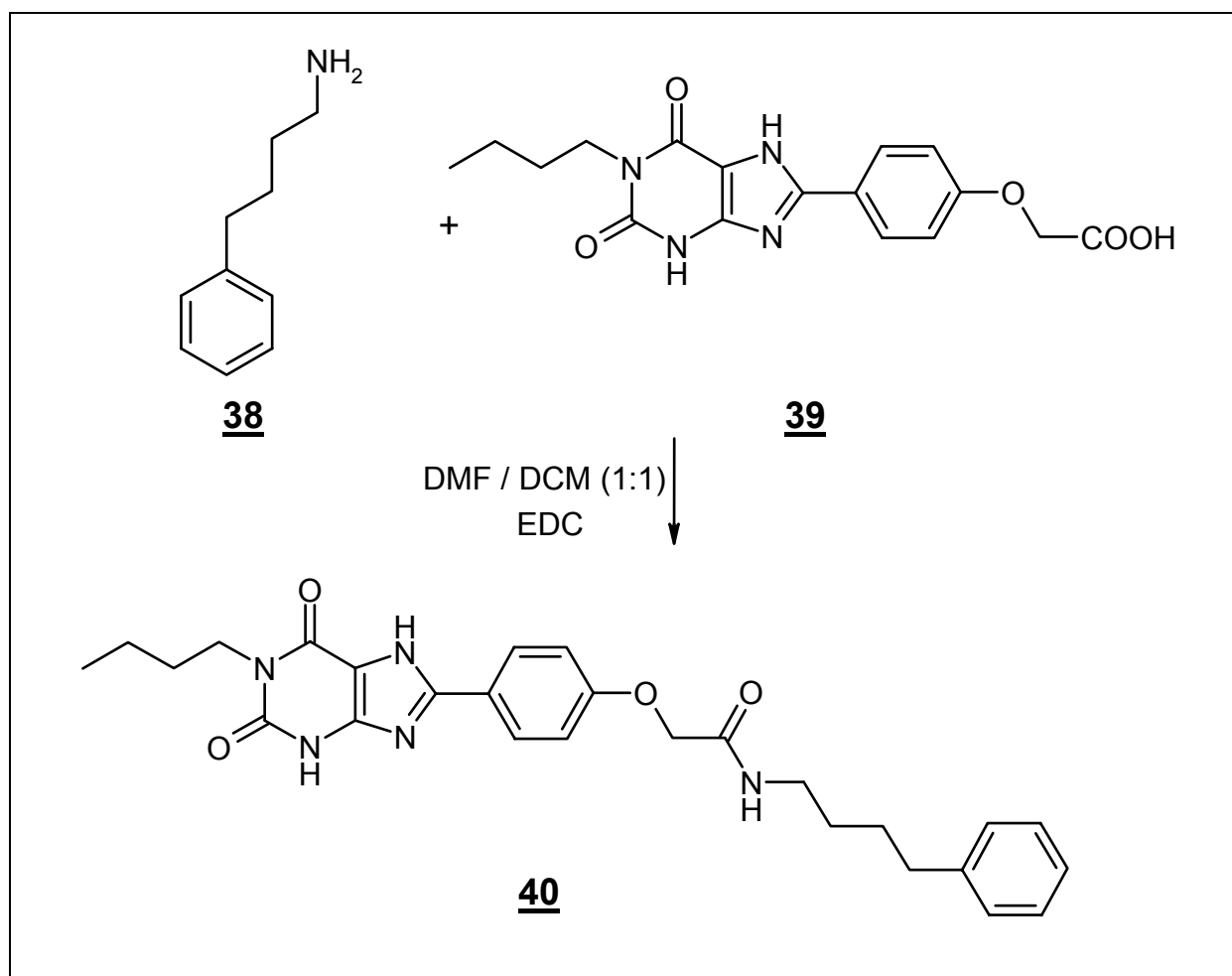


Abb. 20. Modellreaktion zur Synthese von Amidliganden

Das 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-(phenoxyessigsäure-4-phenylbutylamid) **40** entstand unter Zusatz von N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl (EDC) in Dimethylformamid (DMF) / Dichlormethan (DCM) 1:1 in einer Ausbeute von 22 % (Abb. 20) und zeigte eine erstaunlich hohe Adenosinrezeptoraffinität ($K_i A_1 = 2,8 \text{ nM}$, $K_i A_{2A} = 25 \text{ nM}$ und $K_i A_{2B} = 270 \text{ pM}$) in den Radioligand-Bindungsstudien (Tab. 2).

Die Synthese des 2-[4-(1-Butyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-phenoxy]-N-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]acetamids ließ sich analog führen (Abb. 21). Es stellte sich heraus, daß sich der Fluorophor sogar besser koppeln ließ als die Modellverbindung (Ausbeute = 27 %).

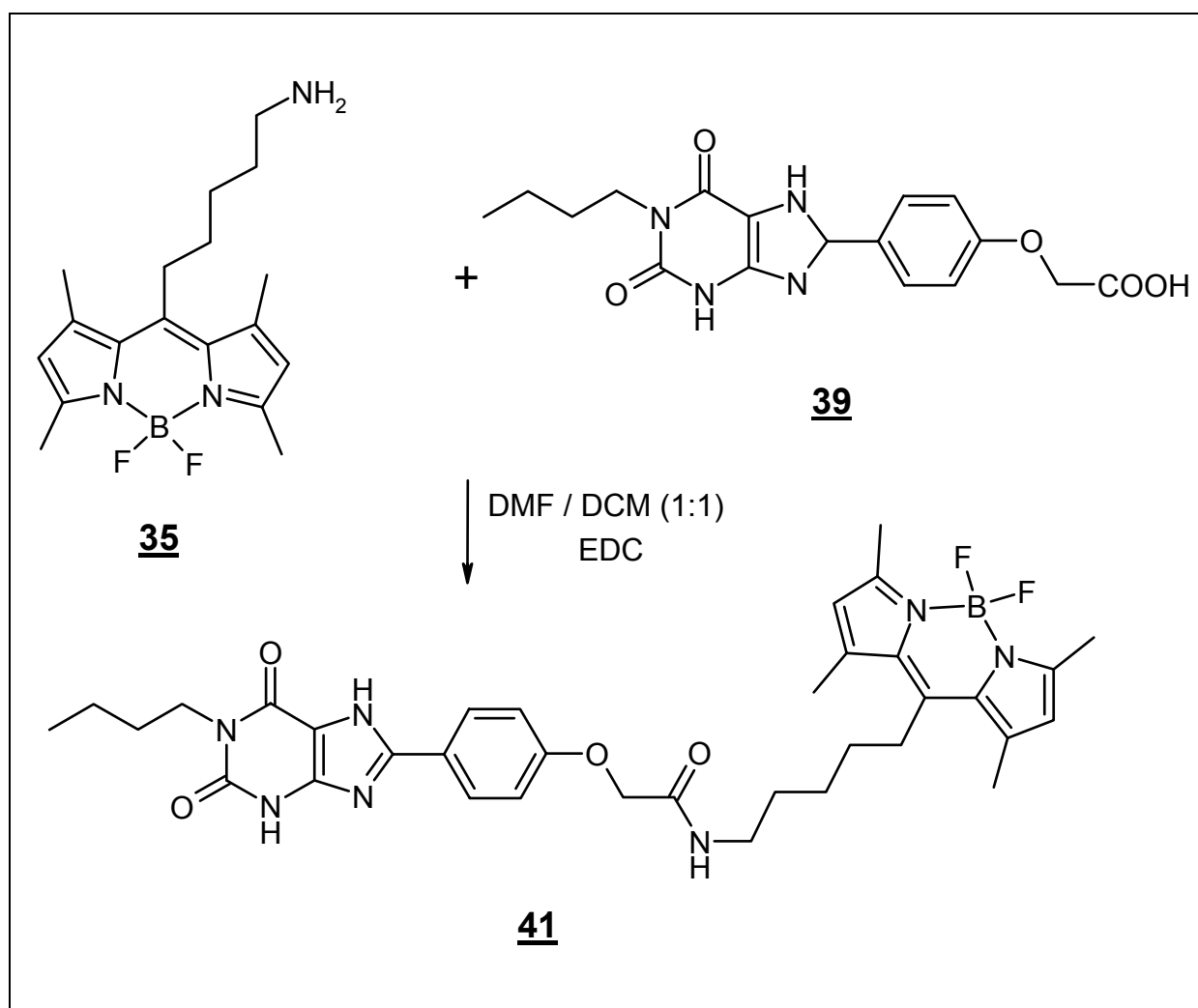


Abb. 21. Darstellung des 2-[4-(1-Butyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-phenoxy]-N-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]acetamids

Um eine höhere Hydrolysestabilität vor allem *in vivo* zu gewährleisten und auch aufgrund der besseren präparativen Zugänglichkeit, wurde der Phenoxyessigsäurerest durch einen Benzoesäurerest ersetzt⁷⁰ und Verbindung **42** wurde unter äquivalenten Bedingungen mit 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen zu **43** umgesetzt (Abb. 22).

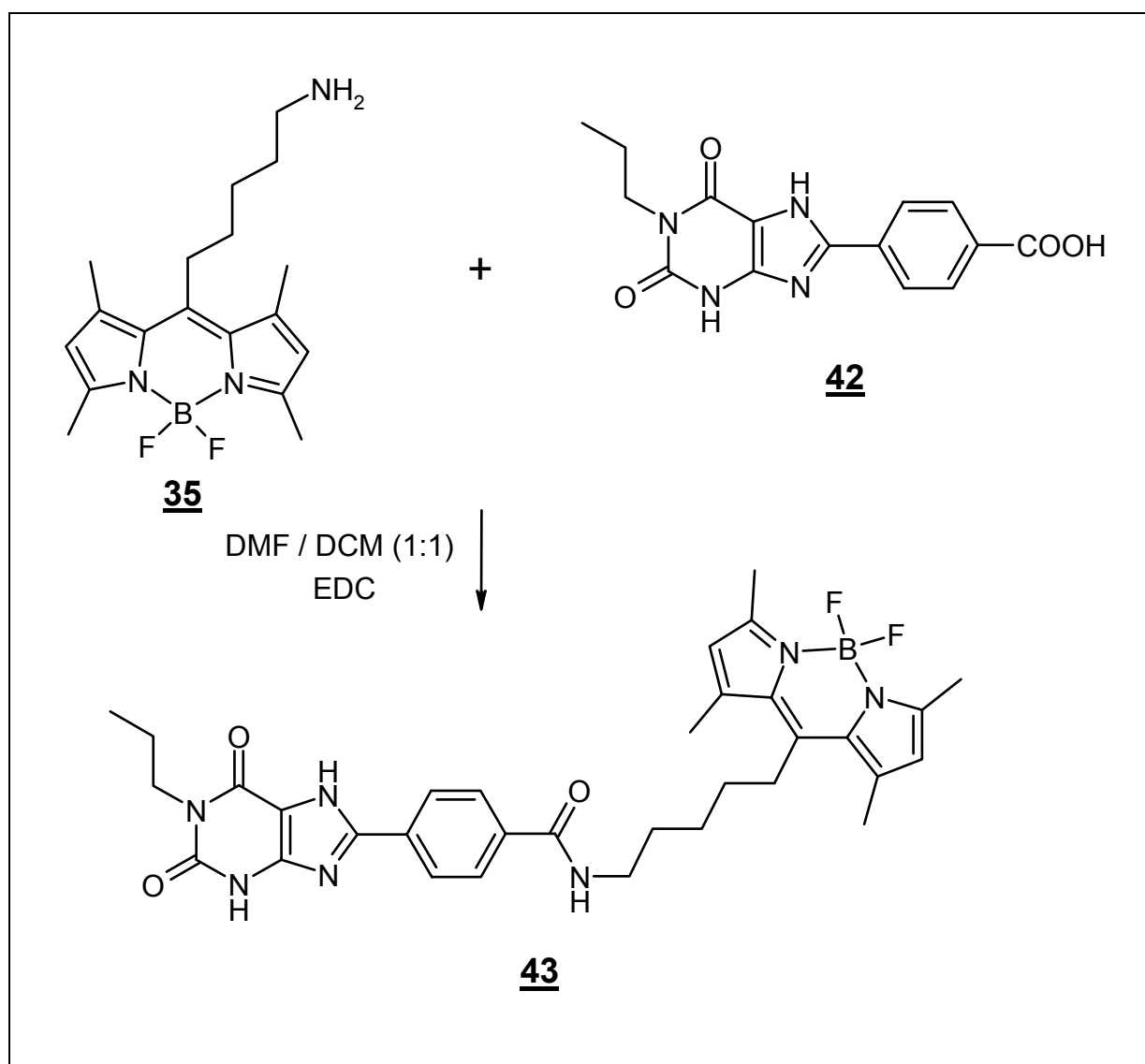


Abb. 22. Darstellung des 4-(2,6-Dioxo-1-propyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-N-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]benzamids

Aufgrund der Ergebnisse aus den Radioligand-Bindungsstudien (Tab. 2) ergab eine Analyse der Struktur-Wirkungs-Beziehungen, daß ein Ligand mit zusätzlicher Substitution in Position 3 eine höhere A₁-Affinität und Selektivität aufweisen sollte⁷⁰. Deshalb erachteten wir es für sinnvoll, auch ein 1,3-

disubstituiertes Xanthinderivat mit dem Fluorophor zu markieren. Durch das geänderte Substitutionsmuster sollte eine höhere Affinität zum A₁-Adenosinrezeptor erreicht werden.

Hierfür mußte das entsprechende Xanthinderivat nach der allgemein üblichen Syntheseroute für 1,3-disubstituierte Xanthine dargestellt werden^{113, 114, 115}. Ausgehend vom 5,6-Diamino-1,3-dipropyluracil **44** entstand durch Umsetzung mit 4-Carboxybenzaldehyd das entsprechende Imin **45**, welches in Thionylchlorid zum Xanthin **46** cyclisierte (Abb. 23).

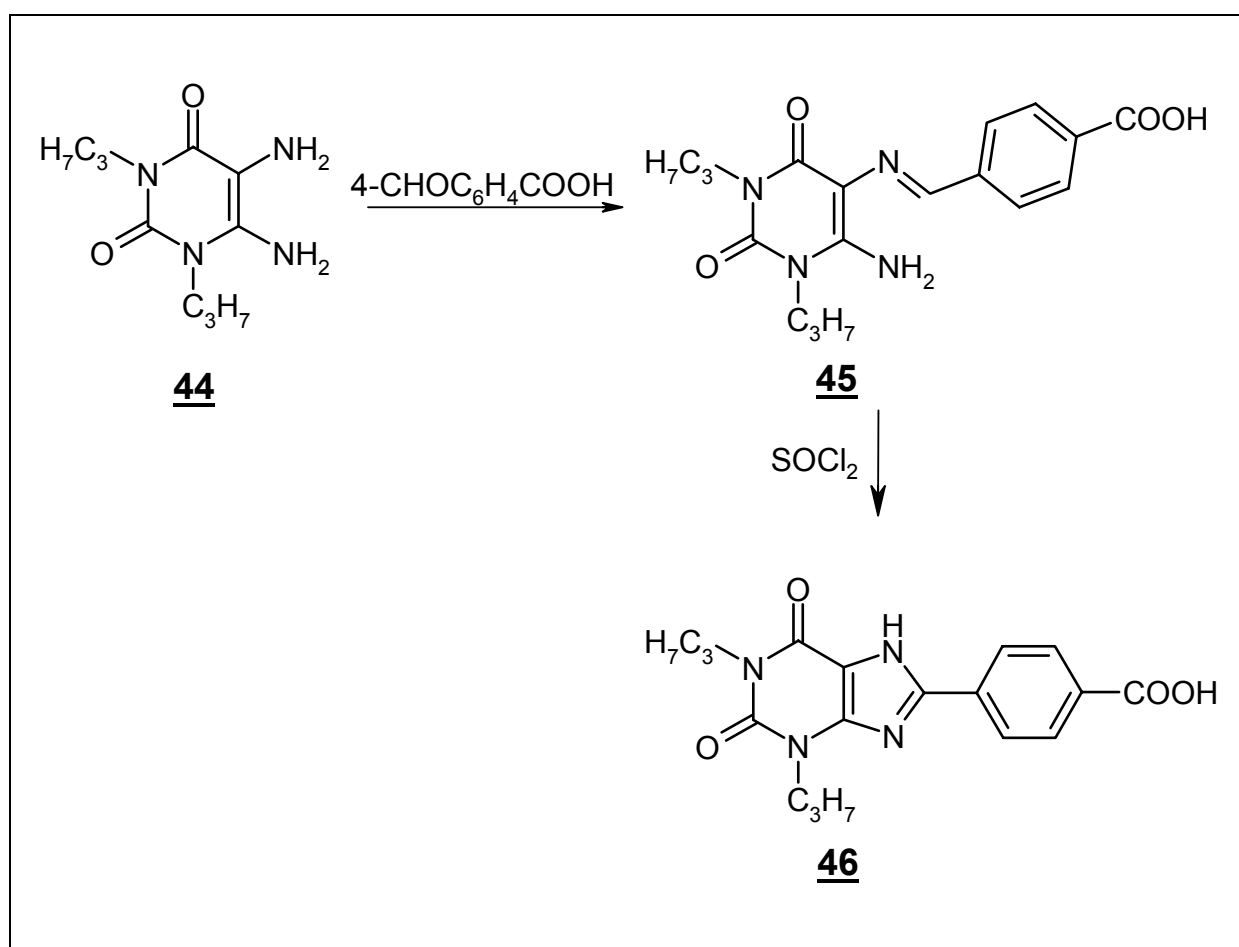


Abb. 23. Darstellung der 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure.

Die Synthese des fluoreszenzmarkierten Produktes **47** erfolgte dann analog der Synthese von **43** mit N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl in Dimethylformamid / Dichlormethan 1 : 1 in einer Ausbeute von 24 % (Abb. 24).

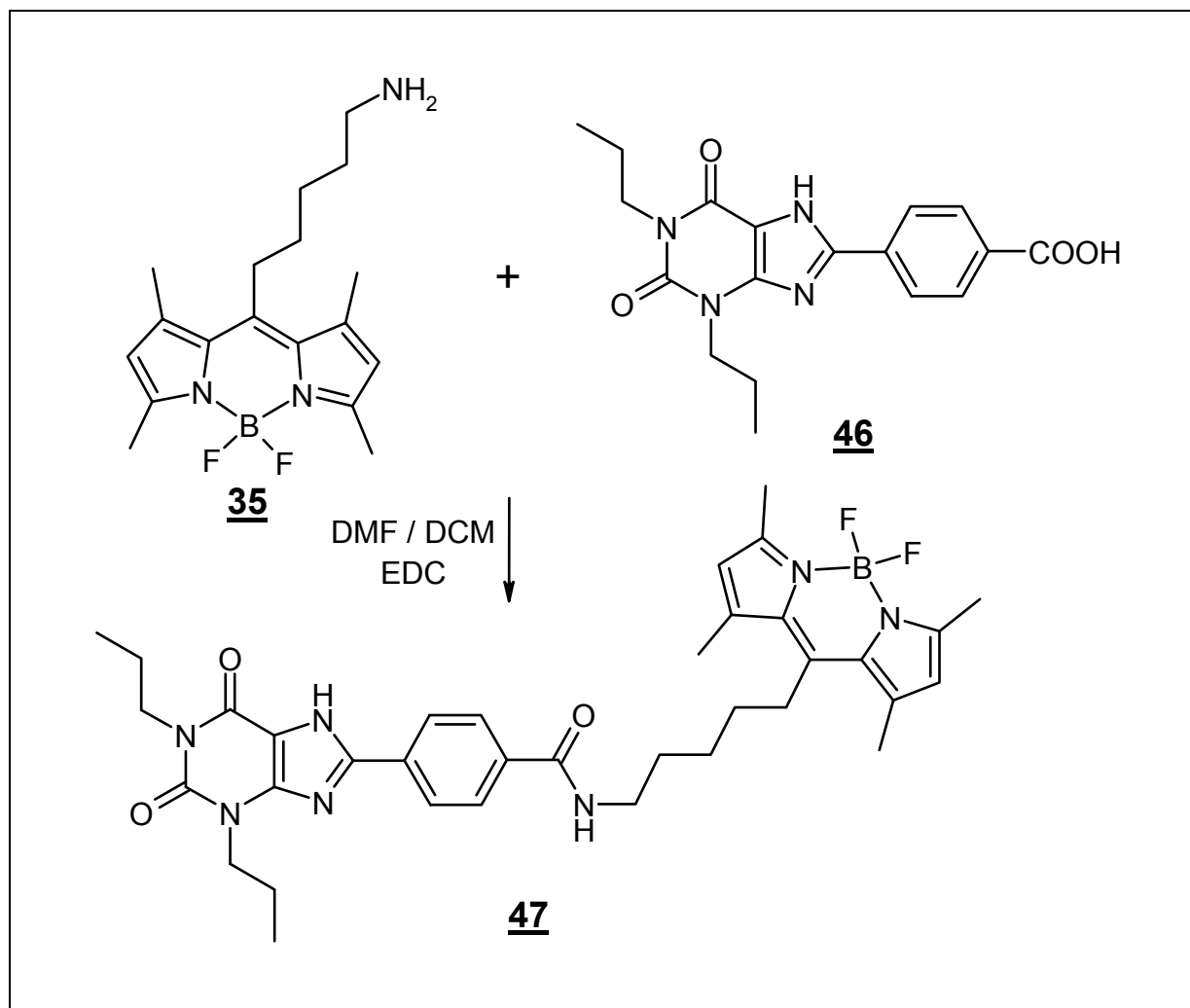


Abb. 24. Darstellung des von 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-N-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]-benzamids

Zur Darstellung eines fluoreszenzmarkierten A_{2A} -Adenosinrezeptor-Liganden griffen wir auf Erkenntnisse unseres Arbeitskreises zurück, die wir bei der Entwicklung von A_{2A} -selektiven Liganden erarbeitet haben^{116, 117}. So konnten wir zeigen, daß die Einführung eines meta-substituierten Styrylrestes in Position 8 von 3,7-Dimethyl-1-propagylxanthin zu einer hohen A_{2A} -Selektivität führt. Das von uns entwickelte 3,7-Dimethyl-8-(3-methoxystyryl)-1-propagylxanthins (MS-DMPX) zeigt beispielsweise eine A_{2A} -Affinität von 12 nM bei einer Selektivität A_1/A_{2A} von 106^{116} . Ziel war es deshalb, ein zum MS-DMPX analoges Fluoreszenzderivat aus dem 3,7-Dimethyl-8-(3-hydroxystyryl)-1-propagylxanthin **48** und dem 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **31** zu synthetisieren. Die Darstellung des

Phenoleters **49** gelang durch Reaktion des Phenols **48** mit dem Bromid **31** in trockenem Dimethylformamid unter Zusatz von Cäsiumcarbonat und Kaliumiodid in einer Ausbeute von 7 % (Abb. 25).

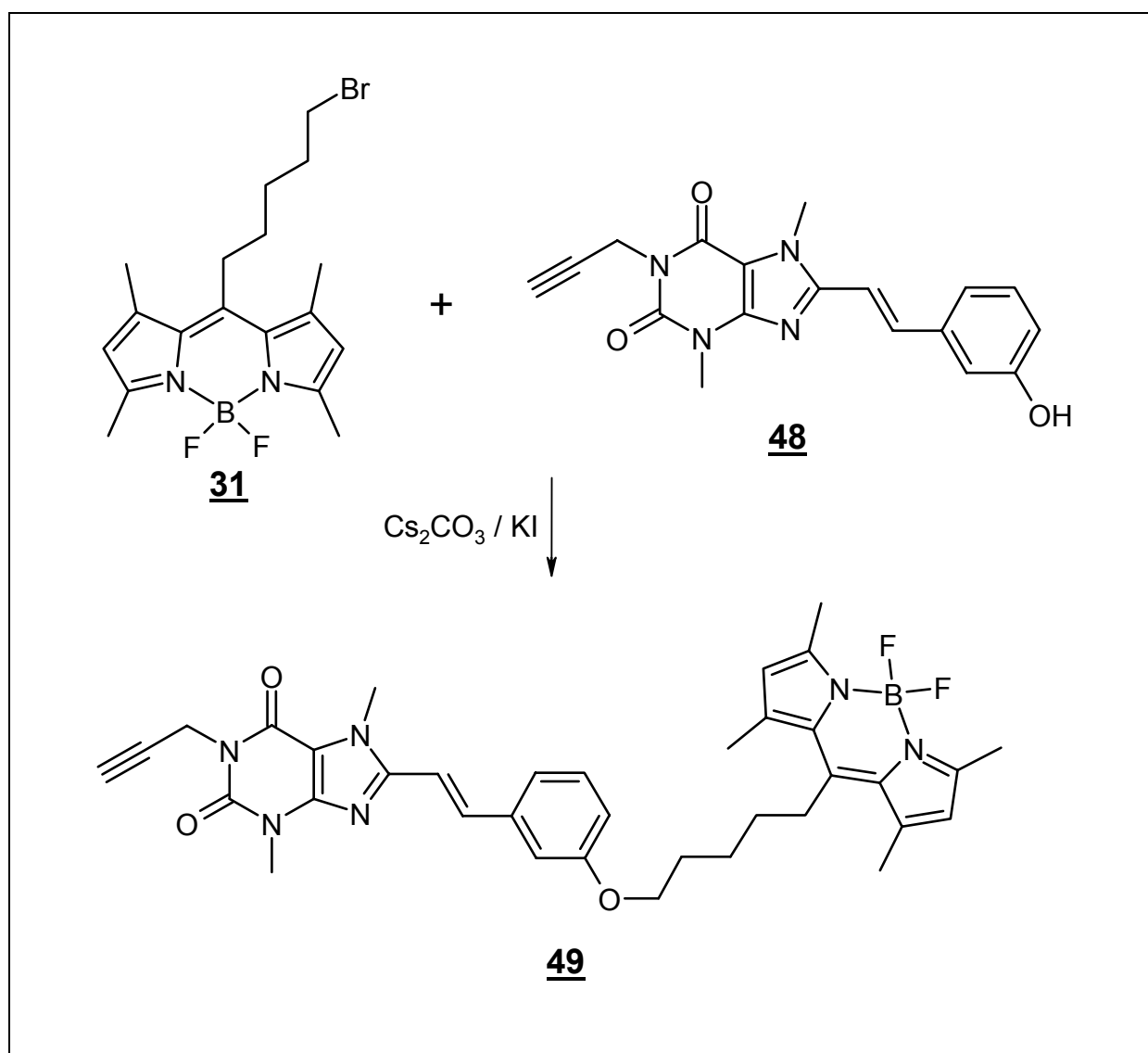


Abb. 25. Darstellung des 3,7-Dimethyl-1-prop-2-ynyl-8-(2-{3-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyloxy]-phenyl}-vinyl)-3,7-dihydro-purin-2,6-dions

6.1. **Strukturaufklärung und Reinheitsbestimmung der Fluoreszenzliganden**

Die neuen Fluoreszenzliganden wurden spektroskopisch charakterisiert (UV, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$). Da die eindimensionale NMR-Spektroskopie keinen eindeutigen Strukturbeweis lieferte, wurden zweidimensionale NMR-Spektren angefertigt, welche die postulierten Strukturen bestätigten und eine Zuordnung aller Signale ermöglichte.

Die exakte Zuordnung der direkten ^1J -Kopplungspartner konnte mittels HMQC-Experimenten (*heteronuclear multiple quantum correlation*) ermittelt werden. Mit Hilfe von HMBC-Messungen (*heteronuclear multiple bond correlation*) konnte dann, durch die erhaltenen ^2J - und $^3\text{J-CH}$ Kreuzsignale, auch die weitere Umgebung der einzelnen Molekülfragmente aufgeklärt werden. Da diese sogenannten *long range*-Kopplungen auch über Heteroatome meßbar sind, ließ sich das gesamte Molekül eindeutig identifizieren.

So zeigte zum Beispiel der Carbonylkohlenstoff (167,6 ppm) in dem fluoreszenzmarkierten Liganden **41**, der kein Signal im HMBC zeigte, sowohl eine $^2\text{J-CH}$ Kopplung zu den Protonen der Ar-OCH₂-Gruppe (**i**) als auch eine $^3\text{J-CH}$ Kopplung zu den Protonen der Amid-CH₂-Gruppe (**g**) des Fluorophors (Abb. 26. rote Markierung). Daß es sich tatsächlich um den Acetamid-Carbonylkohlenstoff handelt und nicht um einen des Xanthingerüsts, ergibt sich aus der Tatsache, daß auch die Protonen der koppelnden Ar-OCH₂-Gruppe (**i**, 4,56 ppm) zum C-4 des Phenoxy-Restes (159,6 ppm) eine $^3\text{J-CH}$ Kopplung aufweisen (Abb. 26. blaue Markierung). Ausführliche Daten und Zuordnungen finden sich im Kapitel "Synthesen".

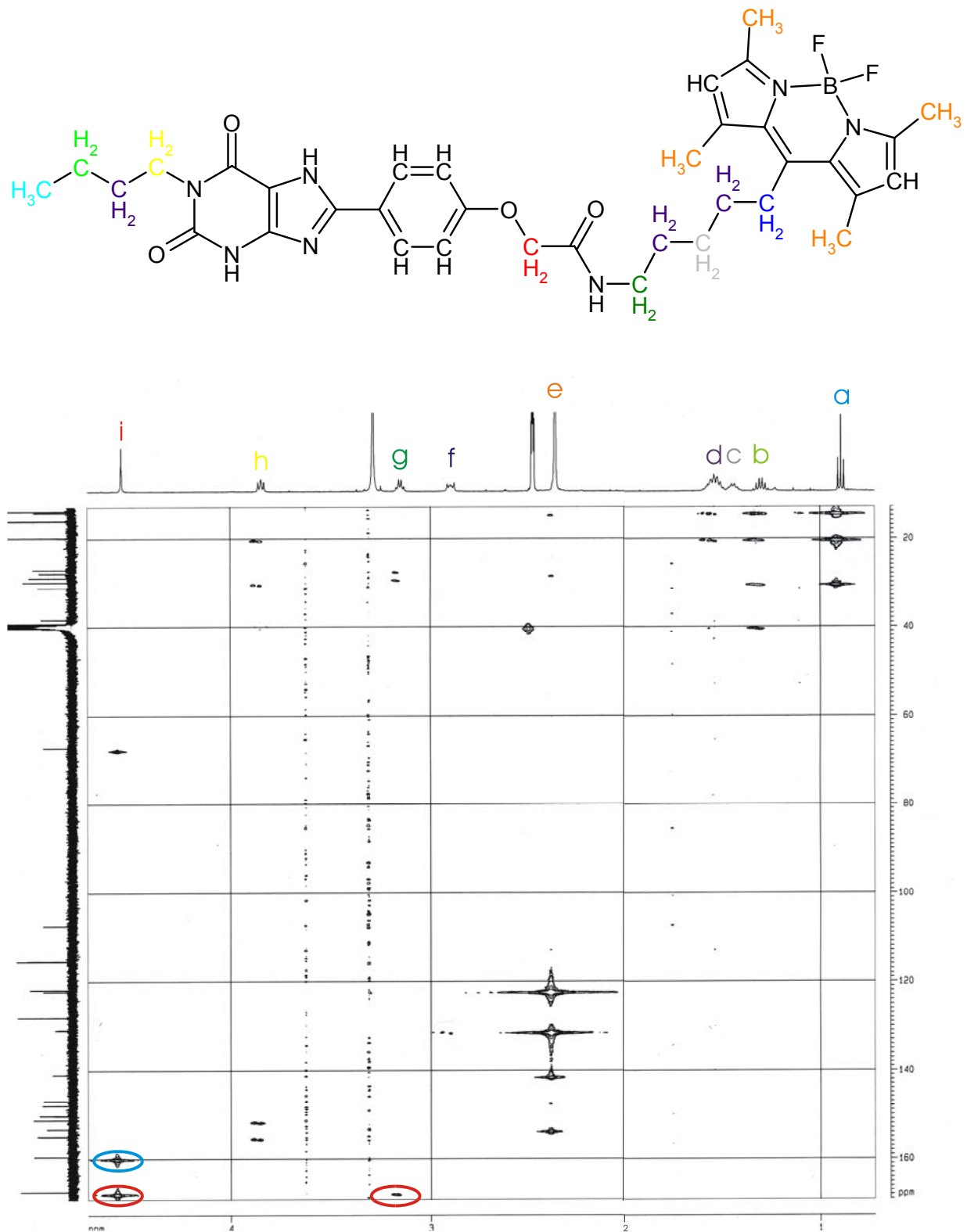


Abb. 26. Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von 37 aufgenommen in d_6 -DMSO

Da aufgrund der chemischen Zusammensetzung der fluoreszenzmarkierten Liganden eine Reinheitsbestimmung mittels Elementaranalyse nicht möglich war, wurde die Reinheit durch Kapillarelektrophorese ermittelt. Hierbei kamen

sowohl UV-Detektion als auch LIF-Detektion (*laser induced fluorescence*) zum Einsatz. Die Abbildungen 27 und 28 zeigen die beiden Elektropherogramme für die Reinheitsbestimmung von **41**. Die unterschiedlichen Retentionszeiten ergaben sich hierbei durch die Änderung des elektroosmotischen Flusses aufgrund unterschiedlicher experimenteller Bedingungen.

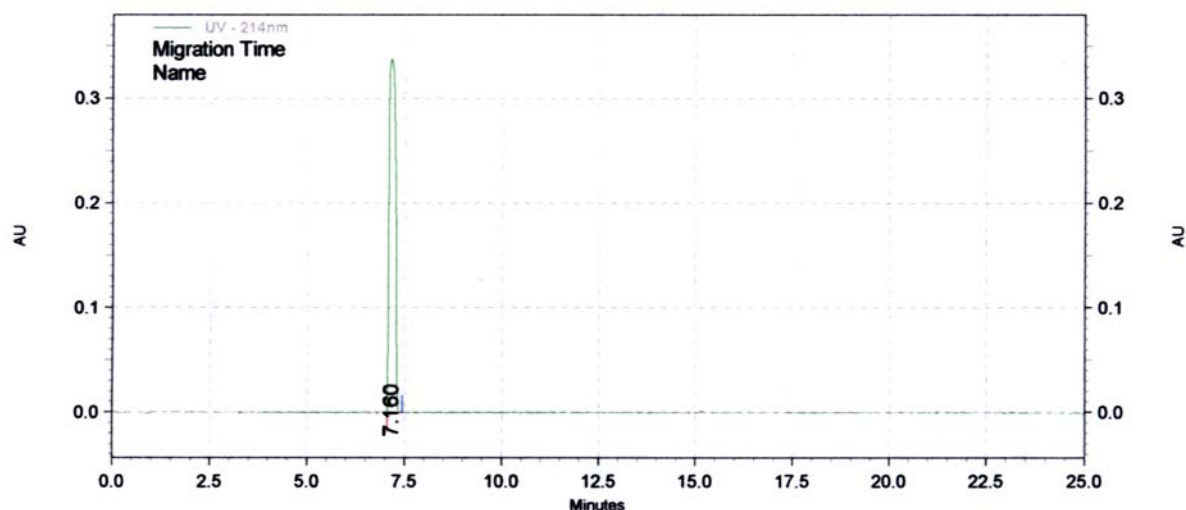


Abb. 27. Kapillarelektrophoretische Reinheitsbestimmung von **41** mit UV-Detektion

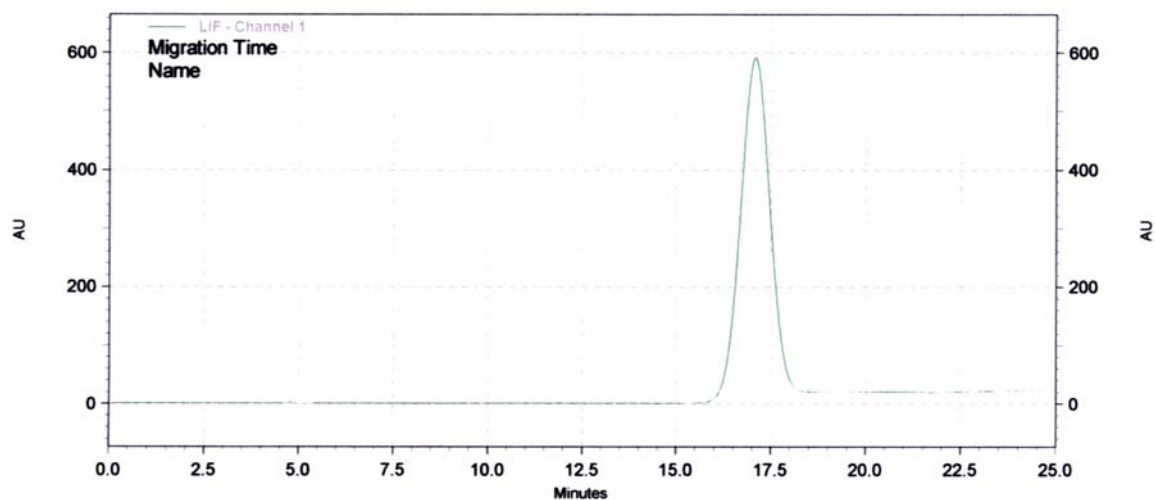


Abb. 28. Kapillarelektrophoretische Reinheitsbestimmung von **41** mit LIF-Detektion

Wie zu erkennen ist, bestehen die Elektropherogramme jeweils nur aus einem Peak, dessen Flächenintegration eine 100 %ige Reinheit widerspiegelt.

6.2. *Fluoreszenzeigenschaften der neuen fluoreszenzmarkierten Adenosinrezeptor-Liganden*

Die markierten Adenosinrezeptorliganden zeigen ein ähnliches Fluoreszenzspektrum wie die Fluorophore selbst, wobei das 3,7-Dimethyl-1-prop-2-ynyl-8-(2-{3-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyloxy]-phenyl}-vinyl)-3,7-dihydro-purin-2,6-dion **49** durch einen um 6 nm größeren Abstand zwischen Absorption und Emission auffällt (Abb. 29).

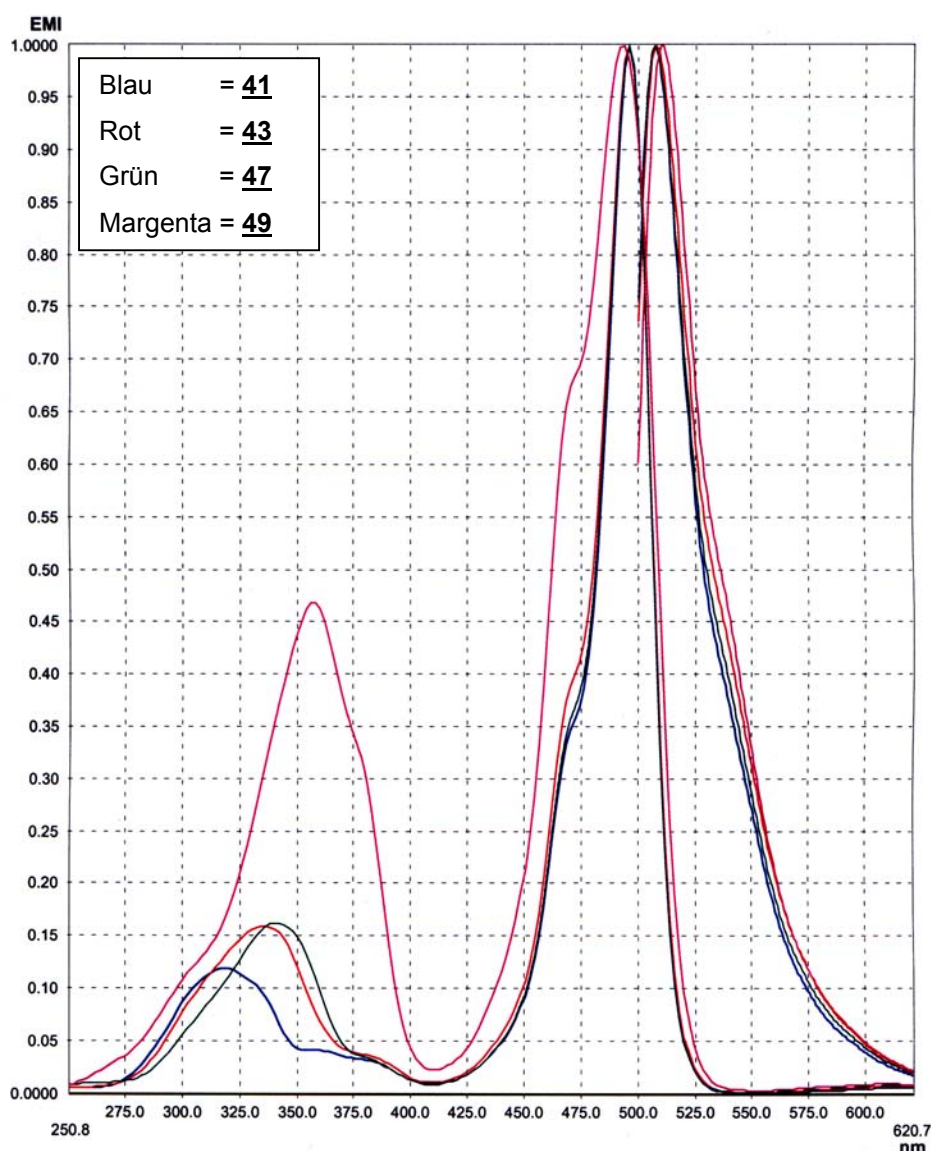


Abb. 29. Absorptions- und Emissionsspektren der neuen fluoreszenzmarkierten Adenosinrezeptor - Liganden

Der einzige Unterschied in den Fluoreszenzspektren der markierten Liganden und dem Fluorophor liegt darin, daß die Liganden eine zusätzliche Absorptionsbande zwischen 300 und 400 nm zeigen, welche auf das Xanthingerüst zurückzuführen ist. Dies zeigt, daß die neuen fluoreszenzmarkierten Liganden über die gleichen fluoreszenz-spektroskopischen Eigenschaften verfügen wie das BODIPY selbst.

6.3. Radioligand-Bindungsstudien

Alle Verbindungen wurden in Radioligand-Bindungsstudien an Rattenhirn A_1 - und A_{2A} -Adenosinrezeptoren mit [^3H]2-Chlor- N^6 -cyclopentyladenosin (CCPA) bzw. [^3H]3-(3-Hydroxypropyl)-7-methyl-8-(*m*-methoxystyryl)-1-propagylxanthin (MSX-2) als Radioliganden getestet. Einzelne Substanzen wurden auf ihre A_{2B} -Affinität zum humanen rekombinanten Rezeptor mit [^3H]4-[2-[[7-Amino-2-(furyl)1,2,4-triazolo[2,3-*a*]1,3,5-triazin-5-yl]amino]ethyl]phenol (ZM-241385) als Radioligand untersucht. Alle Verbindungen wurden zusätzlich an humanen rekombinanten A_3 -Adenosinrezeptoren mit dem A_3 -selektiven antagonistischen Radioliganden [^3H]2-Phenyl-8-ethyl-4-methyl-(8*R*)-4,5,7,8-tetrahydro-1*H*-imidazo[2,1-*i*]purin-5-on (PSB-11) untersucht. Die Radioligand-Bindungsstudien zeigten, daß die neuen fluoreszenzmarkierten Liganden **41**, **43** und **47** eine hohe Affinität zu den Adenosinrezeptoren aufweisen (Abb. 30).

