

Neue Inhibitoren zellmembranständiger Proteinkinasen

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
an der Universität Konstanz**

**vorgelegt von
Kathrin Bracht
geb. Fischer**

Konstanz, November 2007

Tag der mündlichen Prüfung: 15.02.2008

Erstgutachter: Prof. Dr. U. Groth

Zweitgutachter: Prof. Dr. G. Müller

Prüfungsvorsitzender: Prof. Dr. V. Wittmann

Meiner Familie

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 2004 bis Mai 2007 in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Ulrich M. Groth im Fachbereich Chemie der Universität Konstanz im Rahmen einer Kooperation mit dem Labor von Herrn Dr. Alfred Jonczyk, Merck KGaA Darmstadt, angefertigt.

Mein herzlicher Dank gilt:

- Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. U. Groth für das Ermöglichen der Bearbeitung dieses Themas und die dabei gewährten Freiheiten, sowie seine freundliche Betreuung und Unterstützung während meiner Zeit in der AG.
- Herrn Dr. A. Jonczyk für die Überlassung des interessanten und fordernden Themas, seine wertvollen Anregungen und die Einblicke in die Welt der industriellen Pharmaforschung, sowie der Bereitstellung der Ergebnisse der Rezeptortests und einiger Chemikalien.
- Herrn Prof. Dr. G. Müller für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.
- Meinem langjährigen Kommilitonen und Kollegen Dr. Christian Kesenheimer für viele Diskussionen und wertvolle Anregungen.
- Meiner Laborkollegin Angelika Früh für die schöne gemeinsame Zeit, viele sehr hilfreiche Anregungen und ihre Hilfsbereitschaft, sowie Steffen Lang und Anja Meißner für das Ertragen meiner gutgemeinten Tipps, die gute Zusammenarbeit im Labor und viele Diskussionen.
- Dr. Thomas Huhn für viele gute Ideen und Diskussion, sowie ganz besonders für die Pflege meines Laptops.
- Malin Bein für die Hilfe bei HPLC-Problemen.
- Dana David und Sylvia Eger für die Ergebnisse ihrer Diplomarbeit bzw. Bachelorarbeit sowie die gute Zusammenarbeit.
- Angelika Früh, Anja Meißner und Dominik Gauss für das Korrekturlesen dieser Arbeit und ihre kritischen Anmerkungen.
- Allen meinen Mitarbeiterpraktikanten für ihre Arbeit.
- Der ganzen Arbeitsgruppe für das gute Arbeitsklima und der Kaffeerrunde von L8 für viele tolle Diskussionen über die Chemie und alles andere.
- Meiner ganzen Familie, die immer für mich da ist.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Proteinkinasen | 3 |
| 1.1.1 | Rolle der Proteinkinasen bei der Krebsentwicklung | 4 |
| 1.1.2 | Schwierigkeiten bei der Entwicklung selektiver Proteinkinase- inhibitoren | 5 |
| 1.1.3 | Proteinkinasen in der Krebstherapie | 6 |
| 1.1.4 | Beispiele für Proteinkinasen | 7 |
| 1.1.4.1 | Die Familie der TGF β -Rezeptor Proteinkinasen | 7 |
| 1.1.4.2 | Die Familie der MAPK | 9 |
| 1.2 | Wirkstoffentwicklung | 11 |
| 1.2.1 | Pharmakokinetik | 11 |
| 1.2.2 | Pharmakodynamik | 14 |
| 1.2.3 | Struktur-Aktivitäts-Beziehung | 18 |
| 1.2.4 | Molecular modelling und docking | 18 |
| 1.3 | Für diese Arbeit wichtige Reaktionen | 20 |
| 1.3.1 | Suzuki-Kupplungen | 20 |
| 1.3.2 | Ullmann-Reaktion | 24 |
| 2. | Aufgabenstellung | 25 |
| 3. | Auswertung der Literatur und Anknüpfungspunkte dieser Arbeit | 26 |
| 3.1 | p38 MAP Kinase Inhibitoren | 26 |
| 3.2 | TGF β I-Rezeptor Inhibitoren | 29 |
| 3.3 | Selektivität der T β RI-Inhibitoren gegenüber der p38 MAP Kinase | 34 |
| 4. | Ergebnisse und Diskussion | 35 |
| 4.1 | Vorbemerkung | 35 |
| 4.2 | Offenkettige Amide | 36 |
| 4.3 | Benzimidazole | 44 |
| 4.4 | γ -Lactone | 52 |
| 4.5 | γ -Lactame | 69 |
| 4.6 | Verlängerte offenkettige Amide | 72 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 4.7 | Imidazole | 76 |
| 4.8 | Varianten des Pteridingrundkörpers SD-208 | 83 |
| 4.9 | Fazit | 89 |
| 5. | Zusammenfassung | 90 |
| 6. | Experimenteller Teil | 95 |
| 6.1 | Allgemeines | 95 |
| 6.2 | Biologische Tests | 98 |
| 6.3 | Synthese der offenkettigen Amide | 99 |
| 6.4 | Synthese der Benzimidazole | 121 |
| 6.5 | Synthese der γ -Lactone | 125 |
| 6.6 | Synthese der γ -Lactame | 147 |
| 6.7 | Synthese der verlängerten offenkettigen Amide | 148 |
| 6.8 | Synthese der Imidazole | 154 |
| 7. | Literaturverzeichnis | 165 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| abs. | Absolut, wasserfrei |
| Ala | L-Alanin |
| Arg | L-Arginin |
| Asn | L-Asparagin |
| Asp | L-Asparaginsäure |
| BINAP | 2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl |
| BMP | <i>bone morphogenetic protein</i> |
| DC | Dünnschichtchromatographie |
| DCM | Dichlormethan |
| CML | Chronische Myeloide Leukämie |
| DEPT | Distortionless Enhancement by Polarization Transfer |
| DEPT-135 | DEPT-Spektrum, mit einem Pulswinkel von 135 ° gemessen |
| DIB | Dibromisocyanursäure |
| DIPEA | Diisopropylethylamin = Hünig-Base |
| DMA | <i>N,N</i> -Dimethylacetamid |
| DMF | <i>N,N</i> -Dimethylformamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| Glu | L-Glutaminsäure |
| Gly | L-Glycin |
| EGFR | <i>epidermal growth factor receptor</i> |
| FDA | <i>U. S. Food and Drug Administration</i> |
| 2-F-Ph | 2-Fluorphenyl |
| 4-F-Ph | 4-Fluorphenyl |
| GIST | Gastrointestinale Stromatumore |
| His | L-Histidin |
| IC ₅₀ | nötige Konzentration, um 50%ige Inhibition zu erzielen |
| IR | Infrarot |
| Ile | L-Isoleucin |
| LDA | Lithiumdiethylamid |
| Leu | L-Leucin |
| LHMDS | Lithiumhexamethyldisilazan |
| Lys | L-Lysin |
| MS | Massenspektroskopie |
| Me | Methyl |

| | |
|-----------------------|---|
| Met | L-Methionin |
| MeO | Methoxy |
| MW | Mikrowellen |
| n. b. | nicht bestimmt |
| NMR | Nuclear Magnetic Resonance |
| 4-NO ₂ -Ph | 4-Nitrophenyl |
| NSCLC | <i>non small cell lung cancer</i> , nicht-kleinzelliger Lungenkrebs |
| R _f | Retentionsfaktor |
| RP | reversed phase |
| RT | Raumtemperatur |
| R _t | Retentionszeit |
| pdb | <i>protein data base</i> (www.pdb.org) |
| PDGF | <i>platelet-derived growth factor</i> |
| Ph | Phenyl |
| Py | Pyridin |
| 2-Py | 2-Pyridylrest |
| 3-Py | 3-Pyridylrest |
| 4-Py | 4-Pyridylrest |
| SAR | <i>structure-activity-relationship</i> ; Struktur-Aktivitäts-Beziehung |
| SDS | <i>sodium dodecylsulfate</i> , Natriumdodecylsulfat |
| Ser | L-Serin |
| THF | Tetrahydrofuran |
| Thr | L-Threonin |
| TMS | Trimethylsilyl |
| Tyr | L-Tyrosin |
| TβRI | <i>transforming growth factor β</i> Rezeptor 1 |

1. Einleitung

Heute stehen erst für ca. ein Drittel aller Krankheiten geeignete Medikamente zur Verfügung und das, obwohl jedes Jahr allein in Deutschland zwischen 20 und 30 neue Wirkstoffe auf den Markt kommen. Die Pharmaindustrie ist aber nicht nur bestrebt, neue Wirkstoffe für bisher unbehandelbare Krankheiten zu finden. Auch die vorhandenen Arzneimittel werden ständig weiterentwickelt und neue Wirkstoffe mit geringeren Nebenwirkungen und/oder höherer Wirksamkeit als die bisherigen werden erforscht.

Der Weg zu einem neuen Medikament ist lang. Ein Pharmaunternehmen muss für dessen Entwicklung von der ersten Synthese des Wirkstoffs bis hin zur Zulassung mit einer Zeitdauer von über zehn Jahren und Kosten von ca. 800 Millionen US-Dollar¹ rechnen. Von 10.000 Verbindungen, die in biologischen Tests positiv auffallen, erreicht im Schnitt nur eine einzige die Zulassung.

Ganz zu Beginn der Forschung steht die Identifizierung eines biologischen *targets*, dem Angriffspunkt für das kommende Medikament, sowie die Entwicklung eines Testsystems, mit dem im *screening* verschiedenste Substanzen auf molekularer Ebene hinsichtlich ihrer Wirksamkeit untersucht werden können. Die in diesen Tests ermittelten Strukturen, Leitstrukturen oder auch *leads* genannt, werden dann in einem kontinuierlichen Prozess von Synthese, biologischer Testung, Auswertung der Daten und erneuter Synthese von modifizierten Molekülen optimiert. In diesem iterativen Zyklus werden Verbindungen ermittelt, die dann hinsichtlich ihrer physikalischen und biologischen Eigenschaften wie Löslichkeit, Bioverfügbarkeit und metabolische Stabilität weiterentwickelt werden, bevor die aussichtsreichsten Kandidaten aus diesem Prozess toxikologischen Untersuchungen unterzogen werden. Die Entwicklung von Zusammensetzung (Formulierung) und Darreichungsform (wie z. B. Tablette, Kapsel oder lösliches Pulver) sowie die klinische Prüfung am gesunden und am kranken Menschen schließen sich an, bevor die gesamten Unterlagen zur Zulassung bei der zuständigen Behörde eingereicht werden können. Nach erfolgreicher Zulassung kann das Medikament dann endlich vermarktet und angewendet werden. In Abbildung 1 ist dieser Entwicklungsprozess skizziert.

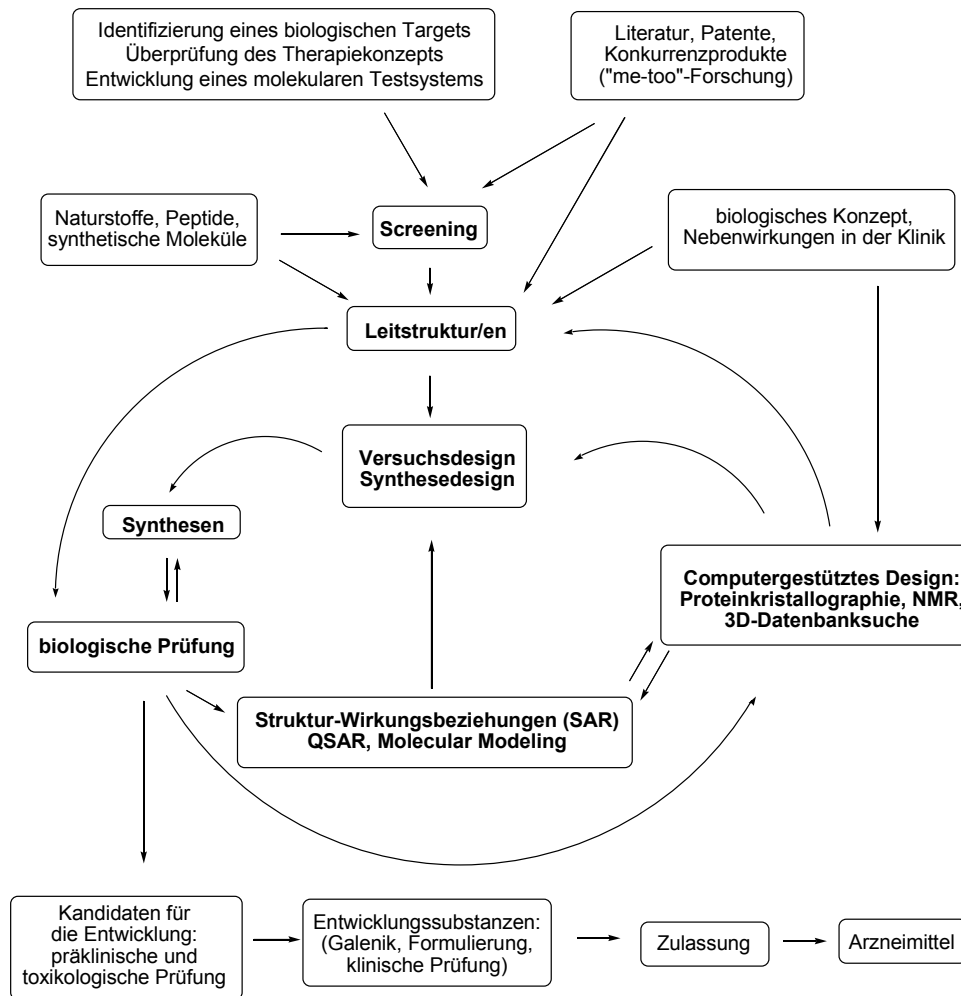


Abbildung 1: Der lange Weg zum Arzneimittel (nach Böhm *et al.*²).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem kleinen Ausschnitt aus dem Prozess der Arzneimittelentwicklung. Das *target* sind in diesem Fall transmembranständige Proteinkinasen, wobei die Leitstrukturen aus der Literatur übernommen wurden. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf dem Entwurf und der Darstellung verschiedener neuer, viel versprechender Substanzen, der Auswertung der biologischen Daten und der Synthese der daraus resultierenden veränderten Moleküle.