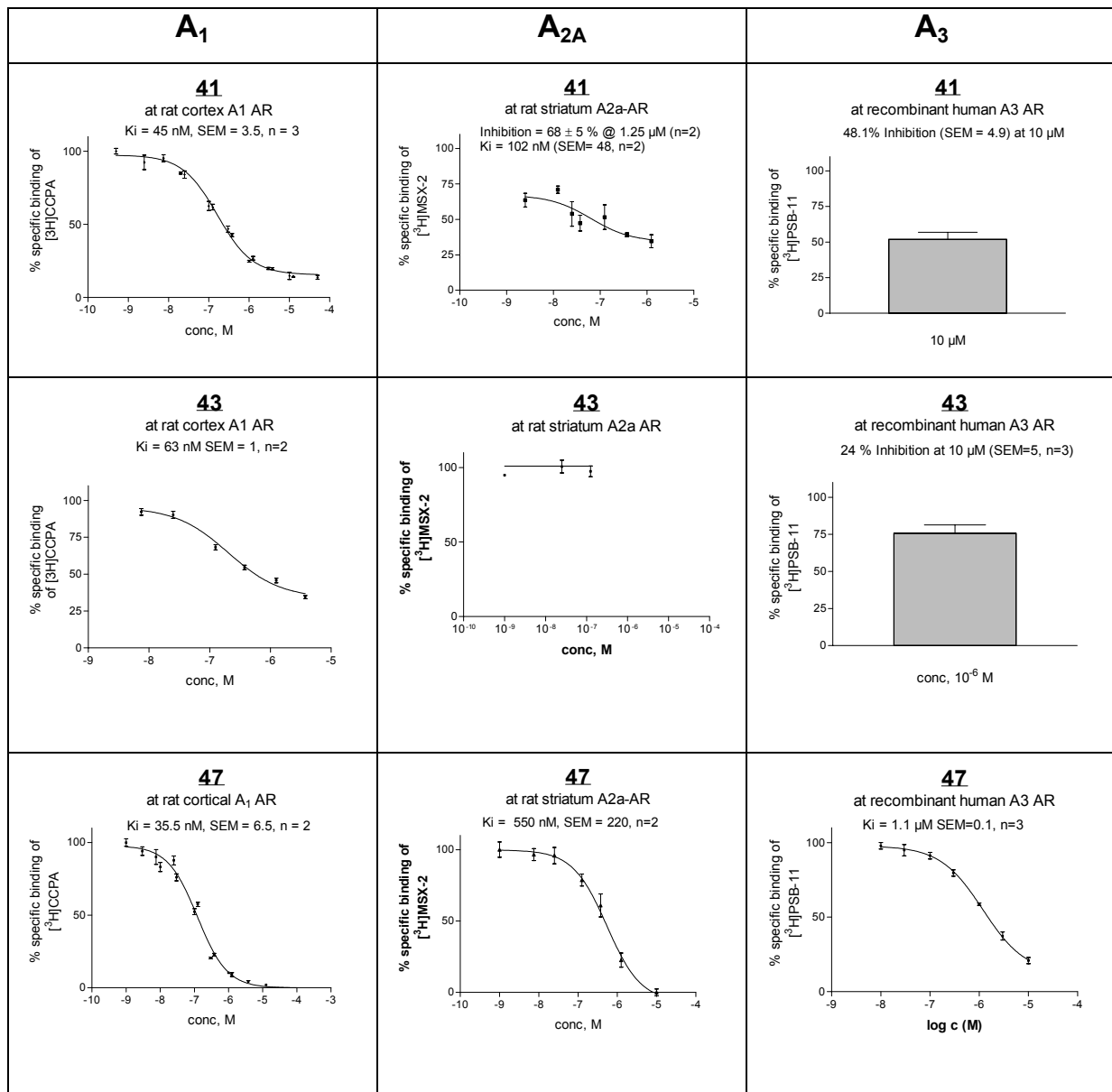


Abb. 30. Ergebnisse der Radioligand-Bindungsstudien für die fluoreszenzmarkierten Liganden 41, 43 und 47

Der Fluorophor wird sowohl vom A₁- als auch vom A_{2A}-Rezeptor in der gewählten Position (am 8-Phenylrest) toleriert. Wie der Vergleich der K_i-Werte der Edukte (39, 42 und 44) und der jeweiligen Produkte (41, 43 und 47) zeigt (Tab. 2), bleibt die Affinität erhalten und ändert sich in der Regel nur geringfügig durch die Einführung des Fluorophors und wird im Falle des A₁-Adenosinrezeptors sogar gesteigert. Mit 41, 43 und 47 wurden potente

Fluoreszenzliganden für den A_1 -Adenosinrezeptor erhalten, die A_1 -selektiv sind (Tab. 2).

Der aus der Modellreaktion zur Kopplung der Aminfluorophore entstandene Ligand **40** wurde ebenfalls in Radioligand-Bindungsstudien untersucht, er verfügt über bemerkenswerte Eigenschaften. Er zeigt am humanen A_{2B} -Adenosinrezeptor mit einem K_i -Wert von 270 pM eine außergewöhnlich hohe Affinität und stellt damit den potentesten bisher bekannten A_{2B} -Rezeptorliganden dar. Allerdings ist dieser nicht sehr subtypeselektiv, denn auch zum A_1 -Adenosinrezeptor ist eine hohe Affinität dieses Liganden festzustellen (Abb. 31).

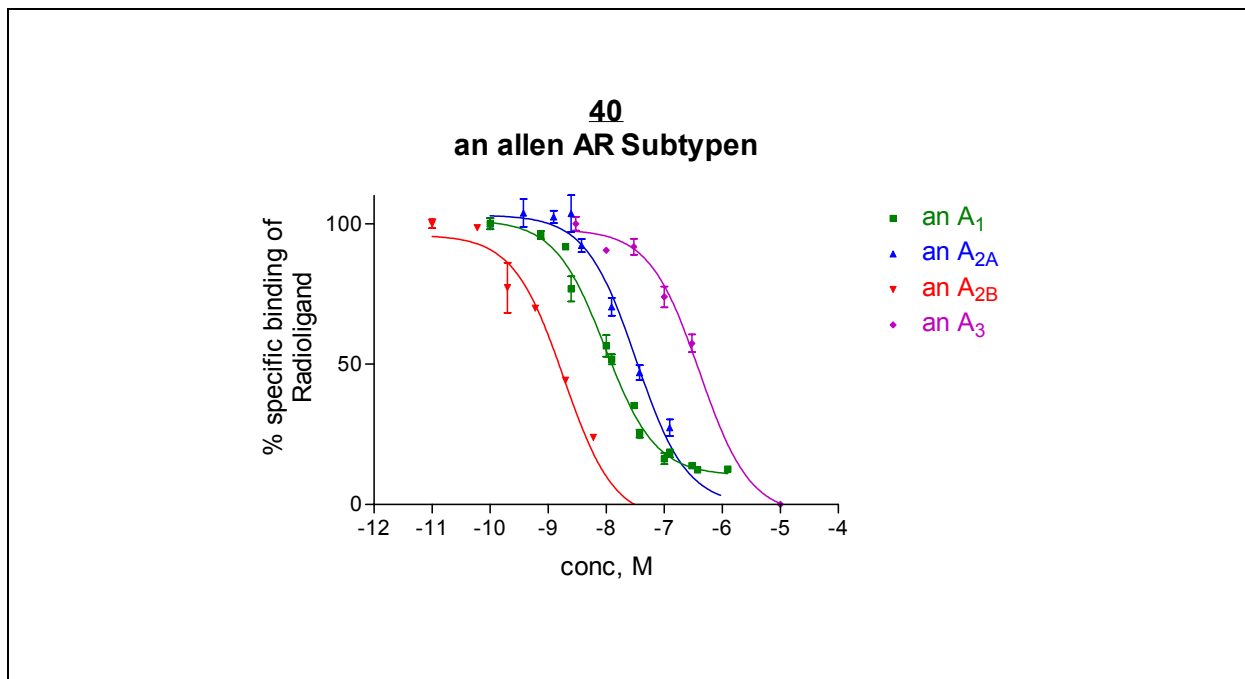
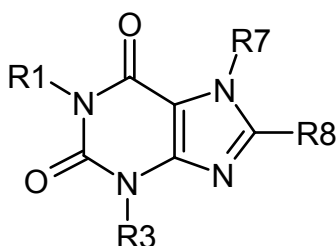


Abb. 31. Ergebnisse der Radioligand-Bindungsstudien für das Modell **40**

So liegt die Selektivität für den A_{2B} -Adenosinrezeptor beim 10fachen (gegenüber A_1), beim 93fachen (gegenüber A_{2A}), beim über 1200fachen (gegenüber A_3) (Tab. 2).

Mit **49** sollte ein A_{2A} -selektiver Fluoreszenz-Ligand entwickelt werden. Die Testung ergab jedoch, daß diese Verbindung keinerlei Effekt am A_{2A} - und A_{2B} -Adenosinrezeptor zeigt und auch am A_1 -Rezeptor nur eine 25%ige Hemmung bei einer Konzentration von $10\mu\text{M}$ im Assay aufweist.



Ligand	R ¹	R ³	R ⁷	R ⁸	K _i ± SEM [nM]			
					A ₁ (Ratte) [³ H]CCPA	A _{2A} (Ratte) [³ H]MSX-2	A _{2B} (Mensch) [³ H]ZM241385	A ₃ (Mensch) [³ H]PSB11
<u>39</u>	Butyl	H	H	p-C ₆ H ₅ -O- CH ₂ COOH	81 ± 43	1877 ± 908	10,8 ± 8.3	1192 ± 147
<u>40</u>	Butyl	H	H	p-C ₆ H ₅ -O- CH ₂ CONH- M	2,8 ± 0,1 (n = 3)	31 ± 3 (n = 3)	0,27 ± (n = 1)	367 ± 23 (n = 3)
<u>41</u>	Butyl	H	H	p-C ₆ H ₅ -O- CH ₂ CONH- FI	45 ± 4 (n = 3)	(102 ± 48) * (n = 2)	n.b.	>10000 [#]
<u>42</u>	Propyl	H	H	p-C ₆ H ₅ - COOH	421 ± 59	12523 ± 804	174,2 ±	n.b.
<u>43</u>	Propyl	H	H	p-C ₆ H ₅ - CONH-FI	63 ± 1 (n = 2)	inaktiv bei 10000	n.b.	>10000 ^o
<u>44</u>	Propyl	Propyl	H	p-C ₆ H ₅ - COOH	49 ± 11 (n = 2)	610 ± (n = 1)	73 ±	213 ± 9
<u>47</u>	Propyl	Propyl	H	p-C ₆ H ₅ - CONH-FI	36 ± 7 (n = 2)	550 ± 220 (n = 2)	n.b.	1070 ±120 (n = 3)
<u>48</u>	Propargyl	Methyl	Methyl	-CH=CH- C ₆ H ₅ - (m-OH)	940 ± 23	21 ± 6	n.b.	n.b.
<u>49</u>	Propargyl	Methyl	Methyl	-CH=CH- C ₆ H ₅ - (m-O-FI)	>10000 ⁺	inaktiv bei 10000	inaktiv bei 10000	>10000 ⁺⁺

M: -(CH₂)₄-C₆H₅ (Modellverbindung)

FI: -(CH₂)₅-C₁₃H₁₄BF₂N₂

* 68 ± 5 % Hemmung der Radioligandbindung bei 1250 nM; spezifische Bindung des Radioliganden steigt nicht über 70 % an.

[#] 48 ± 5 % Hemmung der Radioligandbindung bei 10 μM

^o 24 ± 5 % Hemmung der Radioligandbindung bei 10 μM

⁺ 25 ± 5 % Hemmung der Radioligandbindung bei 10 μM

⁺⁺ 16 ± 5 % Hemmung der Radioligandbindung bei 10 μM

n.b. nicht bestimmt. Es liegen noch keine Testergebnisse vor

Tab. 2 Rezeptor-Affinitäten der Edukte und der Fluoreszenz-Liganden

7. Versuche zur Fluoreszenzmarkierung von P2Y₁₂-Rezeptor-Liganden

Die Hauptaufgabe von Thrombozyten besteht in der Blutgerinnung. Seitdem bewiesen wurde, daß ADP (Adenosindiphosphat) die Blutgerinnung auslösen kann¹¹⁸, wird vermutet, daß es einen ADP-Rezeptor auf Thrombozyten gibt. Inzwischen wurden drei verschiedene P2-Rezeptor-Subtypen auf Thrombozyten identifiziert, P2X₁, P2Y₁ und P2Y₁₂.

Die beiden Letztgenannten sind Rezeptoren für ADP, während P2X-Rezeptoren generell durch ATP aktiviert werden¹¹⁹.

Der P2Y₁₂-Rezeptor (früher als P2T bzw P2_{AC} bezeichnet) konnte kürzlich kloniert werden^{120, 121}; er stellt ein wichtiges Drug-Target für die antithrombotische Therapie dar.

Dieser Rezeptorsubtyp ist bis vor kurzem in keinem anderen Gewebe gefunden worden. Neuere Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß dieser Subtyp auch im Hirn zu finden ist¹²⁰.

Einzigartig an diesem Rezeptor ist, daß ATP (Adenosintriphosphat) als kompetitiver Antagonist agieren soll¹²². Um den P2Y₁₂-Rezeptor besser charakterisieren zu können war es das Ziel, fluoreszenzmarkierte Liganden zu synthetisieren.

SAR-Analysen haben ergeben, daß für ein Labeling des ADP lediglich die C-2 und die N⁶-Position zur Verfügung stehen, da alle anderen Positionen für die Rezeptoraktivierung essentiell sind^{123, 124}. An Position C-2 werden große, an N⁶ mittelgroße Reste (Monosubstitution) toleriert (Abb. 32). Aufgrund der Größe von Fluorophoren ergab sich also die Präferenz für die Anknüpfung an die C-2 Position.

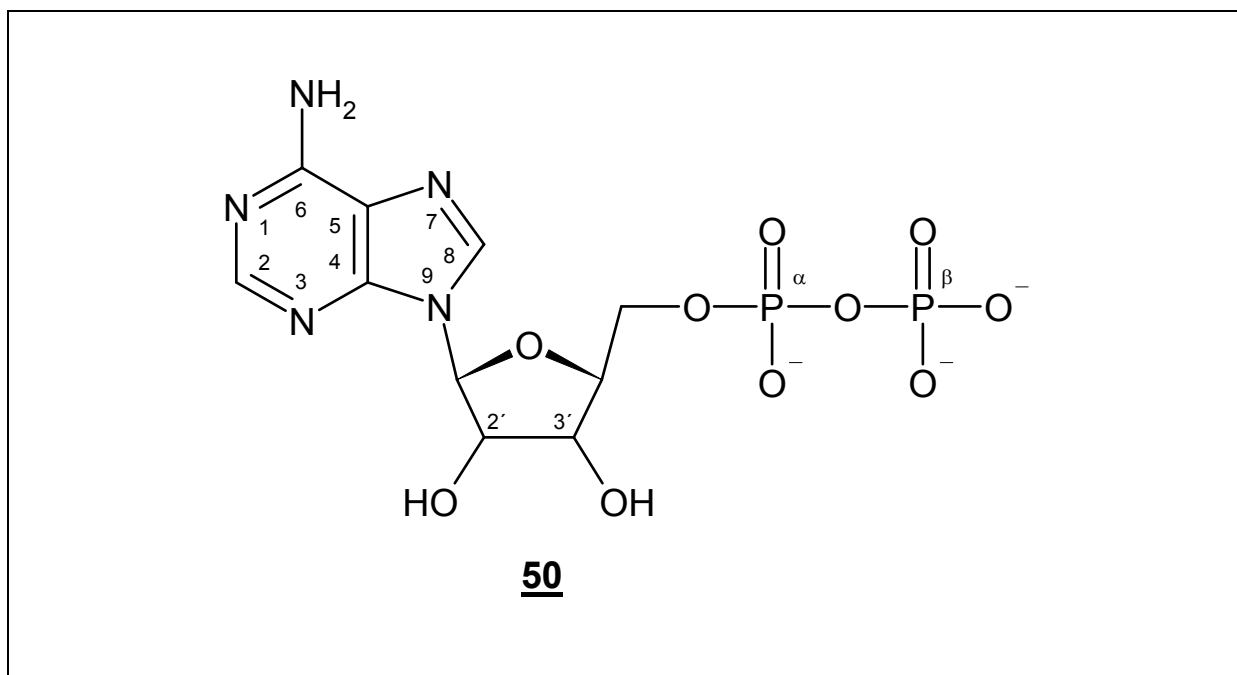


Abb. 32. Adenosindiphosphat

7.1.1. Synthesestrategie:

Als Ausgangsverbindung diente das AMP (Adenosinmonophosphat), da dieses in hoher Reinheit zu einem akzeptablen Preis kommerziell erhältlich ist, welches dann in Position C-2 aktiviert werden mußte. Zur Aktivierung erschien das Thiol, welches in der Literatur häufig zur Derivatisierung an C-2 genutzt wurde, am geeignetsten. Die mildesten Bedingungen versprach dabei eine Route, die der von *J. R. Jefferson*, *J. B. Hunt* und *G. A. Jamieson* analog verläuft ¹²⁵.

Die Kopplung mit dem Fluorophor ließe sich dann über eine Substitution mit einem entsprechenden Bromid erreichen (Abb. 33).

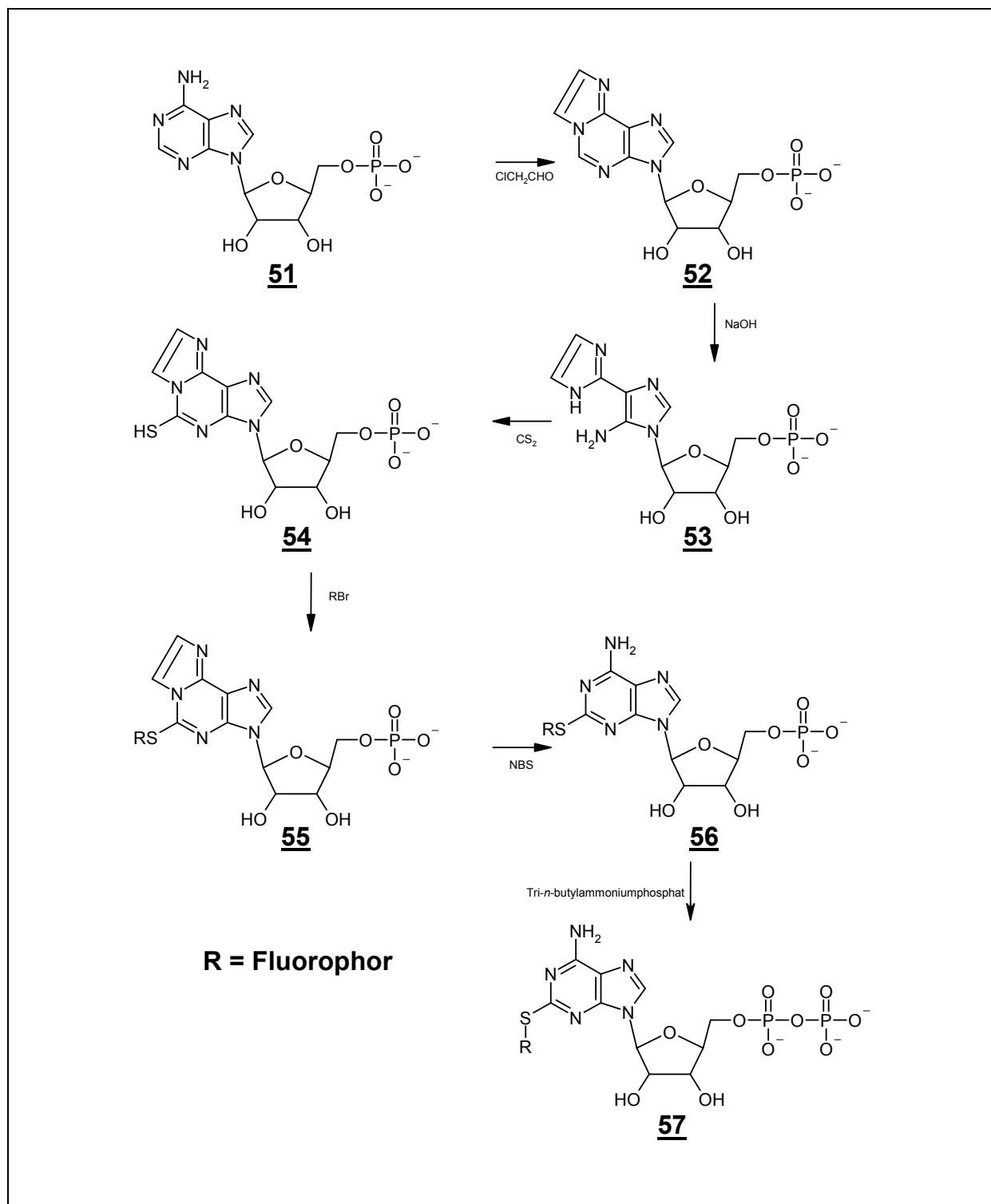


Abb. 33. Synthesestrategie zur Fluoreszenzmarkierung von ADP

Als Fluorophor sollte zunächst das Methylfluorescein **60** dienen. Das Bromid des Methylfluoresceins **62** lässt sich in wenigen Schritten aus Methylphthalsäure **58** und Resorcin **59** darstellen (Abb. 34)¹²⁶.

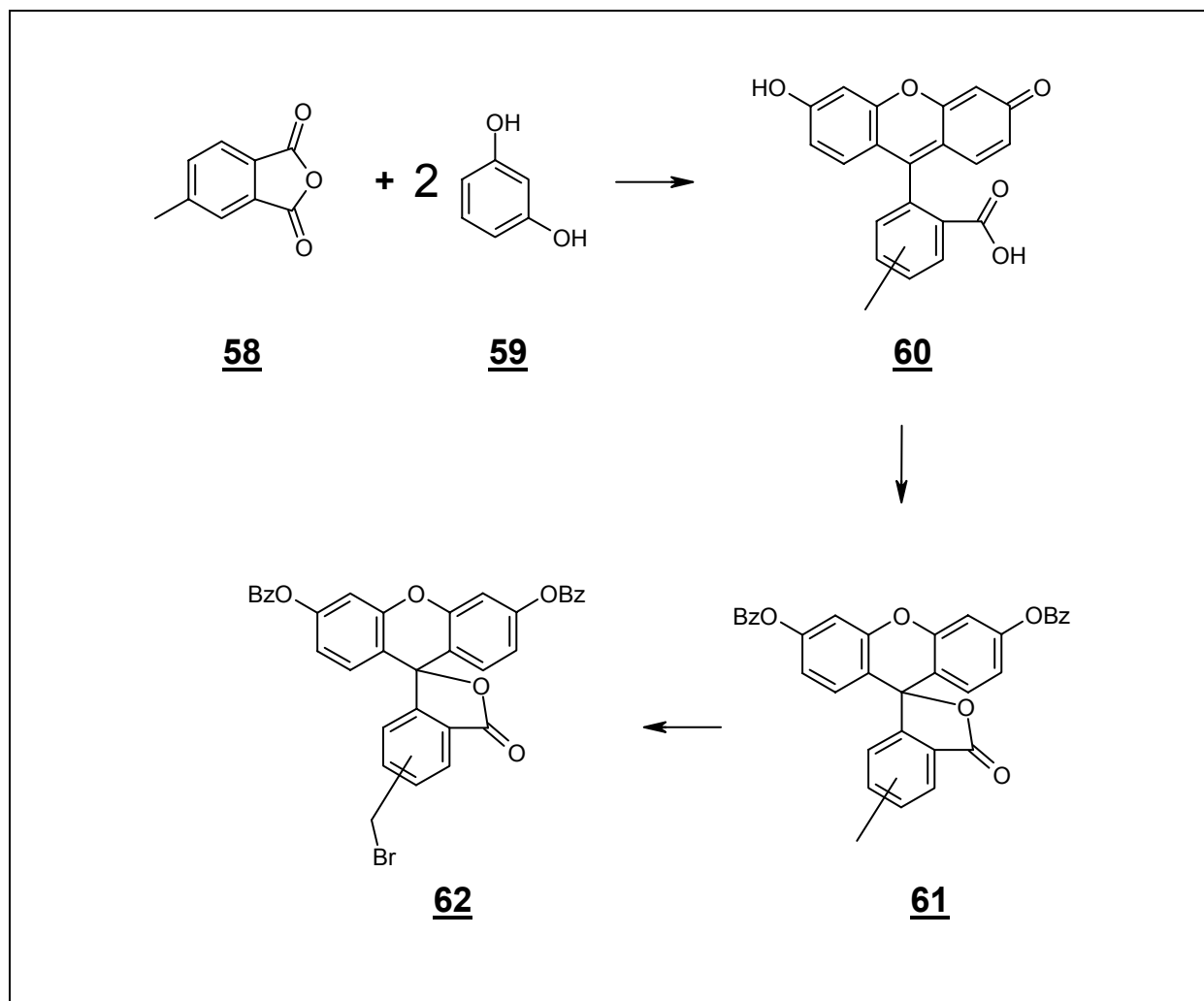


Abb. 34. Darstellung des 3',6'-Dibenzoyl-4(5)-brommethylfluoresceins

Bei der Darstellung des 1,N⁶-Etheno-2-[(3',6'-Dibenzoyl)-4(5)-methylfluorescein]-thio-AMP (**55**) ergaben sich unerwartete Schwierigkeiten.

Es konnte mittels klassischer säulenchromatographischer Trennungen kein Produkt mehr isoliert werden. Deswegen wurde versucht, die Kopplung unter anderen Umgebungsvariablen analog der Darstellung von 1,N⁶-Etheno-2-[(3-aminopropyl)thio]-ADP¹²⁵ durchzuführen. Dieser Syntheseweg hätte den Vorteil, daß das Produkt aus der Lösung ausfällt und einer säulenchromatographischen Reinigung nicht bedürfte. Hierbei war jedoch zu beobachten, daß es statt zur erwünschten Kopplung von Fluorophor und 1,N⁶-Etheno-2-mercapto-AMP zu einer Polymerisation des 1,N⁶-Etheno-2-mercapto-AMP kam.

Aufgrund der unerwarteten Probleme bei der Kopplung und vor allem bei der Reinigung des mit Methylfluorescein gekoppelten Produktes, stellte sich die Frage nach einem besseren Fluorophor.

Als Grundgerüst bot sich hierfür eines der BODIPY-Derivate mit Brom als Substituent an. Die hohe Lipophilie der BODIPY-Derivate ließ jedoch eine direkte Kopplung nicht zu, so daß die anfängliche Syntheseroute (Abb. 32) einer Modifikation bedurfte. Statt der zunächst eingesetzten extrem hydrophilen Phosphate sollte nun das Adenosin als Ausgangssubstanz dienen.

Sowohl die Cyclisierung zum 1,N⁶-Ethenoadenosin als auch die Ringöffnung zum 1,N⁶-Etheno-2-nor-adenosin war mit guten Ausbeuten durchführbar. Die Insertion des Schwefelkohlenstoff führte allerdings zu einem Polymergemisch und nicht zum gewünschten 2-Thioadenosin.

Aufgrund der geringen physiologischen Stabilität von Diphosphaten (Abbau durch Phosphatasen) und der Aufklärung des am P2y₁₂ aktiven Metaboliten von Clopidogrel¹²⁷ (Abb. 35), welcher ein attraktives, neues Target zur Fluoreszenzmarkierung darstellt, wurde das Projekt zur Markierung des ADP nicht weiterverfolgt.

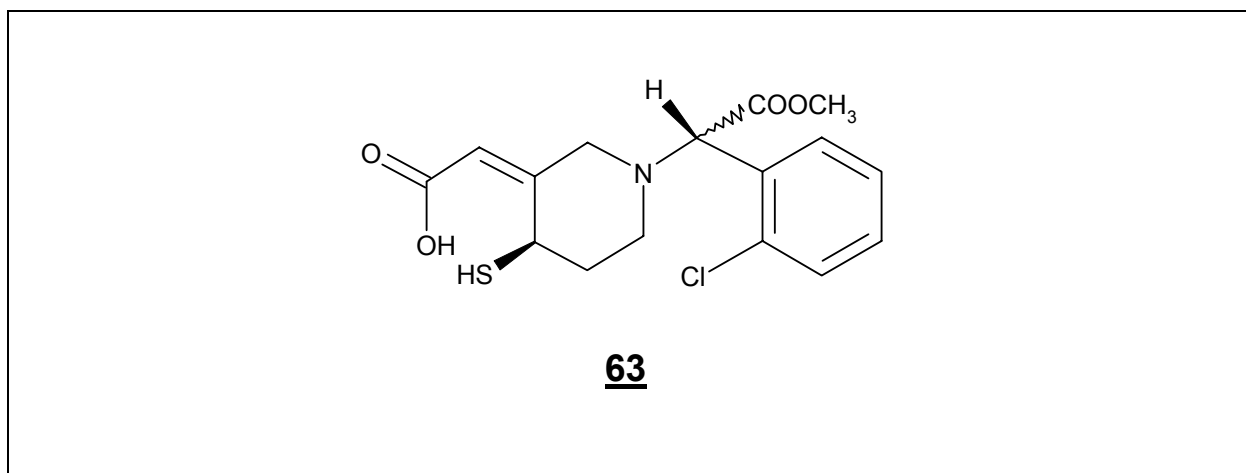


Abb. 35. Aktiver Metabolit des Clopidogrel¹²⁷.

Bei einer zukünftigen Fluoreszenzmarkierung des aktiver Metaboliten (der 2-{1-[(1S)-1-(2-Chlorophenyl)-2-methoxy-2-oxoethyl]-4-sulfanyl-3-piperidinylidien}essigsäure) würde sich die Esterfunktion anbieten, die zu einem Amid

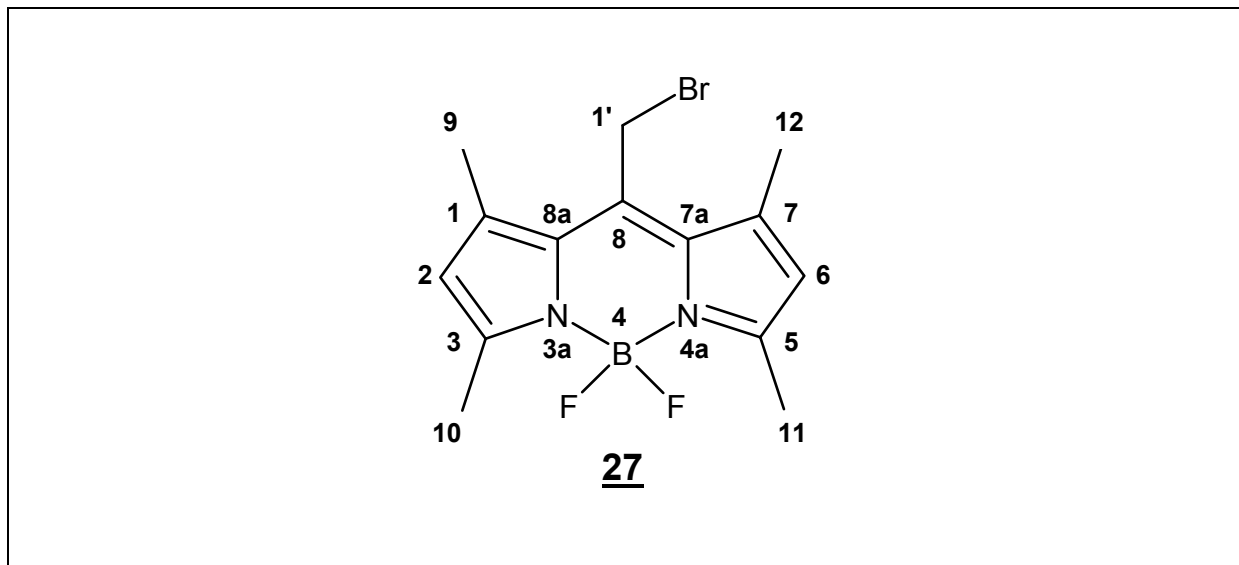
umgesetzt werden könnte. Die Thiofunktion steht für eine Markierung nicht zur Verfügung, da diese für den Wirkmechanismus über die Bildung einer Disulfidbrücke mit einem Cystein des Rezeptors beteiligt zu sein scheint¹²⁷.

8. Synthesen

8.1.1. Allgemeine Methoden

- Die Messungen der ^1H - ^{13}C - und ^{31}P - NMR sowie der HMBC- und HMBQ-Spektren wurden auf einem Bruker Avance 500 Spektrometer durchgeführt. Als interner Standard wurden die Signale der verbleibenden Protonen der deuterierten Lösungsmittel herangezogen. Im Falle der ^{31}P -Spektren wurde Trimethylphosphat als externer Standard verwandt.
- Dünnschichtchromatographie zur Reinheitskontrolle ist mittels Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) auf Plastikfolie durchgeführt worden.
- Als weiteres Reinheitskriterium untersuchte Herr Apotheker Ramat Quirishi die Substanzen kapillarelektrophoretisch an einem Beckman Coulter P/ACE MDQ auf ihre Homogenität.
- Die Schmelzpunkte sind mit einem Büchi 510 Schmelzpunktapparat bestimmt und unkorrigiert wiedergegeben worden.
- Mit Hilfe eines Safas FL-200 Spectrofluorimeters sind die Aufnahmen der Fluoreszenzspektren entstanden.
- Die Durchführung der massenspektroskopischen Untersuchungen fanden in der Zentralanalytik der Chemischen Institute und die röntgenkristallographischen Untersuchungen am Mineralogischen Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn statt.
- Frau Dipl. Chem. Martina Dieckmann und Frau Birgit Preiß führten die Radioligand-Bindungsstudien im eigenen Arbeitskreis durch.
- Die Röntgenstrukturdaten wurden mittels Vierkreisdiffraktometer AFC-6R der Firma RIGAKU, Japan gemessen. Die Röntgenstrahlung wurde hierbei von einem Drehanodenröntgengenerator bei einer Betriebsspannung von 50 KV mit 100 mA erzeugt.

8.1.2. Darstellung von 8-Bromomethyl-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen ^{104, i} :



Ansatz :

0,95	g	≡	10	mmol 2,4-Dimethylpyrrol
1,0	g	≡	5	mmol Bromacetylbromid
2,8	mL	≡	20	mmol Triethylamin
2,5	mL	≡	10	mmol Bortrifluoriddiethyletherat

Durchführung:

Das Bromacetylbromid wird in 50 mL Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Innerhalb einer halben Stunde wird das in 20 mL Dichlormethan

ⁱ Bei Molecular Probes unter der Produktbezeichnung B-2103 erhältlich, wird aber in der Literatur fälschlicherweise oft mit den Patenten Haugland U.S. Patent 4,774,339, **1988** und 5,338,854, **1994** sowie 5,869,689, **1999** zitiert, in denen jedoch andere BODIPY-Derivate beschrieben sind. Auch STN verweist auf eines dieser Patente. In U.S. Patent 5,274,113, **1993** verweist Haugland allerdings auf das U.S. Patent 4,916,711, **1990** von Boyer et al. in dem diese behaupten, es dargestellt zu haben, jedoch fehlen sowohl Darstellungsweg als auch physikalische und spektroskopische Daten. Gleiches gilt für das Nachfolgepatent von Boyer et al. (U.S. Patent 5,189,029, **1993**).

gelöste 2,4-Dimethylpyrrol unter Eiskühlung hinzuge tropft. Nach dem Erwärmen auf RT wird noch weitere 2,5 Stunden gerührt. Unter Eiskühlung wird mit Triethylamin neutralisiert und mit Bortrifluoriddiethyletherat versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei RT gerührt und anschließend auf ca. 3 mL Gesamtvolumen eingeeengt. Die konzentrierte Lösung wird auf Kieselgel aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Petrolether (1:1) eluiert.

Ausbeute : 680 mg \equiv 2 mmol \equiv 40%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,78
m.p.:	221°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 498 nm
Literatur ¹⁰⁴ (CHCl ₃):	λ_{\max} = 533 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 509 nm
Literatur ¹⁰⁴ (CHCl ₃):	λ_{\max} = 561 nm

Die in der Literatur¹⁰⁴ beschriebenen Werte konnten bei höherer Konzentration ebenfalls beobachtet werden (Quenching).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2,51 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,52 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 4,65 (s, 2H, C1'-H₂), 6,07 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,6 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 15,9 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 24,5 (s, 1C, CH₂-1'), 122,3 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,0 (s, 2C, C-7a und C-8a), 137,2 (s, 1C, C-8), 140,8 (s, 2C, C-1 und C-7), 156,4 (s, 2C, C-3 und C-5).

Berechnete Masse : 341,01 g / mol

MS (EI) (m/z) : 343 und 341 (m + H⁺), 342 und 340 (m⁺), 261 (m⁺ - Br),
246 (m⁺ - Br - CH₃)

HR^{*}-MS : 339,0594

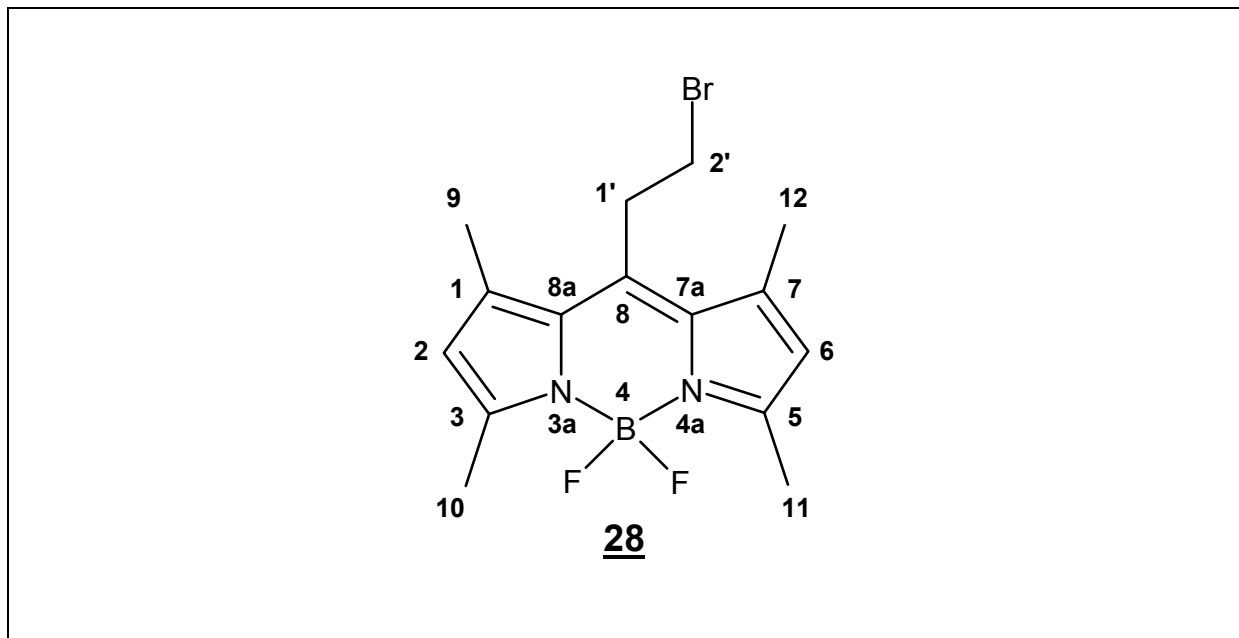
Rel. Intensität : 5,9 %

Unterschied : 0,0 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 14, ¹H : 16, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2

8.1.3. Darstellung von 8-(2-Bromethyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

0,95	g	≡	10 mmol	2,4-Dimethylpyrrol
0,85	g	≡	5 mmol	3-Brompropionylchlorid
2,8	ml	≡	20 mmol	Triethylamin
2,5	ml	≡	10 mmol	Bortrifluoriddiethyletherat

Durchführung:

Das Brompropionylchlorid wird in 50 ml Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Innerhalb einer halben Stunde wird das in 20 ml Dichlormethan gelöste 2,4-Dimethylpyrrol unter Eiskühlung hinzuge tropft. Nach dem Erwärmen auf RT wird noch weitere 105 min gerührt. Unter Eiskühlung wird mit Triethylamin neutralisiert und nach einer halben Stunde mit Bortrifluoriddiethyletherat versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei RT gerührt und anschließend auf ca. 3 mL Gesamtvolumen eingeeengt. Die konzentrierte

Lösung wird auf Kieselgel aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Petrolether (1:1) eluiert.

Ausbeute : 270 mg \equiv 0,8 mmol \equiv 15%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,76
m.p.:	159°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 505 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 516 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2,42 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,50 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 3,45 (m, 4H, C1'-H₂ und C2'-H₂), 6,07 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,5 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,1 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 29,7 (s, 1C, CH₂-2'), 31,4 (s, 1C, CH₂-1'), 122,2 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,4 (s, 2C, C-7a und C-8a), 139,9 (s, 1C, C-8), 140,5 (s, 2C, C-1 und C-7), 155,2 (s, 2C, C-3 und C-5).

Berechnete Masse : 355,04 g / mol

MS (EI) (m/z) : 357 und 355 (m+H⁺), 356 und 354 (m⁺), 341 und 339 (m⁺ - CH₃), 336 und 334 (m - H⁺ - HF), 275 (m⁺ - Br), 260 (m⁺ - Br - CH₃), 246 (m⁺ - Br - CH₂CH₃)

HR*-MS : 353,0748

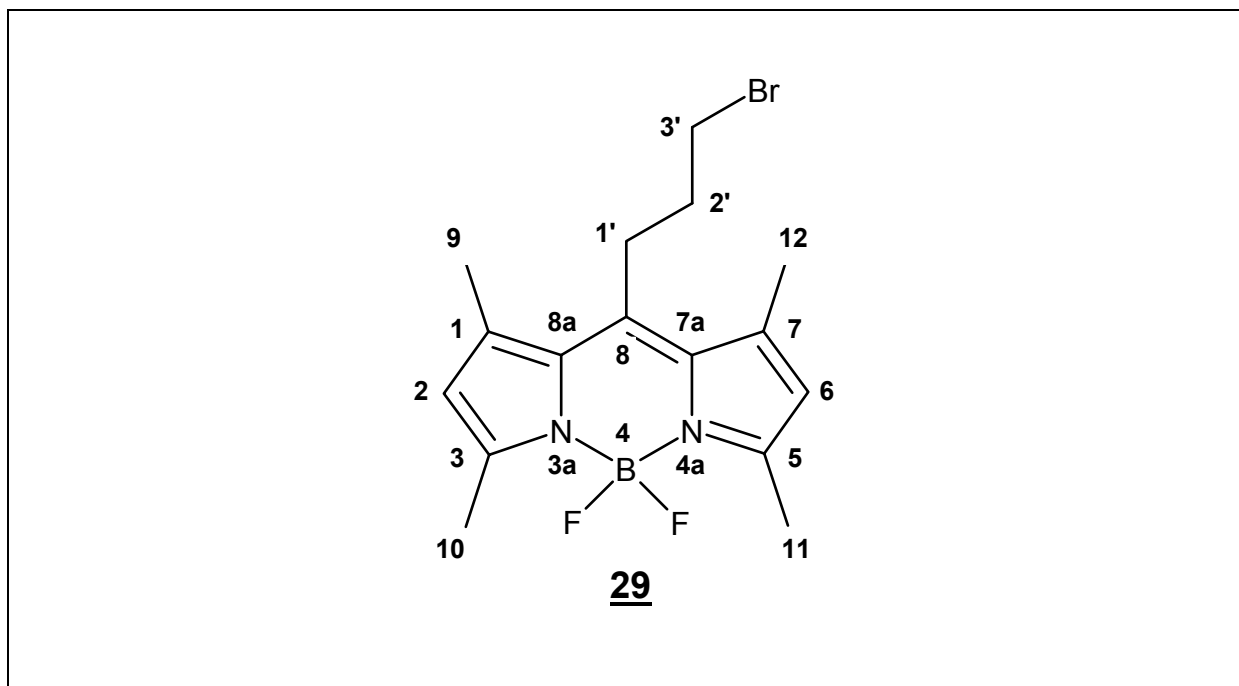
Rel. Intensität : 27,78 %

Unterschied : 0,3 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 15, ¹H : 18, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2

8.1.4. Darstellung von 8-(3-Brompropyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

0,95	g	≡	10	mmol	2,4-Dimethylpyrrol
0,93	g	≡	5	mmol	4-Brombutyrylchlorid
2,8	mL	≡	20	mmol	Triethylamin
2,5	mL	≡	10	mmol	Bortrifluoriddiethyletherat

Durchführung:

Das Brombutyrylchlorid wird in 50 mL Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Innerhalb einer halben Stunde wird das in 20 mL Dichlormethan gelöste 2,4-Dimethylpyrrol unter Eiskühlung hinzugetropft. Nach dem Erwärmen auf RT wird noch weitere 1,5 Stunden gerührt. Unter Eiskühlung wird mit Triethylamin neutralisiert und nach einer halben Stunde mit Bortrifluoriddiethyletherat versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei RT gerührt und anschließend auf ca. 3 mL Gesamtvolumen eingeeengt. Die konzentrierte

Lösung wird auf Kieselgel aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Petrolether (1:1) eluiert.