In der weiteren Einleitung wird kurz auf die biologischen Hintergründe dieser Arbeit eingegangen. Außerdem sollen einige Aspekte der Wirkstoffentwicklung sowie die Mechanismen zweier durchgeführter Reaktionen erläutert werden. Im Anschluss an die Aufgabenstellung folgt eine knappe Zusammenfassung wichtiger Publikationen, auf denen diese Arbeit aufbaut, bevor im vierten Kapitel die eigenen Arbeiten vorgestellt und diskutiert werden.

1.1 Proteinkinasen

Als Proteinkinasen werden alle Proteine bezeichnet, die Kinaseaktivität besitzen, d. h. die andere Proteine oder Faktoren phosphorylieren können. Durch die Einführung dieser stark polaren und sterisch anspruchsvollen Gruppe verändert sich die Tertiärstruktur der Proteine und damit auch deren biologische Eigenschaften. Auf diese Weise wird die Enzymaktivität oder die Bindung an andere regulatorische Moleküle kontrolliert. Die Gegenspieler der Proteinkinasen, die für die Entfernung von Phosphatgruppen zuständig sind, werden als Proteinphosphatasen bezeichnet. Wichtige zelluläre Prozesse wie Wachstum, Differenzierung, Wanderung und Tod werden durch das Zusammenspiel dieser beiden Enzymgruppen reguliert.

Die Proteinkinasen stellen die zweitgrößte Untergruppe der Proteine dar. Bei der Sequenzierung des Humangenoms wurden 868 proteinkinaseähnliche Sequenzen gefunden³, die auch als Kinom bezeichnet werden. Im Jahre 2002 identifizierten Manning *et al.* 518 davon als wirkliche Proteinkinasen⁴. Damit kodieren ungefähr 1,7% aller humanen Gene Proteinkinasen. Die Kinasen werden anhand ihrer Substratspezifität in zwei Gruppen eingeteilt: die Serin- und/oder Threoninkinasen sowie die Tyrosinkinasen. Es sind allerdings auch Kinasen bekannt, die alle drei genannten Aminosäuren phosphorylieren können. Innerhalb der beiden Gruppen werden die Proteinkinasen in weitere Untergruppen eingeteilt, wobei in einer Untergruppe meist Enzyme mit Ähnlichkeit in der Selektivität bezüglich der Zielproteine, des Regulationsmechanismus sowie der Struktur zusammengefasst werden. Proteinkinasen kommen im Cytosol gelöst oder in Membranen gebunden vor. Die membrangebundenen Proteinkinasen werden auch transmembranständige Proteinkinasen oder Rezeptorproteinkinasen genannt. Im Weiteren wird hauptsächlich auf diese Klasse eingegangen.

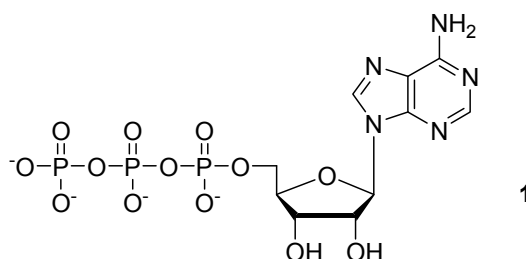


Abbildung 2: Adenosinriphosphat (ATP).

Allen Kinasen gemeinsam ist die Quelle der Phosphorylgruppe: das Adenosinriphosphat (ATP). Dieser Co-Faktor bindet in einer Bindungstasche im Enzym und überträgt eine

Phosphorylgruppe auf sein Substrat. Das entstandene Adenosindiphosphat (ADP) wird von der Kinase wieder freigesetzt und von einem anderen membrangebunden Enzym, der ATP-Synthase, unter Energieaufwand in das ATP zurückgeführt.

1.1.1 Rolle der Proteinkinasen bei der Krebsentwicklung

Der Weg vom gesundem Körpergewebe zu einem aggressiven und invasiven Tumor kann in vier Stufen gegliedert werden⁵.

Der Prozess beginnt mit kleinen Mutationen bei der Zellteilung einer einzigen Zelle, die dazu führen, dass sich die Zelle schneller und vor allem unkontrolliert teilt.

In der zweiten Stufe führen weitere genetische Veränderungen dazu, dass die Zelle die Fähigkeit zum programmierten Zelltod, der Apoptose, verliert. Nun können die gewebeeigenen Kontrollmechanismen die Zelle nicht mehr gezielt eliminieren, wodurch sich ihre Lebensdauer drastisch erhöht. Aus diesen unkontrollierbaren Zellen entsteht nun ein kleiner Tumor.

Dieser Tumor ist auf Nährstoffe und Sauerstoff angewiesen, weshalb er sich nicht weiter als 100 – 200 µm von einem Blutgefäß entfernt entwickeln kann, da diese Entfernung das Diffusionslimit von Sauerstoff darstellt. In der nächsten Stufe der Entwicklung sendet er deshalb Wachstumsfaktoren aus, die die Blutgefäße in der Umgebung dazu anregen, in Richtung des Tumors zu wachsen und ihn zu durchdringen, so dass er an die Blutversorgung angeschlossen ist. Dieser Prozess wird Angiogenese genannt.

Über die neuen Blutgefäße können sich auch Zellen des Tumors im ganzen Körper verteilen und in anderen Organen neue Tumore ausbilden. Diese Bildung von Tochtergeschwülsten, Metastasierung genannt, stellt den vierten Schritt der Tumorentwicklung dar.

Da an allen vier Stufen Proteinkinasen beteiligt sind, gilt die unregelmäßige oder erhöhte Aktivität von Proteinkinasen nach dem heutigen Stand der Forschung als eine der wichtigsten Ursachen für die Krebsentstehung. Proteinkinaseinhibitoren sind daher aussichtsreiche Kandidaten für die Entwicklung neuer Tumorthapeutika.

Dass Proteinkinaseinhibitoren in der Behandlung von Krebspatienten wirklich eine Rolle spielen können, zeigt ein Befund aus dem Jahre 2005⁶. Es wird berichtet, dass die Gabe eines bisher nur in präklinischen Tests untersuchten Proteinkinaseinhibitors zusätzlich zur normalen Strahlen- und Chemotherapie die Tumorwachstums- und Metastasierungsrate deutlich stärker verringert als jede Kombination aus nur zwei der genannten Therapieformen ohne dabei die Toxizität zu erhöhen.

1.1.2 Schwierigkeiten bei der Entwicklung selektiver Proteinkinaseinhibitoren

Da alle Proteinkinasen ATP als Substrat binden, sind die ATP-Bindungsaschen verschiedener Proteinkinasen strukturell weitgehend identisch. Die meisten der bisher bekannten Proteinkinaseinhibitoren hemmen die ATP-Bindung kompetitiv, weshalb die Proteinkinasen vor 15 Jahren noch als ungeeigneter Angriffspunkt für die Medikamentenentwicklung angesehen wurden⁷. Neue Erkenntnisse über die Aminosäuresequenzen und die Veröffentlichung der Kristallstrukturen vieler Proteinkinasen haben dieses Bild jedoch revidiert. Obwohl die Tertiärstruktur aller bekannten Proteinkinasen ähnlich ist, besitzt jede Kinase charakteristische Besonderheiten wie z. B. bestimmte zusätzliche Protein-Protein-Wechselwirkungsregionen oder strukturelle Details außerhalb der ATP-Bindungsdomäne. Allerdings ist es noch immer nicht einfach selektive Inhibitoren zu finden.

Ein möglicher Ansatzpunkt zur Erhöhung der Selektivität ist eine kleine hydrophobe Tasche, die hinter der ATP-Bindungsstelle liegt und orthogonal zur dieser ist. Sie wird von ATP nicht besetzt. Jede Kinase besitzt diese Tasche, doch in ihrer Struktur ist sie sehr variabel, d. h. unterschiedliche Proteinkinasen haben Taschen mit unterschiedlicher Aminosäuresequenz. An ihrem Eingang befindet sich der so genannte *gate-keeper residue*⁷, eine Aminosäure, die je nach Größe ihrer Seitenkette die Tasche besetzt oder leer lässt. Bei einer kleinen Aminosäure wie Threonin als *gate-keeper* kann der Inhibitor tief in die kleine Tasche eindringen und dort zusätzliche Wechselwirkungen eingehen, was seine Chance auf Selektivität deutlich erhöht. Bei größeren Aminosäuren wie Methionin, Leucin, Isoleucin oder Phenylalanin ist der Zugang zur Bindungstasche verstellt. Bei ungefähr 20% aller humanen Kinasen, bei denen sich das kleine Threonin an dieser Stelle befindet, scheint dieser Ansatz sehr Erfolg versprechend zu sein⁸.

Viele Proteinkinaseinhibitoren binden an die inaktive Form der Kinase. Da die Ähnlichkeiten zwischen den Kinasen in der inaktiven Form geringer als in der aktiven Form sind, können auf die inaktive Form maßgeschneiderte Inhibitoren hohe Selektivitäten erreichen. Problematisch könnte hier jedoch sein, dass die inaktive Form toleranter gegenüber Mutationen ist. Die Wahrscheinlichkeit, dass es in der Krebstherapie zu Resistenzen kommt, ist also größer, wenn der Wirkstoff an die inaktive Kinase bindet⁹.

1.1.3 Proteinkinaseinhibitoren in der Krebstherapie

Wie bereits erläutert, spielen Proteinkinasen bei der Entstehung vieler Krebsarten eine Rolle. Seit Mitte der 90er Jahre^a wurden drei Inhibitoren von der *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) zugelassen und daraufhin auf dem Markt eingeführt. Es handelt sich dabei um Wirkstoffe gegen nicht-kleinzellige Lungentumore (NSCLC), Chronische Myeloide Leukämie (CML) sowie gastrointestinale Stromatumore (GIST), deren Strukturen in Abbildung 3 zu sehen sind⁷.