Ausbeute : 340 mg \equiv 0,9 mmol \equiv 18%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,77
m.p.:	155°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 498 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 512 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2,15 (m, 2H, C2'-H₂) 2,43 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,50 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 3,11 (m, 2H, C1'-H₂), 3,54 (t, 6,25 Hz, 2H, C3'-H₂), 6,04 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,8 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 17,1 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 27,6 (s, 1C, CH₂-2'), 33,3 (s, 1C, CH₂-1'), 34,4 (s, 1C, CH₂-3') 122,3 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,9 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,7 (s, 2C, C-1 und C-7), 144,6 (s, 1C, C-8), 154,8 (s, 2C, C-3 und C-5).

Berechnete Masse : 369,07 g / mol

MS (EI) (m/z) : 371 und 369 (m + H⁺), 370 und 368 (m⁺), 289 (m⁺ - Br), 247 (m + H⁺ - Br - CH₂CH₂CH₃),

HR*-MS : 367,0905

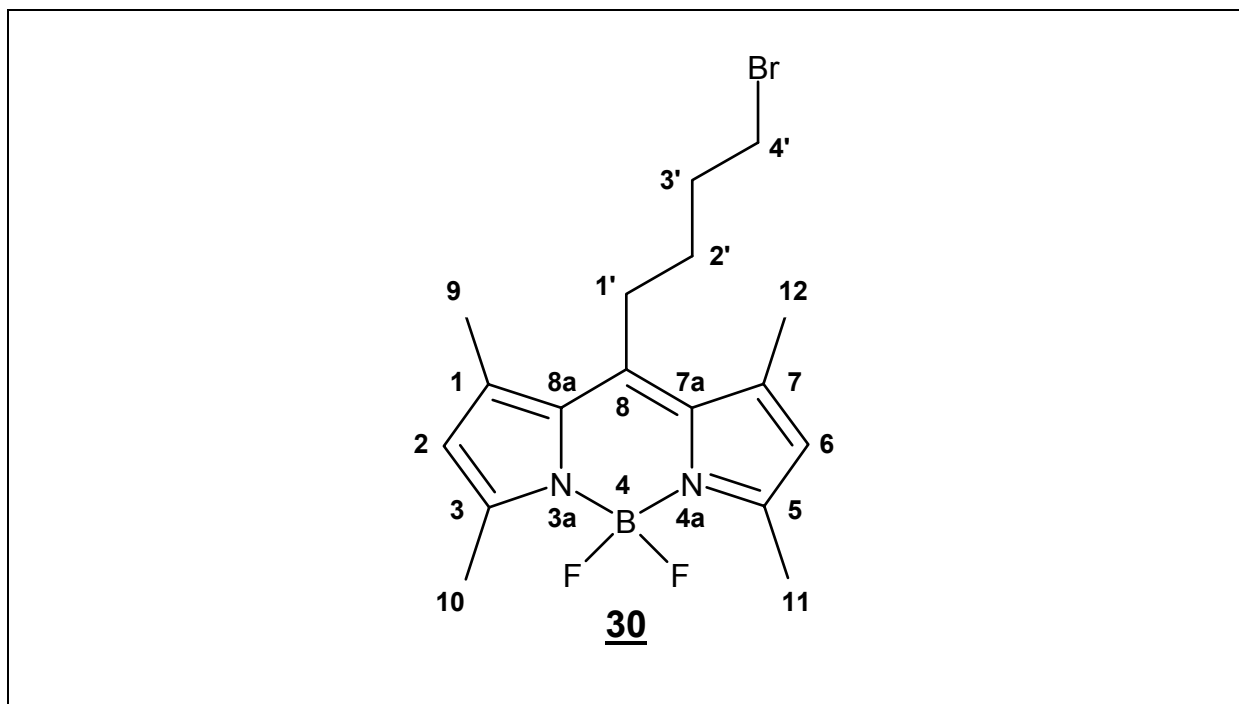
Rel. Intensität : 21,88 %

Unterschied : 0,2 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 16, ¹H : 20, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2

8.1.5. Darstellung von 8-(4-Brombutyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

0,95 g	≡	10 mmol	2,4-Dimethylpyrrol
1,0 g	≡	5 mmol	5-Brompentansäurechlorid
2,8 mL	≡	20 mmol	Triethylamin
2,5 mL	≡	10 mmol	Bortrifluoriddiethyletherat

Durchführung:

Das Brompentansäurechlorid wird in 50 mL Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Innerhalb einer halben Stunde wird das in 20 mL Dichlormethan gelöste 2,4-Dimethylpyrrol unter Eiskühlung hinzuge tropft. Nach dem Erwärmen auf RT wird noch weitere 3 Stunden gerührt. Unter Eiskühlung wird mit Triethylamin neutralisiert und nach einer halben Stunde mit Bortrifluoriddiethyletherat versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei RT gerührt und anschließend auf ca. 3 mL Gesamtvolumen eingengt. Die konzentrierte

Lösung wird auf Kieselgel aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Petrolether (2:1) eluiert.

Ausbeute : 360 mg \equiv 0,9 mmol \equiv 19%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,74
m.p.:	164°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 495 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 512 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1,78 (m, 2H, C3'-H₂), 2,04 (m, 2H, C2'-H₂), 2,40 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,49 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,95 (m, 2H, C1'-H₂), 3,43 (t, 6,25 Hz, 2H, C4'-H₂), 6,04 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,4 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,4 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 27,5 (s, 1C, CH₂-2'), 30,2 (s, 1C, CH₂-3'), 32,7 (s, 1C, CH₂-1'), 33,1 (s, 1C, CH₂-4') 121,8 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,4 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,2 (s, 2C, C-1 und C-7), 145,3 (s, 1C, C-8), 154,1 (s, 2C, C-3 und C-5).

Berechnete Masse : 383,10 g / mol

MS (EI) (m/z) : 385 und 383 (m + H⁺), 384 und 382 (m⁺), 303 (m⁺ - Br), 247 (m + H⁺ - Br - CH₂CH₂CH₂CH₃),

HR*-MS : 381,1066

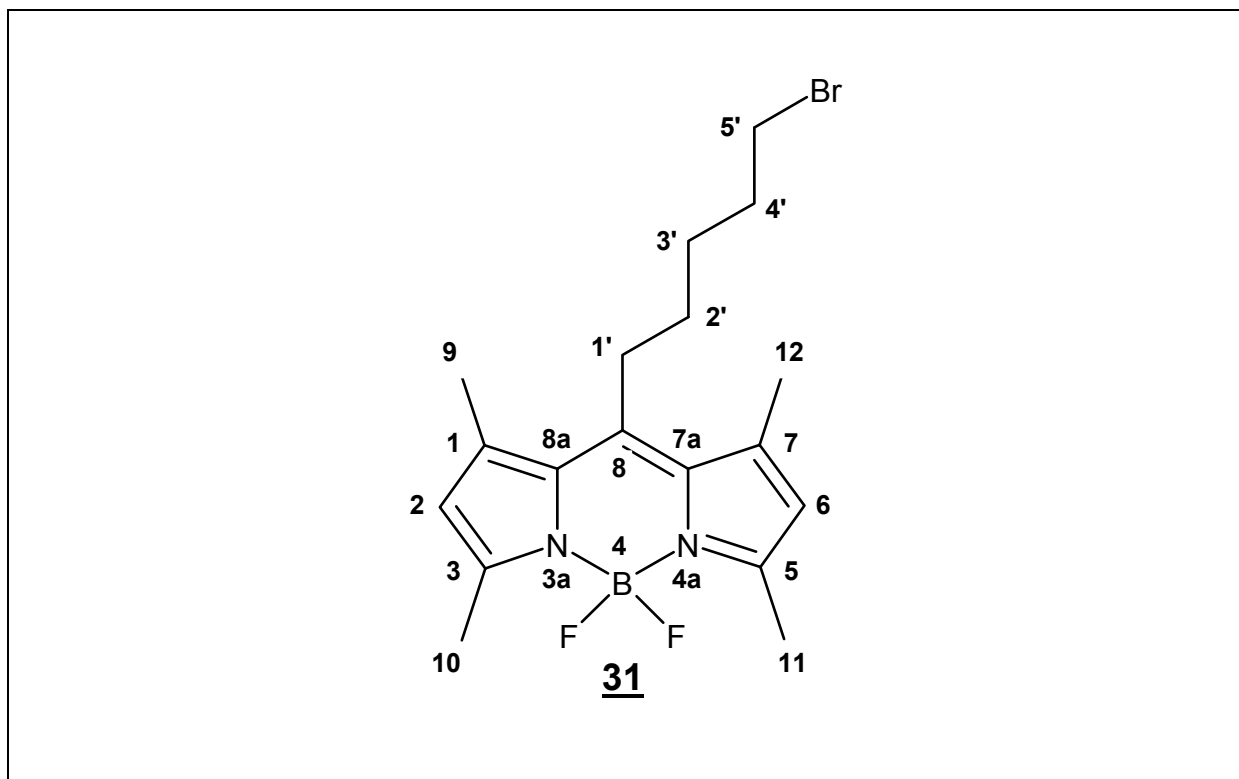
Rel. Intensität : 25,67%

Unterschied : -0,2 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 17, ¹H : 22, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2

8.1.6. Darstellung von 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen :



Ansatz :

1,9 g	≡ 20 mmol	2,4-Dimethylpyrrol
2,0 g	≡ 10 mmol	6-Bromhexansäurechlorid
5,6 mL	≡ 40 mmol	Triethylamin
5,0 mL	≡ 20 mmol	Bortrifluoriddiethyletherat

Durchführung:

Das Bromhexansäurechlorid wird in 100 mL Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Innerhalb von 30 Minuten wird das in 40 mL Dichlormethan gelöste 2,4-Dimethylpyrrol unter Eiskühlung hinzugegeben. Nach dem Erwärmen auf RT wird noch weitere 3,5 Stunden gerührt. Unter Eiskühlung wird mit Triethylamin neutralisiert und nach einer halben Stunde mit Bortrifluorid-

diethyletherat versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rohprodukt wird auf Kieselgel 60 aufgetragen und mit Dichlormethan / Methanol (40:1) eluiert. Die Kristalle werden aus n-Hexan / Dichlormethan (19:1) umkristallisiert.

Ausbeute : 2,42 g \equiv 6,1 mmol \equiv 61%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,83
m.p.:	135°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 496 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 509 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1,6 (m, 4H, C3'-H₂ und C4'-H₂), 1,91 (m, 2H, C2'-H₂), 2,40 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,49 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,94 (m, 2H, C1'-H₂), 3,41 (t, 6,6 Hz, 2H, C5'-H₂), 6,03 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,4 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,3 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 28,1 (s, 1C, CH₂-1'), 28,5 (s, 1C, CH₂-3'), 30,9 (s, 1C, CH₂-4'), 32,2 (s, 1C, CH₂-2'), 33,5 (s, 1C, CH₂-5') 121,6 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,4 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,2 (s, 2C, C-1 und C-7), 145,8 (s, 1C, C-8), 153,9 (s, 2C, C-3 und C-5).

Berechnete Masse : 397,13 g / mol

MS (EI) (m/z) : 399 und 397 (m + H⁺), 398 und 396 (m⁺), 317

(m + H⁺ - Br), 262 (m + H - CH₂CH₂CH₂ Br), 247 (m + H - CH₂CH₂CH₂CH₂Br)

HR*-MS : 395,1221

Rel. Intensität : 21,22%

Unterschied : -0,1 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 18, ¹H : 24, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2

Röntgenstrukturanalyse :

TITL Dmbodi4b
CELL 0.71069 13.6457 13.9735 10.3344 95.491 90.764 106.724
ZERR 4
LATT 1
SFAC C H N B F BR
UNIT 72 96 8 4 8 4

V = 1876.81 F(000) = 816.0 Mu = 2.21 mm⁻¹ Cell Wt = 1588.45 Rho = 1.405

OMIT 6 40
L.S. 9
FMAP 2
PLAN -5
WGHT 0.062000 4.850000
EXTI 0.000000
FVAR 0.13088
REM Mole1
BR 6 0.56820 0.14001 -0.00951 11.00000 0.15131 0.15007 =
0.12488 0.06313 0.00383 0.07864
F1 5 0.12762 0.45024 -0.61883 11.00000 0.04821 0.09903 =
0.09767 0.01319 -0.01405 0.02461
F2 5 0.26394 0.56865 -0.68468 11.00000 0.09750 0.07986 =
0.10390 0.05178 0.00070 0.02989
N3a 3 0.28341 0.40807 -0.64841 11.00000 0.06241 0.08086 =
0.04088 -0.00244 -0.00857 0.01026
N4a 3 0.26788 0.52307 -0.46727 11.00000 0.03907 0.05084 =
0.07730 0.01024 -0.00717 0.00649
B4 4 0.23413 0.49101 -0.60784 11.00000 0.04311 0.05378 =
0.07875 -0.00277 -0.01044 0.03478
C1 1 0.37953 0.29736 -0.65878 11.00000 0.06710 0.05457 =
0.12936 -0.01688 0.03405 0.02293
C2 1 0.32404 0.28401 -0.77448 11.00000 0.09420 0.07481 =
0.09672 -0.04289 -0.00152 -0.00332
AFIX 41
H21 2 0.32197 0.23693 -0.84523 11.00000 0.05000
AFIX 0
C3 1 0.27048 0.35779 -0.76262 11.00000 0.06129 0.08891 =
0.10119 0.00949 -0.00211 0.03527
C5 1 0.23954 0.59297 -0.38888 11.00000 0.07208 0.06588 =
0.10243 0.00383 -0.00992 0.01791
C6 1 0.28864 0.60302 -0.27014 11.00000 0.09102 0.12380 =
0.06763 -0.01099 0.00356 0.03107
AFIX 41
H61 2 0.27890 0.64407 -0.19816 11.00000 0.05000
AFIX 0
C7 1 0.35304 0.54573 -0.27077 11.00000 0.05476 0.09584 =
0.08659 0.02042 -0.02892 0.00872
C7a 1 0.33825 0.49198 -0.39690 11.00000 0.04770 0.05821 =
0.05330 0.00934 -0.01174 0.00871
C8 1 0.38297 0.41884 -0.45112 11.00000 0.02046 0.07888 =
0.05319 0.03122 -0.00495 0.00360
C8a 1 0.35539 0.37418 -0.57715 11.00000 0.02759 0.04989 =
0.08851 0.03876 -0.00732 0.00646

C9 1 0.44783 0.23462 -0.62931 11.00000 0.08845 0.07140 =
 0.16039 -0.00742 0.02165 0.02820
 AFIX 31
 H91 2 0.47914 0.25641 -0.54369 11.00000 0.05000
 H92 2 0.50007 0.24183 -0.69200 11.00000 0.05000
 H93 2 0.40805 0.16539 -0.63334 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C10 1 0.20118 0.36691 -0.87339 11.00000 0.08809 0.14139 =
 0.10718 -0.02285 0.00558 0.03258
 AFIX 31
 H101 2 0.17137 0.42008 -0.84908 11.00000 0.05000
 H102 2 0.14781 0.30479 -0.89214 11.00000 0.05000
 H103 2 0.24040 0.38164 -0.94922 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C11 1 0.16209 0.64144 -0.42671 11.00000 0.09916 0.09000 =
 0.16129 -0.01438 0.00441 0.04763
 AFIX 31
 H111 2 0.14091 0.62054 -0.51647 11.00000 0.05000
 H112 2 0.19109 0.71311 -0.41475 11.00000 0.05000
 H113 2 0.10393 0.62219 -0.37352 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C12 1 0.41827 0.54368 -0.15424 11.00000 0.12319 0.14224 =
 0.10345 -0.02647 -0.00831 0.04270
 AFIX 31
 H121 2 0.45829 0.49836 -0.17502 11.00000 0.05000
 H122 2 0.37532 0.52146 -0.08368 11.00000 0.05000
 H123 2 0.46308 0.60991 -0.12920 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C1' 1 0.46051 0.38747 -0.37566 11.00000 0.05574 0.05617 =
 0.09347 0.03400 -0.00724 0.00970
 AFIX 21
 H1'1 2 0.50323 0.44492 -0.32076 11.00000 0.05000
 H1'2 2 0.50418 0.36266 -0.43515 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C2' 1 0.40665 0.30438 -0.29055 11.00000 0.07502 0.11954 =
 0.12246 0.06569 -0.00694 0.04681
 AFIX 21
 H2'1 2 0.37615 0.24232 -0.34565 11.00000 0.05000
 H2'2 2 0.35220 0.32346 -0.24533 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C3' 1 0.48399 0.28705 -0.18916 11.00000 0.10796 0.09200 =
 0.11371 0.04737 -0.00971 0.02338
 AFIX 21
 H3'1 2 0.52623 0.35165 -0.14915 11.00000 0.05000
 H3'2 2 0.44618 0.25096 -0.12124 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C4' 1 0.54899 0.23137 -0.24630 11.00000 0.10098 0.07819 =
 0.12815 0.03497 0.01932 0.04911
 AFIX 21
 H4'1 2 0.58494 0.26617 -0.31636 11.00000 0.05000
 H4'2 2 0.50694 0.16577 -0.28344 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C5' 1 0.62736 0.21789 -0.14755 11.00000 0.08921 0.08526 =
 0.12960 0.02048 -0.00652 0.05436
 AFIX 21
 H5'1 2 0.66836 0.28371 -0.10972 11.00000 0.05000
 H5'2 2 0.67292 0.18559 -0.19314 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 REM Mole2
 BR* 6 1.09903 -0.35482 -1.01620 11.00000 0.10901 0.16336 =
 0.10069 -0.02414 0.01297 0.03216
 F1* 5 0.80216 0.13747 -0.37481 11.00000 0.07838 0.05493 =
 0.08751 0.00665 -0.00321 0.02620
 F2* 5 0.66348 0.00916 -0.34364 11.00000 0.06410 0.08856 =
 0.08244 0.01328 0.02195 0.03631
 N3a* 3 0.75326 -0.00185 -0.54125 11.00000 0.04272 0.07617 =
 0.04974 0.02111 -0.00919 0.02050
 N4a* 3 0.82762 -0.01897 -0.33103 11.00000 0.04979 0.07044 =
 0.04195 0.01464 0.00642 0.01768
 B4* 4 0.75975 0.03387 -0.39618 11.00000 0.03019 0.07770 =
 0.07380 0.03357 0.01715 0.01670
 C1* 1 0.77867 -0.06954 -0.73997 11.00000 0.05661 0.07809 =
 0.03695 0.00916 0.00409 0.02152
 C2* 1 0.71014 -0.01744 -0.75210 11.00000 0.05692 0.05646 =
 0.09771 0.01927 -0.02442 0.02942
 AFIX 41
 H2*1 2 0.67847 -0.01069 -0.82954 11.00000 0.05000

AFIX 0
 C3* 1 0.69499 0.02448 -0.62873 11.00000 0.03891 0.05796 =
 0.08792 -0.00887 0.00834 0.00986
 C5* 1 0.84985 -0.01086 -0.20600 11.00000 0.06353 0.04599 =
 0.08903 0.00314 0.01108 0.03960
 C6* 1 0.91815 -0.06351 -0.18206 11.00000 0.07582 0.06058 =
 0.03815 -0.00732 0.01545 0.00343
 AFIX 41
 H6*1 2 0.94535 -0.06770 -0.10052 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C7* 1 0.93968 -0.10863 -0.29687 11.00000 0.04073 0.04289 =
 0.07212 0.01680 0.00418 0.01928
 C7a* 1 0.88396 -0.07854 -0.39527 11.00000 0.04973 0.04193 =
 0.05780 0.02529 0.01635 0.00789
 C8* 1 0.87486 -0.09591 -0.53164 11.00000 0.03740 0.04829 =
 0.06112 0.02781 0.00851 0.01326
 C8a* 1 0.80950 -0.06157 -0.60637 11.00000 0.04460 0.04433 =
 0.06476 0.00885 0.02228 0.01741
 C9* 1 0.81295 -0.12792 -0.84959 11.00000 0.06076 0.08753 =
 0.06083 0.01962 -0.00898 0.01254
 AFIX 31
 H9*1 2 0.86176 -0.15829 -0.81694 11.00000 0.05000
 H9*2 2 0.84420 -0.08369 -0.91267 11.00000 0.05000
 H9*3 2 0.75497 -0.17935 -0.88972 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C10* 1 0.62577 0.08848 -0.60318 11.00000 0.07815 0.11367 =
 0.09001 0.03899 0.00302 0.06444
 AFIX 31
 H101 2 0.62753 0.10879 -0.51157 11.00000 0.05000
 H102 2 0.55711 0.05107 -0.63220 11.00000 0.05000
 H103 2 0.64796 0.14692 -0.64929 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C11* 1 0.80838 0.04792 -0.10711 11.00000 0.10590 0.09397 =
 0.06269 0.02517 0.00467 0.03854
 AFIX 31
 H111 2 0.76242 0.07743 -0.14849 11.00000 0.05000
 H112 2 0.86356 0.10008 -0.06246 11.00000 0.05000
 H112 2 0.77208 0.00465 -0.04581 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C12* 1 1.00955 -0.17285 -0.31446 11.00000 0.07082 0.07053 =
 0.05282 0.01476 -0.00618 0.02355
 AFIX 31
 H121 2 1.01068 -0.19487 -0.40517 11.00000 0.05000
 H122 2 0.98565 -0.23022 -0.26677 11.00000 0.05000
 H123 2 1.07739 -0.13488 -0.28281 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C1* 1 0.93669 -0.15704 -0.60087 11.00000 0.03837 0.04725 =
 0.05121 0.00307 -0.00212 0.01760
 AFIX 21
 H1*1 2 1.00186 -0.14388 -0.55355 11.00000 0.05000
 H1*2 2 0.95065 -0.13547 -0.68693 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C2* 1 0.88339 -0.26994 -0.61428 11.00000 0.04690 0.05808 =
 0.07124 0.00651 -0.00169 0.02124
 AFIX 21
 H2*1 2 0.82381 -0.28441 -0.67317 11.00000 0.05000
 H2*2 2 0.85972 -0.28971 -0.53004 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C3* 1 0.95291 -0.33260 -0.66519 11.00000 0.07673 0.06515 =
 0.09011 0.02819 0.00119 0.01192
 AFIX 21
 H3*1 2 1.01387 -0.31544 -0.60825 11.00000 0.05000
 H3*2 2 0.91740 -0.40302 -0.66049 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C4* 1 0.98406 -0.31919 -0.79781 11.00000 0.07195 0.08829 =
 0.08398 0.00645 0.00359 0.00976
 AFIX 21
 H4*1 2 1.01331 -0.24796 -0.80474 11.00000 0.05000
 H4*2 2 0.92364 -0.34288 -0.85587 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C5* 1 1.06219 -0.37397 -0.84377 11.00000 0.07029 0.08971 =
 0.12984 -0.02338 -0.00802 0.02837
 AFIX 21
 H5*1 2 1.03341 -0.44529 -0.83703 11.00000 0.05000
 H5*2 2 1.12320 -0.34993 -0.78679 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 HKLF 4

Covalent radii and connectivity table for Dmbodi4b

C 0.770
 H 0.320
 N 0.700
 B 0.820
 F 0.640
 BR 1.140

Br - C5'
 F1 - B4
 F2 - B4
 N3A - C3 C8A B4
 N4A - C5 C7A B4
 B4 - F2 F1 N4A N3A
 C1 - C2 C8A C9
 C2 - C1 C3
 C3 - N3A C2 C10
 C5 - N4A C6 C11
 C6 - C7 C5
 C7 - C6 C7A C12
 C7A - N4A C8 C7
 C8 - C8A C7A C1'
 C8A - C8 C1 N3A
 C9 - C1
 C10 - C3
 C11 - C5
 C12 - C7
 C1' - C8 C2'
 C2' - C1' C3'
 C3' - C4' C2'
 C4' - C3' C5'
 C5' - C4' Br
 Br* - C5*
 F1* - B4*
 F2* - B4*
 N3A* - C3* C8A* B4*
 N4A* - C5* C7A* B4*
 B4* - F1* F2* N4A* N3A*
 C1* - C2* C8A* C9*
 C2* - C1* C3*
 C3* - N3A* C2* C10*
 C5* - N4A* C6* C11*
 C6* - C7* C5*
 C7* - C6* C7A* C12*
 C7A* - C8* N4A* C7*
 C8* - C8A* C7A* C1*
 C8A* - C8* N3A* C1*
 C9* - C1*
 C10* - C3*
 C11* - C5*
 C12* - C7*
 C1* - C8* C2*
 C2* - C1* C3*
 C3* - C4* C2*
 C4* - C3* C5*
 C5* - C4* Br*

13310 Reflections read, of which 6316 rejected

-16 ≤ h ≤ 16, -16 ≤ k ≤ 16, -12 ≤ l ≤ 12, Max. 2-theta = 39.99

0 Systematic absence violations

Inconsistent equivalents etc.

h k l Fo² Sigma(Fo²) N Esd of mean(Fo²)

2	2	0	1560.70	3.05	2	21.93
-3	-1	1	854.04	2.41	2	17.74
0	0	5	138.74	0.55	2	4.27

3 Inconsistent equivalents

3497 Unique reflections, of which 1949 suppressed

R(int) = 0.0858 R(sigma) = 0.1204 Friedel opposites merged

Maximum memory for data reduction = 3494 / 35010

Default effective X-H distances for T = 20.0 C

AFIX m = 1 2 3 4 4[N] 3[N] 15[B] 8[O] 9 9[N] 16
d(X-H) = 0.98 0.97 0.96 0.93 0.86 0.89 1.10 0.82 0.93 0.86 0.93

0.4 seconds elapsed time

Least-squares cycle 1 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1260 before cycle 1 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = 1 / [$\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P$] where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	-0.005	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.286	EXTI

Mean shift/esd = 0.004 Maximum = -1.286 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C5' Max. dU = 0.000 for C2

2.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 2 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1259 before cycle 2 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = 1 / [$\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P$] where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C3* Max. dU = 0.000 for C3

2.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 3 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1259 before cycle 3 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = 1 / [$\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P$] where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C6 Max. dU = 0.000 for C2*

2.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 4 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1259 before cycle 4 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = 1 / [$\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P$] where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C3 Max. dU = 0.000 for C12

2.2 seconds elapsed time

Least-squares cycle 5 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1259 before cycle 5 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C5 Max. dU = 0.000 for C5*

2.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 6 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1260 before cycle 6 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C4* Max. dU = 0.000 for C2'

2.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 7 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1260 before cycle 7 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C11* Max. dU = 0.000 for C5*

2.2 seconds elapsed time

Least-squares cycle 8 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1260 before cycle 8 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
---	-------	-----	-----------	-----------

1 0.13088 0.00060 0.000 OSF
2 0.00000 0.00063 -1.287 EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C4* Max. dU = 0.000 for C1

2.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 9 Maximum vector length = 511 Memory required = 4696 / 563339

wR2 = 0.1260 before cycle 9 for 1548 data and 434 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = 1 / [$\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P$] where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.13088	0.00060	0.000	OSF
2	0.00000	0.00063	-1.287	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -1.287 for EXTI

Max. shift = 0.000 A for C12 Max. dU = 0.000 for C12

Largest correlation matrix elements

0.604 z C5* / z N4A*	0.526 z C8 / y C8	0.508 U33 C8* / z C7A*
0.600 z C3 / z N3A	0.524 U33 C5* / z N4A*	0.507 x C2 / z C1
0.560 U12 Br / U11 Br	0.522 y B4* / y F1*	0.505 z C7A / z C7
0.552 z C8A / y C8A	0.516 U12 C5* / U22 C5*	0.504 U12 B4 / U11 B4
0.551 U12 Br / U22 Br	0.515 U12 C5' / U22 C5'	0.501 U11 B4 / x F1
0.541 U12 C10* / U22 C10*	0.513 z C2 / z C1	0.500 x C6 / z C5
0.528 z C6 / z C5	0.513 EXTI / OSF	
0.528 z C8A / z C8	0.510 z C6 / U13 C5	

2.3 seconds elapsed time

Idealized hydrogen atom generation before cycle 10

Name x y z AFIX d(X-H) shift Bonded to Conformation determined by

H21	0.3220	0.2369	-0.8452	41	0.930	0.000	C2	C1 C3
H61	0.2789	0.6441	-0.1982	41	0.930	0.000	C6	C7 C5
H91	0.4791	0.2564	-0.5437	31	0.960	0.000	C9	C1 H91
H92	0.5001	0.2418	-0.6920	31	0.960	0.000	C9	C1 H91
H93	0.4080	0.1654	-0.6333	31	0.960	0.000	C9	C1 H91
H101	0.1714	0.4201	-0.8491	31	0.960	0.000	C10	C3 H101
H102	0.1478	0.3048	-0.8921	31	0.960	0.000	C10	C3 H101
H103	0.2404	0.3816	-0.9492	31	0.960	0.000	C10	C3 H101
H111	0.1409	0.6205	-0.5165	31	0.960	0.000	C11	C5 H111
H112	0.1911	0.7131	-0.4148	31	0.960	0.000	C11	C5 H111
H113	0.1039	0.6222	-0.3735	31	0.960	0.000	C11	C5 H111
H121	0.4583	0.4983	-0.1750	31	0.960	0.000	C12	C7 H121
H122	0.3753	0.5215	-0.0837	31	0.960	0.000	C12	C7 H121
H123	0.4631	0.6099	-0.1292	31	0.960	0.000	C12	C7 H121
H1'1	0.5032	0.4449	-0.3208	21	0.970	0.000	C1'	C8 C2'
H1'2	0.5042	0.3627	-0.4351	21	0.970	0.000	C1'	C8 C2'
H2'1	0.3761	0.2423	-0.3456	21	0.970	0.000	C2'	C1' C3'
H2'2	0.3522	0.3235	-0.2453	21	0.970	0.000	C2'	C1' C3'
H3'1	0.5262	0.3517	-0.1491	21	0.970	0.000	C3'	C4' C2'
H3'2	0.4462	0.2510	-0.1212	21	0.970	0.000	C3'	C4' C2'
H4'1	0.5849	0.2662	-0.3164	21	0.970	0.000	C4'	C3' C5'
H4'2	0.5069	0.1658	-0.2834	21	0.970	0.000	C4'	C3' C5'
H5'1	0.6684	0.2837	-0.1097	21	0.970	0.000	C5'	C4' Br
H5'2	0.6729	0.1856	-0.1931	21	0.970	0.000	C5'	C4' Br
H2*1	0.6785	-0.0107	-0.8295	41	0.930	0.000	C2*	C1* C3*
H6*1	0.9454	-0.0677	-0.1005	41	0.930	0.000	C6*	C7* C5*
H9*1	0.8617	-0.1583	-0.8169	31	0.960	0.000	C9*	C1* H9*1
H9*2	0.8442	-0.0837	-0.9127	31	0.960	0.000	C9*	C1* H9*1
H9*3	0.7550	-0.1793	-0.8897	31	0.960	0.000	C9*	C1* H9*1
H101	0.6275	0.1088	-0.5116	31	0.960	0.000	C10*	C3* H101
H102	0.5571	0.0511	-0.6323	31	0.960	0.000	C10*	C3* H101

H103	0.6480	0.1469	-0.6492	31	0.960	0.000	C10*	C3*	H101
H111	0.7624	0.0774	-0.1485	31	0.960	0.000	C11*	C5*	H111
H112	0.8636	0.1001	-0.0625	31	0.960	0.000	C11*	C5*	H111
H112	0.7721	0.0047	-0.0458	31	0.960	0.000	C11*	C5*	H111
H121	1.0107	-0.1949	-0.4052	31	0.960	0.000	C12*	C7*	H121
H122	0.9856	-0.2302	-0.2668	31	0.960	0.000	C12*	C7*	H121
H123	1.0774	-0.1349	-0.2828	31	0.960	0.000	C12*	C7*	H121
H1'1	1.0019	-0.1439	-0.5536	21	0.970	0.000	C1**	C8*	C2**
H1'2	0.9506	-0.1355	-0.6869	21	0.970	0.000	C1**	C8*	C2**
H2'1	0.8238	-0.2844	-0.6732	21	0.970	0.000	C2**	C1**	C3**
H2'2	0.8597	-0.2897	-0.5300	21	0.970	0.000	C2**	C1**	C3**
H3'1	1.0139	-0.3154	-0.6083	21	0.970	0.000	C3**	C4**	C2**
H3'2	0.9174	-0.4030	-0.6605	21	0.970	0.000	C3**	C4**	C2**
H4'1	1.0133	-0.2480	-0.8047	21	0.970	0.000	C4**	C3**	C5**
H4'2	0.9236	-0.3429	-0.8559	21	0.970	0.000	C4**	C3**	C5**
H5'1	1.0334	-0.4453	-0.8370	21	0.970	0.000	C5**	C4**	Br*
H5'2	1.1232	-0.3499	-0.7868	21	0.970	0.000	C5**	C4**	Br*

Dmbodi4b

ATOM	x	y	z	sof	U11	U22	U33	U23	U13	U12	Ueq
Br	0.56820	0.14001	-0.00951	1.00000	0.15131	0.15007	0.12488	0.06313	0.00383	0.07864	0.13147
	0.00017	0.00018	0.00021	0.00000	0.00221	0.00226	0.00188	0.00165	0.00153	0.00177	0.00109
F1	0.12762	0.45024	-0.61883	1.00000	0.04820	0.09903	0.09767	0.01319	-0.01405	0.02461	0.08091
	0.00064	0.00062	0.00074	0.00000	0.00624	0.00721	0.00651	0.00542	0.00481	0.00519	0.00263
F2	0.26394	0.56865	-0.68468	1.00000	0.09749	0.07986	0.10390	0.05178	0.00070	0.02989	0.09007
	0.00062	0.00068	0.00085	0.00000	0.00733	0.00730	0.00717	0.00639	0.00557	0.00563	0.00301
N3A	0.28341	0.40807	-0.64841	1.00000	0.06242	0.08087	0.04088	-0.00244	-0.00856	0.01026	0.06430
	0.00094	0.00109	0.00142	0.00000	0.01006	0.01212	0.00945	0.00854	0.00773	0.00926	0.00422
N4A	0.26788	0.52307	-0.46727	1.00000	0.03907	0.05084	0.07731	0.01024	-0.00717	0.00649	0.05697
	0.00091	0.00109	0.00141	0.00000	0.00856	0.01065	0.01184	0.00910	0.00908	0.00771	0.00348
B4	0.23413	0.49101	-0.60784	1.00000	0.04313	0.05378	0.07876	-0.00276	-0.01043	0.03479	0.05497
	0.00150	0.00158	0.00214	0.00000	0.01493	0.01531	0.01782	0.01408	0.01219	0.01235	0.00528
C1	0.37953	0.29736	-0.65878	1.00000	0.06710	0.05456	0.12936	-0.01689	0.03405	0.02293	0.08407
	0.00142	0.00150	0.00243	0.00000	0.01455	0.01485	0.01942	0.01370	0.01447	0.01184	0.00605
C2	0.32404	0.28401	-0.77448	1.00000	0.09420	0.07482	0.09672	-0.04290	-0.00152	-0.00332	0.09799
	0.00174	0.00147	0.00207	0.00000	0.01636	0.01673	0.01699	0.01315	0.01321	0.01349	0.00697
H21	0.32197	0.23693	-0.84523	1.00000	0.05000	0.05000	0.05000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
C3	0.27048	0.35779	-0.76262	1.00000	0.06129	0.08892	0.10120	0.00949	-0.00211	0.03527	0.08104
	0.00129	0.00171	0.00233	0.00000	0.01302	0.01673	0.01809	0.01459	0.01275	0.01216	0.00551
C5	0.23954	0.59297	-0.38889	1.00000	0.07208	0.06589	0.10244	0.00384	-0.00992	0.01791	0.08104
	0.00137	0.00157	0.00242	0.00000	0.01411	0.01532	0.01725	0.01340	0.01382	0.01178	0.00530
C6	0.28864	0.60302	-0.27014	1.00000	0.09102	0.12379	0.06765	-0.01098	0.00357	0.03108	0.09558
	0.00172	0.00155	0.00201	0.00000	0.01623	0.01872	0.01532	0.01247	0.01241	0.01429	0.00601
H61	0.27890	0.64407	-0.19816	1.00000	0.05000	0.05000	0.05000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
C7	0.35304	0.54573	-0.27077	1.00000	0.05477	0.09584	0.08659	0.02042	-0.02893	0.00873	0.08139
	0.00134	0.00162	0.00210	0.00000	0.01364	0.01627	0.01823	0.01354	0.01189	0.01161	0.00577
C7A	0.33825	0.49198	-0.39690	1.00000	0.04770	0.05821	0.05330	0.00935	-0.01174	0.00871	0.05436
	0.00121	0.00131	0.00177	0.00000	0.01201	0.01301	0.01408	0.01110	0.01042	0.01084	0.00431
C8	0.38297	0.41884	-0.45112	1.00000	0.02046	0.07888	0.05318	0.03122	-0.00495	0.00360	0.05154
	0.00100	0.00143	0.00175	0.00000	0.00933	0.01443	0.01268	0.01123	0.00939	0.00938	0.00443
C8A	0.35539	0.37418	-0.57715	1.00000	0.02758	0.04989	0.08851	0.03875	-0.00733	0.00646	0.05430
	0.00105	0.00133	0.00207	0.00000	0.00995	0.01295	0.01466	0.01237	0.01116	0.00918	0.00458
C9	0.44783	0.23462	-0.62931	1.00000	0.08846	0.07140	0.16039	-0.00742	0.02165	0.02820	0.10686
	0.00133	0.00130	0.00184	0.00000	0.01386	0.01457	0.01853	0.01280	0.01281	0.01213	0.00636
H91	0.47914	0.25641	-0.54369	1.00000	0.05000	0.05000	0.05000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000

	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H92	0.50007	0.24184	-0.69200	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H93	0.40805	0.16539	-0.63335	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C10	0.20118	0.36691	-0.87339	1.00000	0.08809	0.14140	0.10718	-0.02285	0.00558	0.03259	0.11477
	0.00134	0.00147	0.00179	0.00000	0.01451	0.01834	0.01543	0.01329	0.01245	0.01326	0.00648
H101	0.17138	0.42009	-0.84909	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H102	0.14781	0.30480	-0.89214	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H103	0.24040	0.38164	-0.94922	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C11	0.16209	0.64144	-0.42671	1.00000	0.09915	0.08999	0.16129	-0.01438	0.00440	0.04762	0.11443
	0.00138	0.00136	0.00190	0.00000	0.01469	0.01527	0.01818	0.01311	0.01348	0.01289	0.00655
H111	0.14090	0.62053	-0.51646	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H112	0.19109	0.71311	-0.41477	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H113	0.10393	0.62220	-0.37351	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C12	0.41827	0.54368	-0.15424	1.00000	0.12318	0.14224	0.10345	-0.02647	-0.00830	0.04270	0.12485
	0.00148	0.00149	0.00185	0.00000	0.01657	0.02004	0.01562	0.01356	0.01371	0.01441	0.00705
H121	0.45828	0.49835	-0.17502	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H122	0.37532	0.52147	-0.08368	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H123	0.46309	0.60991	-0.12921	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C1'	0.46051	0.38747	-0.37566	1.00000	0.05574	0.05618	0.09347	0.03400	-0.00723	0.00970	0.06817
	0.00106	0.00110	0.00146	0.00000	0.01092	0.01189	0.01275	0.01046	0.00986	0.00905	0.00481
H1'1	0.50323	0.44492	-0.32076	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H1'2	0.50418	0.36267	-0.43515	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C2'	0.40665	0.30438	-0.29055	1.00000	0.07502	0.11954	0.12246	0.06569	-0.00694	0.04681	0.09830
	0.00121	0.00133	0.00165	0.00000	0.01251	0.01667	0.01547	0.01388	0.01153	0.01179	0.00616
H2'1	0.37615	0.24232	-0.34565	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H2'2	0.35220	0.32346	-0.24533	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C3'	0.48399	0.28705	-0.18916	1.00000	0.10797	0.09198	0.11371	0.04737	-0.00971	0.02338	0.10341
	0.00147	0.00137	0.00177	0.00000	0.01601	0.01590	0.01544	0.01295	0.01314	0.01320	0.00623
H3'1	0.52623	0.35165	-0.14915	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H3'2	0.44618	0.25096	-0.12124	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C4'	0.54900	0.23137	-0.24630	1.00000	0.10098	0.07820	0.12813	0.03498	0.01932	0.04911	0.09581
	0.00144	0.00129	0.00178	0.00000	0.01560	0.01490	0.01674	0.01233	0.01299	0.01245	0.00614
H4'1	0.58494	0.26617	-0.31636	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						

0.00000 0.00000 0.00000 0.00000 0.00000

Final Structure Factor Calculation for Dmbodi4b

Total number of l.s. parameters = 434 Maximum vector length = 511 Memory required = 4262 / 24528

wR2 = 0.1260 before cycle 10 for 1548 data and 0 / 434 parameters

GooF = S = 1.222; Restrained GooF = 1.222 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(F_o^2) + (0.0620 * P)^2 + 4.85 * P]$ where $P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2 * F_c^2) / 3$

R1 = 0.0564 for 1548 $F_o > 4.\sigma(F_o)$ and 0.1713 for all 3497 data

wR2 = 0.1765, GooF = S = 1.046, Restrained GooF = 1.046 for all data

0.3 seconds elapsed time

Principal mean square atomic displacements U

0.1900	0.1441	0.0603	Br
0.1063	0.0967	0.0397	F1
0.1340	0.0976	0.0386	F2
0.0905	0.0663	0.0361	N3A
0.0815	0.0528	0.0366	N4A
0.0895	0.0575	0.0178	B4
0.1547	0.0648	0.0327	C1
0.1588	0.0999	0.0353	C2
0.1025	0.0912	0.0494	C3
0.1084	0.0701	0.0646	C5
0.1343	0.0905	0.0619	C6
0.1258	0.0830	0.0354	C7
0.0725	0.0539	0.0367	C7A
0.0995	0.0359	0.0192	C8
0.1091	0.0303	0.0235	C8A
0.1717	0.0867	0.0622	C9
0.1704	0.0921	0.0817	C10
0.1739	0.1079	0.0615	C11
0.1713	0.1204	0.0828	C12
0.1120	0.0535	0.0390	C1'
0.1705	0.0922	0.0321	C2'
0.1511	0.1024	0.0567	C3'
0.1411	0.0961	0.0502	C4'
0.1331	0.1096	0.0414	C5'
0.1927	0.1109	0.0815	Br*
0.0916	0.0755	0.0497	F1*
0.0982	0.0815	0.0450	F2*
0.0829	0.0551	0.0260	N3A*
0.0724	0.0499	0.0378	N4A*
0.0991	0.0514	0.0249	B4*
0.0782	0.0553	0.0362	C1*
0.1142	0.0655	0.0217	C2*
0.0999	0.0527	0.0380	C3*
0.0911	0.0738	0.0192	C5*
0.1015	0.0545	0.0310	C6*
0.0747	0.0446	0.0297	C7*
0.0708	0.0547	0.0229	C7A*
0.0757	0.0369	0.0290	C8*
0.0763	0.0435	0.0299	C8A*
0.1006	0.0649	0.0472	C9*
0.1364	0.0866	0.0300	C10*
0.1097	0.0917	0.0516	C11*
0.0753	0.0728	0.0427	C12*
0.0539	0.0469	0.0333	C1**
0.0722	0.0593	0.0411	C2**
0.1045	0.0775	0.0514	C3**
0.1021	0.0838	0.0673	C4**
0.1542	0.0731	0.0667	C5**