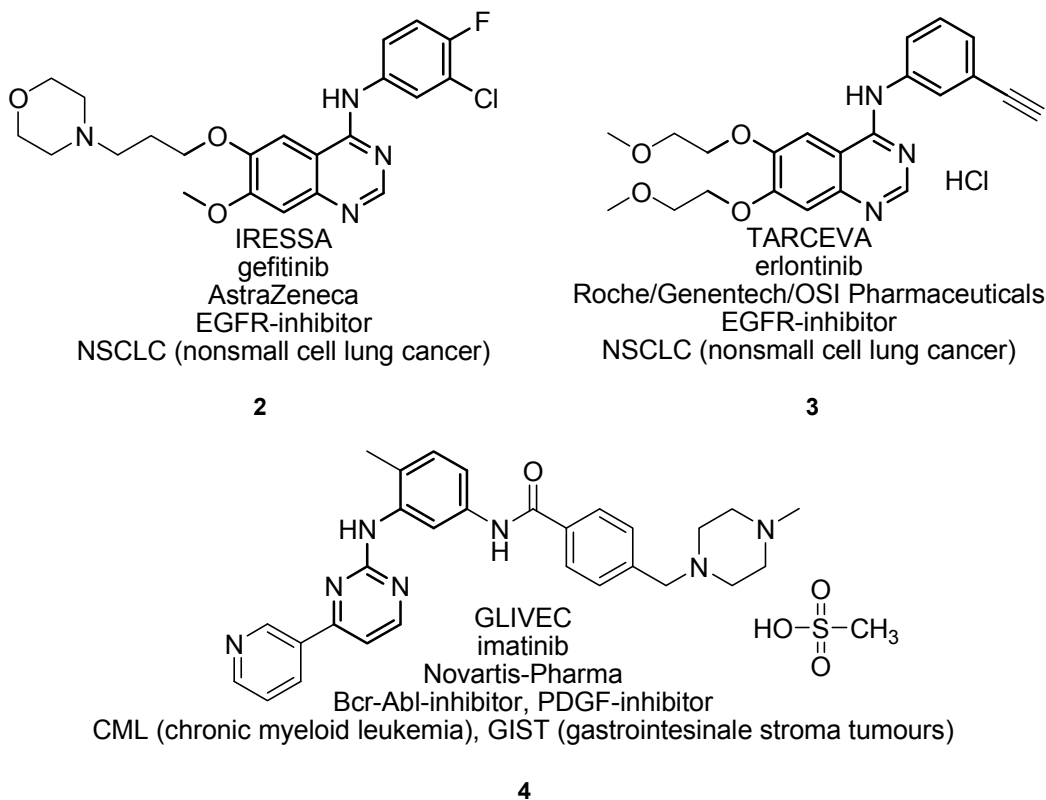


Abbildung 3: Von der FDA bis 2005 zugelassene Proteinkinaseinhibitoren

(aufgeführt sind Handelsname, Wirkstoffname, Firma, Zielrezeptor sowie die Indikation).

Der Wirkstoff Imatinib (Glivec) (Abbildung 3) bindet an die Abelson-Kinase und ist ein Vertreter der hochspezifisch bindenden Inhibitoren. Er bindet an einen schleifenförmigen Abschnitt des Peptids mit der Aminosäurefolge Asparaginsäure, Phenylalanin und Glycin (nach dem Einbuchstabencode für Aminosäuren DFG-Schleife genannt), die in sehr vielen Kinasen vorhanden ist, so dass man hier von einer hoch konservierten Schleife spricht. Durch die Komplexierung mit dem Inhibitor verändert sich ihre Konformation zur „DFG-out-Konformation“. Typischerweise nehmen Komplexe aus ATP oder ATP-Analoga und

^a Stand 2005

Proteinkinasen aber die „DFG-in-Konformation“ an. Die durch Glivec ausgelöste Konformationsänderung öffnet eine hydrophobe Tasche der Proteinkinase, zu der der Inhibitor zusätzliche Wechselwirkungen ausbilden kann, welche dann zur hohen Selektivität der Bindung beitragen¹⁰.

Neben den erwähnten zugelassenen Wirkstoffen befinden sich zur Zeit viele weitere aussichtsreiche Proteinkinaseinhibitoren in unterschiedlichen Phasen der klinischen Forschung⁹.

1.1.4 Beispiele für Proteinkinasen

1.1.4.1 Die Familie der TGF β -Rezeptor Proteinkinasen

Die Familie der *transforming growth factors* (TGF) umfasst eine große Zahl an polypeptidischen Wachstumsfaktoren, u. a. TGF α , TGF β und die *activine and bone morphogenetic proteins* (BMPs). Diese spielen in verschiedenen physiologischen Prozessen wie Zellproliferation und Apoptose eine bedeutende Rolle.

TGF β ist ein homodimeres Peptid aus 112 Aminosäuren. Der Name *growth factor* ist irreführend, da eine der wichtigsten Aufgaben von TGF β die Inhibition des Zellwachstums von Epithelzellen ist. Die Familie erhielt den Namen auf Grund der Eigenschaft, Rattenfibroblasten in Zellkulturen morphologisch zu verändern¹¹. Im Gegensatz zu den klassischen Hormonen hängt die Antwort der Zelle auf TGF β von ihrem Typ und aktuellem Zustand, das heißt der Art und Menge der anwesenden Co-Faktoren, ab. TGF β wird von den membranständigen TGF β -Rezeptoren gebunden.

TGF β -Rezeptoren

Bisher wurden drei Isoformen der TGF β -Rezeptoren identifiziert: T β RI, T β RII und T β RIII. Diese weisen in allen Wirbeltieren große Homologie auf, was auf ihre Bedeutung schließen lässt. Obwohl letzterer am häufigsten auftritt, spielen nur die beiden erstgenannten in der Signalkaskade eine Rolle. T β RIII bindet TGF β aus dem Cytosol und leitet es an die anderen beiden Rezeptoren weiter. Diese sind transmembrane Proteine und weisen auf der intrazellulären Seite Serin/Threonin-Kinaseaktivität auf. Es sind derzeit fünf verschiedene Rezeptoren des Typs II und acht des Typs I bekannt. Einige Rezeptoren des Typs I werden auch als ALK1 - 5 (*Aktivin-receptor Like Kinase*) bezeichnet.¹² Die für diese Arbeit wichtigste Kinase ist ALK5.

Die Signalkaskade ist relativ komplex und bietet somit viele mögliche Ansatzpunkte für die Medikamentenentwicklung. TGF β bindet zuerst am extrazellulären Ende eines transmembranen Komplexes aus zwei Typ II-Rezeptoren, der dann wiederum an zwei Typ I-Rezeptoren bindet. Dadurch wird im Zellinneren die Phosphorylierung der Typ I-Rezeptoren in der so genannten GS-Region^b durch die Typ II-Rezeptoren ausgelöst. Der Typ I-Rezeptor geht in die aktive Form über und ist nun in der Lage, seinerseits bestimmte Smad-Proteine^c, Smad2/3, zu phosphorylieren. Dadurch können diese sich von ihrem Ankerprotein SARA (*Smad Anchor for Receptor Activation*) lösen und einen heterodimeren oder heterotrimeren Komplex mit Smad4 bilden. Dieser Komplex dringt in den Zellkern ein und wechselwirkt dort mit DNA-bindenden Proteinen, Co-Aktivatoren und Co-Repressoren, um die Transkription der TGF β -Zielgene auszulösen¹². Welche davon abgelesen werden, hängt u. a. von den vorhandenen Co-Faktoren und dem Zelltyp ab.

In der bisherigen Forschung zu den kleinmolekularen Inhibitoren wurde hauptsächlich versucht, Inhibitoren für T β RI zu finden. Dabei konzentriert sich die Forschung vor allem auf den Untertyp ALK5, der neben ALK1 nur von Epithelzellen exprimiert wird^{13,14}.

Die Rolle von T β RI in der Krebsentstehung

Bei der Tumorgenese und Metastasierung überwinden einige Zellen die Kontrolle des Immunsystems und werden deshalb nicht mehr als schädlich erkannt und daher werden sie nicht eliminiert. Die beiden Hauptmechanismen der Überwindung des Immunsystems sind einerseits die aktive Unterdrückung des Immunsystems und andererseits seine Unterwanderung, wie z. B. durch Reduzierung der krebszellspezifischen Oberflächenproteine. Es gibt immer neue Untersuchungen, die die Vermutung stützen, dass der erst genannte Mechanismus hauptsächlich durch die Sekretion des Cytokins TGF β ausgelöst wird¹⁵.

TGF β ist gleichzeitig ein Tumorsuppressor und ein Tumorpromotor¹⁶. Da TGF β sowohl bei der Inhibition des Zellwachstums eine wichtige Rolle spielt, als z. B. auch bei der Angiogenese, die für das Tumorwachstum sehr wichtig ist. Durch Mutationen verlieren Zellen jedoch häufig die Möglichkeit, auf TGF β mit inhibitorischen Signalen zu reagieren, was zu unkontrolliertem Zellwachstum und damit zur Entstehung von Krebszellen führt.

Weiterhin kontrolliert TGF β auch die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix. Hohe TGF β -Spiegel führen zu einer Zusammensetzung, die die Anheftungseigenschaften der

^b Die GS-Region erhielt ihren Namen auf Grund einer hochkonservierten TTSGSGSG Aminosäuresequenz in der cytoplasmischen Region.

^c Smad-Proteine: Intrazelluläre Proteine, die die Signalweiterleitung übernehmen.

Zellen in einer für die Tumorzellen günstigen Weise verändert.¹⁵ Da TGF β jedoch noch viele weitere Funktionen in der Zelle erfüllt, ist es nicht einfach, nebenwirkungsfreie Inhibitoren zu entwickeln.

Einige TGF β -Inhibitoren befinden sich bereits in der klinischen Phase, wie z. B. monoklonale Antikörper gegen TGF β 1 und TGF β 2 oder ein Ansatz zur Antisense-Gentherapie. Alle Inhibitoren auf der Basis kleiner Moleküle befinden sich allerdings noch in der präklinischen Entwicklung.¹⁶

1.1.4.2 Die Familie der MAPKs (*Mitogen Activated Protein Kinases*)¹⁷

Auch die MAPKs sind Serin/Threonin-Kinasen, die auf extrazelluläre Reize reagieren. Sie spielen in vielen zellulären Prozessen wie z. B. Mitose, Genexpression oder Zelldifferentiation eine Rolle. Es wurde beobachtet, dass die MAPKs in Krebszellen aktiviert werden und zur Tumorentstehung beitragen¹⁸.

Die Aktivierung der MAPKs verläuft über eine komplexe Signalkaskade: zuerst wird die MAP Kinase Kinase Kinase (abgekürzt mit MAP3K oder MKKK) aktiviert, die dann MAP Kinase Kinase (MAP2K oder MKK) phosphoryliert und diese damit zum Phosphorylieren der MAP Kinase anregt. Diese Signalkaskade blieb offensichtlich während der Evolution erhalten, da sie in sehr unterschiedlichen Organismen von der Hefe bis zum Menschen fast unverändert zu finden ist.

Die Familie der MAPKs umfasst bisher vier Untergruppen: die ERKs (*extracellular signal-regulated Kinases*), die JNKs (*c-Jun N-terminal kinases*), die Isoformen von p38 und die ERK5-Gruppe.

Für diese Arbeit war nur die p38-Untergruppe von Bedeutung, weshalb hier auch nur auf sie näher eingegangen wird.

Die Unterfamilie p38 MAP Kinase

Diese Unterfamilie besteht aus vier Mitgliedern, p38 α , p38 β , p38 χ und p38 δ und spielt in der Synthese einiger pro-inflammatorischer Cytokine wie z. B. dem Interleukin 1 (IL-1) oder dem *tumor necrosis factor* (TNF) eine wichtige Rolle. P38 α wurde als Zielprotein eines Pyridylimidazol-Wirkstoffs, der die Produktion des TNF α hemmt, entdeckt und wird deshalb manchmal auch als CSBP von *cytokine-suppressive antiinflammatory drug-binding protein* bezeichnet¹⁷. P38 α wird von fast allen Zellen exprimiert. Die Isoformen von p38 überlappen in ihren Funktionen teilweise, erfüllen aber alle auch einige spezielle Funktionen im Organismus¹⁹.

Die Inhibition von p38 verhindert daher auch die Biosynthese der pro-inflammatorischen Cytokine und bietet einen attraktiven Ansatz für die Behandlung chronischer Entzündungen wie rheumatische Arthritis und Darmentzündungen⁴². Die meisten der als p38 MAP Kinase Inhibitoren bekannten Moleküle inhibieren nur die beiden Untergruppen α und β ¹⁹.

1.2 Wirkstoffentwicklung

In diesem Kapitel werden einige Aspekte der Wirkstoffentwicklung kurz angesprochen.

1.2.1 Pharmakokinetik²⁰

Die Pharmakokinetik beschäftigt sich mit den Vorgängen, denen das Pharmakon im Körper unterliegt, d. h. der Resorption, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung. Diese werden auch als ADME-Parameter bezeichnet (von *absorption*, *distribution*, *metabolism*, *excretion*) und müssen bereits bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe berücksichtigt werden.

Die Art der **Applikation** entscheidet darüber, an welcher Stelle der Wirkstoff durch Resorption ins Blut gelangt. Bei Medikamenten, die täglich genommen werden müssen, wird die orale Applikation angestrebt. Bei Notfallmedikamenten oder solchen, bei denen die einzelnen Gaben in größeren Abständen erfolgen, kann auch die intravenöse Anwendung wünschenswert sein.

Die **Resorption** entscheidet darüber, ob ein Wirkstoff überhaupt an den Wirkort gelangt. Die hohe Inhibitionspotenz eines Wirkstoffs bei *in vitro* Rezeptortests ist nur dann für die Arzneimittelentwicklung interessant, wenn auch die Resorption zufrieden stellend erfolgt.

Am Beispiel eines oral verfügbaren Medikaments wird nun kurz auf die Resorption eingegangen. Der Ort der Freisetzung eines Wirkstoffs kann über die Formulierung und den Überzug der Tablette genau gesteuert werden. Ist der Wirkstoff dann am gewünschten Ort im Magen-Darm-Trakt angekommen, muss er in die Blutbahn gelangen. Dies erfolgt meistens durch passive Diffusion, entweder durch wassergefüllte Kanäle oder häufiger noch durch die Zellmembran. Das bedeutet, dass der Wirkstoff aus dem wässrigen Milieu des Magen-Darm-Trakts eine Lipidschicht durchdringen muss. Die besten Parameter zur Abschätzung der Fähigkeit zum Membrandurchtritt ist der Verteilungskoeffizient P bzw. für ionisierbare Verbindungen D , die sich nach den folgenden Gleichungen 1 - 3 berechnen lassen und die Verteilung eines Stoffes zwischen n -Oktanol und Wasser angeben.

$$P = \frac{C_{\text{Oktanol}}}{C_{\text{Wasser}}} \quad \text{Gleichung 1}$$

$$\log D_{\text{Säure}} = \log P + \log \left(\frac{1}{1 + 10^{pH - pK_a}} \right) = \log P + C_{D_s} \quad \text{Gleichung 2}$$

$$\log D_{\text{Base}} = \log P + \log \left(\frac{1}{1 + 10^{pK_a - pH}} \right) = \log P + C_{D_b} \quad \text{Gleichung 3}$$

Ist der pH-Wert nahe dem pK_a -Wert einer Verbindung ($|pK_a - pH| \leq 2$) gelten die vereinfachten Gleichungen 4 und 5:

$$\log D_{S\ddot{a}ure} = \log P + pK_a - pH \quad \text{Gleichung 4}$$

$$\log D_{Base} = \log P + pH - pK_a \quad \text{Gleichung 5}$$

Körpereigene Enzyme können die Wirkstoffe in polare Verbindungen überführen. Dieser Vorgang wird **Metabolismus** genannt und beruht auf einer Vielzahl von Reaktionen. Die Metabolite können aktiv (z. B. beim Prodrug-Ansatz^d) oder inaktiv und toxisch oder auch nicht-toxisch sein. Sie werden auf demselben Weg wie intakte Wirkstoffe (siehe unten) ausgeschieden.

Die **Distribution** eines Wirkstoffs im Organismus ist von dessen physikochemischen Eigenschaften abhängig. Lipophile Substanzen können z. B. im Fettgewebe akkumulieren. Für die Verteilung eines Wirkstoffs existieren einige Modelle wie z. B. das Ein- oder Zweikompartimentenmodell mit deren Hilfe seine Konzentration im Organismus abgeschätzt werden kann.

Die **Ausscheidung** von Medikamenten erfolgt vor allem über die Nieren, die alle polaren Verbindungen eliminieren können. Weiterhin kann die Ausscheidung über die Schweiß- und Talgdrüsen, den Darm oder die Lunge erfolgen.

Die Effizienz der Ausscheidung eines Wirkstoffes wird als *Clearance* CL angegeben. Sie gibt an, aus welchem Blutvolumen der Wirkstoff pro Zeiteinheit entfernt wird, weshalb ihre Einheit meist Liter pro Stunde ist. Die *Clearance* CL ist eine kinetische Größe und wird aus den Plasmaspiegelzeitkurven, die durch Auftragung der Wirkstoffkonzentration c über die Zeit t erhalten werden, ermittelt.

$$CL = \frac{D}{AUC} \quad \text{Gleichung 6}$$

D steht hierbei für die gegebene Dosis des Wirkstoffs, AUC (*area under the curve*) für das Integral über die Plasmaspiegelzeitfunktion vom Zeitpunkt der Wirkstoffgabe bis unendlich. Die *Clearance* kann sich auf ein bestimmtes Organ beziehen (z. B. hepatische oder renale *Clearance*) oder auf den gesamten Organismus. Bedeutung hat die *Clearance* für die Bestimmung der zur Erhaltung des gewünschten Plasmaspiegels notwendigen Dosis einer Dauertherapie.

^d Wirkstoffe werden in einer unwirksamen Form verabreicht, die dann von körpereigenen Enzymen in die wirksame Verbindung überführt wird.

Als weiterer Parameter für die Ausscheidung dient die **Eliminationshalbwertszeit** $t_{1/2}$, d. h. die Zeitspanne nach der noch die Hälfte des Wirkstoffs im Blutplasma zu finden ist.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_{el}} \quad \text{Gleichung 7}$$

Die Eliminationshalbwertszeit wird meist graphisch aus der Plasmaspiegelzeitkurve ermittelt.

Unter dem Begriff „Bioverfügbarkeit“ eines Wirkstoffs versteht man die Menge des Pharmakons, die unverändert in das Blut gelangt. Die **Bioverfügbarkeit F** wird in Prozent angegeben und wird als Quotient aus dem Integral der Plasmaspiegelzeitkurve bei oraler Gabe (p. o.) und dem Integral der Plasmaspiegelzeitkurve bei intravenöser Gabe (i. v.) definiert:

$$F = \frac{AUC_{p.o.}}{AUC_{i.v.}} \cdot 100 \quad \text{Gleichung 8}$$

Die Bioverfügbarkeit ist hauptsächlich von der Geschwindigkeit und dem Prozentsatz der Wirkstofffreisetzung aus der Arzneiform, der Resorptionsquote und der Resorptionsgeschwindigkeit sowie des Ausmaßes des First-pass-Effekts^e abhängig.

Regeln für oral verfügbare Wirkstoffe

Lipinsky *et al.*²¹ entwickelten auf der Basis von 2245 Wirkstoffen einfache Regeln zum Entwurf oral verfügbarer Verbindungen. Diese werden *Lipinski's rule of five* genannt und dienen als Faustregeln für das Design von Verbindungen mit guter Resorption und der Fähigkeit zum Durchdringen von Biomembranen. Verbindungen mit diesen Eigenschaften sollen

1. maximal fünf Wasserstoffbrückendonoren
2. maximal zehn Wasserstoffbrückenakzeptoren
3. ein Molekulargewicht > 500 g/mol
4. $\log P > 5$

besitzen.

In den letzten Jahren wurden weitere kompliziertere und aber auch genauere Regeln aufgestellt (z. B. 2000 von Yoshida und Topliss²²), auf die in dieser Arbeit aber nicht

^e Als First-Pass-Effekt wird der Abbau von Wirkstoffen beim ersten Durchgang durch die Leber bezeichnet.

eingegangen wird, da in der frühen Phase der Wirkstoffentwicklung die Regeln Lipinskis ausreichen.

1.2.2 Pharmakodynamik^{2, 20, 23}

Die Pharmakodynamik beschäftigt sich mit den Einflüssen von Wirkstoffen (Pharmaka) auf den Organismus und dabei besonders mit der Korrelation von Arzneistoffkonzentration und -wirkung. Die Wirkung eines Pharmakons beruht auf seiner Wechselwirkung mit einem Rezeptor, meist einem Protein. Als Modell für diese Wechselwirkung wird das Schlüssel-Schloss-Prinzip von Emil Fischer²⁴ verwendet: ein Wirkstoff kann nur dann wirken, wenn er in den Rezeptor passt wie ein Schlüssel in ein Schloss. Vereinfachend wird davon ausgegangen, dass nur Teile des Wirkstoffs für die Bindung verantwortlich sind. Die dreidimensionale Anordnung dieser Wirkstoffteile wird als Pharmakophor bezeichnet. Der Rest des Moleküls wirkt als Gerüst und trägt zu den pharmakokinetischen Parametern wie z. B. der Lipophilie bei.

Die physikalischen Grundlagen der Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen sind äußerst kompliziert. Ihr Verständnis, zumindest anhand von vereinfachten Modellen, ist jedoch essentiell für die Entwicklung neuer Wirkstoffe. Meistens sind die Protein-Ligand-Wechselwirkungen nicht-kovalenter Natur. Es gibt allerdings einige bekannte Ausnahmen, wie z. B. Aspirin, Omeprazol^f oder die β -Lactam-Antibiotika. Im Folgenden wird nur auf die nicht-kovalenten Wechselwirkungen eingegangen.

Die Ligand-Rezeptor-Wechselwirkung wird als Reaktion auf Rezeptorebene bezeichnet. Daraus ergibt sich ein Reiz in der Effektorebene, der in einer Zelle zu einer Funktionsänderung (Funktionsebene) führt. Die Quantifizierung der Effekte in den beiden letztgenannten Ebenen ist meist sehr zeit- und kostenaufwändig. Auf Rezeptorebene kann dies jedoch normalerweise mit einfachen *in vitro* Tests durchgeführt werden. Tests wie z. B. ein kompetitiver Rezeptorbindungstest werden häufig für erste Optimierungen eines Wirkstoffs verwendet.

Die Bindung eines Liganden kann unter Annahme eines isolierten und idealisierten Proteins nach dem Massenwirkungsgesetz mit der Bindungskonstante K_i beschrieben werden:

^f Omeprazol ist ein H^+/K^+ -Protonenpumpenhemmer der Firma AstraZeneca.

$$K_i = \frac{[Ligand][Protein]}{[Ligand \cdot Protein]} \quad \text{Gleichung 9}$$

Es kann aber auch die freie Bindungsenthalpie ΔG angegeben werden.

$$\Delta G = RT \ln K_i \quad \text{Gleichung 10}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{Gleichung 11}$$

Die freie Bindungsenergie setzt sich angenähert additiv aus Beträgen unterschiedlicher Wechselwirkungstypen zusammen.

$$\Delta G \approx \sum_i \Delta H_i - \sum_i T\Delta S_i \quad \text{Gleichung 12}$$

Eine Bindungskonstante von 1 nM ist bei 310 K auf eine freie Bindungsenergie von ungefähr 50 kJ/mol zurückzuführen. Die zur Bindungsenergie beitragenden Wechselwirkungstypen sind folgende:

1. Wasserstoffbrücken

Wasserstoffbrücken werden zwischen einem protonentragenden Partner, dem Wasserstoffbrückendonator, und einem elektronegativen Atom, dem Wasserstoffbrückenakzeptor, gebildet. Sie haben eine Reichweite von 2,8 – 3,2 Å und beruhen auf elektrostatischen Wechselwirkungen. Die Elektronendichte wird vom Proton auf das Akzeptoratom verschoben, weshalb beide Partner näher zusammenrücken können als der Summe ihrer Van-der-Waals-Radien entspricht wodurch ihre elektrostatische Anziehung vergrößert wird. Wasserstoffbrücken besitzen eine festgelegte Geometrie: die Atome N, H und O liegen dabei fast auf einer Linie, der Winkel N-H...O ist immer größer als 150°, der Winkel C=O...H liegt zwischen 100° und 180°.

Der Enthalpiebeitrag einer Wasserstoffbrücke ist annähernd null. Um sie auszubilden, wird im solvatisierten Wirkstoff und Rezeptor je eine Wasserstoffbrücke zu einem Wassermolekül der Solvathülle gebrochen. Die Summe der gebrochenen und gebildeten Wasserstoffbrücken bleibt also null; ihre Energiebeiträge gleichen sich annähernd aus. Der Entropiebeitrag der Wasserstoffbrücken ist jedoch nicht zu vernachlässigen. Sind vor der Bindung zwei frei bewegliche Teilchen vorhanden, so sind es nach der Bindung des Liganden an den Rezeptor drei: zwei Wassermoleküle und der Ligand-Rezeptor-Komplex. Die Entropie nimmt also zu. Eine neutrale H-Brücke trägt mit ca. 2 – 6 kJ/mol zur Bindung bei, eine geladene mit ca. 15 kJ/mol.

2. Ionische Wechselwirkungen (Salzbrücken)

Ionische Wechselwirkungen entstehen zwischen zwei geladenen Gruppen, häufig z. B. zwischen einem vom Protein gebundenen Metallion und einem Carboxylat des Liganden oder einem protonierten Amin und einer Carboxylatgruppe. Sie beruhen auf der Coulomb-Kraft zwischen den beiden gegensätzlichen Ladungen. Jedoch ist der Energiegewinn geringer als theoretisch zu erwarten wäre, da in wässrigen Systemen wie den Körperzellen der Verlust der Hydratationsenergie gegen gerechnet werden muss. Ihre Reichweite von 2,7 – 3,0 Å ist mit der der H-Brücken vergleichbar.