Analysis of variance for reflections employed in refinement $K = \text{Mean}[F_o^2] / \text{Mean}[F_c^2]$ for group

Fc/Fc(max)	0.000	0.043	0.051	0.058	0.066	0.073	0.086	0.103	0.130	0.180	1.000
Number in group	163.	147.	170.	157.	137.	164.	149.	153.	152.	156.	
GooF	1.659	1.030	1.015	0.970	0.958	0.990	1.099	1.126	1.004	1.019	
K	1.684	1.184	1.064	1.000	0.991	0.989	0.989	0.973	1.007	1.015	
Resolution(A)	1.04	1.17	1.25	1.36	1.45	1.58	1.71	1.92	2.22	2.76	inf
Number in group	156.	159.	158.	150.	155.	158.	149.	159.	151.	153.	
GooF	1.176	1.084	1.094	1.036	1.033	1.138	1.269	1.201	1.055	0.968	
K	1.076	1.077	1.034	1.013	1.002	0.997	0.993	1.005	1.010	1.023	
R1	0.116	0.098	0.090	0.066	0.062	0.060	0.053	0.045	0.034	0.028	

Recommended weighting scheme: WGHT 0.0615 4.8811

Most Disagreeable Reflections (* if suppressed)

h	k	l	Fo ²	Fc ²	Delta(F ²)/esd	Fc/Fc(max)	Resolution(A)	
*	-3	-6	4	106.18	370.29	4.23	0.065	1.54
*	7	0	7	130.11	422.44	3.79	0.069	1.13
	-1	-6	1	227.87	85.31	3.62	0.031	2.09
	-7	-2	2	481.95	254.48	3.60	0.054	1.62
	2	4	2	802.38	1171.75	3.53	0.115	2.28
	5	2	3	519.89	283.44	3.48	0.056	1.81
*	-3	3	0	119.34	326.26	3.40	0.061	3.69
	2	4	0	1019.59	727.95	3.23	0.091	2.67
*	-6	1	7	-143.45	159.84	3.15	0.042	1.25
	1	-6	2	129.80	21.28	3.13	0.015	2.18
	3	-2	5	478.07	299.12	3.09	0.058	1.87
	6	0	1	892.11	1223.57	3.02	0.117	2.11
	4	4	8	314.35	18.50	2.94	0.014	1.05
	-5	-1	4	308.38	168.73	2.92	0.044	1.82
	4	4	0	500.15	757.46	2.92	0.092	2.05
	-7	-2	1	466.57	207.81	2.90	0.048	1.67
	-12	4	4	283.15	16.48	2.90	0.014	1.04
	5	2	0	258.55	127.48	2.89	0.038	2.22
*	7	8	0	-281.68	3.13	2.79	0.006	1.09
	6	5	1	176.96	8.72	2.76	0.010	1.45
	5	-3	7	266.85	29.16	2.76	0.018	1.29
*	4	10	1	250.42	3.32	2.75	0.006	1.10
	4	-2	5	722.50	993.30	2.74	0.106	1.76
	-6	5	0	1178.41	1537.91	2.73	0.132	1.99
	4	-4	3	5445.80	4471.25	2.71	0.224	2.21
	1	0	9	274.10	26.79	2.70	0.017	1.13
	4	3	0	664.67	475.87	2.68	0.073	2.33
	1	2	5	2175.39	1735.96	2.67	0.140	1.86
*	-2	-8	4	207.09	1.48	2.66	0.004	1.37
*	-4	-10	3	-247.56	25.26	2.63	0.017	1.10
	-6	0	3	377.07	556.78	2.63	0.079	1.87
*	-2	12	0	227.11	5.39	2.62	0.008	1.15
	-4	-5	4	238.12	83.78	2.58	0.031	1.56
	-1	-2	6	167.68	33.35	2.58	0.019	1.68
	6	-3	4	178.63	67.25	2.55	0.028	1.69
*	1	8	0	73.41	269.47	2.54	0.055	1.59
	8	1	2	187.16	48.05	2.53	0.023	1.48
*	6	-9	7	249.33	4.98	2.52	0.007	1.06
*	-11	6	4	186.68	16.27	2.52	0.014	1.08
*	3	-3	8	-222.22	10.96	2.51	0.011	1.23
	7	3	4	257.51	66.63	2.50	0.027	1.30
	-3	10	3	319.90	143.02	2.49	0.040	1.25
	-8	5	7	312.34	161.80	2.49	0.043	1.08
*	2	-10	7	236.76	1.58	2.49	0.004	1.06
	0	8	0	1072.28	1381.03	2.48	0.125	1.66
	-2	-4	3	558.86	391.97	2.48	0.066	2.22
*	5	0	8	-12.83	237.33	2.48	0.052	1.13
	4	-3	3	3890.87	3233.89	2.45	0.191	2.33
*	9	-12	1	-203.45	55.30	2.44	0.025	1.04
	8	-6	5	255.61	43.27	2.44	0.022	1.26

0.1 seconds elapsed time

FMAP and GRID set by program

FMAP 2 3 21

GRID -2.778 -2 -2 2.778 2 2

R1 = 0.0562 for 1548 unique reflections after merging

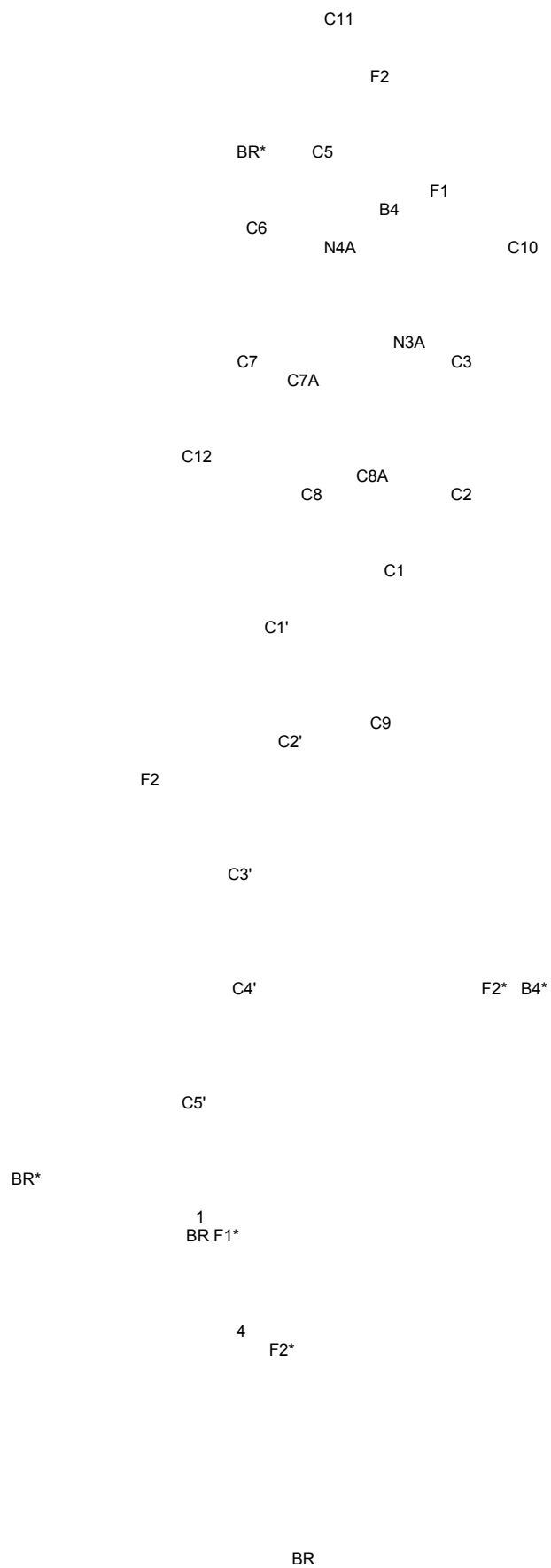
Electron density synthesis with coefficients Fo-Fc

Maximum = 0.36, Minimum = -0.30 e/A³, Highest memory used = 1573 / 17961

Mean = 0.00, Rms deviation from mean = 0.05 e/A³

0.1 seconds elapsed time

Molecule 1 scale 0.598 inches = 1.519 cm per Angstrom



Atom	Peak	x	y	z	Sof	Height	Distances and Angles							
BR	0.11	0.5682	0.1400	-0.0095	1.000	2.9	0 H3'2	2.879						
							0 H4'2	3.024	45.1					
							0 C5'	1.922	63.5	42.4				
							0 1	1.220	67.9	104.5	130.5			
							0 4	1.480	108.2	73.3	97.1	106.5		
							10 H111	3.323	125.7	84.6	64.9	163.8	62.7	
							1 BR	3.844	115.3	101.4	134.1	75.9	37.4	89.3
F1	0.00	0.1276	0.4502	-0.6188	1.000	3.1	0 B4	1.399						
							0 H101	2.487	79.8					
							0 H111	2.466	79.8	121.6				
							11 H2'2	2.882	90.5	111.8	122.4			
F2	0.00	0.2639	0.5686	-0.6847	1.000	4.0	0 B4	1.376						
							0 H101	2.559	77.5					
							0 H111	2.628	74.1	113.0				
							3 H4'1	2.615	136.7	137.3	102.8			
							13 H5'2	2.744	120.9	81.5	64.8	93.9		
N3A	0.07	0.2834	0.4081	-0.6484	1.000	4.1	0 B4	1.528						
							0 C3	1.297	124.3					
							0 C8A	1.431	129.2	106.3				
							0 H101	2.607	73.8	50.5	156.8			
							11 H2'2	2.962	85.1	108.8	81.6	106.0		
N4A	0.00	0.2679	0.5231	-0.4673	1.000	3.1	0 B4	1.504						
							0 C5	1.354	125.7					
							0 C7A	1.386	126.6	107.5				
							0 H111	2.566	74.8	51.0	158.6			
							12 H3'2	3.004	99.8	76.2	95.7	80.0		
B4	0.00	0.2341	0.4910	-0.6078	1.000	3.6	0 F1	1.399						
							0 F2	1.376	109.6					
							0 N3A	1.528	108.7	111.2				
							0 N4A	1.504	109.8	112.6	104.7			
							0 H101	2.629	68.6	71.8	72.2	175.4		
							0 H111	2.611	68.4	75.4	173.3	71.5	111.2	
C1	0.00	0.3795	0.2974	-0.6588	1.000	4.7	0 C2	1.375						
							0 C8A	1.418	108.0					
							0 C9	1.498	123.1	128.8				
C2	0.00	0.3240	0.2840	-0.7745	1.000	5.0	0 C1	1.375						
							0 H21	0.930	127.4					
							0 C3	1.423	105.1	127.4				
H21	0.00	0.3220	0.2369	-0.8452	1.000	5.3	0 C2	0.930						
C3	0.00	0.2705	0.3578	-0.7626	1.000	4.6	0 N3A	1.297						
							0 C2	1.423	113.0					
							0 C10	1.513	126.4	120.5				
C5	0.00	0.2395	0.5930	-0.3889	1.000	2.5	0 N4A	1.354						
							0 C6	1.366	108.0					
							0 C11	1.477	124.0	127.7				
C6	0.00	0.2886	0.6030	-0.2701	1.000	2.2	0 C5	1.366						
							0 H61	0.930	124.4					
							0 C7	1.348	111.2	124.4				
H61	0.00	0.2789	0.6441	-0.1982	1.000	1.8	0 C6	0.930						
							4 BR*	3.115	135.4					
C7	0.00	0.3530	0.5457	-0.2708	1.000	2.6	0 C6	1.348						
							0 C7A	1.422	104.8					
							0 C12	1.495	122.7	132.4				
C7A	0.00	0.3383	0.4920	-0.3969	1.000	3.2	0 N4A	1.386						
							0 C7	1.422	108.2					
							0 C8	1.410	121.8	130.0				
C8	0.00	0.3830	0.4188	-0.4511	1.000	3.7	0 C7A	1.410						
							0 C8A	1.387	120.2					
							0 C1'	1.493	121.5	118.4				

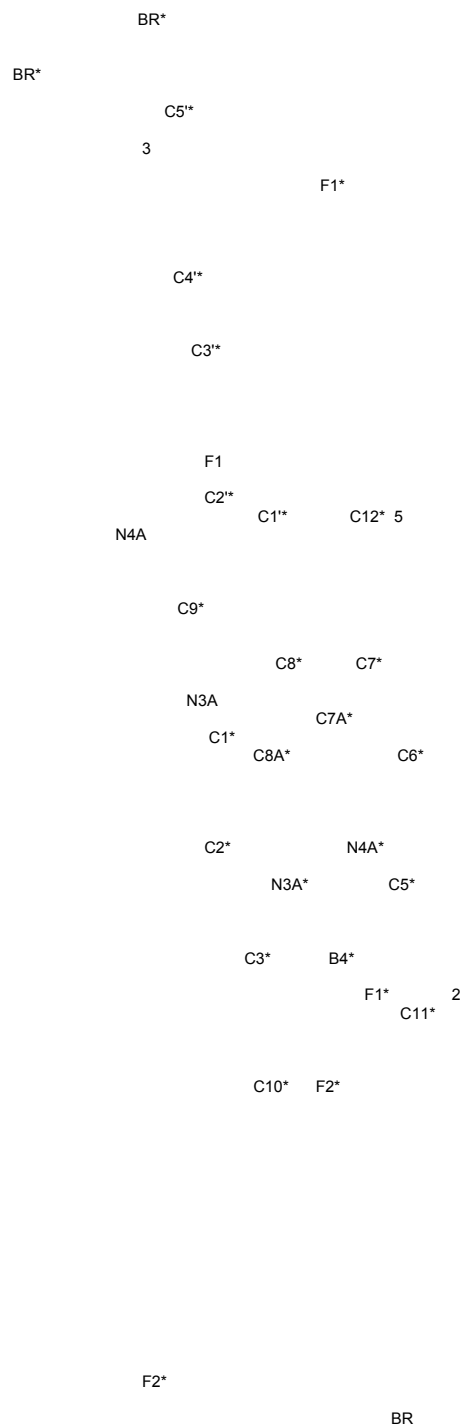
C8A	0.06	0.3554	0.3742	-0.5771	1.000	4.2	0	N3A	1.431
								0 C1	1.418 107.3
								0 C8	1.387 117.1 135.6
C9	0.00	0.4478	0.2346	-0.6293	1.000	5.0	0	C1	1.498
								0 H91	0.960 109.5
								0 H92	0.960 109.5 109.5
								0 H93	0.960 109.5 109.5 109.5
H91	0.00	0.4791	0.2564	-0.5437	1.000	4.8	0	C9	0.960
H92	0.00	0.5001	0.2418	-0.6920	1.000	5.6	0	C9	0.960
H93	0.00	0.4080	0.1654	-0.6333	1.000	4.9	0	C9	0.960
								8 F2*	2.339 170.2
								9 B4*	3.098 164.7 25.0
C10	0.00	0.2012	0.3669	-0.8734	1.000	4.7	0	C3	1.513
								0 H101	0.960 109.5
								0 H102	0.960 109.5 109.5
								0 H103	0.960 109.5 109.5 109.5
H101	0.00	0.1714	0.4201	-0.8491	1.000	4.4	0	F1	2.487
								0 F2	2.559 53.4
								0 N3A	2.607 55.6 55.3
								0 B4	2.629 31.6 30.7 33.9
								0 C10	0.960 119.2 120.9 73.5 107.4
H102	0.00	0.1478	0.3048	-0.8921	1.000	4.5	0	C10	0.960
H103	0.00	0.2404	0.3816	-0.9492	1.000	5.2	0	C10	0.960
C11	0.00	0.1621	0.6414	-0.4267	1.000	2.2	0	C5	1.477
								0 H111	0.960 109.5
								0 H112	0.960 109.5 109.5
								0 H113	0.960 109.5 109.5 109.5
H111	0.00	0.1409	0.6205	-0.5165	1.000	2.5	0	F1	2.466
								0 F2	2.628 52.7
								0 N4A	2.566 56.3 55.0
								0 B4	2.611 31.8 30.4 33.8
								0 C11	0.960 122.4 121.6 75.3 109.1
H112	0.00	0.1911	0.7131	-0.4148	1.000	2.3	0	C11	0.960
H113	0.00	0.1039	0.6222	-0.3735	1.000	1.7	0	C11	0.960
C12	0.00	0.4183	0.5437	-0.1542	1.000	2.5	0	C7	1.495
								0 H121	0.960 109.5
								0 H122	0.960 109.5 109.5
								0 H123	0.960 109.5 109.5 109.5
H121	0.00	0.4583	0.4983	-0.1750	1.000	2.8	0	C12	0.960
H122	0.00	0.3753	0.5215	-0.0837	1.000	1.9	0	C12	0.960
H123	0.00	0.4631	0.6099	-0.1292	1.000	2.6	0	C12	0.960
C1'	0.00	0.4605	0.3875	-0.3757	1.000	3.8	0	C8	1.493
								0 H1'1	0.970 109.6
								0 H1'2	0.970 109.6 108.1
								0 C2'	1.544 110.2 109.6 109.6
H1'1	0.00	0.5032	0.4449	-0.3208	1.000	3.8	0	C1'	0.970
H1'2	0.00	0.5042	0.3627	-0.4351	1.000	4.4	0	C1'	0.970
C2'	0.00	0.4066	0.3044	-0.2905	1.000	3.2	0	C1'	1.544
								0 H2'1	0.970 109.4
								0 H2'2	0.970 109.4 108.0
								0 C3'	1.561 111.0 109.4 109.4
H2'1	0.00	0.3761	0.2423	-0.3456	1.000	3.3	0	C2'	0.970
H2'2	0.00	0.3522	0.3235	-0.2453	1.000	2.7	0	C2'	0.970

C3'	0.06	0.4840	0.2871	-0.1892	1.000	3.2	0	C2'	1.561
								0 H3'1	0.970 109.1
								0 H3'2	0.970 109.1 107.8
								0 C4'	1.437 112.7 109.1 109.1
H3'1	0.00	0.5262	0.3517	-0.1491	1.000	3.2	0	C3'	0.970
H3'2	0.00	0.4462	0.2510	-0.1212	1.000	2.7	0	BR	2.879
								0 C3'	0.970 108.7
C4'	0.00	0.5490	0.2314	-0.2463	1.000	3.8	0	C3'	1.437
								0 H4'1	0.970 109.1
								0 H4'2	0.970 109.1 107.8
								0 C5'	1.531 112.5 109.1 109.1
H4'1	0.00	0.5849	0.2662	-0.3164	1.000	4.3	0	C4'	0.970
								2 F2	2.614 131.8
H4'2	0.00	0.5069	0.1658	-0.2834	1.000	3.8	0	BR	3.024
								0 C4'	0.970 73.9
C5'	0.00	0.6274	0.2179	-0.1476	1.000	3.8	0	BR	1.922
								0 C4'	1.531 114.3
								0 H5'1	0.970 108.7 108.7
								0 H5'2	0.970 108.7 108.7 107.6
H5'1	0.00	0.6684	0.2837	-0.1097	1.000	3.8	0	C5'	0.970
								5 BR*	3.253 129.8
H5'2	0.00	0.6729	0.1856	-0.1931	1.000	4.3	0	C5'	0.970
								7 F2*	2.755 139.2
								6 F1*	2.760 162.2 48.2
1	0.36	0.4930	0.1400	0.0531	1.000	2.2	0	BR	1.220
4	0.22	0.5450	0.0400	-0.0848	1.000	3.2	0	BR	1.480

Code	Atom	x	y	z	Height	Symmetry	Transformation
1	BR	0.4318	-0.1400	0.0095	2.3	1.0000-X	0.0000-Y 0.0000-Z
2	F2	0.7361	0.4314	-0.3153	5.1	1.0000-X	1.0000-Y -1.0000-Z
3	H4'1	0.4151	0.7338	-0.6836	4.7	1.0000-X	1.0000-Y -1.0000-Z
4	BR*	0.0990	0.6452	-0.0162	0.0	-1.0000+X	1.0000+Y 1.0000+Z
5	BR*	0.9010	0.3548	0.0162	4.5	2.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
6	F1*	0.8022	0.1375	-0.3748	5.9	0.0000+X	0.0000+Y 0.0000+Z
7	F2*	0.6635	0.0092	-0.3436	5.1	0.0000+X	0.0000+Y 0.0000+Z
8	F2*	0.3365	-0.0092	-0.6564	4.7	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
9	B4*	0.2402	-0.0339	-0.6038	4.0	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
10	H111	0.7624	0.0774	-0.1485	4.7	0.0000+X	0.0000+Y 0.0000+Z
11	H2'2	0.1403	0.2897	-0.4700	2.6	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
12	H3'2	0.0826	0.4030	-0.3395	1.6	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
13	H5'2	0.1232	0.6501	-0.7868	3.7	-1.0000+X	1.0000+Y 0.0000+Z

Molecule 2 scale 0.563 inches = 1.431 cm per Angstrom

F2



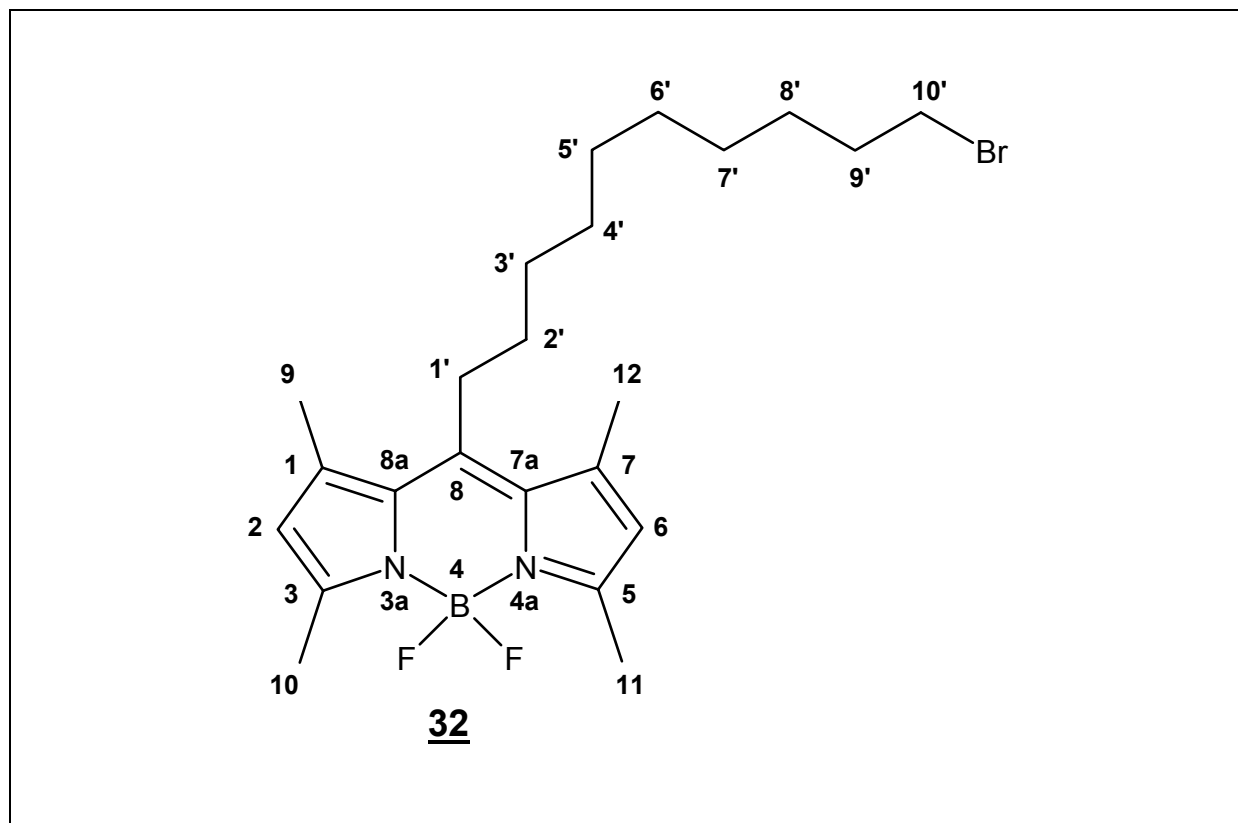
Atom	Peak	x	y	z	Sof	Height	Distances and Angles									
BR*	0.10	1.0990	-0.3548	-1.0162	1.000	3.2	0 H4'1	2.970								
							0 H4'2	2.964	30.6							
							0 C5**	1.881	43.5	43.7						
							0 3	1.310	25.3	5.7	44.3					
							15 H5'1	3.095	120.8	90.2	101.1	95.6				
							6 H6'1	3.114	148.6	175.6	140.4	171.3	90.5			
							8 H5'1	3.253	95.2	120.9	84.0	117.7	132.7	61.3		
							10 BR*	4.225	96.8	69.5	67.7	75.1	33.7	113.1	121.5	
F1*	0.00	0.8022	0.1375	-0.3748	1.000	3.2	0 B4*	1.390								
							0 H101	2.663	74.5							
							0 H111	2.572	74.3	109.4						
							9 H5'2	2.760	100.6	76.4	50.3					
							14 H1'1	2.763	97.2	132.6	112.9	149.5				
F2*	0.00	0.6635	0.0092	-0.3436	1.000	2.5	0 B4*	1.390								
							0 H101	2.454	82.3							
							0 H111	2.370	81.8	124.7						
							7 H93	2.339	109.7	119.8	115.5					
							9 H5'2	2.755	100.8	79.9	52.0	145.1				
							13 H102	2.883	152.2	76.5	125.3	67.2	93.2			
N3A*	0.00	0.7533	-0.0018	-0.5412	1.000	3.3	0 B4*	1.527								
							0 C3*	1.341	123.5							
							0 C8A*	1.419	127.2	109.3						
							0 H101	2.622	74.3	49.2	158.5					
N4A*	0.00	0.8276	-0.0190	-0.3310	1.000	2.2	0 B4*	1.526								
							0 C5*	1.310	125.7							
							0 C7A*	1.414	126.1	108.0						
							0 H111	2.532	74.0	51.8	159.7					
B4*	0.00	0.7597	0.0339	-0.3962	1.000	2.8	0 F1*	1.390								
							0 F2*	1.390	108.2							
							0 N3A*	1.527	110.8	111.3						
							0 N4A*	1.526	110.2	109.8	106.5					
							0 H101	2.654	75.2	66.4	72.1	174.4				
							0 H111	2.571	74.4	65.8	174.8	71.2	109.7			
							7 H93	3.098	153.4	45.3	86.3	82.5	91.9	88.7		
C1*	0.00	0.7787	-0.0695	-0.7400	1.000	3.8	0 C2*	1.351								
							0 C8A*	1.423	108.8							
							0 C9*	1.492	124.8	126.3						
C2*	0.00	0.7101	-0.0174	-0.7521	1.000	4.1	0 C1*	1.351								
							0 H2*1	0.930	125.8							
							0 C3*	1.395	108.4	125.8						
H2*1	0.00	0.6785	-0.0107	-0.8295	1.000	4.5	0 C2*	0.930								
C3*	0.00	0.6950	0.0245	-0.6287	1.000	3.8	0 N3A*	1.341								
							0 C2*	1.395	108.7							
							0 C10*	1.486	127.2	124.1						
C5*	0.00	0.8498	-0.0109	-0.2060	1.000	1.6	0 N4A*	1.310								
							0 C6*	1.376	110.2							
							0 C11*	1.470	124.2	125.6						
C6*	0.00	0.9181	-0.0635	-0.1821	1.000	1.2	0 C5*	1.376								
							0 H6*1	0.930	125.4							
							0 C7*	1.365	109.3	125.4						
H6*1	0.00	0.9454	-0.0677	-0.1005	1.000	0.8	0 C6*	0.930								
C7*	0.00	0.9397	-0.1086	-0.2969	1.000	1.5	0 C6*	1.365								
							0 C7A*	1.426	105.6							
							0 C12*	1.488	126.7	127.7						
C7A*	0.00	0.8840	-0.0785	-0.3953	1.000	2.1	0 N4A*	1.414								
							0 C7*	1.426	106.9							
							0 C8*	1.405	118.6	134.5						

C8*	0.00	0.8749	-0.0959	-0.5316	1.000	2.6	0	C7A*	1.405
								0 C8A*	1.386 123.2
								0 C1**	1.506 118.9 117.9
C8A*	0.00	0.8095	-0.0616	-0.6064	1.000	3.2	0	N3A*	1.419
								0 C1*	1.423 104.8
								0 C8*	1.386 117.8 137.4
C9*	0.00	0.8130	-0.1279	-0.8496	1.000	3.9	0	C1*	1.492
								0 H9*1	0.960 109.5
								0 H9*2	0.960 109.5 109.5
								0 H9*3	0.960 109.5 109.5 109.5
H9*1	0.00	0.8617	-0.1583	-0.8169	1.000	3.6	0	C9*	0.960
H9*2	0.00	0.8442	-0.0837	-0.9127	1.000	4.4	0	C9*	0.960
H9*3	0.00	0.7550	-0.1793	-0.8897	1.000	3.8	0	C9*	0.960
C10*	0.00	0.6258	0.0885	-0.6032	1.000	4.1	0	C3*	1.486
								0 H101	0.960 109.5
								0 H102	0.960 109.5 109.5
								0 H103	0.960 109.5 109.5 109.5
H101	0.00	0.6275	0.1088	-0.5116	1.000	3.8	0	F1*	2.663
								0 F2*	2.454 52.0
								0 N3A*	2.622 54.1 56.6
								0 B4*	2.654 30.3 31.3 33.6
								0 C10*	0.960 118.1 123.6 74.1 107.7
H102	0.00	0.5571	0.0511	-0.6323	1.000	4.1	0	C10*	0.960
								12 F2*	2.883 160.1
H103	0.00	0.6480	0.1469	-0.6492	1.000	4.6	0	C10*	0.960
C11*	0.00	0.8084	0.0479	-0.1071	1.000	1.6	0	C5*	1.470
								0 H111	0.960 109.5
								0 H112	0.960 109.5 109.5
								0 H112	0.960 109.5 109.5 109.5
								0 2	1.147 111.9 136.8 44.3 67.3
H111	0.00	0.7624	0.0774	-0.1485	1.000	1.9	0	F1*	2.572
								0 F2*	2.370 54.0
								0 N4A*	2.532 55.9 58.2
								0 B4*	2.571 31.4 32.4 34.8
								0 C11*	0.960 119.1 125.5 74.6 109.3
								1 BR	3.323 114.7 92.1 149.3 120.7 125.6
H112	0.00	0.8636	0.1001	-0.0625	1.000	1.6	0	C11*	0.960
								0 2	0.813 80.2
H112	0.00	0.7721	0.0047	-0.0458	1.000	1.1	0	C11*	0.960
								0 2	1.178 64.0
C12*	0.00	1.0095	-0.1728	-0.3145	1.000	1.2	0	C7*	1.488
								0 H121	0.960 109.5
								0 H122	0.960 109.5 109.5
								0 H123	0.960 109.5 109.5 109.5
								0 5	1.164 103.1 147.1 53.0 62.4
H121	0.00	1.0107	-0.1949	-0.4052	1.000	1.4	0	C12*	0.960
H122	0.00	0.9856	-0.2302	-0.2668	1.000	0.6	0	C12*	0.960
								0 5	0.965 74.4
H123	0.00	1.0774	-0.1349	-0.2828	1.000	1.2	0	C12*	0.960
								0 5	1.114 67.8
C1**	0.00	0.9367	-0.1570	-0.6009	1.000	2.6	0	C8*	1.506
								0 H1'1	0.970 108.9
								0 H1'2	0.970 108.9 107.7
								0 C2**	1.527 113.4 108.9 108.9
H1'1	0.00	1.0019	-0.1439	-0.5536	1.000	2.4	0	C1**	0.970
								11 F1*	2.763 134.2
H1'2	0.00	0.9506	-0.1355	-0.6869	1.000	3.1	0	C1**	0.970

C2**	0.00	0.8834	-0.2699	-0.6143	1.000	2.0	0	C1**	1.527
								0 H2'1	0.970 109.0
								0 H2'2	0.970 109.0 107.8
								0 C3**	1.532 113.1 109.0 109.0
H2'1	0.00	0.8238	-0.2844	-0.6732	1.000	2.2	0	C2**	0.970
H2'2	0.00	0.8597	-0.2897	-0.5300	1.000	1.6	0	C2**	0.970
								2 F1	2.882 134.0
								4 N3A	2.962 154.9 48.0
C3**	0.00	0.9529	-0.3326	-0.6652	1.000	1.9	0	C2**	1.532
								0 H3'1	0.970 108.6
								0 H3'2	0.970 108.6 107.6
								0 C4**	1.454 114.7 108.6 108.6
H3'1	0.00	1.0139	-0.3154	-0.6083	1.000	1.7	0	C3**	0.970
H3'2	0.00	0.9174	-0.4030	-0.6605	1.000	1.5	0	C3**	0.970
								5 N4A	3.004 137.0
C4**	0.00	0.9841	-0.3192	-0.7978	1.000	2.5	0	C3**	1.454
								0 H4'1	0.970 108.6
								0 H4'2	0.970 108.6 107.6
								0 C5**	1.537 114.5 108.6 108.6
								0 3	1.642 160.9 87.7 74.3 48.7
H4'1	0.00	1.0133	-0.2480	-0.8047	1.000	2.9	0	BR*	2.970
								0 C4**	0.970 73.6
H4'2	0.00	0.9236	-0.3429	-0.8559	1.000	2.7	0	BR*	2.964
								0 C4**	0.970 73.9
C5**	0.00	1.0622	-0.3740	-0.8438	1.000	2.4	0	BR*	1.881
								0 C4**	1.537 112.7
								0 H5'1	0.970 109.0 109.0
								0 H5'2	0.970 109.0 109.0 107.8
								0 3	1.314 44.1 69.8 115.3 134.7
H5'1	0.00	1.0334	-0.4453	-0.8370	1.000	2.0	0	C5**	0.970
								10 BR*	3.095 143.8
H5'2	0.00	1.1232	-0.3499	-0.7868	1.000	2.2	0	C5**	0.970
								3 F2	2.744 136.4
2	0.26	0.8522	0.0600	-0.0086	1.000	1.2	0	C11*	1.147
								0 H112	0.813 55.5
								0 H112	1.178 48.8 102.4
3	0.23	1.0262	-0.3400	-0.9428	1.000	3.0	0	BR*	1.310
								0 C4**	1.642 149.9
								0 C5**	1.314 91.6 61.5
5	0.21	1.0334	-0.1800	-0.2081	1.000	0.6	0	C12*	1.164
								0 H122	0.965 52.6
								0 H123	1.114 49.8 97.7

Code	Atom	x	y	z	Height	Symmetry	Transformation
1	BR	0.5682	0.1400	-0.0095	1.8	0.0000+X	0.0000+Y 0.0000+Z
2	F1	0.8724	-0.4502	-0.3812	0.0	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
3	F2	1.2639	-0.4314	-0.6847	1.2	1.0000+X	-1.0000+Y 0.0000+Z
4	N3A	0.7166	-0.4081	-0.3516	0.2	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
5	N4A	0.7321	-0.5231	-0.5327	0.4	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
6	H61	1.2789	-0.3559	-1.1982	4.0	1.0000+X	-1.0000+Y -1.0000+Z
7	H93	0.5919	-0.1654	-0.3667	1.7	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
8	H5'1	1.3316	-0.2837	-0.8903	2.9	2.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
9	H5'2	0.6729	0.1856	-0.1931	2.8	0.0000+X	0.0000+Y 0.0000+Z
10	BR*	0.9010	-0.6452	-0.9838	1.6	2.0000-X	-1.0000-Y -2.0000-Z
11	F1*	1.1978	-0.1375	-0.6252	2.6	2.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
12	F2*	0.3365	-0.0092	-0.6564	4.0	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
13	H102	0.4429	-0.0511	-0.3677	2.4	1.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
14	H1'1	0.9981	0.1439	-0.4464	3.5	2.0000-X	0.0000-Y -1.0000-Z
15	H5'1	0.9666	-0.5547	-1.1630	2.9	2.0000-X	-1.0000-Y -2.0000-Z

8.1.7. Darstellung von 8-(10-Bromdecanyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

0,95 g	≡	10 mmol	2,4-Dimethylpyrrol
1,42 g	≡	5 mmol	11-Bromundecansäurechlorid
2,8 mL	≡	20 mmol	Triethylamin
2,5 mL	≡	10 mmol	Bortrifluoriddiethyletherat

Durchführung:

Das aus Bromundecansäure mit Thionylchlorid hergestellte ¹²⁸ Bromhexansäurechlorid wird in 50 mL Dichlormethan gelöst und auf 0°C gekühlt. Innerhalb einer halben Stunde wird das in 20 mL Dichlormethan gelöste 2,4-Dimethylpyrrol unter Eiskühlung hinzugegeben. Nach dem

Erwärmen auf RT wird noch weitere 3,5 Stunden gerührt. Unter Eiskühlung wird mit Triethylamin neutralisiert und nach einer halben Stunde mit Bortri-fluoriddiethyletherat versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei RT gerührt und anschließend auf ca. 3 mL Gesamtvolumen eingengt. Die konzentrierte Lösung wird auf Kieselgel aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Petrolether (2:1) eluiert.

Ausbeute : 270 mg \equiv 0,6 mmol \equiv 12 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,79
m.p.:	83°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 493 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 512 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1,25 (m, 14H, C3'-H₂ bis C9'-H₂), 1,82 (m, 2H, C2'-H₂), 2,38 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,48 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,90 (m, 2H, C1'-H₂), 3,38 (t, 6,6 Hz, 2H, C5'-H₂), 6,02 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,4 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,3 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 28,1 bis 32,7 (s, 9C, CH₂-1' bis CH₂-9'), 33,9 (s, 1C, CH₂-10'), 121,6 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,4 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,3 (s, 2C, C-1 und C-7), 146,6 (s, 1C, C-8), 153,7 (s, 2C, C-3 und C-5).

Berechnete Masse : 467,26 g / mol

MS (EI) (m/z) : 469 und 467 (m + H⁺), 468 und 466 (m⁺), 262 (m + H⁺-Br-[CH₂]₉), 247 (m + H⁺-Br-[CH₂]₉ CH₃)

HR*-MS : 465,2016

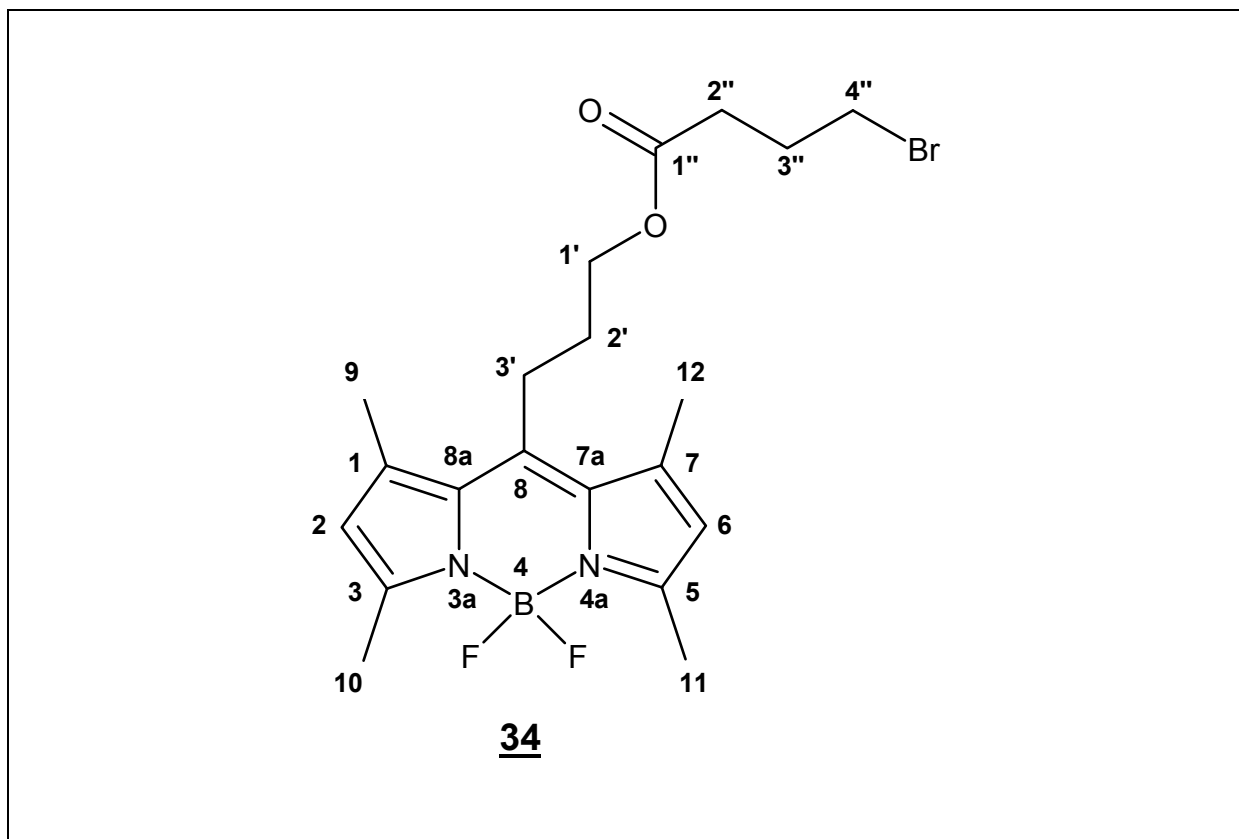
Rel. Intensität : 10,42%

Unterschied : -1,3 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 23, ¹H : 34, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2

8.1.8. Darstellung von 4-Brombuttersäure-3-[(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen)-8-yl]propylester:



Dieses Produkt entsteht als Nebenprodukt bei längeren Reaktionszeiten (>3 Stunden) in der Synthese des 8-(3-Brompropyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacens **25** und wurde in gleicher Weise gereinigt und kristallisiert. Auch von diesem Produkt ließ sich eine Röntgenstrukturanalyse durchführen. Durch Erhöhung der Säurechloridkonzentration und der Reaktionszeiten könnte man die Ausbeuten erhöhen.