3. Hydrophobe Wechselwirkungen

Diese Wechselwirkungen entstehen durch die enge Nachbarschaft von lipophilen Aminosäureseitenketten des Proteins und lipophilen Teilen des Liganden, wie z. B. Halogensubstituenten, Aromaten, aliphatischen Kohlenwasserstoffen und manchen Heterozyklen. Der Enthalpiebeitrag der Anziehung ist sehr klein, die eigentliche Stärke dieser Wechselwirkung beruht vor allem auf entropischen Effekten durch die Verdrängung von Wasser, das in der lipophilen Umgebung keine Wechselwirkungen eingehen kann, nach der Verdrängung aber eine höhere Entropie besitzt und zusätzlich neue H-Brücken eingehen kann, die sich dann günstig auf die Enthalpiebilanz auswirken. Die hydrophoben Wechselwirkungen tragen mit ca. 100 – 200 J/(mol·Å²) zur Gesamtbindung bei.

4. Ion-Dipol-Wechselwirkungen

Quartäre Amine, andere Kationen oder partiell positivierete Wasserstoffatome können mit den π -Elektronen von Aromaten wechselwirken. Diese Wechselwirkungen werden als Kation- π -Wechselwirkungen oder Polarisationswechselwirkungen bezeichnet und beruhen in erster Näherung auf der elektrostatischen Anziehung zwischen der positiven Ladung des Kations und dem Quadrupolmoment des aromatischen Systems.

Die Komplexierung von Metallionen fällt auch in diese Kategorie. Dabei chelatisieren kationische oder heterozyklische Seitengruppen des Rezeptors das Metallatom. Inhibitoren können an freie Bindungsstellen koordinieren.

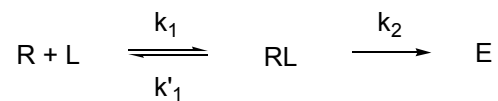
Unter Kenntnis der freien Bindungenthalpie lässt sich also die Bindungskonstante berechnen und umgekehrt. Auf diese Weise kann berechnet werden, ob der Wirkstoff all seine Bindungsmöglichkeiten ausschöpft. Da hier aber mit vereinfachten Modellen gerechnet wird,

kann durch den Vergleich mit Literaturdaten immer nur eine grobe Abschätzung der Qualität der Bindung vorgenommen werden.

Zusammenhang zwischen der Bindung, Wirkung und Dosis eines Wirkstoffs

In dieser Arbeit wird die Stärke der Bindung des Liganden als IC_{50} -Wert angegeben. Dieser gibt an, bei welcher Konzentration des Liganden die Aktivität des Proteins auf 50% zurückgegangen ist.

In erster Näherung kann die Abhängigkeit der Wirkung E von der Konzentration des Liganden L mit folgenden Gleichgewichtskonstanten beschrieben werden:



Dieses Reaktionsschema kann auch mit der Michaelis-Menten-Gleichung, die aus der Enzymkinetik stammt, behandelt werden. Ursprünglich beschrieb die Gleichung die Entstehung eines Produkts E aus einem Enzym-Substrat-Komplex mit der Geschwindigkeitskonstanten k_2 .

$$E = \frac{k_2 [R]_0 [L]}{K_M + [L]} = \frac{E^{\max} [L]}{K_M + [L]} \quad \text{mit der Michaelis-Menten-Konstante } K_M = \frac{k'_1 k_2}{k_1} \quad \text{Gleichung 13}$$

Die Geschwindigkeitskonstante k_2 kann als viel kleiner als die Geschwindigkeitskonstante k'_1 angenommen werden, da nicht aus jeder Wechselwirkung zwischen Ligand und Rezeptor ein Reiz entsteht. Die Michaelis-Menten-Konstante kann daher durch die Bindungskonstante K_i ersetzt werden. Daraus ergibt sich:

$$E = \frac{E^{\max} [L]}{K_i + [L]} \quad \text{Gleichung 14}$$

Für $[L] \approx K_i$ gilt $E = \frac{1}{2} E^{\max}$. Dies entspricht dem ED_{50} -Wert, der angibt, bei welcher Ligandenkonzentration die Hälfte des maximalen Effekts eintritt.

Auch der IC_{50} -Wert aus den kompetitiven Rezeptortests kann auf diese Weise abgeleitet werden. Bei einer konstanten Ligandenkonzentration wird hier die Inhibitorkonzentration variiert und die Ligandenbindung als Effekt gemessen. Zu beachten ist hierbei, dass die Rollen von Ligand und Inhibitor in der modifizierten Michaelis-Menten-Gleichung vertauscht sind, da der Ligand L als Inhibitor des Inhibitors I auftritt.

$$E = \frac{E^{\max} [I]}{K_I \alpha + [I]} \quad \text{mit } \alpha = 1 + \frac{[L]}{K_L} \quad \text{Gleichung 15}$$

Für die Inhibitorkonzentration $[I] = \alpha K_I$ gilt $E = \frac{1}{2} E^{\max}$, was der Definition des IC_{50} -Wertes entspricht. Daher gilt auch $IC_{50} = \alpha K_I$.

1.2.3 Struktur-Aktivitäts-Beziehung (*structure-activity relationship, SAR*)

Indem die molekulare Struktur verschiedener Wirkstoffe mit ihrer Wirkung (erfasst z. B. durch ihre IC_{50} -Werte) in Bezug gesetzt wird, lassen sich Aussagen über die Anforderungen an einen potenten Inhibitor machen. Meist wird dazu eine Serie von Molekülen untersucht, die sich nur in kleinen Strukturdetails von einander unterscheiden.

Kann die molekulare Struktur mathematisch mit einem quantitativ erfassbaren Parameter (z. B. IC_{50} -Wert) korreliert werden, spricht man von QSAR (*quantitative structure-activity relationship*) und kann anhand dieser Beziehung Voraussagen für weitere Moleküle treffen.

1.2.4 *Molecular modelling* und *docking*

Diese beiden Verfahren der „*in silico*“ Chemie werden in der Wirkstoffforschung häufig zum Einsatz gebracht.

Molecular modelling kann als „Berechnung, Darstellung und Bearbeitung von realistischen dreidimensionalen Molekülstrukturen und ihren physikochemischen Eigenschaften“² definiert werden. Häufig wird aus den kristallographischen Datensätzen von Inhibitor-Rezeptor-Komplexen die dreidimensionale Struktur berechnet und dargestellt. So können oft die für die Bindung relevanten Atome oder funktionelle Gruppen eines Inhibitors identifiziert und gegebenenfalls Ideen für wirksamere Moleküle abgeleitet werden.

Beim *docking* wird in 3D-Datenbanken wie z. B. der *Cambridge Structural Database (CSD)* nach den Strukturen kleiner Moleküle gesucht, die optimal in die Bindungstasche hineinpassen. Eine weitere Möglichkeit ist die Berechnung der günstigsten Lage und räumlichen Ausrichtung eines bestimmten Moleküls in der Bindungsstelle des Proteins. Auf diese Weise kann abgeschätzt werden, welche Wechselwirkungen ein Molekül mit der Bindungstasche eingehen kann und welche Veränderungen der Struktur weitere Wechselwirkungen zugänglich machen könnten.

Auf die verfügbaren Berechnungsprogramme soll in diesem Rahmen nicht näher eingegangen werden, da alle in dieser Arbeit diskutierten *molecular modelling* und *docking* Studien von der Firma Merck durchgeführt wurden.

1.3 Für diese Arbeit wichtige Reaktionen

1.3.1 Suzuki-Kupplungen

Die Suzuki-Kupplung ist in den letzten Jahren zu einer der wichtigsten Kreuzkupplungsreaktionen in der organischen Synthese geworden. Es handelt sich hierbei um eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplungsreaktion von Organoboron- und Halogenverbindungen (Abbildung 4). Ein großer Vorteil dieser Reaktion gegenüber anderen Metallkatalysierten C-C-Knüpfungsreaktionen ist ihre Anwendungsbreite. Es werden viele funktionelle Gruppen wie Aldehyde, Amine, Ester, Ether, Carbonsäuren oder Alkohole toleriert. Neben der Darstellung von Biarylen ist die Suzuki-Kupplung z. B. auch ausgezeichnet zur stereoselektiven Synthese von konjugierten Dienen²⁵ oder zur Verknüpfung zweier sp^3 -hybridisierter Kohlenstoffe²⁶ geeignet. Weitere Vorteile sind die Stabilität und die kommerzielle Verfügbarkeit vieler Borverbindungen, sowie die Toleranz von Wasser als Reaktionsmedium und die damit verbundene einfache Abtrennung der anorganischen Nebenprodukte und Reagenzien vom gewünschten Produkt.²⁷

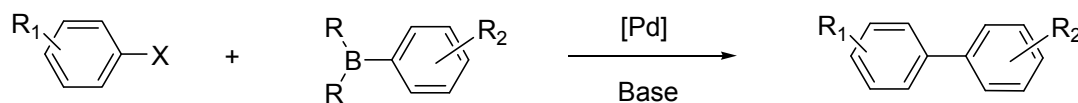
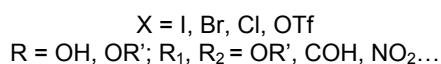


Abbildung 4: Allgemeine Reaktionsgleichung der Suzuki-Kupplung.



Die Suzuki-Kupplungen werden formal in die klassischen Suzuki-Kupplungen und die Suzuki-Miyaura-Kupplungen unterteilt. Der Unterschied beider Reaktionen liegt in der eingesetzten Boronspezies. In ersterer werden Boronsäuren oder deren Ester eingesetzt, in der Variante nach Miyaura hingegen Boranderivate. Da in dieser Arbeit nur klassische Suzuki-Kupplungen durchgeführt wurden, wird nur auf den Mechanismus dieser Kupplung näher eingegangen (siehe Abbildung 5).

Im ersten Schritt erfolgt die Bildung der aktiven Katalysatorspezies **I** durch Dissoziation zweier Liganden vom Katalysator. Der Palladiumkomplex insertiert nun in die Kohlenstoff-Halogenbindung und geht in einen Pd(II)-Komplex **II** (= oxidative Addition) über. Bis zu diesem Schritt ist der Mechanismus gesichert; für die Weiterreaktion wurden jedoch zwei Wege postuliert.

Suzuki postulierte, dass die Nucleophilie der Boronsäure oder deren Ester nicht für die Transmetallierung ausreicht. Um diese zu erhöhen, muss eine Base zugegeben werden, die das Boratom quartärnisiert. Im Gegensatz dazu gehen Miyaura *et al.* in einer früheren Publikation²⁸ davon aus, dass ein Äquivalent der Base auf den Palladiumkomplex übertragen wird. Die Pd-O-Bindung ist polarer und damit der Komplex **III** elektrophiler als das Halogenid **II**, wodurch die Transmetallierung begünstigt wird. Bei Untersuchungen der reaktiven Zwischenstufen mittels ESI-MS fanden Aliprantis und Canary²⁹ jedoch keine der postulierten Pd-O-Spezies. Welcher Mechanismus nun zutrifft, ist bislang noch nicht vollständig geklärt. Sicher ist nur, dass die Anwesenheit einer Base zwingend notwendig ist.

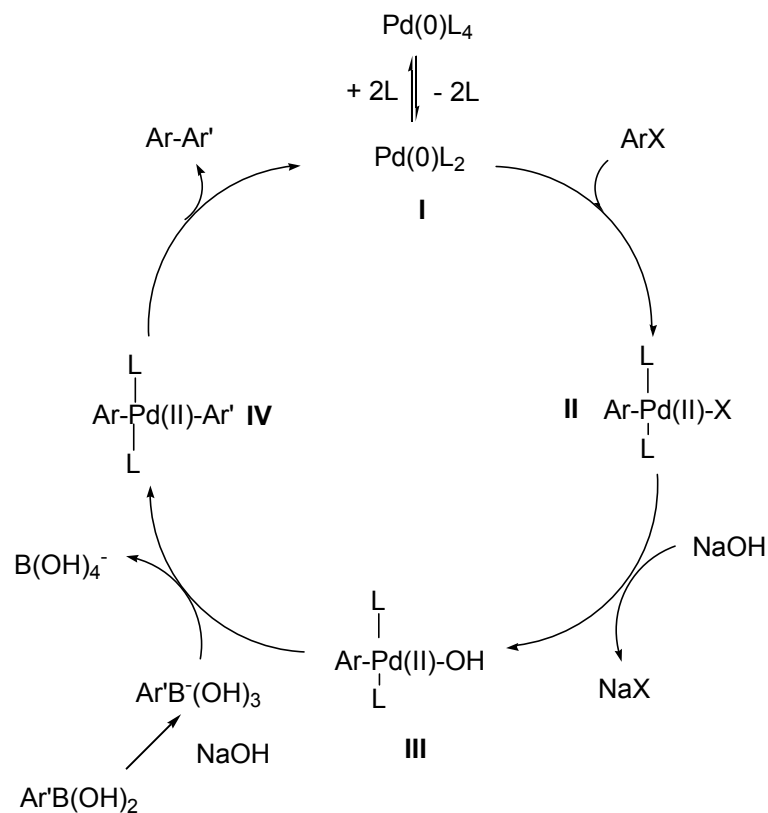


Abbildung 5: Postulierter Katalysezyklus nach Suzuki.

Werden Fluoride als Basen eingesetzt, bilden sich wahrscheinlich Tetrafluorborate als reaktive Spezies aus³⁰.

Geschwindigkeitsbestimmend ist häufig die oxidative Addition. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist außerdem vom eingesetzten Halogenid abhängig und fällt in der Reihenfolge I > OTf > Br >> Cl.

Nebenreaktionen der Suzuki-Kupplung

Bei der Suzuki-Reaktion tritt vor allem die Homokupplung als Nebenreaktion auf. Vor allem beim Einsatz teurer oder in mehreren Schritten dargestellter Boronsäuren ist diese eduktverbrauchende Reaktion unerwünscht. Moreno-Mañas *et al.*²⁷ postulierten 1996 einen Mechanismus (Abbildung 6) und untersuchten die Bedingungen, unter denen besonders große Mengen des Homokupplungsprodukts entstehen. Unter anderem fanden sie, dass die Anwesenheit von Sauerstoff die Homokupplung fördert und eine Base dazu nicht notwendig ist. Es handelt sich hier wahrscheinlich um eine oxidative Kupplung.

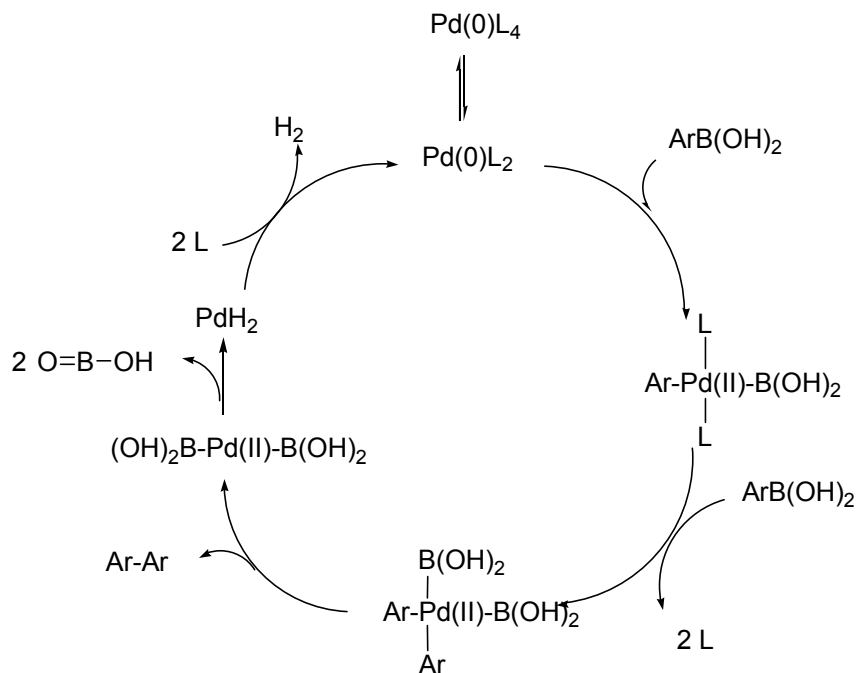


Abbildung 6: Postulierter Mechanismus der Homokupplung nach Moreno-Mañas²⁷.

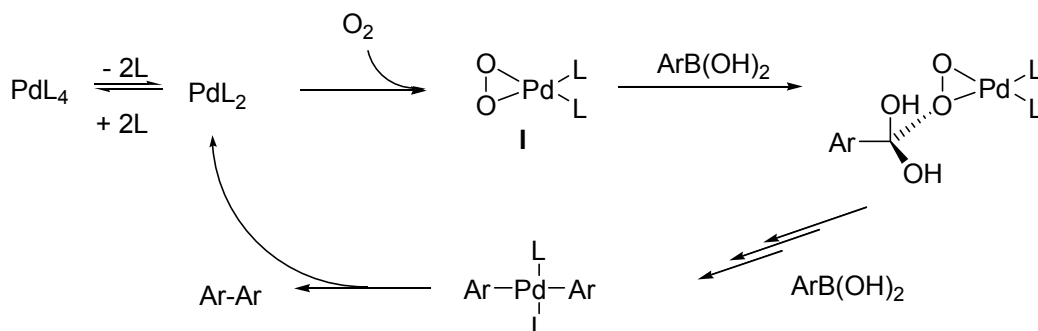


Abbildung 7: Vereinfachter Katalysezyklus nach Adamo *et al.*

Adamo *et al.*³¹ bestätigten 2005, dass es sich um eine oxidative Kupplung handelt und zeigten, dass Sauerstoff für die Entstehung des Homokupplungsprodukt unbedingt nötig ist, da ein Palladiumperoxokomplex (I, Abbildung 7) als Katalysator wirkt.

Eine weitere bekannte Nebenreaktion ist die Hydrodeboronifizierung. Diese wird sowohl im Sauren als auch im Basischen gefunden und ist vom Katalysator unabhängig. Unter den basischen Bedingungen der Suzuki-Kupplung verläuft diese Nebenreaktion wahrscheinlich über einen zweistufigen Prozess, der in Abbildung 8 dargestellt ist³².

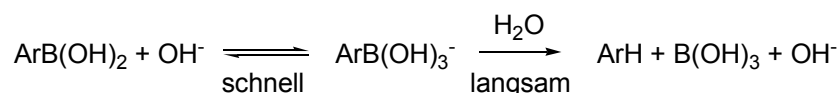


Abbildung 8: Vermutetes Reaktionsschema der Hydrodeboronifizierung.

Weiterhin wird häufig das Kupplungsprodukt aus der Boronsäure und einem Arylsubstituenten des Phosphanliganden des Katalysators gefunden. Dies tritt vor allem beim Einsatz höherer Mengen an Katalysator oder elektronenreicher Boronsäuren wie z. B. Trimethoxyphenylboronsäure auf³³.

In den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Suzuki-Kupplungen wurden als Nebenprodukte vor allem die der Homokupplung gefunden. Kupplungen mit den Aromaten der Phosphanliganden wurden nur selten beobachtet.

Synthese der Boronsäuren

Es gibt sehr viele unterschiedliche Vorschriften zur Synthese von Boronsäuren. Die gängigsten Wege sind die Umsetzung von Grignard- oder Lithiumorganylen mit Borsäureestern und deren anschließende saure Hydrolyse zu den Boronsäuren. Diese Wege sind prinzipiell auch für Heteroarylboronsäuren möglich, jedoch ist z. B. die Synthese der Pyridyl-2-boronsäure problematisch³⁴.

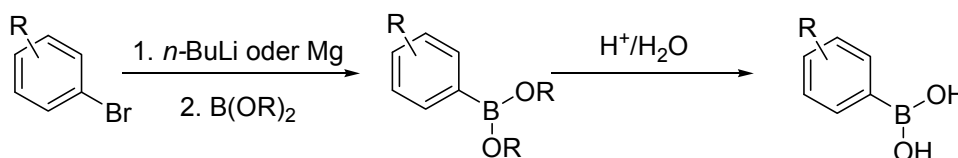


Abbildung 9: Synthese der Boronsäuren.

1.3.2 Ullmann-Reaktion

Ullmann publizierte 1904 eine Kupfer(I)-katalysierte Homokupplung von Iodbenzol zum Biphenyl³⁵ und 1905 einen Kupfer(I)-katalysierten Weg, Phenoether aus Bromaromaten und Phenolen darzustellen³⁶. Inzwischen werden Kupfer(I)-katalysierte Reaktionen zwischen Arylhalogeniden und jeder Art von Nucleophilen als Ullmann-Reaktionen bezeichnet. Als Ullmann-Synthese dagegen bezeichnet man die Synthese von Biarylen aus Arylhalogeniden. Die Ullmann-Reaktionen führen vermutlich über Kupfer(I)intermediate. Der Katalysezyklus ist in Abbildung 10 dargestellt. Zur Erhöhung der Reaktivität werden meist Liganden wie z. B. Prolin zugesetzt.

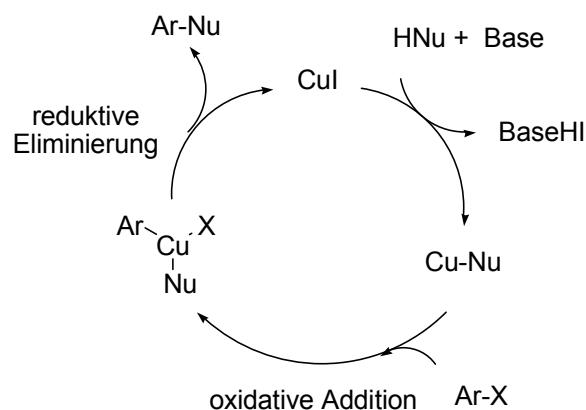


Abbildung 10: Postulierter Katalysezyklus der Ullmann-Kupplungen.

2. Aufgabenstellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, kleine Molekülbibliotheken verschiedener Substanzklassen zu synthetisieren, um neue Verbindungen für die biologischen Tests an verschiedenen Kinasen bereit zu stellen und dadurch neue Daten für die SAR-Studien zu generieren.

Daraus ergeben sich die folgenden Teilaufgabenstellungen:

1. Sichtung der Literatur und Ableitung interessanter, nicht patentierter Strukturen, sowie Identifizierung viel versprechender Substituenten

Die Auswahl der Substanzklassen und derer Substitutionsmuster sollte sich an den bereits publizierten Inhibitoren der p38 MAP Kinase und des T β RI orientieren. Durch Sichtung der Literatur sollten die Anforderungen an einen potentiellen Inhibitor definiert werden.

Dabei sollten zu Beginn der Arbeit die stickstoffhaltigen Fünfringheterozyklen nicht als Grundkörper berücksichtigt werden, da zu diesen Inhibitoren schon viel bekannt und patentiert ist. Außerdem sollten Strukturen gewählt werden, zu denen noch keine Patente im Gebiet der Proteinkinaseinhibitoren bekannt waren, die aber trotzdem die nötigen Wechselwirkungen eingehen können. Das Substitutionsmuster sollte möglichst von bekannten Inhibitoren übernommen werden.

2. Synthese kleiner Substanzbibliotheken

Aus den ausgewählten Substanzklassen sollten je einige viel versprechende Vertreter synthetisiert werden, welche die als interessant identifizierten Substituenten tragen und die vorher definierten Anforderungen an potentielle Inhibitoren erfüllen.

3. Auswertung neu erscheinender Literatur und der erhaltenen Testergebnisse, Integration der Ergebnisse in die Synthese neuer Verbindungen

Die Erkenntnisse aus neuen Publikationen auf dem Gebiet der T β RI- und p38 MAP Kinaseinhibitoren, sowie den Ergebnissen der von der Firma Merck durchgeführten Rezeptortests sollten die Grundlage für die Synthese weiterer Substanzbibliotheken bilden. Dabei sollten auch die von der Firma Merck KGaA zur Verfügung gestellten Ergebnisse von *docking* und *molecular modelling* Studien berücksichtigt werden.

3. Auswertung der Literatur und Anknüpfungspunkte dieser Arbeit

3.1 p38 MAP Kinase Inhibitoren

Schon vor über 20 Jahren wurde das 2,3-Dihydroimidazothiazol SK&F 86002 (siehe Abbildung 12) als Wirkstoff gegen Arthritis im Rattenmodell erkannt³⁷.

Ausgehend von der Verbindung SK&F 86002 wurden neue Inhibitormoleküle gesucht, die höhere Aktivität und Selektivität aufweisen. Da die Inhibitoren der p38 MAP Kinase wie die Inhibitoren fast aller Kinasen ATP-kompetitiv wirken, weist ihre Bindungstasche starke Ähnlichkeiten zu denen anderer Kinasen auf.

Die Inhibitoren der p38 MAP Kinase sind aus einem heterozyklischen Grundkörper, meist ein Fünfring, und mindestens zweier aromatischer Substituenten aufgebaut. In Abbildung 12 sind einige potente Inhibitoren der p38 MAP Kinase abgebildet.