Ausbeute : 240 mg \equiv 0,5 mmol \equiv 10 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (CH₂Cl₂) :

0,37

m.p.:

104°C

UV-Absorption (CH₂Cl₂) : λ_{\max} = 496 nm

Fluoreszenz (CH₂Cl₂) : λ_{\max} = 511 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1,95 (m, 2H, C3'-H₂), 2,15 (q, 6,5 Hz, 2H, C3''-H₂), 2,41 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,49 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,5 (t, 2H, C2''-H₂), 3,0 (m, 2H, C3'-H₂), 3,46 (t, 6,5 Hz, 2H, C4''-H₂), 4,22 (t, 6,1 Hz, 2H, C1'-H₂), 6,04 (s, 2H, C2-H und C6-H)

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,4 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,4 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 25,1 (s, 1C, CH₂-3'), 27,6 (s, 1C, CH₂-3''), 30,7 (s, 1C, CH₂-2') 32,2 (s, 1C, CH₂-2''), 32,6 (s, 1C, CH₂-4''), 64,1 (s, 1C, CH₂-1') 121,8 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,3 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,2 (s, 2C, C-1 und C-7), 144,7 (s, 1C, C-8), 154,3 (s, 2C, C-3 und C-5), 172,4 (s, 1C, C-1'')

Berechnete Masse : 455,16 g / mol

MS (EI) (m/z) : 457 und 455 (m+H⁺), 456 und 454 (m⁺), 374 (m+H⁺-Br), 247 (m +H-Br-CH₂CH₂OCOCH₂CH₂CH₂Br),

HR*-MS : 453,1264

Rel. Intensität : 19,77 %

Unterschied : 1,1 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 7,5

Formel : ¹²C : 20, ¹H : 26, ¹⁰B : 1, ⁷⁹Br : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2, ¹⁶O : 2

Röntgenstrukturanalyse :

TITL Dmbodi32
CELL 0.71069 13.0951 12.0930 13.5766 90.0 96.613 90.0
ZERR 4
LATT 1
SYMM 0.5-X, 0.5+Y, -Z
SFAC C H N B F BR O
UNIT 80 104 8 4 8 4 8

V = 2135.67 F(000) = 936.0 Mu = 1.96 mm-1 Cell Wt = 1820.59 Rho = 1.416

L.S. 5
FMAP 2
PLAN -5

WGHT 0.10000 0.100000
 EXTI 0.007488
 FVAR 0.10190
 BR 6 0.66390 0.00273 0.42203 11.00000 0.14613 0.12030 =
 0.10938 0.02009 -0.00779 0.00887
 F1 5 0.31650 -0.49515 -0.25733 11.00000 0.06344 0.06353 =
 0.04777 -0.01890 0.01472 0.00360
 F2 5 0.23967 -0.33095 -0.23908 11.00000 0.04465 0.05082 =
 0.06019 0.01076 0.00130 0.00290
 N3A 3 0.23891 -0.46235 -0.10832 11.00000 0.02922 0.03428 =
 0.04017 -0.00800 0.00237 -0.00165
 N4A 3 0.39776 -0.36643 -0.13712 11.00000 0.02439 0.03857 =
 0.03687 -0.00429 -0.00322 -0.00816
 B4 4 0.29660 -0.41655 -0.19080 11.00000 0.04627 0.03099 =
 0.03531 0.00376 0.00233 0.01207
 O1 7 0.50054 -0.30567 0.31486 11.00000 0.04013 0.10381 =
 0.03108 -0.02139 0.00144 -0.00455
 O2 7 0.49777 -0.30697 0.47565 11.00000 0.07862 0.25752 =
 0.04583 -0.01583 0.00603 -0.06678
 C1 1 0.19826 -0.52980 0.03880 11.00000 0.05466 0.03425 =
 0.03795 0.00095 0.00479 -0.00164
 C2 1 0.12117 -0.55416 -0.03474 11.00000 0.03332 0.05583 =
 0.06273 -0.00257 0.00129 -0.01985
 AFIX 41
 H21 2 0.06104 -0.59194 -0.02588 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C3 1 0.14616 -0.51417 -0.12399 11.00000 0.05428 0.03596 =
 0.06015 -0.00573 -0.00169 -0.00627
 C5 1 0.46956 -0.31186 -0.18193 11.00000 0.03251 0.05199 =
 0.05209 0.02336 0.01446 0.00012
 C6 1 0.54809 -0.27773 -0.10938 11.00000 0.01808 0.05034 =
 0.06409 -0.00661 0.00822 -0.00136
 AFIX 41
 H61 2 0.60682 -0.23894 -0.12106 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C7 1 0.52395 -0.31103 -0.01835 11.00000 0.03117 0.03816 =
 0.03648 -0.00167 0.00472 0.00960
 C7A 1 0.42741 -0.36731 -0.03638 11.00000 0.02377 0.04685 =
 0.03541 -0.01168 -0.00724 0.00969
 C8 1 0.36681 -0.42234 0.02816 11.00000 0.03178 0.03188 =
 0.03337 -0.00062 0.00711 0.00234
 C8A 1 0.27486 -0.47240 -0.00769 11.00000 0.02953 0.04862 =
 0.03467 -0.00691 0.00122 0.00509
 C9 1 0.19904 -0.56325 0.14487 11.00000 0.05805 0.05947 =
 0.06394 0.00158 0.01419 -0.02135
 AFIX 31
 H91 2 0.26094 -0.53703 0.18238 11.00000 0.05000
 H92 2 0.19615 -0.64239 0.14924 11.00000 0.05000
 H93 2 0.14054 -0.53179 0.17113 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C10 1 0.08516 -0.52231 -0.22375 11.00000 0.05026 0.06419 =
 0.06346 0.00615 -0.01176 -0.00817
 AFIX 31
 H101 2 0.12231 -0.48756 -0.27231 11.00000 0.05000
 H102 2 0.02023 -0.48586 -0.22229 11.00000 0.05000
 H103 2 0.07376 -0.59872 -0.24075 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C11 1 0.46219 -0.29743 -0.29135 11.00000 0.05350 0.07704 =
 0.07277 0.01289 0.02516 -0.01144
 AFIX 31
 H111 2 0.40020 -0.33147 -0.32174 11.00000 0.05000
 H112 2 0.52046 -0.33152 -0.31588 11.00000 0.05000
 H113 2 0.46117 -0.22000 -0.30702 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C12 1 0.59338 -0.28500 0.07639 11.00000 0.03395 0.06211 =
 0.06386 -0.00616 0.00081 -0.00421
 AFIX 31
 H121 2 0.56368 -0.31464 0.13220 11.00000 0.05000
 H122 2 0.60053 -0.20632 0.08360 11.00000 0.05000
 H123 2 0.65976 -0.31760 0.07322 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C1' 1 0.39177 -0.33076 0.30239 11.00000 0.04175 0.08544 =
 0.04846 -0.02268 0.00454 -0.00728
 AFIX 21
 H1'1 2 0.35404 -0.27525 0.33498 11.00000 0.05000
 H1'2 2 0.37942 -0.40238 0.33094 11.00000 0.05000
 AFIX 0

C2' 1 0.35796 -0.33138 0.19280 11.00000 0.02952 0.06061 =
 0.04718 -0.00179 -0.00204 -0.00038
 AFIX 21
 H2'1 2 0.28362 -0.33707 0.18231 11.00000 0.05000
 H2'2 2 0.37701 -0.26150 0.16496 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C3' 1 0.40347 -0.42418 0.13790 11.00000 0.03163 0.03516 =
 0.04118 -0.00138 0.00006 -0.00857
 AFIX 21
 H3'1 2 0.47783 -0.41829 0.14729 11.00000 0.04000
 H3'2 2 0.38482 -0.49432 0.16552 11.00000 0.04000
 AFIX 0
 C1" 1 0.54427 -0.29791 0.40375 11.00000 0.05322 0.09738 =
 0.06091 -0.02174 0.02533 -0.02393
 C2" 1 0.65592 -0.27131 0.41006 11.00000 0.04663 0.11060 =
 0.06110 -0.00770 0.00406 -0.00158
 AFIX 21
 H2"1 2 0.66719 -0.22473 0.35416 11.00000 0.05000
 H2"2 2 0.69361 -0.33952 0.40383 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C3" 1 0.70017 -0.21349 0.50470 11.00000 0.07196 0.12306 =
 0.03750 -0.01036 -0.00606 -0.00697
 AFIX 21
 H3"1 2 0.69195 -0.26200 0.56014 11.00000 0.05000
 H3"2 2 0.77336 -0.20350 0.50242 11.00000 0.05000
 AFIX 0
 C4" 1 0.65561 -0.10624 0.52443 11.00000 0.09506 0.16203 =
 0.05207 -0.03182 0.00408 -0.01365
 AFIX 21
 H4"1 2 0.69032 -0.07756 0.58613 11.00000 0.05000
 H4"2 2 0.58389 -0.11691 0.53355 11.00000 0.05000
 HKLF 4

Covalent radii and connectivity table for Dmbodi32

C 0.770
 H 0.320
 N 0.700
 B 0.820
 F 0.640
 BR 1.140
 O 0.660

Br - C4"
 F1 - B4
 F2 - B4
 N3A - C3 C8A B4
 N4A - C5 C7A B4
 B4 - F1 F2 N3A N4A
 O1 - C1" C1'
 O2 - C1"
 C1 - C2 C8A C9
 C2 - C1 C3
 C3 - N3A C2 C10
 C5 - N4A C6 C11
 C6 - C7 C5
 C7 - C6 C7A C12
 C7A - N4A C8 C7
 C8 - C8A C7A C3'
 C8A - C8 N3A C1
 C9 - C1
 C10 - C3
 C11 - C5
 C12 - C7
 C1' - O1 C2'
 C2' - C1' C3'
 C3' - C2' C8
 C1" - O2 O1 C2"
 C2" - C1" C3"
 C3" - C4" C2"
 C4" - C3" Br

5767 Reflections read, of which 165 rejected

0 ≤ h ≤ 12, -13 ≤ k ≤ 13, -14 ≤ l ≤ 14, Max. 2-theta = 45.09

0 Systematic absence violations

Inconsistent equivalents etc.

h	k	l	Fo ²	Sigma(Fo ²)	N	Esd of mean(Fo ²)
1	2	0	108.46	0.72	2	6.11
2	2	0	359.08	1.43	2	9.80
1	3	0	384.11	1.57	2	46.44
-1	1	1	91.55	0.55	2	2.88
1	1	1	30.68	0.35	2	1.79
1	1	2	168.13	0.90	2	9.11
-2	2	2	176.01	1.09	2	6.94
-1	2	2	68.52	0.66	2	4.84
1	3	2	103.54	0.91	2	14.19
-2	4	2	246.89	1.58	2	9.25
1	5	2	62.90	0.90	2	6.05
1	1	3	153.76	1.01	2	7.78
-1	3	3	91.05	0.91	2	7.00
1	3	3	80.56	0.87	2	10.97
2	4	3	33.86	0.69	2	4.27
1	5	3	70.23	0.98	2	9.33
-1	5	4	57.23	0.93	2	5.71
2	4	5	69.79	1.05	2	6.88
6	2	10	5.92	0.77	2	4.32

19 Inconsistent equivalents

2761 Unique reflections, of which 0 suppressed

R(int) = 0.1819 R(sigma) = 0.2275 Friedel opposites merged

Maximum memory for data reduction = 2134 / 27077

Default effective X-H distances for T = 20.0 C

AFIX m = 1 2 3 4 4[N] 3[N] 15[B] 8[O] 9 9[N] 16
d(X-H) = 0.98 0.97 0.96 0.93 0.86 0.89 1.10 0.82 0.93 0.86 0.93

0.3 seconds elapsed time

Least-squares cycle 1 Maximum vector length = 511 Memory required = 2826 / 318031

wR2 = 0.2382 before cycle 1 for 2761 data and 254 / 254 parameters

GooF = S = 1.031; Restrained GooF = 1.031 for 0 restraints

Weight = 1 / [sigma²(Fo²) + (0.1000 * P)² + 0.10 * P] where P = (Max (Fo², 0) + 2 * Fc²) / 3

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.10201	0.00064	0.174	OSF
2	0.00739	0.00174	-0.059	EXTI

Mean shift/esd = 0.209 Maximum = 0.918 for U22 Br

Max. shift = 0.011 A for C4" Max. dU = 0.003 for O2

1.2 seconds elapsed time

Least-squares cycle 2 Maximum vector length = 511 Memory required = 2826 / 318031

wR2 = 0.2372 before cycle 2 for 2761 data and 254 / 254 parameters

GooF = S = 1.025; Restrained GooF = 1.025 for 0 restraints

Weight = 1 / [sigma²(Fo²) + (0.1000 * P)² + 0.10 * P] where P = (Max (Fo², 0) + 2 * Fc²) / 3

N	value	esd	shift/esd	parameter
1	0.10206	0.00064	0.068	OSF
2	0.00738	0.00173	-0.001	EXTI

Mean shift/esd = 0.027 Maximum = -0.150 for U12 C10

Max. shift = 0.002 A for C10 Max. dU = 0.001 for C4"

1.1 seconds elapsed time

Least-squares cycle 3 Maximum vector length = 511 Memory required = 2826 / 318031

wR2 = 0.2371 before cycle 3 for 2761 data and 254 / 254 parameters

GooF = S = 1.025; Restrained GooF = 1.025 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.1000 * P)^2 + 0.10 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N value esd shift/esd parameter

1	0.10206	0.00064	0.008	OSF
2	0.00738	0.00173	0.000	EXTI

Mean shift/esd = 0.011 Maximum = 0.052 for U22 C4"

Max. shift = 0.001 A for C10 Max. dU = 0.000 for C4"

1.1 seconds elapsed time

Least-squares cycle 4 Maximum vector length = 511 Memory required = 2826 / 318031

wR2 = 0.2371 before cycle 4 for 2761 data and 254 / 254 parameters

GooF = S = 1.024; Restrained GooF = 1.024 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.1000 * P)^2 + 0.10 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N value esd shift/esd parameter

1	0.10206	0.00064	0.000	OSF
2	0.00738	0.00173	0.000	EXTI

Mean shift/esd = 0.003 Maximum = -0.015 for y C12

Max. shift = 0.000 A for C4" Max. dU = 0.000 for C4"

1.1 seconds elapsed time

Least-squares cycle 5 Maximum vector length = 511 Memory required = 2826 / 318031

wR2 = 0.2371 before cycle 5 for 2761 data and 254 / 254 parameters

GooF = S = 1.024; Restrained GooF = 1.024 for 0 restraints

Weight = $1 / [\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.1000 * P)^2 + 0.10 * P]$ where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

N value esd shift/esd parameter

1	0.10206	0.00064	0.000	OSF
2	0.00738	0.00173	0.000	EXTI

Mean shift/esd = 0.001 Maximum = 0.006 for U22 C4"

Max. shift = 0.000 A for C10 Max. dU = 0.000 for C4"

Largest correlation matrix elements

0.623 EXTI / OSF

1.1 seconds elapsed time

Idealized hydrogen atom generation before cycle 6

Name x y z AFIX d(X-H) shift Bonded to Conformation determined by

H21	0.0612	-0.5920	-0.0263	41	0.930	0.000	C2	C1 C3
H61	0.6068	-0.2385	-0.1210	41	0.930	0.000	C6	C7 C5
H91	0.2609	-0.5369	0.1826	31	0.960	0.000	C9	C1 H91

H92	0.1959	-0.6422	0.1496	31	0.960	0.000	C9	C1	H91
H93	0.1405	-0.5314	0.1714	31	0.960	0.000	C9	C1	H91
H101	0.1220	-0.4867	-0.2724	31	0.960	0.000	C10	C3	H101
H102	0.0200	-0.4856	-0.2222	31	0.960	0.000	C10	C3	H101
H103	0.0738	-0.5982	-0.2411	31	0.960	0.000	C10	C3	H101
H111	0.3991	-0.3297	-0.3216	31	0.960	0.000	C11	C5	H111
H112	0.5192	-0.3321	-0.3166	31	0.960	0.000	C11	C5	H111
H113	0.4620	-0.2195	-0.3070	31	0.960	0.000	C11	C5	H111
H121	0.5635	-0.3150	0.1318	31	0.960	0.000	C12	C7	H121
H122	0.6003	-0.2065	0.0834	31	0.960	0.000	C12	C7	H121
H123	0.6596	-0.3177	0.0728	31	0.960	0.000	C12	C7	H121
H1'1	0.3542	-0.2751	0.3349	21	0.970	0.000	C1'	O1	C2'
H1'2	0.3792	-0.4023	0.3309	21	0.970	0.000	C1'	O1	C2'
H2'1	0.3769	-0.2614	0.1650	21	0.970	0.000	C2'	C1'	C3'
H2'2	0.2836	-0.3370	0.1823	21	0.970	0.000	C2'	C1'	C3'
H3'1	0.3848	-0.4942	0.1655	21	0.970	0.000	C3'	C2'	C8
H3'2	0.4777	-0.4181	0.1472	21	0.970	0.000	C3'	C2'	C8
H2"1	0.6666	-0.2243	0.3543	21	0.970	0.000	C2"	C1"	C3"
H2"2	0.6933	-0.3390	0.4040	21	0.970	0.000	C2"	C1"	C3"
H3"1	0.6923	-0.2616	0.5599	21	0.970	0.000	C3"	C4"	C2"
H3"2	0.7732	-0.2030	0.5017	21	0.970	0.000	C3"	C4"	C2"
H4"1	0.6900	-0.0767	0.5861	21	0.970	0.000	C4"	C3"	Br
H4"2	0.5835	-0.1159	0.5335	21	0.970	0.000	C4"	C3"	Br

Dmbodi32

ATOM	x	y	z	sof	U11	U22	U33	U23	U13	U12	Ueq
Br	0.66395	0.00279	0.42211	1.00000	0.14562	0.12200	0.11075	0.02014	-0.00827	0.00893	0.12791
	0.00015	0.00018	0.00013	0.00000	0.00173	0.00160	0.00145	0.00131	0.00112	0.00137	0.00096
F1	0.31635	-0.49489	-0.25737	1.00000	0.06435	0.06434	0.04684	-0.01800	0.01500	0.00437	0.05784
	0.00042	0.00053	0.00039	0.00000	0.00410	0.00425	0.00354	0.00382	0.00315	0.00387	0.00171
F2	0.23954	-0.33093	-0.23918	1.00000	0.04575	0.05137	0.06003	0.01170	0.00069	0.00348	0.05280
	0.00042	0.00047	0.00042	0.00000	0.00387	0.00412	0.00400	0.00330	0.00327	0.00343	0.00178
N3A	0.23878	-0.46224	-0.10832	1.00000	0.02929	0.03395	0.03935	-0.00789	0.00362	-0.00162	0.03422
	0.00062	0.00059	0.00057	0.00000	0.00557	0.00642	0.00576	0.00418	0.00449	0.00452	0.00236
N4A	0.39789	-0.36640	-0.13701	1.00000	0.02484	0.03847	0.03541	-0.00520	-0.00277	-0.00749	0.03339
	0.00059	0.00064	0.00058	0.00000	0.00511	0.00568	0.00541	0.00445	0.00452	0.00452	0.00214
B4	0.29663	-0.41638	-0.19043	1.00000	0.04851	0.03230	0.03273	0.00041	0.00117	0.00887	0.03812
	0.00098	0.00108	0.00088	0.00000	0.00889	0.00855	0.00747	0.00719	0.00692	0.00760	0.00329
O1	0.50048	-0.30615	0.31481	1.00000	0.04024	0.10288	0.03238	-0.02197	0.00152	-0.00381	0.05871
	0.00055	0.00068	0.00053	0.00000	0.00513	0.00713	0.00463	0.00457	0.00405	0.00469	0.00244
O2	0.49745	-0.30701	0.47593	1.00000	0.08061	0.26624	0.04679	-0.01344	0.00678	-0.07144	0.13126
	0.00073	0.00112	0.00064	0.00000	0.00707	0.01450	0.00651	0.00746	0.00586	0.00838	0.00479
C1	0.19808	-0.52977	0.03917	1.00000	0.05337	0.03440	0.03871	0.00194	0.00514	-0.00118	0.04217
	0.00087	0.00079	0.00076	0.00000	0.00788	0.00779	0.00665	0.00550	0.00648	0.00608	0.00302
C2	0.12127	-0.55404	-0.03489	1.00000	0.03409	0.05404	0.06506	-0.00131	0.00185	-0.01796	0.05136
	0.00081	0.00092	0.00093	0.00000	0.00705	0.00840	0.00829	0.00686	0.00687	0.00625	0.00323
H21	0.06117	-0.59200	-0.02628	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C3	0.14624	-0.51385	-0.12410	1.00000	0.05382	0.03721	0.05917	-0.00538	-0.00347	-0.00480	0.05084
	0.00093	0.00094	0.00084	0.00000	0.00885	0.00782	0.00841	0.00718	0.00681	0.00683	0.00313
C5	0.46980	-0.31160	-0.18210	1.00000	0.03178	0.05191	0.05385	0.02567	0.01601	0.00199	0.04498
	0.00080	0.00094	0.00082	0.00000	0.00718	0.00823	0.00779	0.00642	0.00641	0.00623	0.00309
C6	0.54809	-0.27749	-0.10943	1.00000	0.01836	0.04976	0.06262	-0.00823	0.01034	-0.00431	0.04314
	0.00073	0.00089	0.00088	0.00000	0.00647	0.00812	0.00800	0.00639	0.00603	0.00558	0.00302
H61	0.60676	-0.23851	-0.12099	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C7	0.52397	-0.31105	-0.01836	1.00000	0.03305	0.03634	0.03443	-0.00377	0.00524	0.00800	0.03450
	0.00075	0.00082	0.00075	0.00000	0.00757	0.00690	0.00671	0.00577	0.00561	0.00584	0.00276

C7A	0.42738	-0.36717	-0.03613	1.00000	0.02359	0.04629	0.03671	-0.00864	-0.00975	0.00998	0.03656
	0.00077	0.00084	0.00075	0.00000	0.00661	0.00751	0.00718	0.00588	0.00565	0.00627	0.00277
C8	0.36673	-0.42230	0.02809	1.00000	0.03241	0.03560	0.03254	-0.00298	0.00533	0.00259	0.03339
	0.00079	0.00084	0.00069	0.00000	0.00681	0.00672	0.00630	0.00570	0.00568	0.00610	0.00260
C8A	0.27481	-0.47219	-0.00774	1.00000	0.02804	0.04938	0.03401	-0.00927	0.00171	0.00559	0.03728
	0.00078	0.00083	0.00073	0.00000	0.00704	0.00877	0.00649	0.00557	0.00576	0.00594	0.00298
C9	0.19892	-0.56303	0.14516	1.00000	0.05781	0.05441	0.07027	0.00056	0.01534	-0.01930	0.06021
	0.00086	0.00095	0.00086	0.00000	0.00805	0.00802	0.00869	0.00714	0.00698	0.00698	0.00346
H91	0.26089	-0.53689	0.18258	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H92	0.19592	-0.64217	0.14960	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H93	0.14051	-0.53143	0.17145	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C10	0.08502	-0.52182	-0.22389	1.00000	0.04741	0.07216	0.06497	0.00752	-0.01345	-0.01212	0.06306
	0.00083	0.00096	0.00082	0.00000	0.00729	0.01013	0.00799	0.00706	0.00658	0.00699	0.00377
H101	0.12196	-0.48674	-0.27242	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H102	0.02000	-0.48562	-0.22220	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H103	0.07380	-0.59821	-0.24109	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C11	0.46181	-0.29692	-0.29153	1.00000	0.05319	0.07493	0.07308	0.01429	0.02262	-0.01517	0.06587
	0.00085	0.00100	0.00090	0.00000	0.00859	0.00981	0.00958	0.00765	0.00716	0.00725	0.00380
H111	0.39905	-0.32970	-0.32157	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H112	0.51923	-0.33213	-0.31661	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H113	0.46198	-0.21947	-0.30701	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C12	0.59318	-0.28521	0.07605	1.00000	0.03812	0.06022	0.06352	-0.00616	0.00303	-0.00348	0.05418
	0.00077	0.00092	0.00081	0.00000	0.00732	0.00865	0.00794	0.00674	0.00632	0.00632	0.00339
H121	0.56354	-0.31500	0.13183	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H122	0.60027	-0.20653	0.08337	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H123	0.65958	-0.31772	0.07279	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C1'	0.39177	-0.33076	0.30234	1.00000	0.04459	0.08080	0.04850	-0.02256	0.00494	-0.00877	0.05799
	0.00085	0.00097	0.00080	0.00000	0.00834	0.00981	0.00780	0.00679	0.00623	0.00704	0.00349
H1'1	0.35425	-0.27506	0.33494	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H1'2	0.37917	-0.40230	0.33091	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C2'	0.35791	-0.33130	0.19279	1.00000	0.02609	0.06204	0.04830	0.00003	-0.00151	-0.00071	0.04593
	0.00072	0.00091	0.00078	0.00000	0.00656	0.00880	0.00724	0.00648	0.00567	0.00617	0.00311
H2'1	0.37693	-0.26140	0.16497	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
H2'2	0.28356	-0.33701	0.18234	1.00000	0.05000						
	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000						
C3'	0.40338	-0.42403	0.13782	1.00000	0.03155	0.03520	0.04245	-0.00040	0.00426	-0.01020	0.03640
	0.00073	0.00084	0.00070	0.00000	0.00659	0.00704	0.00669	0.00579	0.00549	0.00577	0.00274

```

H3'1  0.38479 -0.49418 0.16547  1.00000  0.04000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

H3'2  0.47774 -0.41810 0.14718  1.00000  0.04000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

C1"   0.54379 -0.29787 0.40408  1.00000  0.04996 0.09691 0.06352 -0.01862 0.02392 -0.02166 0.06878
      0.00100 0.00116 0.00110  0.00000  0.00964 0.01100 0.00996 0.00887 0.00816 0.00796 0.00392

C2"   0.65556 -0.27088 0.41033  1.00000  0.04769 0.11304 0.06277 -0.00554 0.00380 -0.00228 0.07470
      0.00090 0.00118 0.00088  0.00000  0.00901 0.01226 0.00890 0.00817 0.00712 0.00825 0.00416

H2"1  0.66660 -0.22434 0.35433  1.00000  0.05000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

H2"2  0.69334 -0.33902 0.40402  1.00000  0.05000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

C3"   0.70007 -0.21310 0.50439  1.00000  0.07424 0.12161 0.03591 -0.01410 -0.00456 -0.01021 0.07810
      0.00101 0.00133 0.00085  0.00000  0.00996 0.01362 0.00736 0.00836 0.00721 0.00924 0.00432

H3"1  0.69228 -0.26159 0.55995  1.00000  0.05000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

H3"2  0.77318 -0.20299 0.50170  1.00000  0.05000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

C4"   0.65528 -0.10536 0.52444  1.00000  0.10271 0.16693 0.04631 -0.03775 0.00668 -0.01648 0.10546
      0.00115 0.00157 0.00094  0.00000  0.01239 0.01742 0.00837 0.01043 0.00814 0.01243 0.00567

H4"1  0.69000 -0.07668 0.58613  1.00000  0.05000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

H4"2  0.58353 -0.11594 0.53348  1.00000  0.05000
      0.00000 0.00000 0.00000  0.00000  0.00000

```

Final Structure Factor Calculation for Dmbodi32

Total number of l.s. parameters = 254 Maximum vector length = 511 Memory required = 2572 / 25550

wR2 = 0.2371 before cycle 6 for 2761 data and 0 / 254 parameters

Goof = S = 1.024; Restrained Goof = 1.024 for 0 restraints

Weight = 1 / [$\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0.1000 * P)^2 + 0.10 * P$] where $P = (\text{Max}(\text{Fo}^2, 0) + 2 * \text{Fc}^2) / 3$

R1 = 0.0894 for 1073 $\text{Fo} > 4.\sigma(\text{Fo})$ and 0.2491 for all 2761 data

wR2 = 0.2371, Goof = S = 1.024, Restrained Goof = 1.024 for all data

0.3 seconds elapsed time

Principal mean square atomic displacements U

```

0.1602 0.1352 0.0884 Br
0.0756 0.0667 0.0312 F1
0.0689 0.0502 0.0393 F2
0.0450 0.0301 0.0276 N3A
0.0426 0.0387 0.0188 N4A
0.0534 0.0329 0.0281 B4
0.1092 0.0413 0.0257 O1
0.2906 0.0578 0.0453 O2 may be split into 0.4915 -0.2881 0.4756 and 0.5034 -0.3259 0.4762
0.0535 0.0395 0.0335 C1
0.0672 0.0635 0.0235 C2
0.0682 0.0505 0.0338 C3
0.0794 0.0353 0.0203 C5
0.0670 0.0458 0.0166 C6
0.0437 0.0351 0.0247 C7
0.0601 0.0335 0.0161 C7A
0.0380 0.0339 0.0283 C8
0.0555 0.0299 0.0265 C8A
0.0780 0.0678 0.0348 C9
0.0910 0.0628 0.0354 C10
0.0886 0.0770 0.0320 C11
0.0684 0.0568 0.0374 C12
0.0930 0.0455 0.0356 C1'

```

0.0621	0.0505	0.0252	C2'
0.0438	0.0425	0.0230	C3'
0.1143	0.0574	0.0347	C1''
0.1137	0.0630	0.0474	C2''
0.1250	0.0779	0.0314	C3''
0.1797	0.1013	0.0354	C4''

Analysis of variance for reflections employed in refinement $K = \text{Mean}[F_o^2] / \text{Mean}[F_c^2]$ for group

Fc/Fc(max)	0.000	0.008	0.015	0.023	0.031	0.040	0.052	0.067	0.092	0.142	1.000
------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Number in group	310.	269.	286.	260.	262.	276.	268.	277.	277.	276.
-----------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Goof	0.927	1.008	0.991	1.087	1.080	1.114	1.044	0.983	1.092	0.916
------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

K	-0.482	4.284	1.078	1.306	1.137	1.074	0.999	1.011	0.996	1.002
---	--------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Resolution(A)	0.93	0.96	1.00	1.05	1.10	1.18	1.27	1.39	1.60	2.01	inf
---------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-----

Number in group	279.	273.	277.	278.	279.	272.	275.	280.	272.	276.
-----------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Goof	0.976	0.972	1.027	0.989	0.986	1.024	0.940	1.072	1.065	1.173
------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

K	0.888	1.238	0.979	0.920	1.025	1.017	1.041	1.043	1.009	1.006
---	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

R1	0.591	0.527	0.473	0.356	0.331	0.265	0.232	0.169	0.092	0.057
----	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Recommended weighting scheme: WGHT 0.0892 0.8858

Most Disagreeable Reflections (* if suppressed)

h	k	l	Fo^2	Fc^2	Delta(F^2)/esd	Fc/Fc(max)	Resolution(A)
0	5	2	182.13	35.21	4.29	0.025	2.28
9	9	2	667.27	135.77	3.84	0.048	0.96
6	6	5	404.30	23.79	3.84	0.020	1.25
5	2	0	277.39	54.19	3.75	0.030	2.39
8	2	2	1392.05	851.44	3.58	0.121	1.49
4	10	3	477.14	57.82	3.48	0.031	1.09
-4	4	8	418.40	83.74	3.48	0.038	1.40
0	5	1	166.30	35.95	3.37	0.025	2.38
-2	10	4	462.88	78.23	3.36	0.037	1.13
-7	4	1	689.82	445.57	3.34	0.087	1.59
0	6	0	8806.31	12488.59	3.34	0.462	2.02
-5	1	6	626.79	408.33	3.30	0.084	1.79
-10	1	2	490.81	17.16	3.30	0.017	1.30
-9	8	1	414.09	0.74	3.13	0.004	1.05
2	4	12	509.85	112.80	3.13	0.044	1.02
-3	2	2	974.76	704.54	3.10	0.110	3.25
-11	7	5	-460.46	43.65	3.07	0.027	0.95
3	9	4	-175.96	232.13	3.05	0.063	1.19
-7	5	2	495.21	230.42	3.03	0.063	1.47
-7	5	10	488.81	151.58	3.01	0.051	1.04
-6	6	3	353.35	140.69	2.97	0.049	1.44
0	7	4	207.97	8.44	2.95	0.012	1.54
-7	1	2	893.19	630.63	2.95	0.104	1.83
0	0	6	490.95	759.74	2.95	0.114	2.25
0	6	9	401.78	206.85	2.91	0.059	1.20
0	0	1	732.21	990.75	2.88	0.130	13.49
-3	7	5	487.24	269.01	2.81	0.068	1.41
10	5	6	542.12	154.12	2.81	0.051	0.98
5	8	4	-363.91	3.82	2.78	0.008	1.20
-5	2	2	441.11	284.83	2.77	0.070	2.33
-5	10	2	438.62	697.21	2.74	0.109	1.09
-7	3	10	405.45	148.28	2.74	0.050	1.11
4	8	5	543.02	208.94	2.71	0.060	1.20
-4	4	1	370.19	163.87	2.70	0.053	2.21
11	4	0	-351.72	24.27	2.69	0.020	1.10
5	1	1	3592.50	2772.25	2.69	0.218	2.45
0	1	11	224.59	0.59	2.68	0.003	1.22
1	5	5	309.66	492.26	2.67	0.092	1.77

7	6	9	368.20	0.94	2.67	0.004	0.97
-4	3	4	1979.10	1478.89	2.66	0.159	2.12
7	6	2	314.41	15.43	2.66	0.016	1.32
-6	9	9	-392.22	31.17	2.62	0.023	0.94
6	3	3	254.44	427.79	2.62	0.086	1.70
1	8	11	416.17	51.00	2.61	0.030	0.94
1	10	9	-362.23	60.48	2.59	0.032	0.93
9	3	0	-238.21	65.56	2.59	0.033	1.36
-4	6	3	321.60	109.49	2.57	0.043	1.63
5	1	10	419.45	176.23	2.52	0.055	1.14
10	2	7	-347.88	37.86	2.52	0.025	1.01
2	5	4	921.20	686.72	2.51	0.108	1.85

0.1 seconds elapsed time

FMAP and GRID set by program

FMAP 2 2 14

GRID -2.273 -2 -2 2.273 2 2

R1 = 0.2440 for 2761 unique reflections after merging

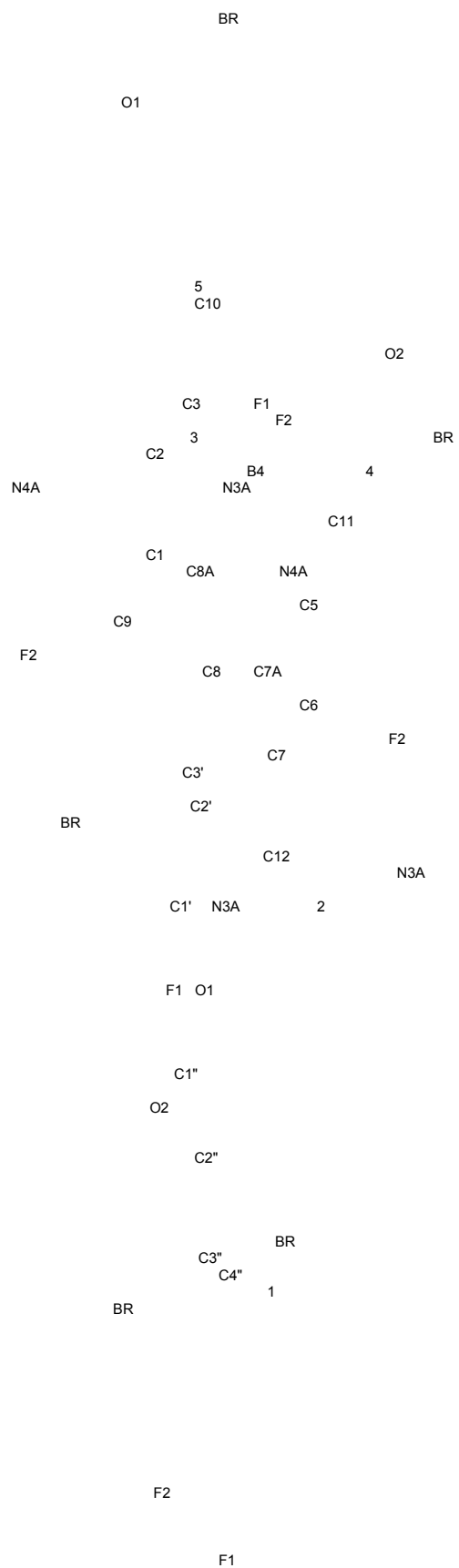
Electron density synthesis with coefficients Fo-Fc

Maximum = 0.37, Minimum = -0.48 e/A³, Highest memory used = 1248 / 17079

Mean = 0.00, Rms deviation from mean = 0.07 e/A³

0.1 seconds elapsed time

Molecule 1 scale 0.458 inches = 1.163 cm per Angstrom



Atom	Peak	x	y	z	Sof	Height	Distances and Angles								
BR	0.00	0.6640	0.0028	0.4221	1.000	2.9	0 H2"1	2.898							
							0 H3"2	3.008 46.2							
							0 C4"	1.921 65.7 40.7							
							0 1	1.269 132.5 101.1 68.2							
							21 H113	3.381 127.6 173.4 142.7 85.1							
							17 H93	3.399 77.4 115.4 141.9 143.4 58.4							
							26 H3"1	3.408 142.0 115.5 126.6 77.3 67.7 88.4							
							18 H102	3.418 79.6 125.6 120.5 115.8 48.7 39.3 110.8							
							25 H2"2	3.422 136.3 90.9 87.4 49.6 94.8 127.8 39.6 143.5							
							23 H1'2	3.429 60.6 57.3 98.0 138.3 119.0 70.0 81.5 105.1 92.3							
							F1	0.00	0.3163	-0.4949	-0.2574	1.000	1.2	0 B4	1.359
														0 H101	2.532 76.1
														0 H111	2.478 78.3 114.6
0 3	1.768 86.4 83.1 152.4														
28 H4"1	2.682 99.0 53.2 73.5 132.2														
24 H2"2	2.821 166.6 90.4 108.2 91.9 72.4														
F2	0.00	0.2395	-0.3309	-0.2392	1.000	2.1	0 B4	1.397							
							0 H101	2.442 79.0							
							0 H111	2.481 77.6 117.8							
							28 H4"1	2.634 100.1 54.7 74.3							
							15 H61	2.636 107.6 85.0 157.2 124.9							
							16 H92	2.677 107.0 154.3 87.8 143.4 69.4							
							27 H3"1	2.947 139.8 93.5 71.2 47.5 111.1 96.8							
N3A	0.00	0.2388	-0.4622	-0.1083	1.000	2.1	0 B4	1.523							
							0 C3	1.358 124.2							
							0 C8A	1.398 127.3 108.0							
							0 H101	2.570 72.8 51.6 159.6							
							0 3	1.957 75.7 88.1 101.4 78.7							
							15 H61	2.974 89.7 82.2 104.8 76.1 153.7							
							22 H123	2.989 101.1 89.4 70.8 104.3 31.8 168.8							
N4A	0.00	0.3979	-0.3664	-0.1370	1.000	1.5	0 B4	1.558							
							0 C5	1.354 125.3							
							0 C7A	1.380 125.8 108.8							
							0 H111	2.546 73.2 52.2 161.0							
							16 H92	2.974 90.2 80.3 97.5 80.4							
B4	0.00	0.2966	-0.4164	-0.1904	1.000	1.7	0 F1	1.359							
							0 F2	1.397 109.4							
							0 N3A	1.523 112.6 109.4							
							0 N4A	1.558 111.4 108.3 105.6							
							0 H101	2.571 73.0 68.8 72.8 175.5							
							0 H111	2.573 70.6 70.4 176.5 71.4 110.1							
							O1	0.00	0.5005	-0.3061	0.3148	1.000	2.4	0 H121	2.709
0 C1'	1.445 106.5														
0 H2'1	2.508 60.1 54.2														
0 H3'2	2.635 37.2 77.4 54.0														
0 C1"	1.281 136.2 116.7 157.5 148.3														
0 H2"1	2.394 81.8 165.7 125.3 114.5 57.6														
0 H2"2	2.702 92.1 151.6 151.4 108.6 45.5 35.1														
19 H103	2.837 80.8 81.3 50.2 98.7 111.2 88.8 123.6														
O2	0.00	0.4974	-0.3070	0.4759	1.000	2.9								0 H1'1	2.550
														0 H1'2	2.627 35.4
							0 C1"	1.212 77.0 75.1							
							0 H2"2	2.874 111.9 99.1 35.9							
							0 H3"1	2.728 148.7 147.6 77.7 48.8							
							0 H4"2	2.649 109.9 142.9 85.5 81.5 49.9							
							20 H112	2.815 138.5 133.3 144.4 109.5 67.7 78.9							
							C1	0.00	0.1981	-0.5298	0.0392	1.000	2.5	0 C2	1.370
														0 C8A	1.431 105.8
0 C9	1.493 125.0 129.2														
C2	0.00	0.1213	-0.5540	-0.0349	1.000	2.5	0 C1	1.370							
							0 H21	0.930 125.0							
							0 C3	1.379 109.9 125.0							

H21	0.00	0.0612	-0.5920	-0.0263	1.000	2.7	0 C2	0.930
C3	0.00	0.1462	-0.5139	-0.1241	1.000	2.3	0 N3A	1.358
							0 C2	1.379 108.7
							0 C10	1.496 123.2 128.0
C5	0.00	0.4698	-0.3116	-0.1821	1.000	1.3	0 N4A	1.354
							0 C6	1.401 108.4
							0 C11	1.488 122.5 129.0
C6	0.00	0.5481	-0.2775	-0.1094	1.000	1.2	0 C5	1.401
							0 H61	0.930 125.6
							0 C7	1.372 108.8 125.6
H61	0.00	0.6068	-0.2385	-0.1210	1.000	1.0	0 C6	0.930
							8 F2	2.636 151.6
							11 N3A	2.974 152.9 49.9
C7	0.00	0.5240	-0.3111	-0.0184	1.000	1.4	0 C6	1.372
							0 C7A	1.431 106.2
							0 C12	1.515 121.6 132.2
C7A	0.00	0.4274	-0.3672	-0.0361	1.000	1.7	0 N4A	1.380
							0 C7	1.431 107.8
							0 C8	1.412 120.2 132.0
C8	0.00	0.3667	-0.4223	0.0281	1.000	2.0	0 C7A	1.412
							0 C8A	1.384 121.1
							0 C3'	1.512 118.5 120.3
C8A	0.00	0.2748	-0.4722	-0.0077	1.000	2.1	0 N3A	1.398
							0 C1	1.431 107.5
							0 C8	1.384 119.2 133.1
C9	0.00	0.1989	-0.5630	0.1452	1.000	2.6	0 C1	1.493
							0 H91	0.960 109.5
							0 H92	0.960 109.5 109.5
							0 H93	0.960 109.5 109.5 109.5
H91	0.00	0.2609	-0.5369	0.1826	1.000	2.5	0 C9	0.960
H92	0.00	0.1959	-0.6422	0.1496	1.000	2.4	0 C9	0.960
							7 F2	2.677 149.9
							12 N4A	2.974 157.7 49.9
H93	0.00	0.1405	-0.5314	0.1714	1.000	3.1	0 C9	0.960
							4 BR	3.399 115.4
C10	0.00	0.0850	-0.5218	-0.2239	1.000	2.3	0 C3	1.496
							0 H101	0.960 109.5
							0 H102	0.960 109.5 109.5
							0 H103	0.960 109.5 109.5 109.5
							0 5	1.417 93.6 63.5 156.7 57.7
H101	0.00	0.1220	-0.4867	-0.2724	1.000	2.1	0 F1	2.532
							0 F2	2.442 53.7
							0 N3A	2.570 56.1 56.7
							0 B4	2.571 30.9 32.2 34.5
							0 C10	0.960 120.6 124.8 75.7 110.0
							0 5	1.309 65.7 118.2 81.4 87.6 75.5
H102	0.00	0.0200	-0.4856	-0.2222	1.000	2.7	0 C10	0.960
							2 BR	3.418 120.5
H103	0.00	0.0738	-0.5982	-0.2411	1.000	2.1	0 C10	0.960
							0 5	1.214 80.4
							13 O1	2.837 167.3 107.5
C11	0.00	0.4618	-0.2969	-0.2915	1.000	1.0	0 C5	1.488
							0 H111	0.960 109.5
							0 H112	0.960 109.5 109.5
							0 H113	0.960 109.5 109.5 109.5
							0 4	1.731 107.8 74.9 138.0 38.1
H111	0.00	0.3991	-0.3297	-0.3216	1.000	1.2	0 F1	2.478
							0 F2	2.481 54.0
							0 N4A	2.546 57.4 56.9