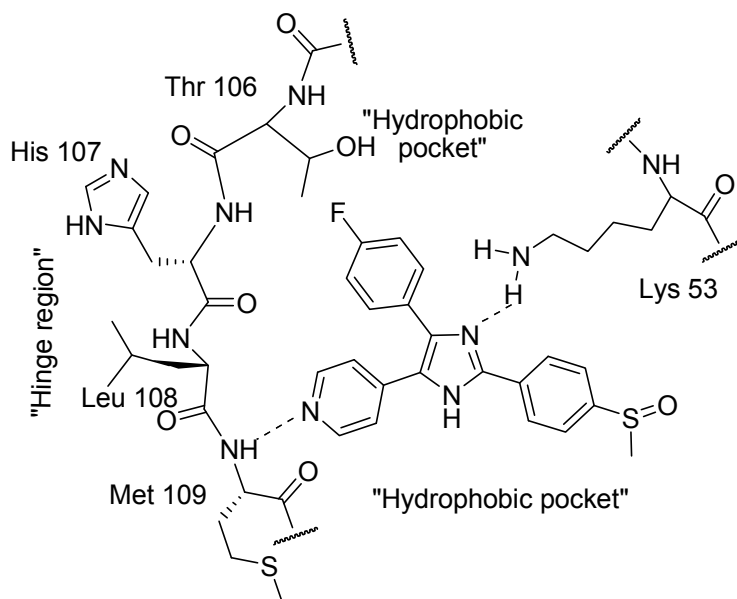


Abbildung 11: Bindung des Inhibitors SB 203580 an die p38 MAP Kinase nach Laufer *et al.*³⁸.

SAR-Studien verschiedener Arbeitsgruppen zeigten, dass der Pyridin-4-yl-Substituent unbedingt nötig ist. Das Stickstoffatom des Pyridinrings bildet mit der Amidgruppe des Methionins 109 im Peptidrückgrat eine Wasserstoffbrücke aus (Abbildung 11). Wird der Pyridin-4-ylring durch einen Phenyl- oder Pyridin-2-ylring ersetzt, geht die Aktivität der Verbindung drastisch zurück, da die Wasserstoffbrücke des Amids dann nicht mehr möglich

ist. Als Substituent am Pyridinring wird eine Methylgruppe in 2-Position geduldet, nicht aber in 3-Position³⁹.

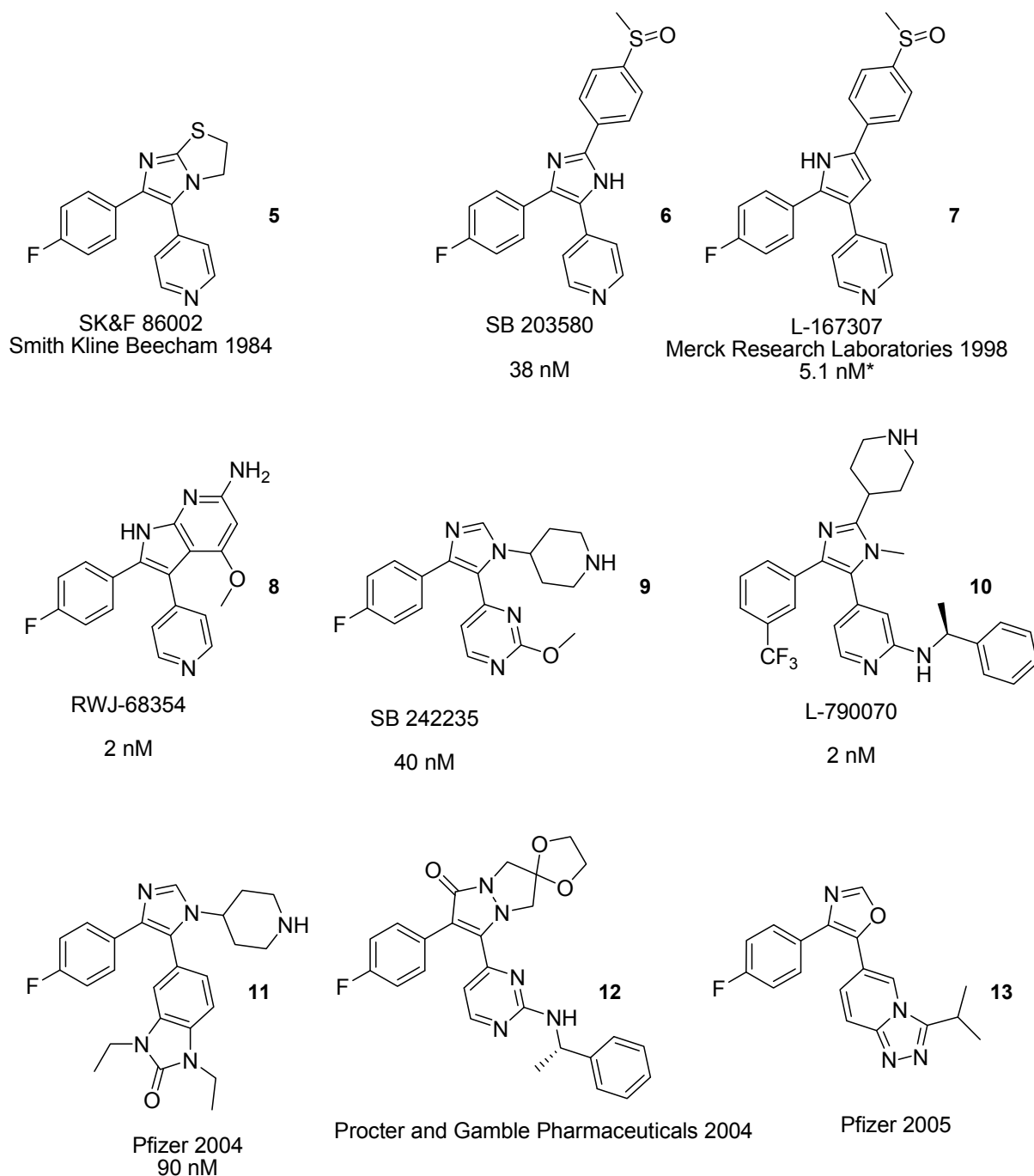


Abbildung 12: Inhibitoren der p38 MAP Kinase, IC_{50} -Werte laut Dombroski *et al.*⁴⁰ bzw. de Laszlo *et al.*³⁹.

Als Grundkörper wird neben dem Imidazol auch ein Pyrrol verwendet. Der Pyridin-4-ylring muss in meta-Position zum Ringstickstoff stehen, damit weiterhin die Wasserstoffbrücke zum Seitenkettenamin des Lysins 53 ausgebildet werden kann³⁹. Neben der Wasserstoffbrücke

vom Pyridinstickstoff zum amidischen Proton des Methionins im Peptidrückgrad ist sie die wichtigste Bindung zum Rezeptor.

Weiterhin trägt die Wechselwirkung der 4-Fluorphenylgruppe mit der ungewöhnlich geräumigen hydrophoben Tasche, die teilweise vom Threonin 106 gebildet wird, zur Bindung des Inhibitors bei³⁸.

Verbindung **13** kann sogar je eine Wasserstoffbrücke zum Methionin 109 und zum Glycin 110 des Peptidrückgrats ausbilden, was die Bindungsstärke im Vergleich zu einem Inhibitor mit nur einer Wasserstoffbrücke erhöht⁴¹.

De Laszlo *et al.*³⁹ zeigten, dass Fünfringe, die in tautomeren Formen vorliegen können, wie z. B. das Imidazol, keine idealen Inhibitoren sind, da nur eine der beiden Formen mit der p38 MAPK die optimalen Wechselwirkungen eingehen kann und somit hohe inhibitorische Aktivität zeigt. Dies wurde u. a. am Beispiel der Regioisomere der Pyrrole **14** und Pyrazolone **15** (Abbildung 13) belegt.

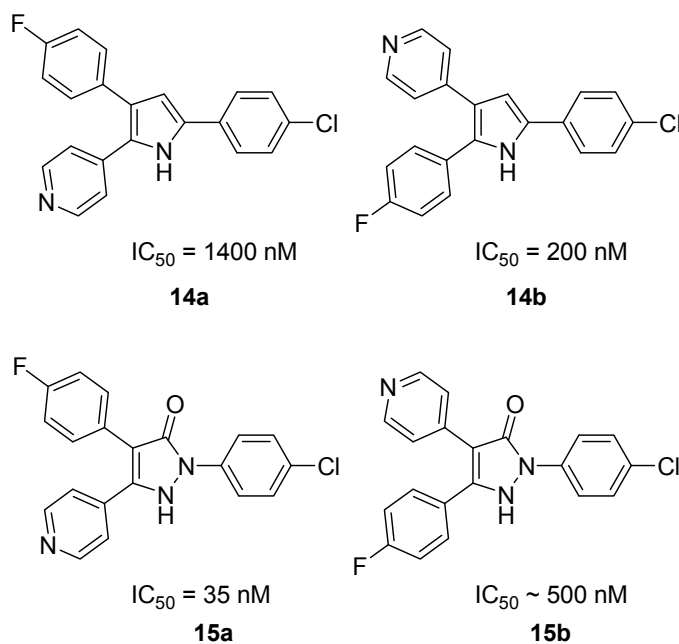


Abbildung 13: Unterschiedliche IC_{50} -Werte zweier Regioisomerenpaare³⁹.

Probleme in der klinischen Entwicklung bereitete die hohe Lebertoxizität der ersten Inhibitoren. Laufer *et al.*³⁸ führen dies darauf zurück, dass sowohl der Pyridin- als auch der Imidazolring gute Liganden für das Eisenatom des Cytochroms P450 sind. Da die Bindung des Imidazolgrundkörpers an das Enzym durch die ihn umgebenden Substituenten vermutlich sterisch gehindert ist, wird der toxische Effekt hauptsächlich den heterozyklischen Substituenten zugeschrieben. Daher wurden in den letzten Jahren p38 MAP Kinase Inhibitoren ohne Pyridinsubstituent publiziert. Adams *et al.*⁴² ersetzen ihn durch einen

Pyrimidinring (**16**, Abbildung 14) und berichteten über bessere Aktivität gegenüber der p38 MAP Kinase bei gleichzeitig reduzierter Bindung an das Cytochrom P450.

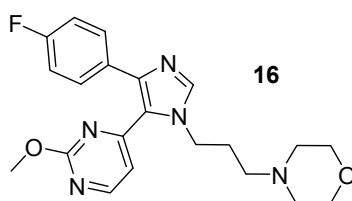


Abbildung 14: Inhibitor mit Pyrimidinsubstituent.

Die minimalen Anforderungen, die ein potentieller p38 MAP Kinase Inhibitor erfüllen muss, lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Ein Grundkörper mit einem H-Brückenakzeptor, bevorzugt ein nicht-tautomeriefähiger heterozyklischer Fünfring.
- Ein 4-Fluorphenylsubstituent am C-Atom neben dem H-Brückenakzeptor des Grundkörpers.
- Ein weiterer Substituent am C-Atom neben dem ersten Substituenten mit einem Atom oder einer funktionellen Gruppe in 4-Position, das/die als Wasserstoffbrückenakzeptor wirken kann.

3.2 TGFβ1-Rezeptor Inhibitoren (TβRI-Inhibitoren)

Seit gut 10 Jahren befassen sich viele Arbeitsgruppen in Industrie und Hochschulen mit der Synthese und Untersuchung von TβRI-Inhibitoren. Bei *High-Throughput-Screenings* wurden häufig Substanzen als viel versprechende Ausgangsverbindungen für weitere Optimierungen gefunden, die ursprünglich als p38 MAP-Kinase-Inhibitoren synthetisiert wurden. Aus Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, *molecular modelling* und Cokristallisation mit dem isolierten TGFβ1-Rezeptor wurden viele Aussagen über die Art der Bindung und die Anforderungen an die Inhibitoren gemacht.

Die erste Kristallstruktur des Typ I TGFβ Rezeptors wurde 1999 von Huse *et al.*⁴³ publiziert. Sie kristallisierten einen Komplex aus der unphosphorylierten cytoplasmatischen Domäne des TβRI und einem Protein namens FKBP12. Dabei zeigte sich zum einen, dass der Rezeptor durch die Bindung des Proteins seine inaktive Konformation annimmt, zum

anderen wurde gezeigt, dass das katalytische Zentrum dieser Kinase große Ähnlichkeiten mit denen anderer bekannter Kinasen aufweist.