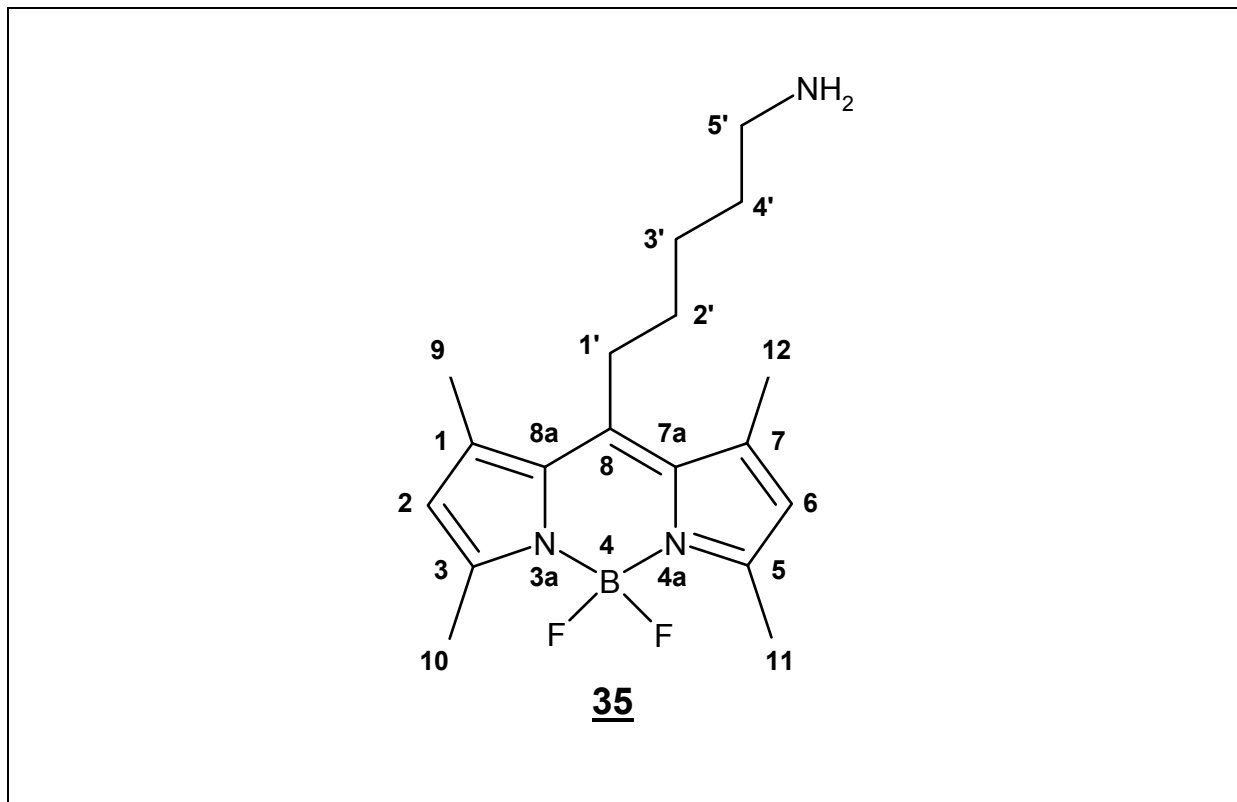
					0 B4	2.573	31.2	32.0	35.4						
					0 C11	0.960	124.8	122.3	75.9	111.3					
H112	0.00	0.5192	-0.3321	-0.3166	1.000	0.6	0	0 C11	0.960						
					14 O2	2.815	108.3								
H113	0.00	0.4620	-0.2195	-0.3070	1.000	1.2	0	0 C11	0.960						
					0 4	1.141	110.7								
					1 BR	3.381	147.6	41.1							
C12	0.00	0.5932	-0.2852	0.0761	1.000	1.4	0	0 C7	1.515						
					0 H121	0.960	109.5								
					0 H122	0.960	109.5	109.5							
					0 H123	0.960	109.5	109.5	109.5						
					0 2	1.184	108.8	141.1	50.0	62.7					
H121	0.00	0.5635	-0.3150	0.1318	1.000	1.6	0	0 O1	2.709						
					0 C12	0.960	154.5								
H122	0.00	0.6003	-0.2065	0.0834	1.000	1.7	0	0 C12	0.960						
					0 2	0.929	77.6								
H123	0.00	0.6596	-0.3177	0.0728	1.000	1.0	0	0 C12	0.960						
					0 2	1.131	68.4								
					10 N3A	2.989	138.2	153.2							
C1'	0.00	0.3918	-0.3308	0.3023	1.000	2.8	0	0 O1	1.445						
					0 H1'1	0.970	110.3								
					0 H1'2	0.970	110.3	108.6							
					0 C2'	1.502	106.9	110.3	110.3						
H1'1	0.00	0.3542	-0.2751	0.3349	1.000	3.3	0	0 O2	2.550						
					0 C1'	0.970	82.5								
H1'2	0.00	0.3792	-0.4023	0.3309	1.000	2.8	0	0 O2	2.627						
					0 C1'	0.970	78.2								
					4 BR	3.429	108.8	130.2							
C2'	0.00	0.3579	-0.3313	0.1928	1.000	2.7	0	0 C1'	1.502						
					0 H2'1	0.970	108.8								
					0 H2'2	0.970	108.8	107.7							
					0 C3'	1.507	113.9	108.8	108.8						
H2'1	0.00	0.3769	-0.2614	0.1650	1.000	2.8	0	0 O1	2.508						
					0 C2'	0.970	70.5								
H2'2	0.00	0.2836	-0.3370	0.1823	1.000	3.0	0	0 C2'	0.970						
C3'	0.00	0.4034	-0.4240	0.1378	1.000	2.1	0	0 C8	1.512						
					0 C2'	1.507	112.3								
					0 H3'1	0.970	109.2	109.2							
					0 H3'2	0.970	109.2	109.2	107.9						
H3'1	0.00	0.3848	-0.4942	0.1655	1.000	2.0	0	0 C3'	0.970						
H3'2	0.00	0.4777	-0.4181	0.1472	1.000	1.8	0	0 O1	2.635						
					0 C3'	0.970	99.4								
C1"	0.00	0.5438	-0.2979	0.4041	1.000	2.5	0	0 O1	1.281						
					0 O2	1.212	123.1								
					0 C2"	1.493	113.3	123.6							
C2"	0.00	0.6556	-0.2709	0.4103	1.000	2.1	0	0 C1"	1.493						
					0 H2"1	0.970	108.4								
					0 H2"2	0.970	108.4	107.5							
					0 C3"	1.512	115.4	108.4	108.4						
H2"1	0.00	0.6666	-0.2243	0.3543	1.000	2.0	0	0 BR	2.898						
					0 O1	2.394	114.8								
					0 C2"	0.970	107.0	73.9							
H2"2	0.00	0.6933	-0.3390	0.4040	1.000	1.7	0	0 O1	2.702						
					0 O2	2.874	46.2								
					0 C2"	0.970	56.9	51.0							
					5 F1	2.821	79.9	111.5	133.3						
					3 BR	3.422	143.1	106.2	131.1	93.8					

C3"	0.00	0.7001	-0.2131	0.5044	1.000	2.3	0	C2"	1.512
								0 H3"1	0.970 108.2
								0 H3"2	0.970 108.2 107.4
								0 C4"	1.467 116.3 108.2 108.2
H3"1	0.00	0.6923	-0.2616	0.5599	1.000	2.3	0	O2	2.728
								0 C3"	0.970 88.5
								9 F2	2.947 123.4 117.4
								3 BR	3.408 110.1 117.0 101.3
H3"2	0.00	0.7732	-0.2030	0.5017	1.000	2.0	0	BR	3.008
								0 C3"	0.970 71.8
C4"	0.00	0.6553	-0.1054	0.5244	1.000	2.9	0	BR	1.921
								0 C3"	1.467 114.3
								0 H4"1	0.970 108.7 108.7
								0 H4"2	0.970 108.7 108.7 107.6
								0 1	1.869 39.1 151.4 79.9 93.7
H4"1	0.00	0.6900	-0.0767	0.5861	1.000	3.0	0	C4"	0.970
								9 F2	2.634 131.9
								6 F1	2.682 169.9 50.1
H4"2	0.00	0.5835	-0.1159	0.5335	1.000	3.2	0	O2	2.649
								0 C4"	0.970 117.6
1	0.37	0.6400	0.0464	0.5013	1.000	3.3	0	BR	1.269
								0 C4"	1.869 72.7
2	0.27	0.6600	-0.2259	0.0567	1.000	1.3	0	C12	1.184
								0 H122	0.929 52.4
								0 H123	1.131 48.9 98.6
3	0.24	0.3000	-0.5926	-0.1636	1.000	1.3	0	F1	1.768
								0 N3A	1.957 80.0
4	0.24	0.3800	-0.1868	-0.3227	1.000	1.7	0	C11	1.731
								0 H113	1.141 31.3
5	0.24	0.1600	-0.5869	-0.2642	1.000	1.7	0	C10	1.417
								0 H101	1.309 41.0
								0 H103	1.214 41.9 76.7

Code Atom x y z Height Symmetry Transformation

1	BR	0.3360	-0.0028	-0.4221	2.2	1.0000-X	0.0000-Y	0.0000-Z
2	BR	-0.1640	-0.4972	-0.4221	3.0	0.5000-X	-0.5000+Y	0.0000-Z
3	BR	0.8360	-0.4972	0.5779	1.0	1.5000-X	-0.5000+Y	1.0000-Z
4	BR	0.1640	-0.5028	0.4221	3.7	-0.5000+X	-0.5000-Y	0.0000+Z
5	F1	0.6837	-0.5051	0.2574	0.9	1.0000-X	-1.0000-Y	0.0000-Z
6	F1	0.8163	-0.0051	0.7426	3.0	0.5000+X	-0.5000-Y	1.0000+Z
7	F2	0.2605	-0.8309	0.2392	1.8	0.5000-X	-0.5000+Y	0.0000-Z
8	F2	0.7395	-0.1691	-0.2392	0.3	0.5000+X	-0.5000-Y	0.0000+Z
9	F2	0.7395	-0.1691	0.7608	2.9	0.5000+X	-0.5000-Y	1.0000+Z
10	N3A	0.7612	-0.5378	0.1083	0.0	1.0000-X	-1.0000-Y	0.0000-Z
11	N3A	0.7388	-0.0378	-0.1083	1.0	0.5000+X	-0.5000-Y	0.0000+Z
12	N4A	0.1021	-0.8664	0.1370	2.2	0.5000-X	-0.5000+Y	0.0000-Z
13	O1	-0.0005	-0.8061	-0.3148	1.6	0.5000-X	-0.5000+Y	0.0000-Z
14	O2	0.4975	-0.3070	-0.5241	0.2	0.0000+X	0.0000+Y	-1.0000+Z
15	H61	0.1068	-0.2615	-0.1210	3.2	-0.5000+X	-0.5000-Y	0.0000+Z
16	H92	0.3041	-0.1422	-0.1496	2.6	0.5000-X	0.5000+Y	0.0000-Z
17	H93	0.6405	0.0314	0.1714	2.4	0.5000+X	-0.5000-Y	0.0000+Z
18	H102	0.4800	0.0144	0.2222	3.2	0.5000-X	0.5000+Y	0.0000-Z
19	H103	0.4262	-0.0982	0.2411	3.2	0.5000-X	0.5000+Y	0.0000-Z
20	H112	0.5192	-0.3321	0.6834	3.3	0.0000+X	0.0000+Y	1.0000+Z
21	H113	0.5380	0.2195	0.3070	3.8	1.0000-X	0.0000-Y	0.0000-Z
22	H123	0.3404	-0.6823	-0.0728	1.0	1.0000-X	-1.0000-Y	0.0000-Z
23	H1'2	0.8792	-0.0977	0.3309	1.3	0.5000+X	-0.5000-Y	0.0000+Z
24	H2"2	0.3067	-0.6610	-0.4040	0.4	1.0000-X	-1.0000-Y	0.0000-Z
25	H2"2	0.8067	0.1610	0.5960	3.2	1.5000-X	0.5000+Y	1.0000-Z
26	H3"1	0.8077	0.2384	0.4401	3.0	1.5000-X	0.5000+Y	1.0000-Z
27	H3"1	0.1923	-0.2384	-0.4401	2.1	-0.5000+X	-0.5000-Y	-1.0000+Z
28	H4"1	0.1900	-0.4233	-0.4139	1.6	-0.5000+X	-0.5000-Y	-1.0000+Z

8.1.9. Darstellung von 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

1 g \equiv 2,5 mmol 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-
methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen
250 mL \equiv 3,75 mol konzentrierte Ammoniaklösung

Durchführung:

Das in 250 ml Methanol gelöste 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen wird mit Ammoniak versetzt und 4 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Das Methanol wird unter vermindertem Druck abdestilliert und die wässrige Emulsion durch Gefriertrocknung vom Wasser

befreit. Das Rohprodukt wird auf Kieselgel 60 aufgetragen und mit Dichlormethan / Methanol (40:1) eluiert.

Ausbeute : 465 mg \equiv 1,4 mmol \equiv 56 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂ / MeOH 9:1) :	0,08
m.p.:	212°C _{Zers.}
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 494 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 510 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1,45-1,62 (m, 6H, C2'-H₂ bis C4'-H₂), 2,33 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,46 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,72 (t, 6,75 Hz, 2H, C5'-H₂), 2,86 (m, 2H, C1'-H₂), 3,2 (s, 2H, NH₂), 5,99 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,3 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,3 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 27,4 (s, 1C, CH₂-3'), 28,2 (s, 1C, CH₂-1'), 31,5 (s, 1C, CH₂-4'), 32,0 (s, 1C, CH₂-2'), 41,5 (s, 1C, CH₂-5') 121,5 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,3 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,2 (s, 2C, C-1 und C-7), 146,1 (s, 1C, C-8), 153,7 (s, 2C, C-3 und C-5).

MS (EI) (m/z) : 333 (m⁺), 313 (m⁺ -HF), 298 (m⁺ -HF -CH₃), 229 (m⁺ -HF -NH₂CH₂CH₂CH₂CH₂),

HR*-MS : 332,2229

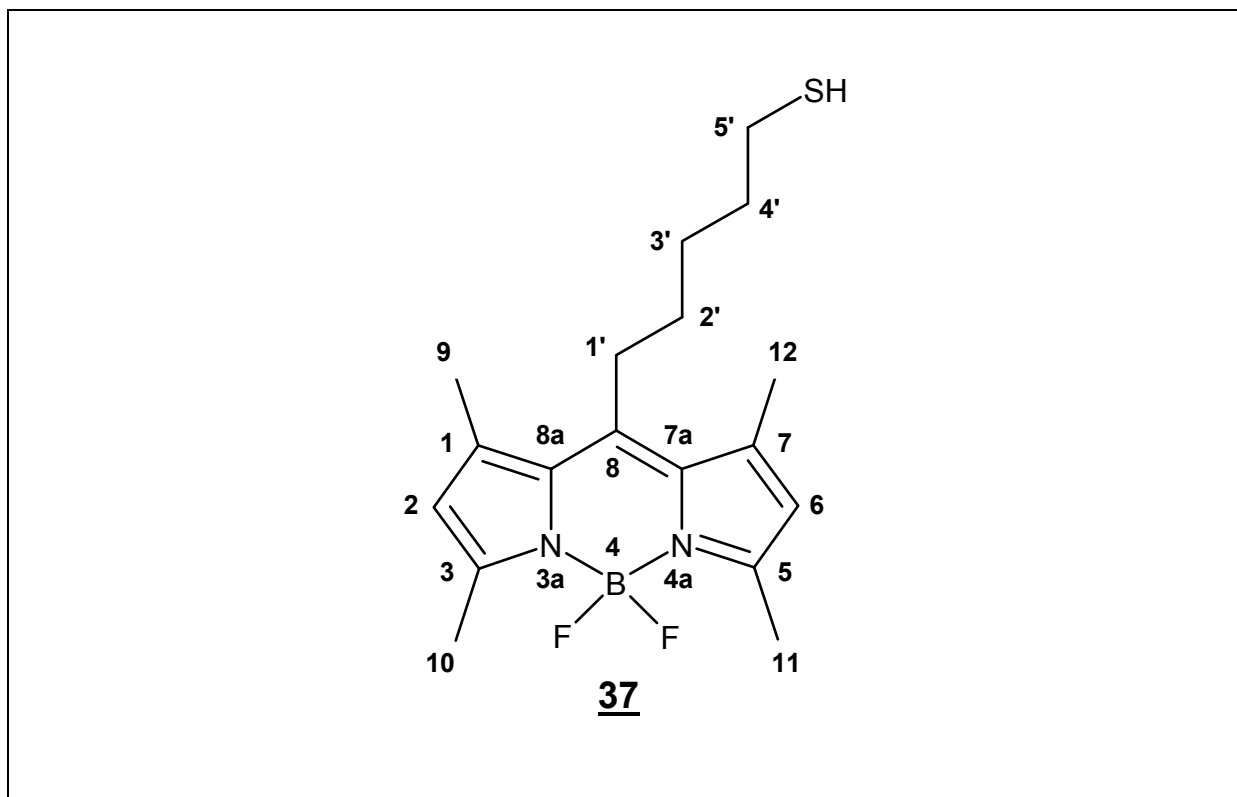
Rel. Intensität : 4,64%

Unterschied : -0,5 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 18, ¹H : 26, ¹⁰B : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 3

8.1.10. Darstellung von 8-(5-Mercaptopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

400 mg \equiv 1 mmol 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-
methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen

3 g \equiv 45,5 mmol Natriumhydrogensulfid

Durchführung:

Das in 300 ml Methanol gelöste 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen wird mit Natriumhydrogensulfid und 10 mg Natriumiodid versetzt und 3 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Methanol wird unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt aus dem Rückstand mit Dichlormethan ausgewaschen. Das Rohprodukt wird auf Kieselgel 60 aufgetragen und mit Dichlormethan eluiert.

Ausbeute : 250 mg \equiv 0,24 mmol \equiv 71%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂ / MeOH 9:1) :	0,26
m.p.:	183°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 493 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 513 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1,5-1,8 (m, 6H, C2'-H₂ bis C4'-H₂) 2,37 und 2,38 (2s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,48 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,66 (t, 7,5 Hz, 2H, C5'-H₂), 2,86 (m, 2H, C1'-H₂), 6,02 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 14,4 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 16,4 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 28,2 (s, 1C, CH₂-1'), 28,7 (s, 1C, CH₂-3'), 28,8 (s, 1C, CH₂-4'), 31,4 (s, 1C, CH₂-2'), 38,5 (s, 1C, CH₂-5') 121,6 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 131,4 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,2 (s, 2C, C-1 und C-7), 146,0 (s, 1C, C-8), 153,9 (s, 2C, C-3 und C-5).

MS (EI) (m/z) : 350 (m⁺), (m⁺), 317 (m⁺-HS), 262 (m⁺ - HSCH₂CH₂CH₂), 247 (m⁺ -HSCH₂CH₂CH₂CH₃)

HR*-MS : 350,1807

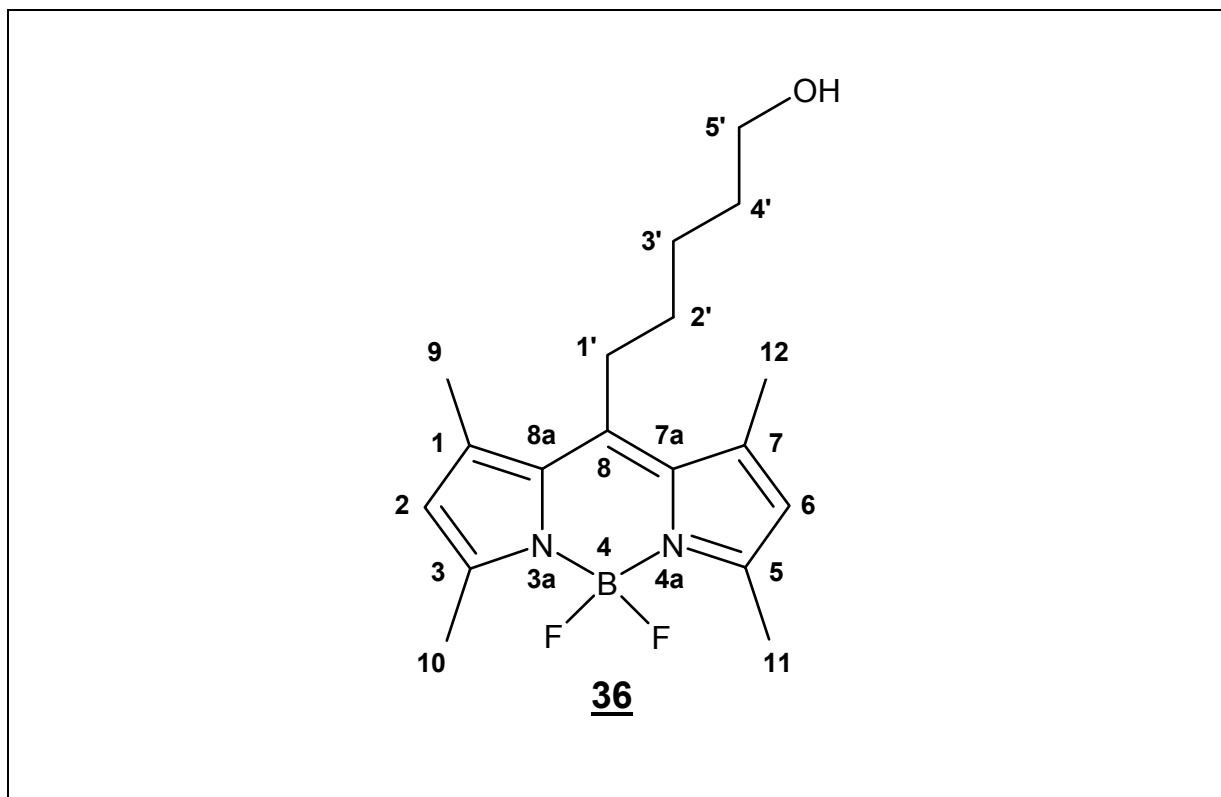
Rel. Intensität : 67,3%

Unterschied : -0,7 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 18, ¹H : 25, ¹¹B : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2, ³²S : 1

8.1.11. Darstellung von 8-(5-Hydroxypentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen:



Ansatz :

120 mg \equiv 0,3 mmol 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-
methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen

7 g \equiv 85,5 mmol Natriumethanolat

Durchführung:

Das Natriumethanolat wird in 45 ml wässrigem Ethanol suspendiert und mit dem in 5 ml Ethanol / Dichlormethan (1:1) gelösten 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen und 10 mg Kaliumiodid versetzt. Nach 48stündigem Erhitzen unter Rückfluß wird das Ethanol abdestilliert und die wässrige Emulsion durch Gefriertrocknung vom Wasser befreit. Das in Dichlormethan aufgenommene Rohprodukt wird anschließend

mit Wasser gewaschen, das Dichlormethan unter vermindertem Druck abdestilliert, auf Kieselgel 60 aufgetragen und mit Dichlormethan eluiert.

Ausbeute : 40 mg \equiv 0,12 mmol \equiv 40%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂ / MeOH 9:1) :	0,24
m.p.:	118°C
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 495 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 507 nm

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 1,5-16 (m, 6H, C2'-H₂ bis C4'-H₂) 2,39 (s, 6H, C9-H₃ und C12-H₃), 2,40 (s, 6H, C10-H₃ und C11-H₃), 2,92 (m, 2H, C1'-H₂), 3,40 (t, 6 Hz, 2H, C5'-H₂), 5,74 (s, 1H, OH), 6,21 (s, 2H, C2-H und C6-H).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 14,2 (t, 2C, CH₃-10 und CH₃-11), 15,9 (s, 2C, CH₃-9 und CH₃-12), 26,4 (s, 1C, CH₂-3'), 28,0 (s, 1C, CH₂-1'), 31,4 (s, 1C, CH₂-2'), 32,1 (s, 1C, CH₂-4'), 60,7 (s, 1C, CH₂-5'), 121,8 (s, 2C, CH-2 und CH-6), 130,9 (s, 2C, C-7a und C-8a), 140,9 (s, 2C, C 1 und C-7), 147,0 (s, 1C, C-8), 153,1 (s, 2C, C-3 und C-5).

MS (EI) (m/z) : 334 (m⁺), 333 (m⁺), 319 (m⁺ - CH₃), 314 (m - H⁺ - HF),
299 (m⁺ - H - 2 HF), 262 (m⁺ - HOCH₂CH₂CH₂), 247
(m⁺ -HOCH₂CH₂CH₂CH₃)

HR*-MS : 333,2058

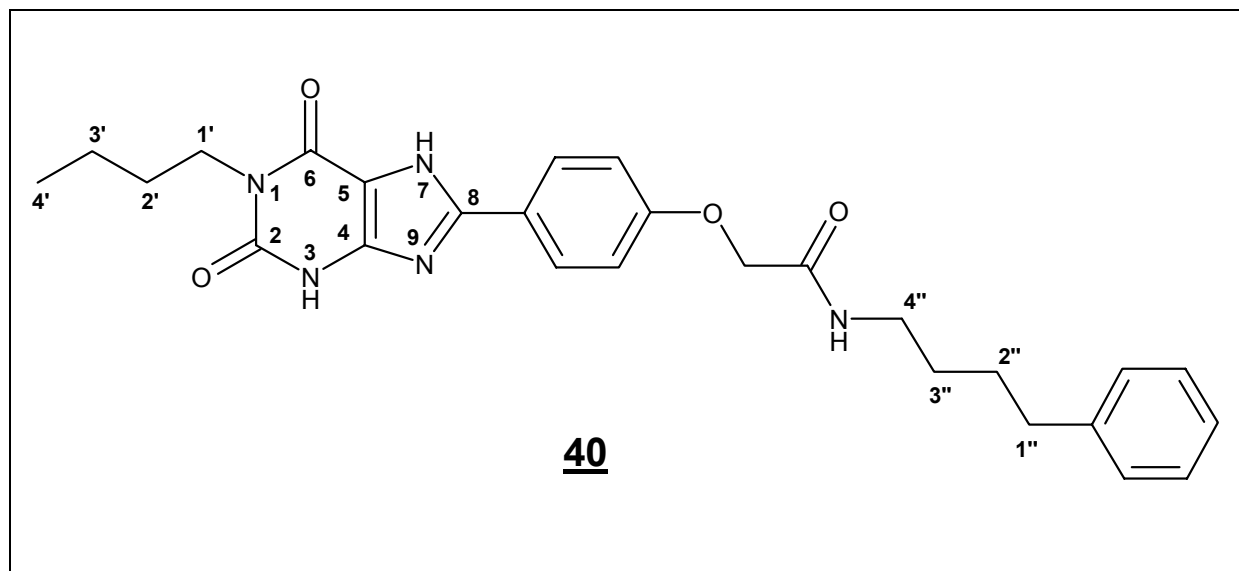
Rel. Intensität : 25,96%

Unterschied : -0,7 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 6,5

Formel : ¹²C : 18, ¹H : 25, ¹⁰B : 1, ¹⁸F : 2, ¹⁴N : 2, ¹⁶O : 1

8.1.12. Darstellung von 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-(phenoxyessigsäure-4-phenylbutylamid):



Ansatz :

- | | | |
|-------|-------------|---|
| 50 mg | ≡ 0,14 mmol | 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-phenoxyessigsäure |
| 21 mg | ≡ 0,14 mmol | 4-Phenylbutylamin |
| 27 mg | ≡ 0,14 mmol | N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl |

Durchführung:

Unter Argonatmosphäre werden die 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-phenoxyessigsäure und das N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl in 10 mL trockenem Dimethylformamid und 5 mL Dichlormethan gelöst und bei RT mit dem in 5 mL Dichlormethan gelösten 4-Phenylbutylamin versetzt. Nach 24stündigem Rühren wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt auf Kieselgel 60 aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Methanol (40:1) eluiert. Nicht umgesetztes Edukt

kann anschließend durch Eluation der Säule mit Methanol zurückgewonnen werden (25 mg \equiv 50 %).

Ausbeute : 15 mg \equiv 0,03 mmol \equiv 22 %

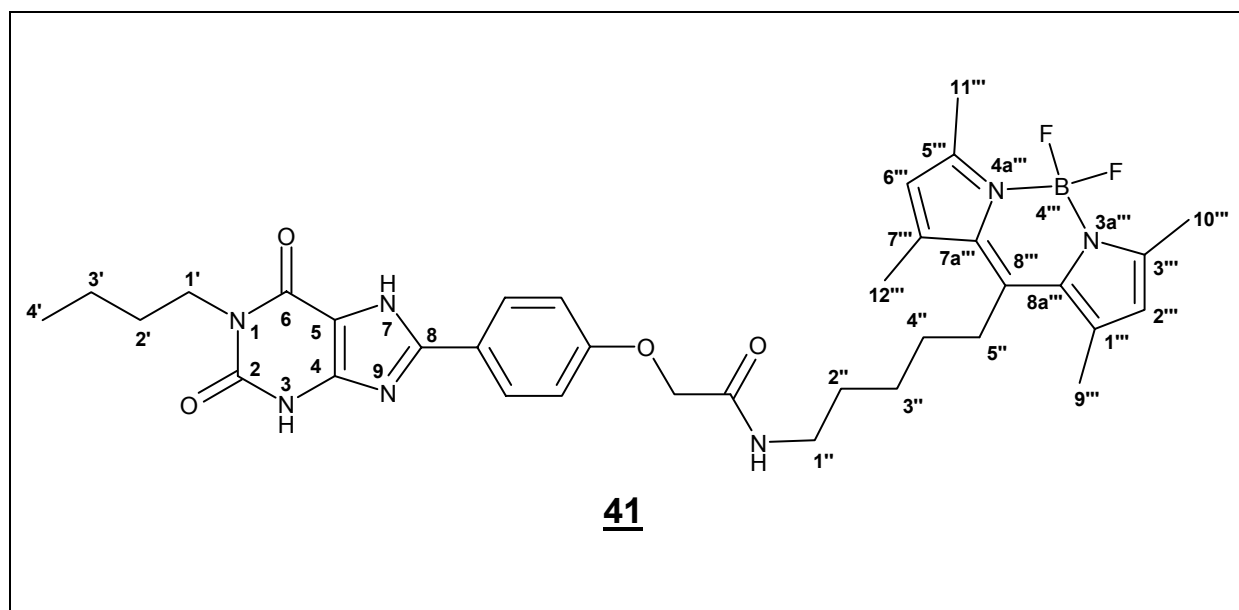
Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (CH₂Cl₂ / MeOH 9:1) : 0,67
m.p.: >300°C

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 0,91 (t, 7,5 Hz, 3H, C4'-H₃), 1,31 (sext, 7,5 Hz, 2H, C3'-H₂), 1,45 (quin, 7,5 Hz, 2H, C2'-H₂), 1,53 (2 quin, 7,5 Hz, 4H, C2''-H₂ und C3''-H₂), 2,56 (t, 7,5 Hz, 2H, C4''-H₂), 3,17 (dt, 7,5 und 6 Hz, 2H, C1''-H₂), 3,87 (t, 7,5 Hz, C1'-H₂), 4,55 (s, 2H, -OCH₂-CONHR), 7,07 und 8,04 (2d, 8,8 Hz, AA'BB', 4H, ArCH-Phenoxy), 7,13 bis 7,26 (m, 5H, ArCH-Phenyl), 11,82 (s, 1H, N3-H), 13,45 (s, 1H, N7-H).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 14,1 (s, 1C, CH₃-4'), 20,0 (s, 1C, CH₂-3'), 28,7 und 29,1 (s, 2C, CH₂-2'' und CH₂-3''), 30,4 (s, 1C, CH₂-2'), 35,1 (s, 1C, CH₂-4''), 40,0 (s, 1C, CH₂-1'), 67,4 (s, 1C, -OCH₂-CONHR), 107,6 (s, 1C, C-5), 148,1 (s, 1C, C-4), 150,4 (s, 1C, C-8), 151,3 (s, 1C, C-2), 155,0 (s, 1C, C-6), 167,5 (s, 1C, -R-CONHR) 115,5, 122,4, 128,3 und 159,6 (4s, 6C, ArC-Phenoxy), 126,0, 128,5-128,6, 142,4 (4s, 6C, ArC-Phenyl).

8.1.13. Darstellung von 2-[4-(1-Butyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-phenoxy]-N-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]acetamid:



Ansatz :

- 62 mg \equiv 0,17 mmol 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-phenoxyessigsäure
- 68 mg \equiv 0,2 mmol 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen
- 41 mg \equiv 0,21 mmol N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl

Durchführung:

Unter Argonatmosphäre werden die 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-phenoxyessigsäure und das N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl in 10 mL trockenem Dimethylformamid und 5 mL Dichlormethan gelöst und bei RT mit dem in 5 mL Dichlormethan gelösten 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen versetzt. Nach 44stündigem

Rühren wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt auf Kieselgel 60 aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Methanol (40:1) eluiert.

Ausbeute : 31 mg \equiv 0,05 mmol \equiv 27 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂ / MeOH 9:1) :	0,68
m.p.:	218 °C _{zers.}
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 496 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 508 nm

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 0,92 (t, 7,5 Hz, 3H, C4'-H₃) 1,32 (sext, 7,5 Hz, 2H, C3'-H₂), 1,4 – 1,6 (m, 8H, C2'-H₂, C2''-H₂, C3''-H₂ und C4'' H₂), 2,4 (s, 12H, C9'''-H₃, C10'''-H₃, C11'''-H₃ und C12'''-H₃), 2,92 (m, 2H, C5''-H₂), 3,17 (dt, 7,5 und 5,9 Hz, 2H, C1''-H₂), 3,87 (t, 7,5 Hz, C1'-H₂), 4,56 (s, 2H, -OCH₂-CONHR), 6,22 (s, 2H, C2'''-H und C6'''-H) 7,08 und 8,05 (2d, 8,8 Hz, AA'BB', 4H, ArCH-Phenoxy), 8,1 (t, 5,5 Hz, Amid-NH), 11,81 (s, 1H, N3-H), 13,45 (s, 1H, N7-H).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 14,1 (s, 1C, CH₃-4'), 14,4 (t, 2C, CH₃-10''' und CH₃-11'''), 16,2 (s, 2C, CH₃-9''' und CH₃-12'''), 20,0 (s, 1C, CH₂-3'), 27,3 (s, 1C, CH₂-3''), 28,1 (s, 1C, CH₂-5''), 29,1 (s, 1C, CH₂-2''), 30,1 (s, 1C, CH₂-4''), 31,4 (s, 1C, CH₂-2'), 38,4 (s, 1C, CH₂-1''), 40,0 (s, 1C, CH₂-1'), 67,5 (s, 1C, -OCH₂-CONHR), 107,6 (s, 1C, C-5), 122,0 (s, 2C, CH-2''' und CH-6'''), 131,1 (s, 2C, C-7a''' und C-8a'''), 141,1 (s, 2C, C-1''' und C-7'''), 147,1 (s, 1C, C-8'''), 148,1 (s, 1C, C-4), 150,4 (s, 1C, C-8), 151,3 (s, 1C, C-2), 155,0 (s, 1C, C-6), 153,4 (s, 2C, C-3''' und C-5'''), 167,6 (s, 1C, -R-CONHR) 115,5, 122,4, 128,3 und 159,6 (4s, 6C, ArC-Phenoxy)

Berechnete Masse : 673,59 g / mol

MS (EI) (m/z) : 653 ($m^+ - HF$), 633 ($m^+ - 2HF$),

HR*-MS : 652,332

Rel. Intensität : 1,42%

Unterschied : 1,3 mmu

Ring- und Doppelbindungsäquivalente: 18,5

Formel : $^{12}C : 35$, $^1H : 41$, $^{10}B : 1$, $^{18}F : 1$, $^{14}N : 7$, $^{16}O : 4$

MS (FAB / mNBA) (m/z) : 674,3 (m + H⁺),

MS (FAB / mNBA + NaOAc) (m/z) : 696,4 (m + Na⁺)

Reinheit :

Kapillarelektrophorese :

Puffer : Phosphat 20 mM, SDS 100 mM, pH 7,4

Injektion : 5 s mit 0,5 psi

Stromstärke : 80 μ A

Messzeit : 25 min

Kapillare : Quarz, 60 cm (50 cm), 75 μ m ID

Detektor : UV (214 nm)

Retentionszeit : 7,160 min

Reinheit = 100 %

Kapillarelektrophorese :

Puffer : Phosphat 20 mM, SDS 100 mM, pH 7,4

Injektion : 5 s mit 0,2 psi

Stromstärke : 80 μ A + 0,1 psi

Messzeit : 25 min

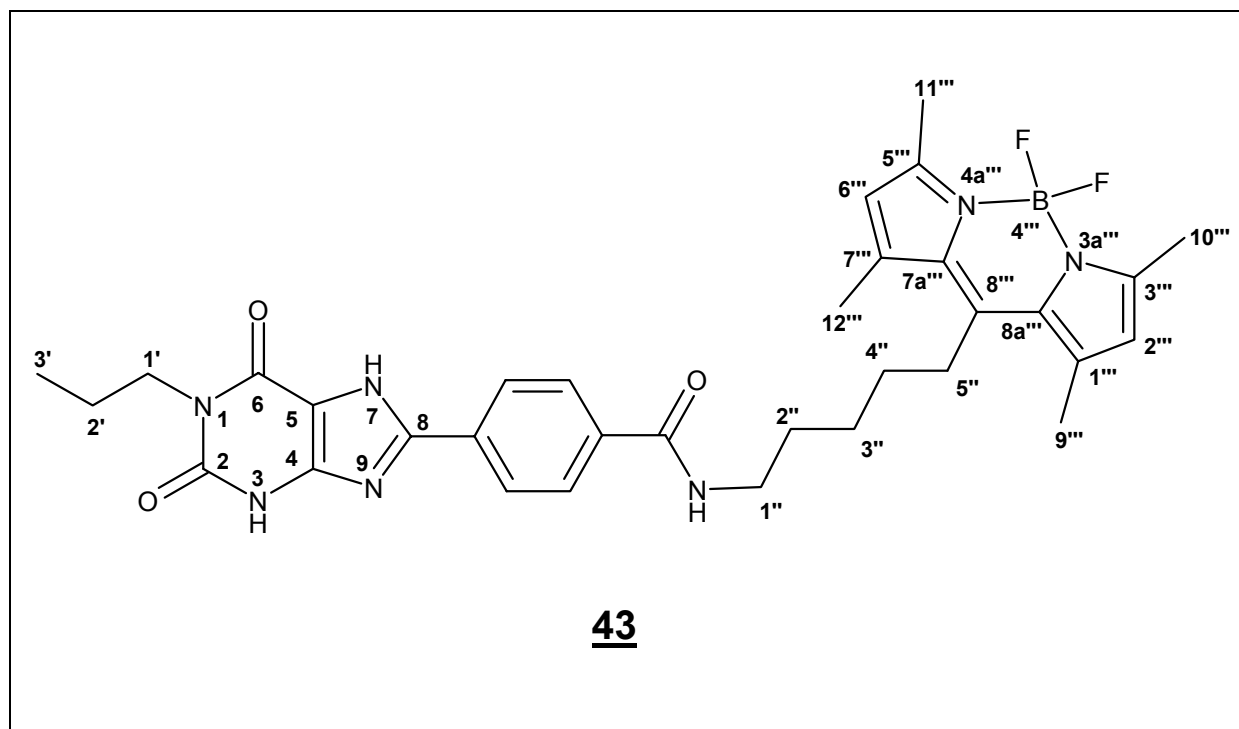
Kapillare : Quarz, 60 cm (50 cm), 75 μ m ID

Detektor : LIF (488 nm excitation)

Retentionszeit : 7,160 min

Reinheit = 100 %

8.1.14. Darstellung von 4-(2,6-Dioxo-1-propyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-N-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]benzamid:



Ansatz :

- 63 mg \equiv 0,2 mmol 4-(2,6-Dioxo-1-propyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure
- 73 mg \equiv 0,22 mmol 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen
- 47 mg \equiv 0,25 mmol N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl

Durchführung:

Unter Argonatmosphäre werden die 4-(2,6-Dioxo-1-propyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure und das N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl in 10 mL trockenem Dimethylformamid und 5 mL Dichlormethan

gelöst und bei RT mit dem in 5 mL Dichlormethan gelösten 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen versetzt. Nach 44stündigem Rühren wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt auf Kieselgel 60 aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Methanol (40:1) eluiert.

Ausbeute : 19 mg \equiv 0,03 mmol \equiv 15 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂ / MeOH 9:1) :	0,65
m.p.:	172 °C _{zers.}
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 496 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 508 nm

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 0,78 (t, 7,6 Hz, 3H, C3'-H₃), 1,52 – 1,64 (m, 8H, C2'-H₂, C2''-H₂, C3''-H₂ und C4''-H₂), 2,39 (s, 6H, C9'''-H₃ und C12'''-H₃), 2,41 (s, 6H, C10'''-H₃ und C11'''-H₃), 2,95 (m, 2H, C5''-H₂), 3,3 (m, 2H, C1''-H₂), 3,82 (dd, 7,25 und 7,6 Hz, 2H, C1'-H₂), 6,22 (s, 2H, C2'''-H und C6'''-H) 7,92 und 8,14 (2d, 8,5 Hz, AA'BB', 4H, ArCH-Phenoxy), 8,50 (t, 5,5 Hz, Amid-NH), 11,84 (s, 1H, N3-H), 13,75 (s, 1H, N7-H).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 11,3 (s, 1C, CH₃-3'), 14,2 (t, 2C, CH₃-10''' und CH₃-11'''), 16,0 (s, 2C, CH₃-9''' und CH₃-12'''), 21,0 (s, 1C, CH₂-2'), 27,3 (s, 1C, CH₂-3''), 27,9 (s, 1C, CH₂-5''), 28,8 (s, 1C, CH₂-2''), 31,3 (s, 1C, CH₂-4''), 39,2 (s, 1C, CH₂-1''), 41,5 (s, 1C, CH₂-1'), 107,6 (s, 1C, C-5), 121,8 (s, 2C, CH-2''' und CH-6'''), 130,9 (s, 2C, C-7a''' und C-8a'''), 140,9 (s, 2C, C-1''' und C-7'''), 146,9 (s, 1C, C-8'''), 147,9 (s, 1C, C-4), 149,4 (s, 1C, C-8), 151,2 (s, 1C, C-2), 153,2 (s, 2C, C-3''' und C-5'''), 155,2 (s, 1C, C-6), 165,6 (s, 1C, -R-CONHR) 126,1, 127,9 und 135,6 (3s, 6C, ArC-Phenoxy).

Berechnete Masse : 629,53 g / mol

MS (FAB / Thioglycerin) (m/z) : 610,2 (m⁺ -HF),

Reinheit :

Kapillarelektrophorese :

Puffer : Phosphat 20mM, SDS 100mM, pH 7,4

Injektion : 5 s mit 0,5 psi

Stromstärke : 80 µA

Messzeit : 25 min

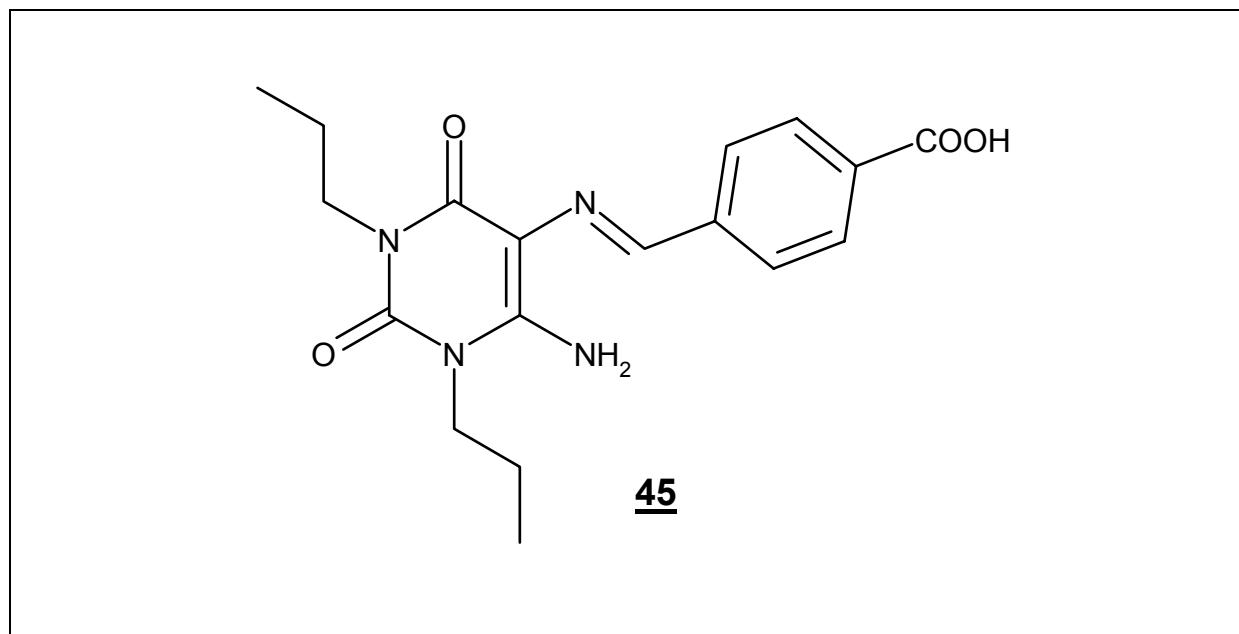
Kapillare : Quarz, 60 cm (50 cm), 75 µm ID

Detektor : UV (214 nm)

Retentionszeit : 7,015 min

Reinheit = 100 %

8.1.15. Darstellung von 4-[(6-Amino-2,4-dioxo-1,3-dipropyl-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidin-5-ylimino)-methyl]-benzoesäure:



Ansatz :

615 mg \equiv 2,72 mmol 5,6-Diamino-1,3-dipropyluracil

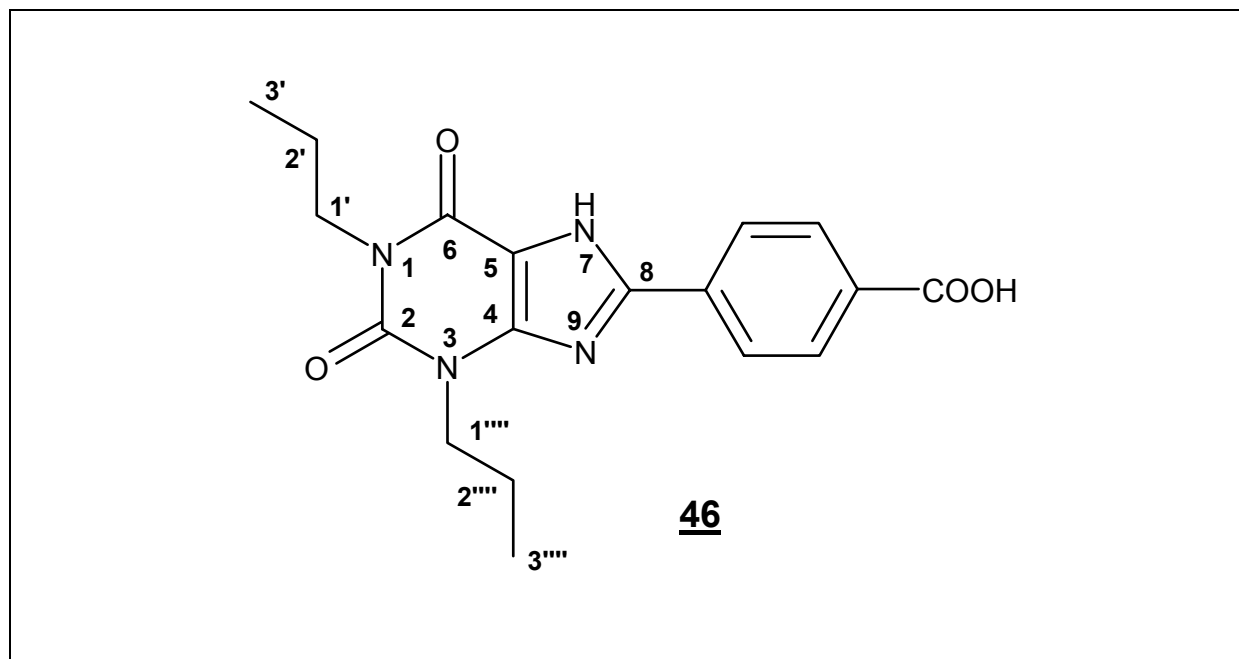
408 mg \equiv 2,72 mmol 4-Carboxybenzaldehyd

Durchführung:

Das 5,6-Diamino-1,3-dipropyluracil^{113, 114, 115} wird mit dem 4-Carboxybenzaldehyd in Ethanol gelöst, mit zwei Tropfen Essigsäure versetzt und 14 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Produkt abfiltriert und ohne weitere Aufreinigung direkt weiter zur 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure umgesetzt.

Ausbeute : 612 mg \equiv 1,7 mmol \equiv 62,5 %

8.1.16. Darstellung von 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure:



Ansatz :

600 mg \equiv 1,67 mmol 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure

Durchführung:

Die 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-purin-8-yl)benzoesäure wird bei 0 °C in 75 ml Thionylchlorid gelöst, eine Stunde bei RT gerührt und anschließend fünf Stunden unter Rückfluß erhitzt. Unter vermindertem Druck wird die Lösung auf die Hälfte des Volumens eingengt und dann mit Eis hydrolysiert. Das reine Produkt wird abfiltriert und bedarf keiner weiteren Aufreinigung.

Ausbeute : 473 mg \equiv 1,32 mmol \equiv 80 %

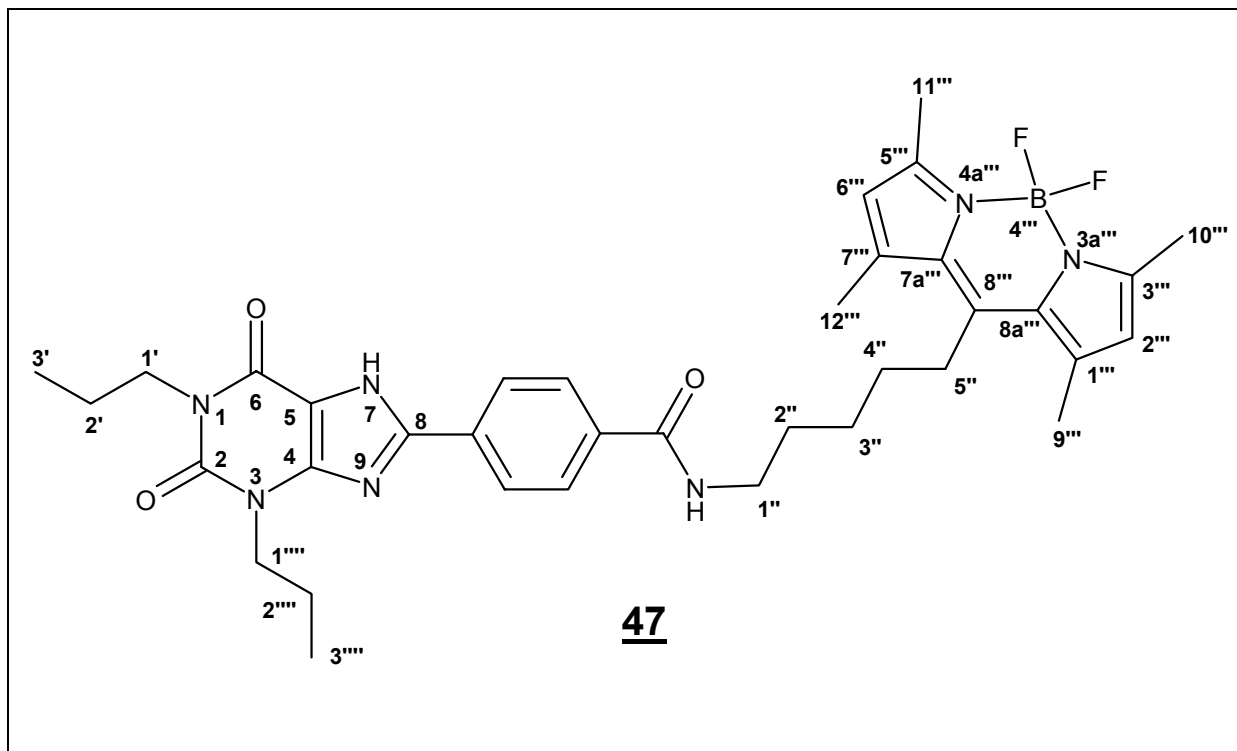
Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (CH₂Cl₂ / MeOH 9:1) : 0,56
 m.p.: 300°C

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 0,86 (t, 7,6 Hz, 3H, C3'-H₃), 0,90 (t, 7,6 Hz, 3H, C3''''-H₃), 1,57 (sext, 7,6 Hz, 2H, C2'-H₂), 1,74 (sext, 7,6 Hz, 2H, C2'-H₂), 3,86 (t, 7,6 Hz, 2H, C1'-H₂), 4,03 (t, 7,6 Hz, 2H, C1''''-H₂), 8,03 und 8,21 (2d, 8,8 Hz, AA'BB', 4H, ArCH-Phenoxy), 12,96 (s, 1H, N7-H)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 11,2 (s, 1C, CH₃-3'''), 11,3 (s, 1C, CH₃-3'), 21,0 (s, 2C, CH₂-2' und CH₂-2'''), 42,4 (s, 1C, CH₂-1'), 44,6 (s, 1C, CH₂-1'''), 108,6 (s, 1C, C-5), 148,3 (s, 1C, C-4), 148,8 (s, 1C, C-8), 150,8 (s, 1C, C-2), 154,3 (s, 1C, C-6), 166,9 (s, 1C, -COOH) 126,6, 129,9, 132,0 und 132,6 (4s, 6C, ArC-Phenoxy)

8.1.17. Darstellung von 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-N-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]-benzamid:



Ansatz :

100 mg	≡ 0,27 mmol	4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-benzoesäure
97 mg	≡ 0,29 mmol	8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen
64 mg	≡ 0,33 mmol	N-(Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-HCl

Durchführung:

Unter Argonatmosphäre werden die [4-(1-Butyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-phenoxy]-essigsäure und das EDC in 10 mL trockenem

Dimethylformamid und 5 mL Dichlormethan gelöst und bei RT mit dem in 5 mL Dichlormethan gelösten 8-(5-Aminopentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen versetzt. Nach 24-stündigem Rühren wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt auf Kieselgel 60 aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Methanol (99:1) eluiert. Durch Umkristallisieren aus 40ml Chloroform / Hexan (1:1) zu dem in der Siedehitze tropfenweise Methanol hinzugegeben wird bis sich eine klare Lösung gebildet hat, erhält man das Produkt.

Ausbeute : 43 mg \equiv 0,06 mmol \equiv 24 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂ / MeOH 9:1) :	0,76
m.p.:	192°C _{zers.}
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 496 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 508 nm

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 0,95 (t, 7,5 Hz, 3H, C3'-H₃), 1,00 (t, 7,5 Hz, 3H, C3'''-H₃), 1,5 – 1,9 (m, 10H, C2'-H₂, C2''-H₂, C3''-H₂, C4''-H₂ und C2'''-H₂), 2,39 (s, 6H, C9'''-H₃ und C12'''-H₃), 2,49 (s, 6H, C10'''-H₃ und C11'''-H₃), 2,95 (m, 2H, C5''-H₂), 3,5 (m, 2H, C1''-H₂), 4,05 (m, C1'-H₂), 4,14 (m, C1'''-H₂), 6,03 (s, 2H, C2'''-H und C6'''-H) 6,48 (s_(br), Amid-NH), 7,99 und 8,42 (2d, 7,2 Hz, AA'BB', 4H, ArCH-Phenoxy), 12,83 (s_(br), 1H, N7-H)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz): $\delta = 11,2$ (s, 1C, $\text{CH}_3\text{-3}''''$), 11,4 (s, 1C, $\text{CH}_3\text{-3}'$), 14,4 (t, 2C, $\text{CH}_3\text{-10}''''$ und $\text{CH}_3\text{-11}''''$), 16,5 (s, 2C, $\text{CH}_3\text{-9}''''$ und $\text{CH}_3\text{-12}''''$), 21,3 (s, 2C, $\text{CH}_2\text{-2}'$ und $\text{CH}_2\text{-2}''''$), 27,6 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-3}''$), 28,2 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-5}''$), 29,7 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-2}''$), 31,6 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-4}''$), 40,1 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-1}''$), 43,4 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-1}'$), 45,4 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{-1}''''$), 108,4 (s, 1C, C-5), 121,7 (s, 2C, $\text{CH}_2\text{-2}''''$ und $\text{CH}_2\text{-6}''''$), 131,4 (s, 2C, C-7a'''' und C-8a'''), 140,2 (s, 2C, C-1'''' und C-7'''), 146,0 (s, 1C, C-8'''), 149,6 (s, 1C, C-4), 150,2 (s, 1C, C-8), 150,9 (s, 1C, C-2), 153,9 (s, 2C, C-3'''' und C-5'''), 155,8 (s, 1C, C-6), 166,7 (s, 1C, -R-CONHR) 126,9, 127,4 und 136,3 (3s, 6C, ArC-Phenoxy)

Berechnete Masse : 671,61 g / mol

MS (EI) (m/z) : 651 (m - H^+ - HF), 631 (m - H^+ - 2HF),

MS (FAB / mNBA) (m/z) : 671,3 (m + H^+),

Reinheit :

Kapillarelektrophorese :

Puffer : Phosphat 20 mM, SDS 100 mM, pH 7,4

Injektion : 5 s mit 0,2 psi

Stromstärke : 80 μA + 0,5 psi

Messzeit : 25 min

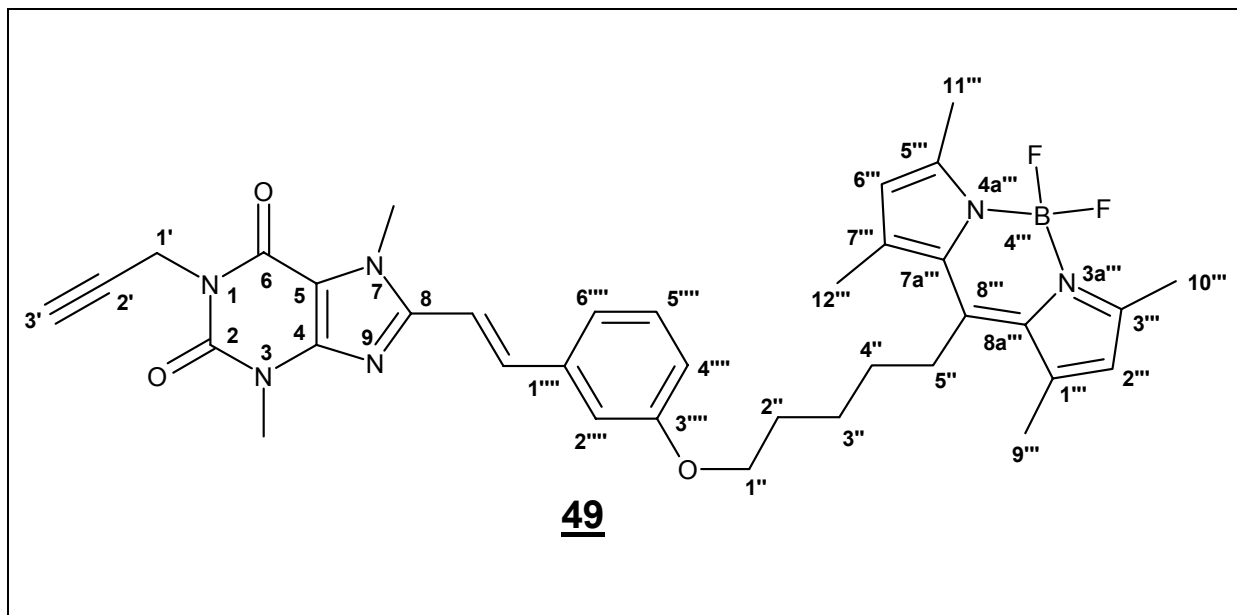
Kapillare : Quarz, 60 cm (50 cm), 75 μm ID

Detektor : LIF (488 nm)

Retentionszeit : 6,742 min

Reinheit = 100 %

8.1.18. Darstellung von 3,7-Dimethyl-1-prop-2-ynyl-8-(2-{3-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyloxy]-phenyl}-vinyl)-3,7-dihydro-purin-2,6-dion :



Ansatz :

150 mg	≡ 0,45 mmol	8-[2-(3-Hydroxyphenyl)vinyl]-3,7-dimethyl-1-prop-2-ynyl-3,7-dihydropurin-2,6-dion
180 mg	≡ 0,45 mmol	8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen
400 mg	≡ 1,23 mmol	Cäsiumcarbonat
500 mg	≡ 3,00 mmol	Kaliumiodid

Durchführung:

Das 8-[2-(3-Hydroxy-phenyl)-vinyl]-3,7-dimethyl-1-prop-2-ynyl-3,7-dihydropurin-2,6-dion wird in 30 ml Dimethylformamid mit Cäsiumcarbonat versetzt und bei RT gerührt. Das 8-(5-Brompentyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen wird während dessen in 30 mL Dichlormethan gelöst, mit Kaliumiodid versetzt und ebenfalls bei RT gerührt. Nach drei Stunden wird das gelöste Bromid zu der Xanthin-Lösung gegeben und die Lösung wird weitere 24 Stunden gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert, das Rohprodukt auf Kieselgel 60 aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Hexan (1:1) eluiert. Durch Umkristallisieren aus Dichlormethan / Hexan (1:1) und einer weiteren säulenchromatographischen Aufreinigung mit Kieselgel 60 und Dichlormethan / n-Hexan (1:2) erhält man das reine Produkt.

Ausbeute : 21 mg \equiv 0,03 mmol \equiv 7 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

R _f (CH ₂ Cl ₂) :	0,86
m.p.:	202°C _{zers.}
UV-Absorption (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 494 nm
Fluoreszenz (CH ₂ Cl ₂) :	λ_{\max} = 512 nm

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 1,6 – 1,7 (m, 4H, C3''-H₂ und C4''-H₂), 1,83 (q, 6,5 Hz, 2H, C2''-H₂), 2,39 (s, 6H, C9'''-H₃ und C12'''-H₃), 2,42 (s, 6H, C10'''-H₃ und C11'''-H₃), 2,98 (m, 2H, C5''-H₂), 3,05 (t, 2,5 Hz, 1H, C3'-H), 3,48 (s, 3H, N³C-H₃), 4,03 (s, 3H, N⁷C-H₃), 4,06 (t, 6,5 Hz, C1''-H₂), 4,60 (d, 2,5 Hz, C1'-H₂), 6,22 (s, 2H, C2'''-H und C6'''-H) 6,93 (m, 1H, C2''''_{arom}-H), 7,35 (d, 15,7 Hz, CH=CH-Ph), 7,30 - 7,37 (m, 3H, C4''''_{arom}-H, C5''''_{arom}-H und C6''''_{arom}-H), 7,70 (d, 15,7 Hz, CH=CH-Ph)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ = 14,2 (t, 2C, CH_3 -10''' und CH_3 -11'''), 16,0 (s, 2C, CH_3 -9''' und CH_3 -12'''), 26,4 (s, 1C, CH_2 -3''), 27,9 (s, 1C, CH_2 -5''), 28,5 (s, 1C, CH_2 -2''), 29,6 (s, 1C, N^3 - CH_3), 31,1 (s, 1C, CH_2 -4''), 31,7 (s, 1C, N^7 - CH_3), 67,5 (s, 1C, CH_2 -1'') 72,9 (s, 1C, C-2'), 79,8 (s, 1C, CH-3'), 107,3 (s, 1C, C-5), 113,1 (s, 1C, CH=CH-Ph), 113,2 (s, 1C, CH-2''''_{arom}), 115,8 (s, 1C, CH-4''''_{arom}), 120,6 (s, 1C, CH-6''''_{arom}), 121,8 (s, 2C, CH-2''' und CH-6'''), 129,9 (s, 1C, CH-5''''_{arom}), 130,9 (s, 2C, C-7a''' und C-8a'''), 137,0 (s, 1C, CH=CH-Ph), 137,1 (s, 1C, C-1''''_{arom}), 140,9 (s, 2C, C-1''' und C-7'''), 146,9 (s, 1C, C-8'''), 148,5 (s, 1C, C-4), 150,2 (s, 1C, C-8), 150,3 (s, 1C, C-2), 153,2 (s, 1C, C-6), 153,4 (s, 2C, C-3''' und C-5'''), 159,2 (s, 1C, C-5''''_{arom}).

Berechnete Masse : 652,57 g / mol

MS (FAB / mNBA) (m/z) : 653,3 (m + H⁺), 633,3 (m⁺-HF)

Reinheit :

Kapillarelektrophorese :

Puffer : Phosphat 20 mM, SDS 100 mM, pH 7,4

Injektion : 5 s mit 0,2 psi

Stromstärke : 80 μA

Messzeit : 25 min

Kapillare : Quarz, 60 cm (50 cm), 75 μm ID

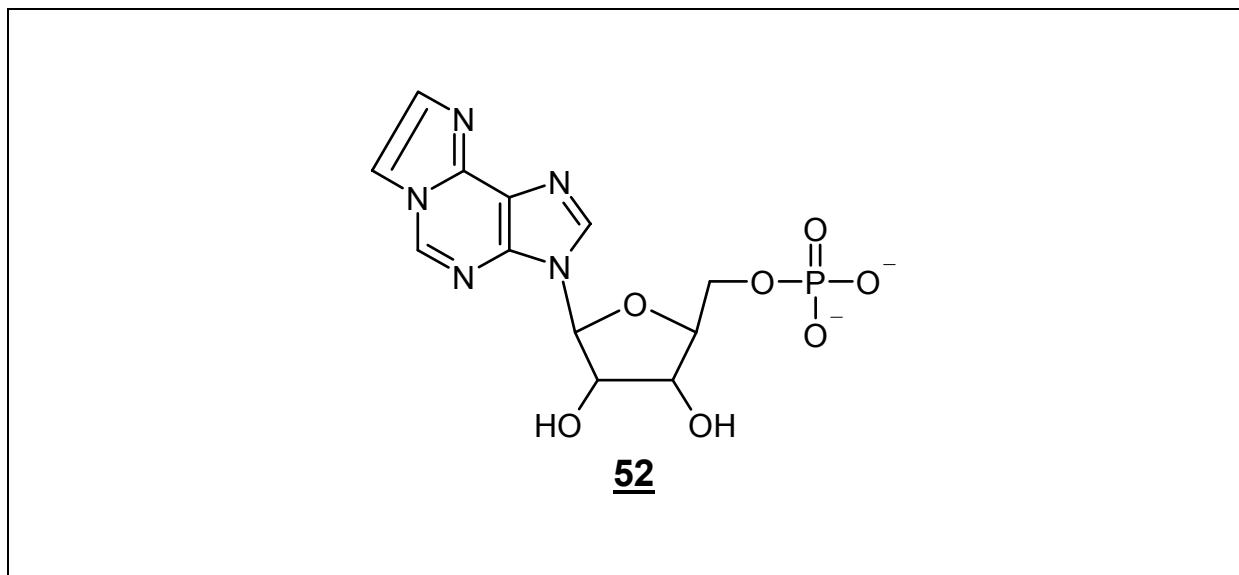
Detektor : LIF (488 nm)

Retentionszeit : 14,34min

Reinheit = 95,02 %

Rest : Aufgrund der hohen Retentionszeit von 23,079 min handelt es sich bei der Unreinheit möglicherweise um ein Cyclisierungsprodukt entstanden durch photoinduzierte Cycloaddition der Styrylverbindung aus zwei Molekülen. Diese Reaktion haben wir bei analogen Strukturen teilweise mit hohen Ausbeuten beobachten können.

Darstellung von 1,N⁶-Etheno-AMP ¹²⁵:



Ansatz :

50 g ≡ 128 mmol AMPNa₂
 1,25 L ≡ 1,91 mol 1,53M Chloracetaldehydlösung

Durchführung:

Die Chloracetaldehydlösung wird mit dem AMP versetzt und bei pH 4-4,5 eine Woche bei RT gerührt. Das Volumen wird unter Vakuum reduziert und das Produkt mit Ethanol ausgefällt. Das Produkt wird abfiltriert und mit absolutem Ethanol gewaschen (analog Lit. ¹²⁵).

Ausbeute : 47,3g ≡ 89%

Literaturausbeute: 90%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (iProp : H₂O : NH₃ = 6:3:1) : 0,33

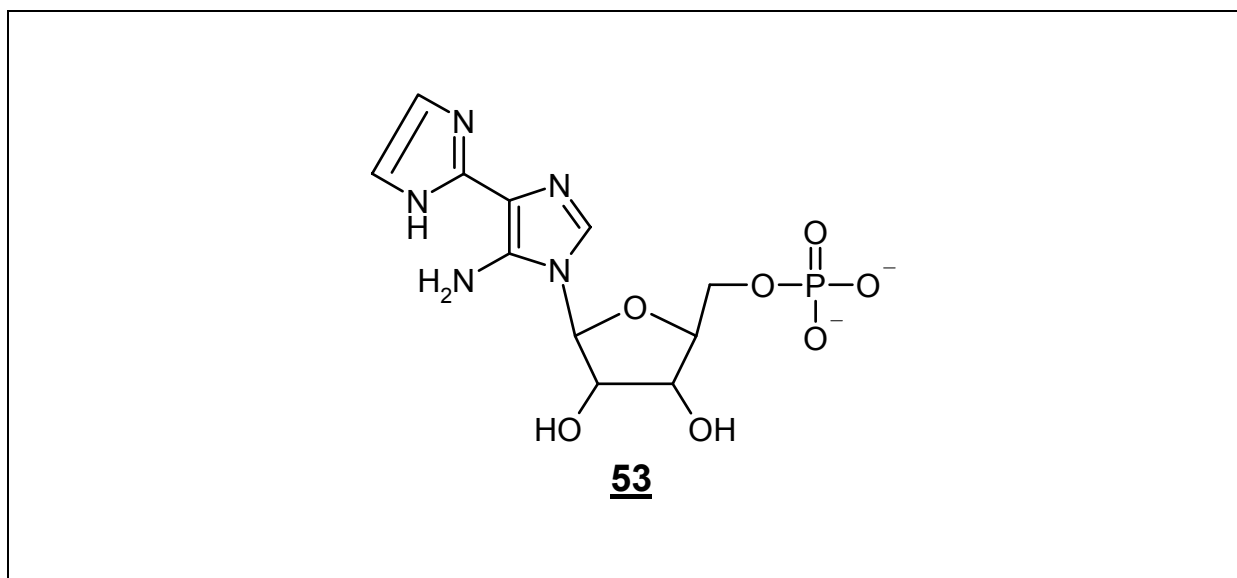
$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 500 MHz): $\delta = 3,98$ (m, 2H, $\text{C5}'\text{-H}_2$), 4,41 (m, 1H, $\text{C4}'\text{-H}$), 4,25 (dd, 1H, $\text{C3}'\text{-H}$), 4,68 (dd, 1H, $\text{C2}'\text{-H}$), 6,06 (d, $J = 6$ Hz, 1H, $\text{C1}'\text{-H}$), 7,51 und 8,06 (2s, 2H, C10-H und C11-H), 8,52 (s, 1H, C8-H), 9,28 (s, 1H, C2-H).

Diese Daten entsprechen den Literaturwerten ¹²⁹.

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 125 MHz): $\delta = 64,7$ (s, $\text{CH-4}'$), 70,3 (s, $\text{CH-3}'$), 73,7 (s, $\text{CH-2}'$), 83,4 (d, $\text{CH}_2\text{-5}'$), 87,5 (s, $\text{CH-1}'$), 112,0 (s, CH-10 und CH-11), 122,6 (s, C-5), 132,3 (s, CH-8), 138,3 (s, C-4), 140,2 (s, C-6).

$^{31}\text{P-NMR}$ (D_2O , 202,3 MHz): $\delta = 1$ (s).

8.1.19. Darstellung von 1,N⁶-Etheno-2-nor-AMP:



Ansatz :

2,0 g \equiv 4,8 mmol 1,N⁶-Etheno-AMP
 100 mL \equiv 0,1 mol 1 M NaOH

Durchführung:

Das 1,N⁶-Etheno-AMP wird in der Natronlauge gelöst und 4 Tage bei RT gerührt¹³⁰, an Dowex 50 X8 (H⁺-Form) gebunden, mit Wasser gewaschen und mit 1M NH₃ eluiert. Die kombinierten Fraktionen werden durch Gefriertrocknung vom Lösungsmittel befreit und man erhält so das Produkt.

Ausbeute : 800 mg \equiv 46 %

Literaturausbeute: 95%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (iProp : H₂O : NH₃ = 6:3:1) : 0,38

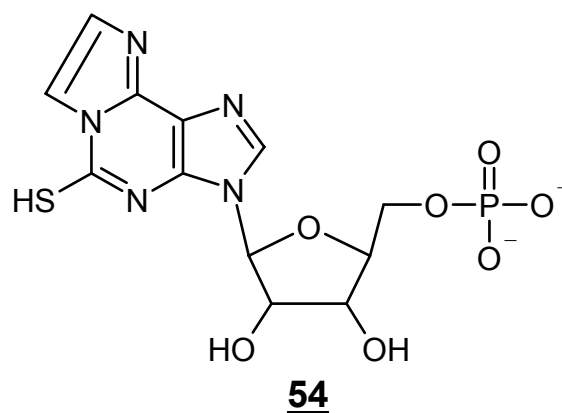
$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 500 MHz): $\delta = 4,05$ (m, 2H, $\text{C}5'\text{-H}_2$), 4,32 (m, 1H, $\text{C}4'\text{-H}$), 4,46 (dd, 1H, $\text{C}3'\text{-H}$), 4,70 (dd, 1H, $\text{C}2'\text{-H}$), 5,71 (d, $J = 6$ Hz, 1H, $\text{C}1'\text{-H}$), 7,27 (s, 2H, $\text{C}10\text{-H}$ und $\text{C}11\text{-H}$), 7,68 (s, 1H, $\text{C}8\text{-H}$).

Diese Daten entsprechen den Literaturwerten ¹³⁰.

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 125 MHz): $\delta = 66,9$ (s, $\text{CH-}4'$), 73,1 (s, $\text{CH-}3'$), 75,6 (s, $\text{CH-}2'$), 87,3 (d, $\text{CH}_2\text{-}5'$), 90,8 (s, $\text{CH-}1'$), 111,0 (s, $\text{C-}5$), 120,9 (s, $\text{CH-}10$ und $\text{CH-}11$), 141,2 (s, $\text{C-}6$) 142,6 (s, $\text{C-}4$).

$^{31}\text{P-NMR}$ (D_2O , 202,3 MHz): $\delta = 3$ (s).

8.1.20. Darstellung von 1,N⁶-Etheno-2-mercapto-AMP:



Ansatz :

0,5 g \equiv 1,4 mmol 1,N⁶-Etheno-2-nor-AMP
 1,3 g \equiv 17,6 mmol Lithiumcarbonat
 50 mL \equiv 0,83 mol Schwefelkohlenstoff

Durchführung:

Das 1,N⁶-Etheno-2-nor-AMP wird in 100 mL trockenem DMSO gelöst, mit Lithiumcarbonat und Schwefelkohlenstoff versetzt und 3 Tage unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung durch Filtration von überschüssigem Lithiumcarbonat befreit und das Produkt mit 200 mL Hexan/Dichlormethan (1:2) über Nacht bei 8°C ausgefällt. Der Feststoff wird abfiltriert und mit Hexan gewaschen ¹²⁵.

Ausbeute : 290 mg \equiv 52 %

Physikalische und spektroskopische Daten :

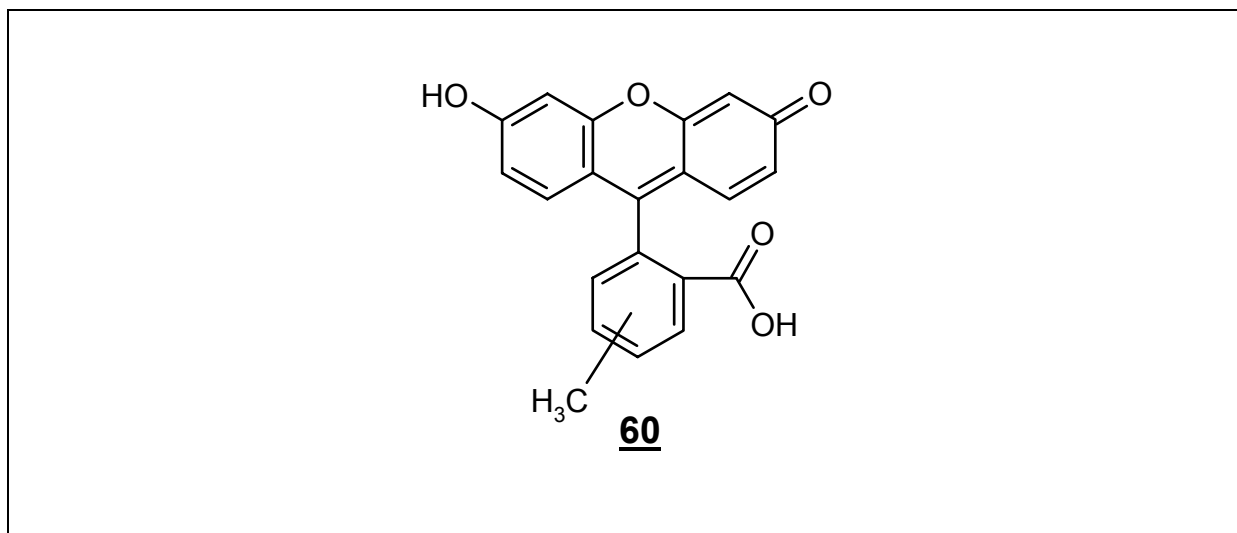
R_f (iProp : H₂O : NH₃ = 6:3:1) : 0,53

¹H-NMR (D₂O, 500 MHz): δ = 4,06 (m, 2H, C5'-H₂) , 4,40 (m, 1H, C4'-H), 4,54 (dd, 1H, C3'-H), 4,74 (dd, 1H, C2'-H), 6,24 (d, J = 6 Hz, 1H, C1'-H), 7,49 und 8,19 (s, 2H, C10-H und C11-H), 8,45 (s, 1H, C8-H).

¹³C-NMR (D₂O, 125 MHz): δ = 66,2 (s, CH-4'), 73,2 (s, CH-3'), 77,3 (s, CH-2'), 87,0 (d, CH₂-5'), 89,5 (s, CH-1'), 118,4 und 120,2 (s, CH-10 und CH-11), 132,1 (s, C-5), 143,3 (s, CH-8), 153,4 (s, C-4), 164,4 (s, C-6), 171,4 (s, C-2).

³¹P-NMR (D₂O, 202,3 MHz): δ = 4,5 (s)

8.1.21. Darstellung von 4(5)-Methylfluorescein ¹²⁶:



Ansatz :

32 g \equiv 0,2 mol Methylphthalsäure

44 g \equiv 0,4 mol Resorcin

4 g \equiv 29,4 mmol Zinkchlorid

Durchführung:

Die Methylphthalsäure wird bei 140°C mit wasserfreiem Zinkchlorid zusammen geschmolzen und anschließend mit dem Resorcin versetzt. Die Schmelze wird 5h auf 160°C erhitzt und nach dem Abkühlen in 600 mL 1M NaOH gelöst. Der unlösliche Rückstand wird abfiltriert und verworfen. Das Produkt fällt nach der Neutralisation der Lösung mit 1M HCl aus. Es wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und bei 60°C über P₄O₁₀ getrocknet ¹²⁶.

Ausbeute : 35 g \equiv 59%

Literaturausbeute: 61%

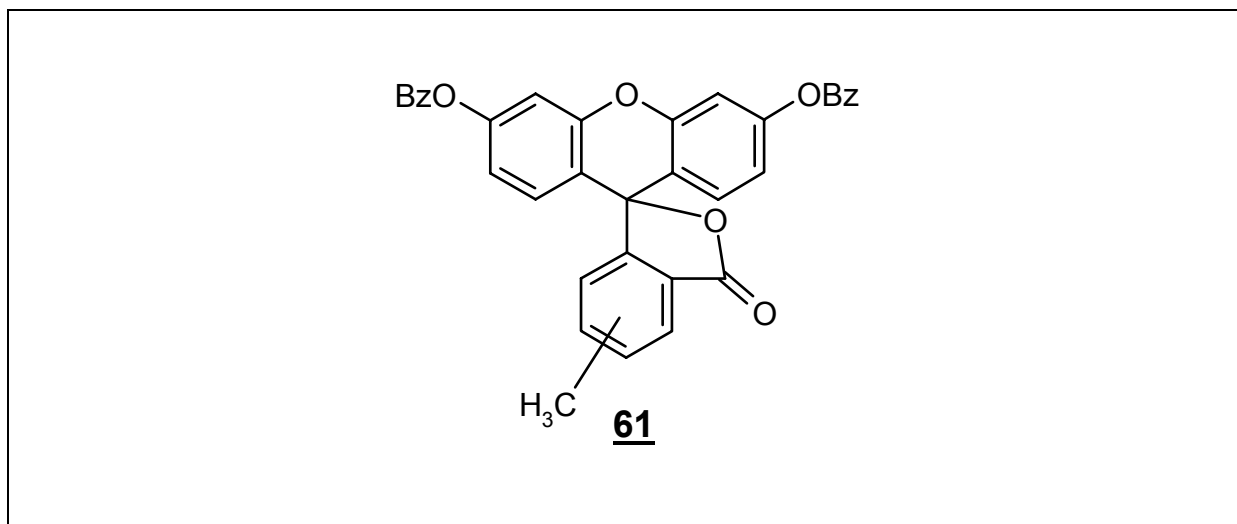
Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (Chloroform : Methanol = 9:1) : 0,37

m.p.: 225°C

Diese Daten entsprechen den Literaturwerten ¹²⁶.

8.1.22. Darstellung von 3',6'-Dibenzoyl-4(5)-methylfluorescein ¹²⁶:



Ansatz :

17 g \equiv 50 mmol 4(5)-Methylfluorescein
 13 mL \equiv 110 mmol Benzoylchlorid

Durchführung:

Das 4(5)-Methylfluorescein wird dreimal in 30 mL wasserfreiem Pyridin gelöst und das Pyridin jeweils wieder abdestilliert und dann in 50 mL wasserfreiem Pyridin gelöst. Die Lösung wird auf 0°C gekühlt und mit dem in 20 mL wasserfreiem Pyridin gelösten Benzoylchlorid versetzt. Nach dreistündigem Rühren bei RT wird die Lösung wieder auf 0°C gekühlt und mit 4 mL Wasser versetzt. Nach weiteren 15 min. Rühren wird das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Durch wiederholtes Lösen und Abdestillieren von einmal 50 mL Toluol und zweimal 50 mL Chloroform werden letzte Reste von Pyridin entfernt. Der Rückstand wird in 50 mL Chloroform aufgenommen und dreimal mit je 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung und anschließend mit 50 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wird mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird mit Chloroform säulenchromatographisch gereinigt ¹²⁶.

Ausbeute : 22 g \equiv 80 %

Literaturausbeute: 85%

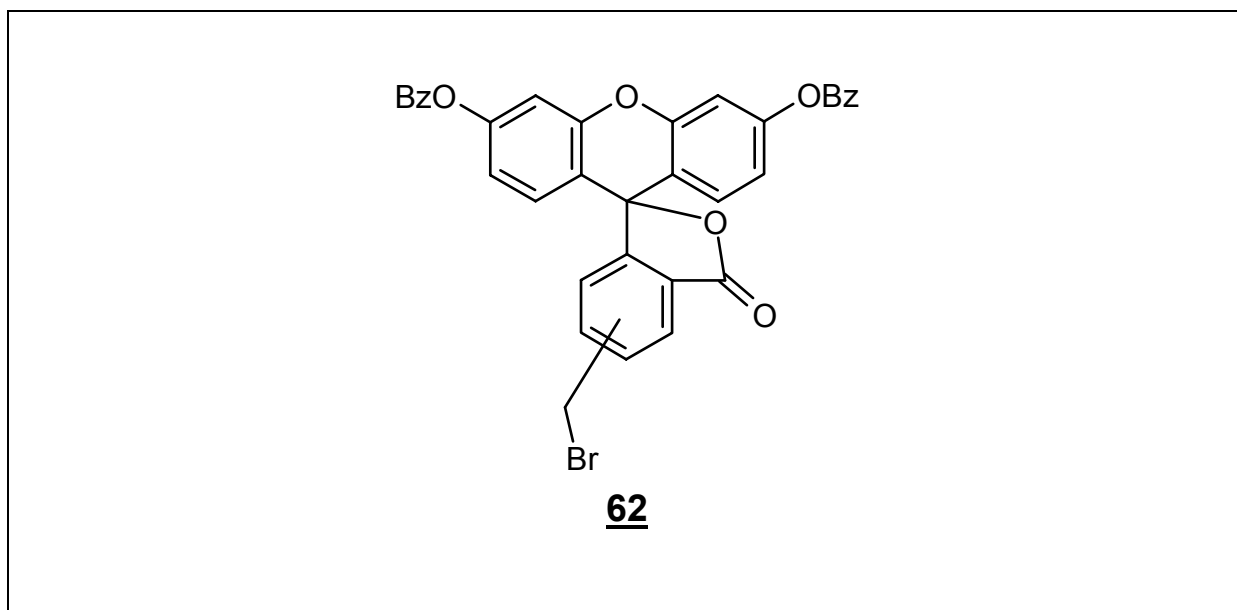
Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (Toluol : Ethylacetat = 19:1) : 0,5

m.p.: 174°C

Die Daten entsprechen den Literaturwerten ¹²⁶.

8.1.23. Darstellung von 3',6'-Dibenzoyl-4(5)-(bromomethyl)-fluorescein ¹²⁶:



Ansatz :

22 g	≡	40 mmol	3',6'-Dibenzoyl-4(5)-methylfluorescein
8,9 g	≡	50 mmol	<i>N</i> -Bromsuccinimid
2,4 g	≡	6,0 mmol	Dibenzoylperoxyd

Durchführung:

Eine Lösung von 3',6'-Dibenzoyl-4(5)-methylfluorescein und *N*-Bromsuccinimid in Chloroform wird zum Sieden erhitzt, dann mit Dibenzoylperoxyd versetzt und 6h unter Rückfluß erhitzt ¹²⁶. Nach dem Erkalten wird zweimal mit Wasser ausgeschüttelt und die organische Phase unter reduziertem Druck vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute : 10 g ≡ 40 %

Literaturausbeute: 97%

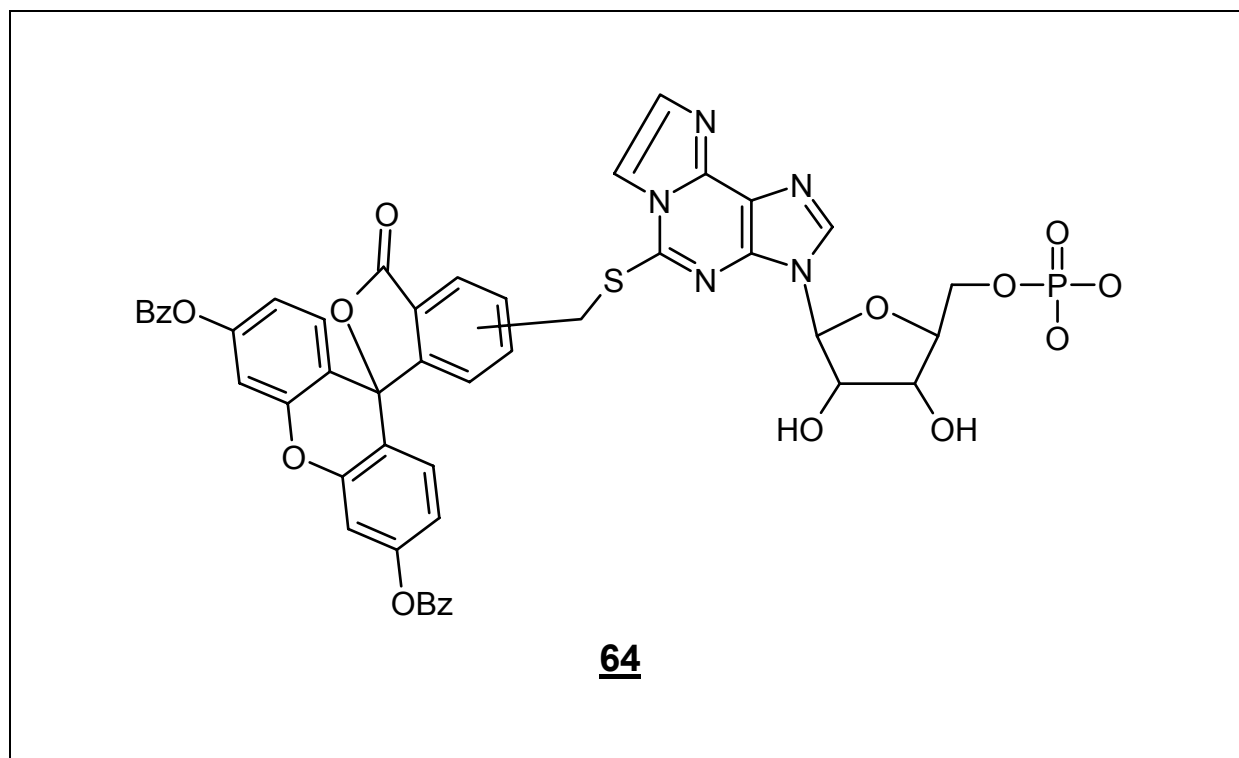
Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (Toluol : Ethylacetat = 19:1) : 0,5

m.p.: 115°C

Diese Daten entsprechen den Literaturwerten ¹²⁶.

8.1.24. Darstellung von 1,N⁶-Etheno-2-[(3',6'-Dibenzoyl-4(5)-methylfluorescein)thio-AMP:



Ansatz :

9 mg \equiv 24,75 μ mol 1,N⁶-Etheno-2-mercapto-AMP

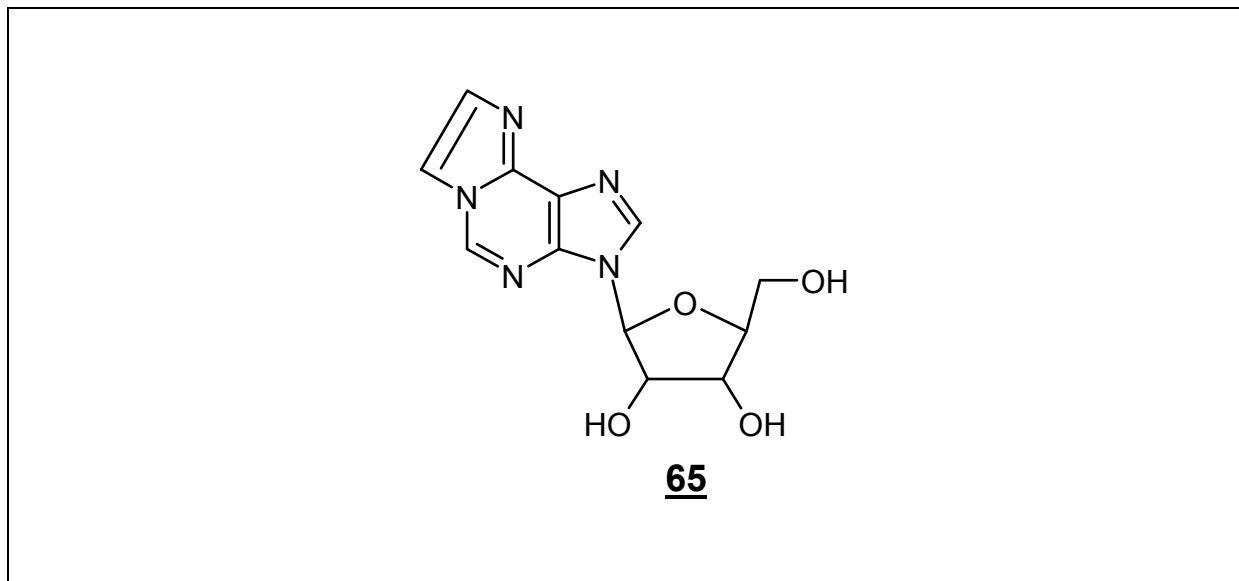
15,3 mg \equiv 24,75 μ mol 3',6'-Dibenzoyl-4(5)-(bromomethyl)fluorescein

Durchführung:

Das in 20 mL 0,1 M NaOH gelöste 1,N⁶-Etheno-2-mercapto-AMP wird mit dem in 10 mL Methanol gelösten 3',6'-Dibenzoyl-4(5)-(bromomethyl)fluorescein versetzt und 3d gerührt. Nach dem Entfernen des Methanols unter reduziertem Druck wird die Lösung auf eine DEAE Sephadex® A-25 Ionentauschersäule aufgetragen und mit einem Gradienten von 0-100 % Wasser / 1M Triethylammoniumcarbonat-Puffer eluiert.

Ausbeute : 0 %

8.1.25. Darstellung von 1,N⁶-Etheno-Adenosin:



Ansatz :

5	g	≡	19 mmol	Adenosin
35	mL	≡	54 mmol	1,53M Chloracetaldehydlösung

Durchführung:

Die Chloracetaldehydlösung wird mit dem Adenosin versetzt und bei pH 4-4,5 eine Woche bei RT gerührt. Das Volumen wird unter Vakuum reduziert und das Produkt mit Ethanol ausgefällt. Das Produkt wird abfiltriert und mit absolutem Ethanol gewaschen (analog Literatur.¹²⁵).

Ausbeute : 4,2 g ≡ 76%

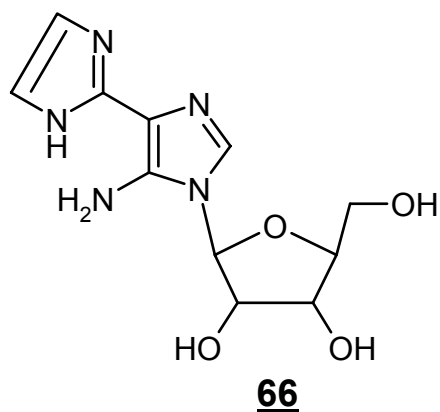
Literaturausbeute: 90%

Physikalische und spektroskopische Daten :

R_f (CH₃OH / CH₂Cl₂ 1:1) : 0,47

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 3,55 -3,72 (m, 2H, C5'-H₂), 4,03 (q, J = 4,5 Hz, 1H, C4'-H), 4,22 (t, J = 5,0 Hz, 1H, C3'-H), 4,57 (t, J = 5,0 Hz, 1H, C2'-H), 6,12 (d, J = 5,5 Hz, 1H, C1'-H), 8,10 und 8,48 (2d, J = 2,0 Hz, 2H, C10-H und C11-H), 8,95 (s, 1H, C8-H), 9,65 (s, 1H, C2-H).
Diese Daten entsprechen den Literaturwerten ¹²⁹.

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 64,7 (CH-4'), 70,3 (CH-3'), 74,6 (CH-2'), 86,0 (CH₂-5'), 88,4 (CH-1'), 114,5 und 119,5 (CH-10 und CH-11), 123,4 (C-5), 137,4 (CH-8), 137,9 (C-4), 142,6 (CH-2), 143,0 (s, C-6).

8.1.26. Darstellung von 1,N⁶-Etheno-2-nor-Adenosin:Ansatz :

4,0 g \equiv 14 mmol 1,N⁶-Etheno-Adenosin
300 mL \equiv 0,3 mol 1 M NaOH

Durchführung:

Das 1,N⁶-Etheno-Adenosin wird in der Natronlauge gelöst und 4d bei RT gerührt, mit 1 M HCl neutralisiert und unter Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wird auf Kieselgel 60 aufgetragen und das Produkt mit Dichlormethan / Methanol (1:1) eluiert.

Ausbeute : 1,58 g \equiv 40%

Literaturausbeute: 66%

Physikalische und spektroskopische Daten :

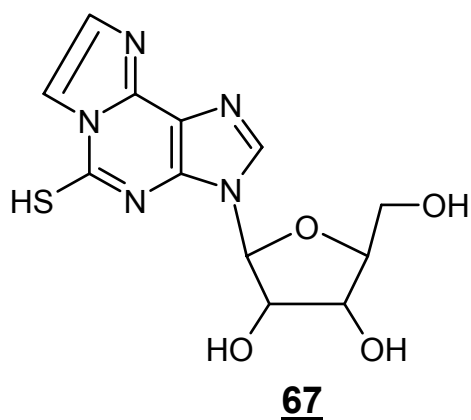
R_f (CH₃OH / CH₂Cl₂ 1:1): 0,31

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 3,59 (m, 2H, C5'-H₂), 3,95 (m, 1H, C4'-H), 4,14 (m, 1H, C3'-H), 4,58 (m, 1H, C2'-H), 5,87 (d, J = 6 Hz, 1H, C1'-H), 6,89 (s, 2H, C10-H und C11-H), 7,4 (s, 1H, N1-H), 7,29 (s, 2H, N-3H₂), 8,2 (s, 1H, C8-H).

Diese Daten entsprechen den Literaturwerten ¹³⁰.

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 63,0 (CH-4'), 70,1 (CH-3'), 73,7 (CH-2'), 85,2 (CH₂-5'), 88,1 (CH-1'), 112,3 (C-5), 119,5 (CH-10 und CH-11), 140,0 (CH-8) 149,3 (C-4), 156,3 (C-6)

8.1.27. Darstellung von 1,N⁶-Etheno-2-mercapto-AMP :



Ansatz :

1,58 g \equiv 5,6 mmol 1,N⁶-Etheno-2-nor-Adenosin
 1,0 g \equiv 13,5 mmol Lithiumcarbonat
 20 mL \equiv 0,33 mol Schwefelkohlenstoff

Durchführung:

Das 1,N⁶-Etheno-2-nor-AMP wird in 100 mL trockenem DMSO gelöst, mit Lithiumcarbonat und Schwefelkohlenstoff versetzt und 3d unter Rückfluß erhitzt. Dieses führte jedoch zu einem Schwefelpolymergemisch aus dem das Produkt nicht mehr zu isolieren war.

Ausbeute : 0 %

9. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden Synthesen neuer Fluorophore vorgestellt, die in einem präparativen Maßstab erhältlich sind.

So wurden mittels Eintopfsynthese, ausgehend vom 2,4-Dimethylpyrrol und verschiedenen ω -Bromalkylsäurechloriden unter Zusatz von Triethylamin und Bortrifluorid-diethyletherat, 8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene **27** bis **32** (BODIPY-Derivate) mit variabler Kettenlänge (Spacer) erzeugt.

Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung konnten Ausbeuten von 12 bis 61% erzielt werden.

Um eine größere Kopplungsvariabilität der Fluorophore zu erhalten, wurden Wege aufgezeigt, die synthetisierten 8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene in die entsprechenden ω -Amine **35** (56% Ausbeute), ω -Alkohole **36** (40% Ausbeute) und ω -Thiole **37** (71% Ausbeute) zu überführen.

Von zwei Derivaten wurden Kristalle erhalten, die röntgenkristallographisch untersucht konnten.

Durch die Röntgenstrukturuntersuchung des 4-Brombuttersäure-3-[(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen)-8-yl]propylesters **34**, welches bei der Synthese von 8-(3-Brompropyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen **29** als Nebenprodukt auftrat, ließ sich nicht nur seine Struktur sondern auch der Verlauf dieser Nebenreaktion beweisen. Da es sich bei der Veresterung um eine nachgeschaltete Reaktion des schon entstandenen 8-(ω -Bromalkyl)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacens **27** bis **32** mit einem weiteren Molekül des ω -Bromalkylsäurechlorids handelt, konnte durch rechtzeitiges Abbrechen der Reaktion eine Erhöhung der Ausbeuten erzielt werden.

Aus einer Modellreaktion zur Kopplung der Fluorophore an Adenosinrezeptorantagonisten wurde mit dem 1-Butyl-purin-2,6-dion-7-(phenoxyessigsäure-4-phenylbutylamid) **40** der potenteste A_{2B} -Adenosinrezeptor-Ligand gewonnen, der bisher bekannt ist. Er weist einen K_i -Wert von 270 pM auf und besitzt A_{2B} -Selektivität (10fach gegen A_1 , 93fach gegen A_{2A} , >1200fach gegen A_3).

Durch Fluoreszenzmarkierung von Adenosinrezeptorantagonisten konnten neue, stark fluoreszierende Liganden entwickelt werden; die Fluoreszenzeigenschaften der neuen Rezeptorliganden entsprechen denen der reinen BODIPY-Derivate.

Alle erhaltenen Kopplungsprodukte wurden vollständig mittels UV, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ einschließlich zweidimensionaler NMR-Methoden charakterisiert.

Die hohe Reinheit der erhaltenen fluoreszenzmarkierten Adenosinrezeptorantagonisten konnte mittels Kapillarelektrophorese bewiesen werden.

In Radioligand-Bindungsstudien wurde gezeigt, daß die Einführung des Fluorophors im Falle der Verbindungen **41**, **43** und **47** nur eine geringfügige Auswirkung auf die Affinität zu Adenosinrezeptoren hat. Am A_1 -Adenosinrezeptor wird sogar eine Steigerung der Affinität beobachtet.

Sowohl das 2-[4-(1-Butyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-phenoxy]-N-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]acetamid **41** als auch das 4-(2,6-Dioxo-1,3-dipropyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-N-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]-benzamid **47** ist hochaffin am A_1 -Adenosinrezeptor und wenig affin zum A_{2A} - und A_3 -Adenosinrezeptor. Sie weisen somit eine hohe A_1 -Selektivität auf.

Das 4-(2,6-Dioxo-1-propyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-yl)-N-[5-(4,4-difluoro-1,3,5,7-tetra-methyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyl]benzamid **43** ist nicht nur hochaffin zum A_1 -Adenosinrezeptor, sondern zeigt auch keinerlei Affinität zu den A_{2A} - und A_3 -Rezeptoren. Messungen zur Affinität am A_{2B} -Adenosinrezeptor stehen bisher allerdings noch aus.

Es wurde somit gezeigt, daß sich durch die gezielte Einführung eines geeigneten Fluorophors die Affinität am A_1 - und am A_{2A} -Adenosinrezeptor bei vielen Liganden nur geringfügig ändert bzw. sogar gesteigert werden kann.

Die Verbindung **49** (3,7-Dimethyl-1-prop-2-ynyl-8-(2-{3-[5-(4,4-difluor-1,3,5,7-tetramethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-yl)-pentyloxy]-phenyl}-vinyl)-3,7-dihydro-purin-2,6-dion) machte jedoch auch deutlich, daß die Wahl der Substitutionsstelle am Liganden von entscheidender Bedeutung für den Erfolg einer Fluoreszenzmarkierung unter Erhalt der Aktivität ist.

10. Ausblick

Mit Hilfe der neu entwickelten fluoreszenzmarkierten Liganden dürfte es in Zukunft möglich sein, sowohl kompetitive Assays zu etablieren als auch Beobachtungen der Rezeptorfunktion in lebenden Zellen durchzuführen. Desweiteren stehen mit den neuen BODIPY-Derivaten Werkzeuge zur Verfügung, mit denen sich weitere Rezeptorliganden markieren lassen sollten.

So wäre es unter anderem interessant zu untersuchen, ob die A_{2A} -Adenosinrezeptoraktivität erhalten bliebe, wenn man statt der meta- die para-Position des Phenylringes im MS-DMPX ((*E*)-8-(3-Methoxystyryl)-3,7-dimethyl-1-propargylxanthin) markieren würde. Ebenso ließe eine Variation des Spacers eine genauere Betrachtung der Struktur-Wirkungsbeziehungen zu. Weiterhin wäre eine Markierung von Liganden der noch nicht so gut untersuchten P2-Rezeptorfamilie von großem Interesse. Erste Versuche hierzu wurden durchgeführt.

Ein erfolgsversprechender Ansatz könnte hier die Markierung des aktiven Metaboliten des Clopidogrels zur Untersuchung des $P2Y_{12}$ -Rezeptors sein.

11. Literatur

- ¹ Römpp Chemie Lexikon, 9.Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, **1990**.
- ² Moore, W. J.; Hummel, D. O. Physikalische Chemie. 4. Auflage, de Gruyter, **1986**.
- ³ Adam, W. Thermische Erzeugung elektronisch angeregter Moleküle. *Chemie in unserer Zeit* **1980**, *2*, 44-55.
- ⁴ Clausen, U. Angewandte Fluoreszenz: Weißtöner. *Chemie in unserer Zeit* **1973**, *5*, 141-147.
- ⁵ Pringsheim, P.; Vogel, M. Lumineszenz von Flüssigkeiten und festen Körpern. Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse, **1951**
- ⁶ http://laxmi.nuc.ucla.edu:8248/M249_99/synprob/part1/history.html
- ⁷ http://www-bioc.rice.edu/bios481/nichols/lecture3/fluorescence_history.html
- ⁸ Danckwortt, P. W.; Eisenbrand, J. Lumineszenz-Analyse im filtrierte ultravioletten Licht. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig, **1956**.
- ⁹ Förster, T. Fluoreszenz Organischer Verbindungen. Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen, **1951**.
- ¹⁰ Caspersson, T. et. al. Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp.Cell.Res.* **1970**, *60*, 315-319.
- ¹¹ Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- ¹² Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Genetical implications of the structure of desoxyribonucleic Acid. *Nature* **1953**, *171*, 964-967.
- ¹³ Mullins, K. F.; Faloona, F.; Scharf, S.; Saiki, R.; Horn, G.; Ehrlich, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* **1986**, *51*, 263-273.
- ¹⁴ DeLisi, Charles The Human Genome Project. *American Scientist* **1988**, *76(5)*, 488-493.
- ¹⁵ Smith, L. M.; Sanders, J. Z.; Kaiser, R. J.; Huges, P.; Dodd, C. Connell; C. R., Heiner, C.; Keent, S. B. H.; Hood, L. E. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* **1986**, *321*, 674-679.
- ¹⁶ Metzker, M. L.; Lu, J.; Gibbs, R. A. Electrophoretically uniform fluorescent dyes for automated DNA sequencing. *Science*, **1996**, *271*, 1420-1422.
- ¹⁷ Herrlein, M. K., Konrad, R. E., Engels, J. W., 3'-Amino-modified nucleotides useful as potent chain terminators for current DNA sequencing methods, *Helv. Chim. Acta.* **1994**, *77*, 586-596.
- ¹⁸ Macilwain, C. World leaders heap praise on human genome landmark. *Nature* **2000**, *405*, 983-984.
- ¹⁹ Tsien, R. Y. The green fluorescent protein. *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 509-544.
- ²⁰ Cody, C. W.; Prasher, D. C.; Westler, W. M.; Prendergast, F. G.; Ward, W. W. Chemical structure of the hexapeptide chromophore of the Aequorea green-fluorescent protein. *Biochemistry* **1993**, *32*, 1212-1218.

-
- ²¹ Hovius, R.; Vallotton, P.; Wohland, T.; Vogel, H. Fluorescence techniques: shedding light on ligand-receptor interactions. *TiPS*, **2000**, *21*, 266–273.
- ²² Okabe, M.; Ikawa, M.; Kominami, K.; Nakanishi, T.; Nishimune, Y. Green mice' as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett.* **1997**, *407*(3), 313-319.
- ²³ Ikawa, M.; Yamada, S.; Nakanishi, T.; Okabe, M. Green fluorescent protein (GFP) as a vital marker in mammals. *Curr. Top. Dev. Biol.*, **1999**, *44*, 1-20.
- ²⁴ Yang, M.; Millar, D. P. Fluorescence resonance energy transfer as a probe of DNA structure and function. *Methods Enzymol.* **1997**, *278*, 417-444.
- ²⁵ Stryer, L. Fluorescence energy transfer as a spectroscopic ruler. *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 819-846.
- ²⁶ Stryer L.; Haugland R.P. Energy transfer: a spectroscopic ruler. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1967**, *63*, 719-726.
- ²⁷ Yasunaga, T.; Wakabayashi, T. Relocation of Cys374 of actin induced by labeling with fluorescent dyes. *J. Biochem.*, **2001**, *129*, 201-204.
- ²⁸ Weiss, L. A.; Sakai, N.; Ghebremariam, B.; Ni, C.; Matile, S. Rigid rod-shaped Polyols: funktional nonpeptide models for transmembrane proton channels. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12142-12149.
- ²⁹ Runnels, L. W.; Scarlata, S. F. Regulation of rate and extent of phospholipase C β_2 effector activation by the β_γ subunits of heterotrimeric G proteins. *Biochemistry* **1998**, *37*, 15563-15574.
- ³⁰ Berger, W.; Prinz, H.; Striessnig, J.; Kang H. C.; Haugland R.; Glossmann H. Complex molecular mechanism for dihydropyridine binding to L-type Ca(2+)-channels as revealed by fluorescence resonance energy transfer. *Biochemistry* **1994**, *33*, 11875-11883.
- ³¹ Poo, H.; Fox, B. A.; Petty, H. R. Ligation of CD3 triggers transmembrane proximity between LFA-1 and cortical microfilaments in a cytotoxic T cell clone derived from tumor infiltrating lymphocytes: a quantitative resonance energy transfer microscopy study. *J. Cell Physiol.* **1994**, *159*, 176-180.
- ³² Hemmilä, I.; Webb, S. Time-resolved fluorometry: an overview of the labels and core technologies for drug screening applications. *Drug Discovery Today* **1997**, *2*, 373-381.
- ³³ Kubitscheck, U.; Kircheis, M.; Schweitzer-Stenner, R.; Dreybrodt, W.; Jovin, T. M.; Pecht, I. Fluorescence resonance energy transfer on single living cells. Application to binding of monovalent haptens to cell-bound immunoglobulin E. *Biophys. J.* **1991**, *60*, 307-318.
- ³⁴ Johnson, D. A.; Voet, J. G.; Taylor, P. Fluorescence energy transfer between cobra alpha-toxin molecules bound to the acetylcholine receptor. *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 5717-5725.
- ³⁵ Song, X.; Nolan, J.; Swanson, B. I. Optical Biosensor based on fluorescence resonance energy transfer: ultrasensitive and specific detection of protein toxins. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11514-11515.
- ³⁶ Magde, D.; Elson, E. L.; Webb, W. W. Thermodynamic fluctuations in a reacting system - measurement by fluorescence correlation spectroscopy. *Phys. Rev. Lett.* **1972**, *29*, 705-708.
- ³⁷ Elson, E.L.; Magde, D. Fluorescence correlation spectroscopy I: Conceptual basis and theory, *Biopolymers* **1974**, *13*, 1-28.

-
- ³⁸ Magde, D.; Elson, E.L.; Webb, W.W. Fluorescence correlation spectroscopy II: An experimental realization, *Biopolymers* **1974**, *13*, 29-61.
- ³⁹ Eigen, M.; Rigler, R. Sorting single molecules: Applications to diagnostics and evolutionary biotechnology. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1994**, *91*, 5740-5747.
- ⁴⁰ Rigler, R.; Widengren, J. Ultrasensitive detection of single molecules by fluorescence correlation spectroscopy. *BioScience (Ed. Klinge & Owman)*, **1990**, 180-184.
- ⁴¹ Rigler, R.; Mets, Ü. Diffusion of single molecules through a Gaussian laser beam. *SPIE* **1992**, *1921*, 239-245.
- ⁴² Rigler, R.; Mets, Ü.; Widengren, J.; Kask, P. Fluorescence correlation spectroscopy with high count rate and low background: Analysis of translational diffusion. *Eur. Biophys. J.* **1993**, *2*, 169-178.
- ⁴³ La Clair, J. J. Selective detection of the carbohydrate-bound state of concanavalin A at the single molecule level. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7676-7684.
- ⁴⁴ Maiti, S.; Haupts, U.; Webb, W. W. Fluorescence correlation spectroscopy: diagnostics for sparse molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1997**, *94*, 11753-11757.
- ⁴⁵ Wohland, T.; Friedrich, K.; Hovius, R.; Vogel, H. Study of ligand-receptor interactions by fluorescence correlation spectroscopy with different fluorophores: evidence that homopentameric 5-hydroxytryptamine type 3_{AS} receptor binds only one ligand. *Biochemistry* **1999**, *38*, 8671-8681.
- ⁴⁶ Oehlschläger, F.; Schwille, P.; Eigen, M. Detection of HIV-1 RNA by nucleic acid sequence-based amplification combined with fluorescence correlation spectroscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 12811-12816.
- ⁴⁷ <http://www.mpibpc.gwdg.de/abteilungen/081/fcs/prions/german.html>
- ⁴⁸ Scheel, A. A.; Funsch, B.; Busch, M.; Gradl, G.; Pschorr, J.; Lohse, M. Receptor-ligand interactions studied with homogeneous fluorescence-based assay suitable for miniaturized Screening. *J. Biomol. Screening* **2001**, *6*, 11-18.
- ⁴⁹ <http://www.almeda.de/home/brockhaus/1,2785,10192,00.html>
- ⁵⁰ Despopoulos, A.; Silbernagl, S. Taschenatlas der Physiologie. 5.Auflage **2000**
- ⁵¹ <http://www.pharmazie.uni-halle.de/pb/mgst/Signaltransduktion1/signal1.html>
- ⁵² Fischer, E. Einfluß der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2985.
- ⁵³ de Ligt R. A.; Kourounakis A. P.; IJzerman A. P. Inverse agonism at G protein-coupled receptors: (patho)physiological relevance and implications for drug discovery. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *130*, 1-12.
- ⁵⁴ Drury, A. N.; Szent-Györgyi, A. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. *J. Physiol.* **1929**, *80*, 213-237.
- ⁵⁵ Sattin, A.; Rall, T. W. The effect of adenosine and adenine nucleotides on the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate content of guinea pig cerebral cortex slices. *Mol. Pharmacol.* **1970**, *6*, 13-23.
- ⁵⁶ Burnstock, A. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor, in *Cell Membrane Receptors for Drug and Hormones*; a multidisciplinary approach. (Strub, R. W.; Bolis, L.; eds.) Raven Press: New York **1978**, 107-118.

-
- ⁵⁷ Fredholm, B. B.; Ijzerman, A. P.; Jacobson, K. A.; Klotz, K.-N.; Linden, J. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol. Rev.* **2001**, *53*, 527-552.
- ⁵⁸ van Calker, D.; Müller, M.; Hamprecht, B. Adenosine regulates via two different types of receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells. *J. Neurochem.* **1979**, *33*, 999-1005.
- ⁵⁹ Londos, C.; Cooper, D. M. F.; Wolff, J. Subclasses of external adenosine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 2551-2554.
- ⁶⁰ Ralevic, V.; Burnstock, G. Receptors for purine and pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 431-492.
- ⁶¹ Hess, S. Recent advances in adenosine receptor antagonist research. *Expert Opin. Ther. Patents*, **2001**, *11(10)*, 1-29.
- ⁶² Müller, C. E.; Scior, T. Adenosine receptors and their modulators. *Pharm. Act. Helv.* **1993**, *68*, 77-111.
- ⁶³ Zhou, Q. Y.; Li, C.; Olah, M. E.; Johnson, R. A.; Stiles, G. L.; Civelli, O. Molecular cloning and characterisation of an adenosine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 7432-7436.
- ⁶⁴ Müller, C. E. Adenosine receptors ligands – recent developments. Part I. agonists. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7(12)*, 1269-1288.
- ⁶⁵ Fredholm, B. B.; Irenius, E.; Kull, B.; Schulte, G. Comparison of the potency of adenosine as an agonist at human adenosine receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *Biochem Pharmacol.* **2001**, *61*, 443-448.
- ⁶⁶ Fredholm, B. B.; Arslan, G.; Kull, B.; Kontny, E.; Svenningsson, P. Adenosine (P1) receptor signaling. *Drug Dev. Res.* **1996**, *39*, 262-268.
- ⁶⁷ Klotz, K. N. Adenosine receptors and their ligands. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2000**, *362*, 382-391.
- ⁶⁸ Reith, U. Native und rekombinante humane Adenosinrezeptoren, Dissertation Rheinisch Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2001**.
- ⁶⁹ Baraldi, P. G.; Cacciari, B.; Romagnoli, R.; Spalluto, G. A₁ and A₃ adenosine receptor agonists : an overview. *Exp. Opin. Ther. Patents*, **1999**, *9*, 515-527.
- ⁷⁰ Hayallah, A. M.; Sandoval-Ramírez, J.; Reith, U.; Schobert, U.; Preiss, B; Schumacher, B.; Daly, J. W.; Müller, C. E. 1,8-Disubstituted xanthine derivatives: Synthesis of potent A_{2B}-selective adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2002** in Press
- ⁷¹ Kim, Y. C.; Ji, X. D.; Melman, N.; Linden, J.; Jacobson, K. A. Anilide derivatives of an 8-phenylxanthine carboxylic congener are highly potent and selective antagonists at human A_{2B} adenosine receptors. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 657-663.
- ⁷² Ji, X. D.; Kim, Y. C.; Ahern, D. G.; Linden, J.; Jacobson, K. A. [³H]MRS 1754, a selektive antagonist radioligand for A_{2B} adenosine receptors. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, *44*, 170-179.
- ⁷³ <http://www.pharma.uni-bonn.de/pharma/vorlesungen/pharmakonot/pharmakonot01.pdf>
- ⁷⁴ Emptage, N. J. Fluorescent imaging in living systems. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2001**, *1*, 521-525
- ⁷⁵ Carraway, K. L.; Cerione, R. A. Fluorescent-labeled growth factor molecules serve as probes for receptor binding and exocytosis. *Biochemistry* **1993**, *32*, 12039-12045.

-
- ⁷⁶ Fay, S. P.; Posner, R. G.; Swann, W. n.; Skalar, L. A. Real-time analysis of the assembly of ligand, receptor and G-protein by quantitative fluorescence flow cytometry. *Biochemistry* **1991**, *30*, 5066-5075.
- ⁷⁷ Tota, M. R.; Daniel, S.; Sirotna, A.; Mazina, K. E.; Fong, T. M.; Longmore, J.; Strader, C. D. Characterisation of a fluorescent substance P analog. *Biochemistry* **1994**, *33*, 13079-13086.
- ⁷⁸ Srinivasan, Y.; Guzikowski, A. P.; Haugland, R. P.; Angelides, K. J. Distribution and lateral mobility of glycine receptors on cultured spinal cord neurons. *J. Neurosci.* **1990**, *10*, 985-995.
- ⁷⁹ Uhlen, S.; Axelrod, D.; Keefer, J. R.; Limbird, L. E.; Neubig, R. R. Membrane organisation and mobility of α_2 adrenergic receptors in MDCK cells. *Pharmacol. Commun.* **1995**, *6*, 155-167.
- ⁸⁰ Pavo, I.; Jans, D. A.; Peters, R.; Penke, B.; Farenholz, F. Lateral mobility of the antagonist-occupied V2 vasopressin receptor in membranes of retinal epithelial cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1223*, 240-246.
- ⁸¹ Kwon, G.; Axelrod, D.; Neubig, R. R. Lateral mobility of tetramethylrhodamine (TMR) labeled G-protein alpha and beta-gamma subunits in NG 108-15 cells. *Cell Signal* **1994**, *6*, 663-679.
- ⁸² Wang, S.; Martin, E.; Cimino, J.; Omann, G.; Glaser, M. Distribution of phospholipids around gramicidin and D- β -hydroxybutyrate dehydrogenase as measured by resonance energy transfer. *Biochemistry* **1988**, *27*, 2033-2039.
- ⁸³ Shahrokh, Z.; Verkman, A. S.; Shoet, S. B. Distance between skeletal muscle protein 4.1 and the erythrocyte membrane bilayer measured by resonance energy transfer. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 12082-12089.
- ⁸⁴ Carraway, K. L.; Koland, J. G.; Cerione, R. A. Location of the epidermal growth factor binding site on the EGF receptor. A resonance energy transfer study. *Biochemistry* **1990**, *29*, 8741-8747.
- ⁸⁵ Fay, S. P.; Domalewski, M. D.; Skalar, L. A. Evidence for protonation in the human neutrophil formyl peptide receptor binding pocket. *Biochemistry* **1993**, *32*, 1627-1631.
- ⁸⁶ Emmerson, P. J.; Archer, S.; El-Hamouly, W.; Mansour, A.; Akil, H.; Medzihradsky, F. Synthesis and characterisation of 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indazene (BODIPY)-labeled fluorescent ligands for mu opioid receptor. *Biochem. Pharmacol.* **1997**, *54*, 1315-1322.
- ⁸⁷ Kshirsagar, T.; Nakano, A. H.; Law, P.-Y.; Elde, R.; Potoghese, P. S. NT14F: a non-peptide fluorescent probe selective for functional delta opioid receptors. *Neurosci. Lett.* **1998**, *249*, 83-86.
- ⁸⁸ Tairi, A.-P.; Hovius, R.; Pick, H.; Blasey, H.; Bernard, A.; Suprenant, A.; Lundström, K.; Vogel, H. Ligand binding to the serotonin 5HT₃ receptor studied with a novel fluorescent ligand. *Biochemistry* **1998**, *37*, 15850-15864.
- ⁸⁹ Harrison, J. G.; Liu, X.; Balasubramanian, S. Screening for oligonucleotide binding affinity by a convenient fluorescence competition assay. *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, e14.
- ⁹⁰ Arias, H. R. 5-Doxylstearate-induced displacement of phencyclidine from its low-affinity binding sites on the nicotinic acetylcholine receptor. *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, *371*, 89-97.
- ⁹¹ Bixel, M. G.; Kraus, M.; Liu, Y.; Bolognesi, M. L.; Rosini, M.; Mellor, I. S.; Usherwood, P. N. R.; Melchiorre, C.; Nakanishi, K.; Hucho, F. Structure-activity relationship and site of binding of polyamide derivatives at the nicotinic acetylcholine receptor. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 110-120.

-
- ⁹² Mellentin-Michelotti, J.; Evangelista, L. T.; Swartzman, E. E.; Miraglia, S. J.; Werner, W. E.; Yuan, P.-M. Determination of ligand binding affinities for endogenous seven-transmembrane receptors using fluorometric microvolume assay technology. *Anal. Biochem.* **1999**, *272*, 182-190.
- ⁹³ Glasel, J. A.; Venn, R. F. The sensitivity of opiate receptors and ligands to short wavelength ultraviolet light. *Life Sci.* **1981**, *29*, 221-228.
- ⁹⁴ Davidson, R. S.; Hilchenbach, M. M. The use of fluorescent probes in immunochemistry. *Photochem. Photobiol.*, **1990**, *52*, 431-438.
- ⁹⁵ Mullins, J. M. Overview of fluorophores. *Meth. Mol. Biol.*, **1994**, *34*, 107-116.
- ⁹⁶ Treibs, A.; Kreuzer, F.-H. Difluoroboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen, *Liebigs Ann. Chem.*, **1968**, *718*, 208-223.
- ⁹⁷ Falk, H.; Hofer, O.; Lehner, H. Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente, 1. Mitt.: Der induzierte Circular dichronismus einiger Pyrrromethenderivate in cholesterischer Mesophase. *Monatsh. Chem* **1974**, *105*, 169.
- ⁹⁸ Vos de Wael, E.; Pardoën, J. A.; van Koeveeringe, J. A.; Lugtenburg, J. Pyrrromethene-BF₂ complexes (4,4'-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenes) synthesis and luminescence properties. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1977**, *96*, 306-309.
- ⁹⁹ Worries, H. J.; Koek, J. H.; Lodder, G.; Lugtenburg, J.; Fokkens, R.; Driessen, O.; Mohn, G. R. A novel water-soluble probe: Synthesis, luminescence and biological properties of the sodium salt of the 4-sulfonato-3,3',5,5'-tetramethyl-2,2'-pyrrromethene-1,1'-BF₂ complex. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1985**, *104*, 288-291.
- ¹⁰⁰ Haugland, R.P.; Kang, H.C. Chemically reactive dipyrrrometheneboron difluoride dyes. U.S. Patent 4,774,339, **1988**
- ¹⁰¹ Haugland, R.P., Kang, H.C., US-Patent 5,187,288, **1993**
- ¹⁰² Haugland, R.P., Kang, H.C., US-Patent 5,248,782, **1993**
- ¹⁰³ Haugland, R.P., Kang, H.C., US-Patent 5,338,854, **1994**
- ¹⁰⁴ <http://www.probes.com>
- ¹⁰⁵ Burghart, A.; Kim, H.; Welch, M. B.; Thoresen, L. H.; Reibenspies, J.; Burgess, K. 3,5-Diaryl-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes: Synthesis, spectroscopic, electrochemical and structural properties. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7813-7819.
- ¹⁰⁶ Thoresen, L.H.; Kim, H.; Welch, M.B.; Burghart, A.; Burgess, K. Synthesis of 3,5-Diaryl-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY[®]) Dyes. *Synlett* **1998**, *11*, 1276-1278.
- ¹⁰⁷ Kim, H.; Burghart, A.; Welch, M. B.; Reibenspies, J.; Burgess, K. Synthesis and spectroscopic properties of a new 4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY[®]) dye. *Chem. Commun.* **1999**, *18*, 1889-1890.
- ¹⁰⁸ Li, F.; Yang, S. I.; Ciringh, Y.; Seth, J.; Martin, C. H.; Sigh, D. L.; Kim, D.; Birge, R. R.; Bocian, D. F.; Holten, D.; Lindsey, J. S. Design, synthesis, and photodynamics of light-harvesting arrays comprised of a porphyrin and one, two or eight boron-dipyrrin accessory pigments. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10001-10017.
- ¹⁰⁹ Chen, J.; Reibenspies, J.; Derecskei-Kovacs, A.; Burgess, K. Through-space ¹³C-¹⁹F coupling can reveal conformations of modified BODIPY dyes. *Chem. Commun.* **1999**, 2501 - 2502.

-
- ¹¹⁰ Cookson, G.H.; Rimington, C. Porphobilinogen. *Biochem J.* **1954**, *57*, 474-484.
- ¹¹¹ Cooper, G.H., Cyclopropyl 2-pyrrolyl ketone. *J. Org. Chem.*, **1971**, *36*, 2897-2898.
- ¹¹² Massa, S.; Corelli, F.; Artico, M.; Mai, A.; Ragno, R.; De Montis, A.; Loi, G.; Corrias, S.; Marongui, M.E.; La Colla, P. [[(Thienylcarbonyl)alkyl]oxy]phenyl]- and [[(pyrrylcarbonyl)alkyl]oxy]phenyl]-oxazoline derivatives with potent and selective antihuman rhinovirus activity. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 803-809.
- ¹¹³ Jacobson, K. A.; Kirk, K. L.; Daly, J. W. Functionalized congeners of 1,3-dialkylxanthines: Preparation of analogues with high affinity for adenosine receptors. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1334-1340.
- ¹¹⁴ Kim, H. O.; Ji, Y.-D.; Melman, N.; Olah, M. E.; Stiles, G. L.; Jacobson, K. A. Structure-activity relationship of 1,3-dialkyl-xanthine derivatives at rat A₃ adenosine receptors. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3373-3382.
- ¹¹⁵ Kim, Y.-C.; Ji, X.; Melman, N.; Linden, J.; Jacobson, K.A. Anilide derivatives of an 8-Phenylxanthine carboxylic congener are highly potent and selective antagonists at human A_{2B} receptors. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1165-1172.
- ¹¹⁶ Müller, C. E.; Geis, U.; Hipp, J.; Schobert, W.; Frobenius, W.; Pawlowski, M.; Suzuki, J.; Sandoval-Ramirez, J. Synthesis and structure-activity relationships of 3,7-dimethyl-1-propargylxanthine derivatives, A_{2A}-selective adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4396-4405.
- ¹¹⁷ Sauer, R.; Maurinsh, J.; Reith, U.; Fülle, F.; Klotz, K.-N.; Müller, C. E. Water-soluble phosphate prodrugs of 1-propargyl-8-styrylxanthine derivatives, A_{2A}-selective adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 440-448.
- ¹¹⁸ Born, G. V. R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* **1962**, *194*, 927-929
- ¹¹⁹ Burnstock, G.; Williams, M. P₂ purinergic receptors: modulation of cell function and therapeutic potential. *JPET* **2000**, *295*, 862-869
- ¹²⁰ Hollopeter, G.; Jantzen, H.-M.; Vincent, D.; Li, G.; England, L.; Ramakrishnan, R.-B.Y.; Nurden, A.; Julius, D.; Conley, P. B. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* **2001**, *409*, 202-207.
- ¹²¹ Eschborn, U. W. Lang gesuchter Rezeptor auf Thrombozyten entdeckt. *Pharm. Ztg.* **2001**, *3*, 50-51.
- ¹²² Macfairlane, D. E.; Mills, D. C. B. The effects of ATP on platelets: evidence against the central role of released ADP in primary aggregation. *Blood* **1975**, *46*, 309-320.
- ¹²³ Geiger, J.; Hönig-Liedl, P.; Schwanzenbächer, P.; Walter, U. Ligand specificity and ticlopidine effects distinguish three human platelet ADP receptors. *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, *351*, 235-246
- ¹²⁴ Ingall, A. H.; Dixon, J.; Bailey, A.; Coombs, M. E.; Cox, D.; McNally, J. I.; Hunt, S. F.; Kindon, N. D.; Teobald, B. J.; Willis, P. A.; Humphries, R. G.; Leff, P.; Clegg, J. A.; Smith, J. A.; Tomlinson, W. Antagonists of the P_{2T} receptor: a novel approach to antithrombotic therapy. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 213-220
- ¹²⁵ Jefferson J. R.; Hunt J. B.; Jamieson G. A. Facile synthesis of 2-[(3-aminopropyl)thio]adenosine 5'-diphosphate: a key intermediate for the synthesis of molecular probes of adenosine 5'-diphosphate function. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 2013-2016.

-
- ¹²⁶ Holletz T.; Möller U.; Knaf A.; Reinhardt R.; Cech D. Synthesis and application of a new fluorescein derivative for fluorescent labeling of oligonucleotides and as a novel tool for non-radioactive DNA sequencing. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 1051-1056
- ¹²⁷ Savi, P., Pereillo, J.M., Uzabiaga, M.F., Combalbert, J., Picard, C., Maffrand, J.P., Pascal, M., Herbert, J.M., *Thromb.Haemost.*, **2000**, *84*, 1-6
- ¹²⁸ Organikum, 16. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaft, Berlin, **1986**, 617
- ¹²⁹ Roberts, J. E.; Aizono, Y.; Sonenberg, M.; Swislocki, N. I. Further chemical characterisation and biological activities of fluorescent 1,N⁶-Ethenoadenosine derivatives. *Org. Chem.* **1975**, *4*, 181-187
- ¹³⁰ Yip K. F.; Tsou K. C. Syntheses of 2-substituted 1,N-6-ethenoadenosines. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1066-1070.