Inzwischen sind die Kristallstrukturen mehrerer Komplexe aus T β RI und kleinen Inhibitormolekülen bekannt. Die Aussagen über die Bindungsart und –stellen stimmen dabei weitgehend überein.^{44,45,46,47,48} Alle Inhibitoren binden in der ATP-Bindungstasche.

Folgende Ähnlichkeiten weisen die meisten der bekannten T β RI-Inhibitoren auf (siehe Abbildung 15, 16 und 18):

- Einen heterozyklischen Grundkörper mit H-Brückendonator und H-Brückenakzeptor, meist ein Fünfring
- Einen Pyridin-2-ylrest am C-Atom neben dem H-Brückenakzeptor
- Einen zweiten Rest mit H-Brückenakzeptor benachbart zum Pyridinring (z. B. Chinolin-4-yl, 4-Fluorphenyl, 1,5-Naphthyridin-4-yl)

Die Inhibitoren gehen mehrere Wasserstoffbrückenbindungen mit dem aktiven Zentrum der Kinase ein (Abbildung 16 und Abbildung 17). Als Grundkörper dient meist ein heterozyklischer Fünfring, wie z. B. ein Pyrazol^{45, 48}, ein Pyrrol^{49, 47}, ein Imidazol^{50, 51}, ein Triazol^{52, 53} oder ein Thiazol^{54, 45}. Auch sechsgliedrige oder bicyclische Grundkörper sind möglich, wie z. B. ein Chinolin⁵⁵ oder Chinazolin⁵⁵.

Der protonierte Ringstickstoff des Grundkörpers stellt sein Proton für eine Bindung zur unter physiologischen Bedingungen deprotonierten Carboxylgruppe der Asparaginseitenkette (Asp 351) zur Verfügung. Zwischen der Aminofunktion der Seitenkette des Lysins 232 bildet sich eine Wasserstoffbrücke zum zweiten Ringstickstoff. Eine weitere wird vom N-Atom des 2-Pyridylrests und einem von der Kinase mit den Aminosäuren Asparaginsäure 351, Glutamin 245 und Tyrosin 249 gebundenen Wassermolekül gebildet. Auch der zweite Substituent am Grundkörper geht eine Bindung ein: ein Ringstickstoff akzeptiert das Proton des Amids von Histidin 283 im Peptidrückgrat.

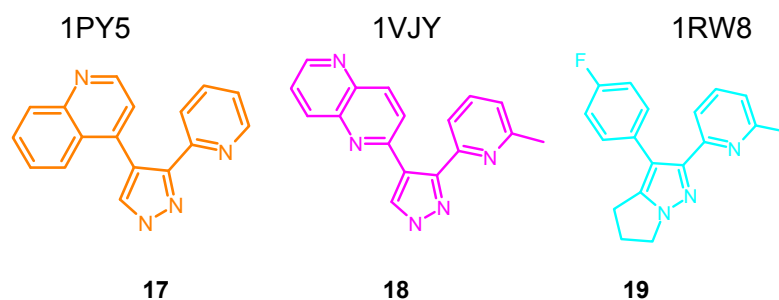


Abbildung 15: Strukturformeln der in Abbildung 16 gezeigten Inhibitoren und deren pdb-Code.

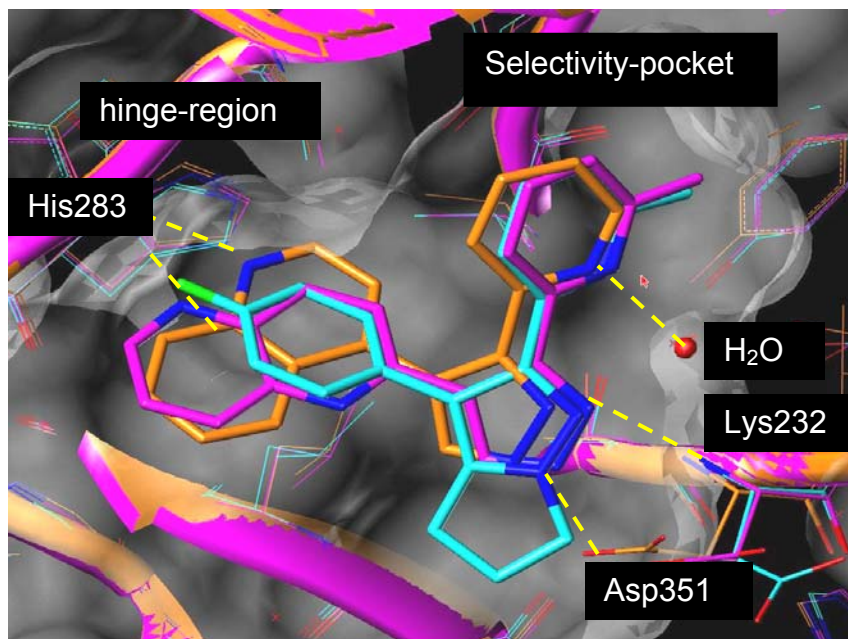


Abbildung 16: Darstellung der Bindungstasche des T β RI mit gebundenen Inhibitoren

basierend auf den Daten aus der Kristallstrukturbestimmung, veröffentlicht in der *Protein Data Base* (www.pdb.org) unter den Codes 1PY5 (orange, **17**), 1VJY (pink, **18**) und 1RW8 (türkis, **19**), die gelb gestrichelten Linien deuten die Wasserstoffbrückenbindungen an. Herzlichen Dank an Herrn Dr. U. Grädler, Merck KGaA, für die Überlassung der Graphik.

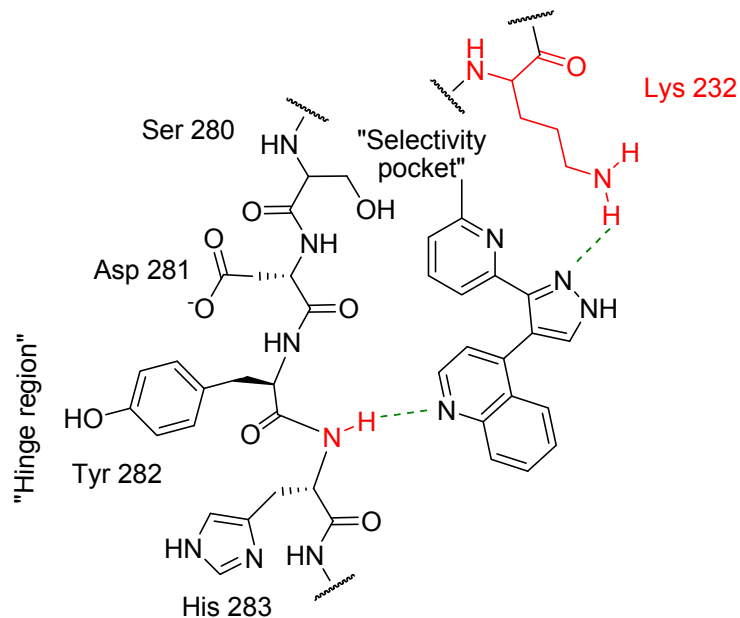
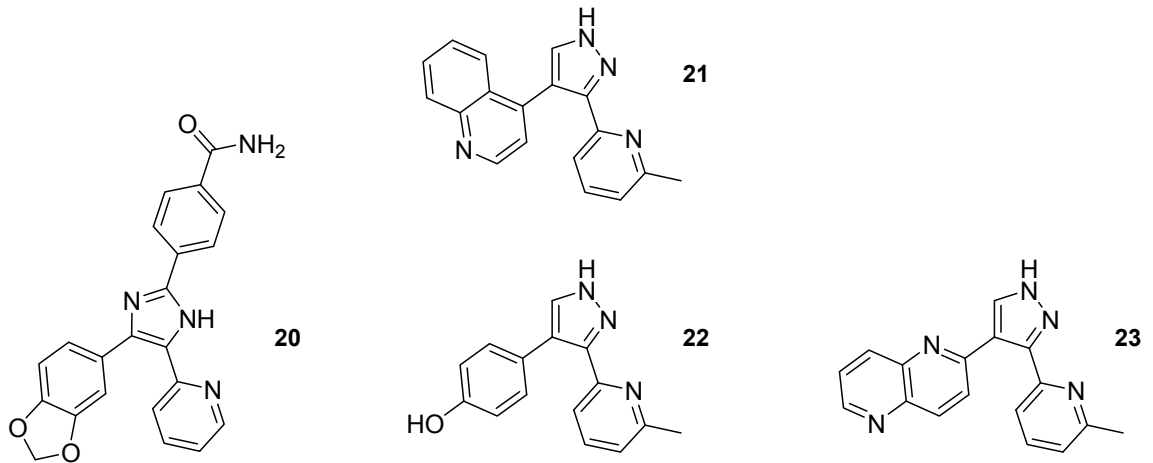


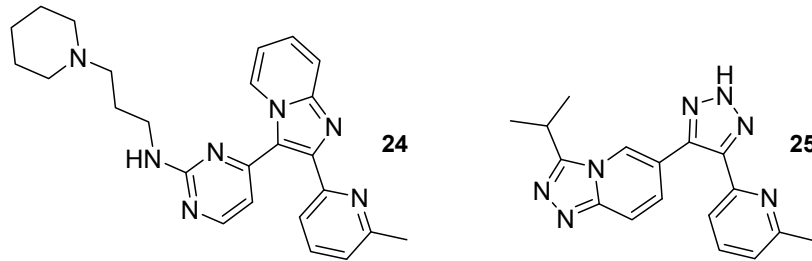
Abbildung 17: Schematische Darstellung der Bindung des Inhibitors 21 nach Gellibert *et al.*⁴⁵.



SB 4315442, GlaxoSmithKline 2002

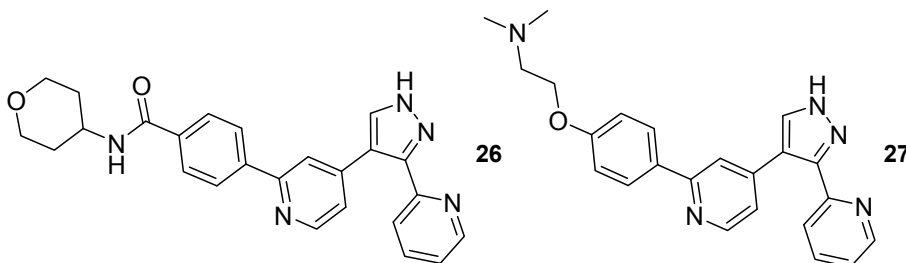
Lilly Research Laboratories 2003

GlaxoSmithKline 2004

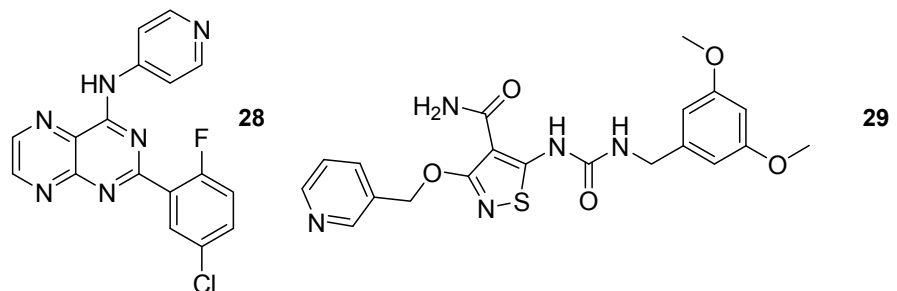


Biogen Idec 2004

Pfizer 2004



GlaxoSmithKline 2006



SD-208, Johnson & Johnson/Scios 2000

Pfizer 2004

Abbildung 18: T β RI-Inhibitoren mit akzeptabler Selektivität.

Weiterhin ist aus den Kristallstrukturen der T β RI-Inhibitor-Komplexe bekannt, dass die Bindungsfurche des Rezeptors flach, breit und größtenteils hydrophob ist. Die Inhibitoren dringen nicht sehr tief in die Bindungsfurche ein. Deshalb ist es vermutlich ungünstig, wenn drei oder mehr sterisch anspruchsvolle Substituenten sehr nahe beieinander stehen. Die bisher bekannten Inhibitoren tragen meist zwei aromatische Substituenten, die in dieselbe Raumrichtung orientiert sind.

Daraus ergeben sich folgende Aussagen über die minimalen Anforderungen an einen Inhibitor für T β RI:

- Ein Grundkörper mit je einem H-Brückenakzeptor und -donor benachbart zueinander
- Zwei Substituenten ohne sterisch stark anspruchsvolle Gruppen am Grundkörper, darunter:
 1. ein in 2-Position stickstoffhaltiger Heterozyklus neben dem Donor- und Akzeptorpaar
 2. ein H-Brückenakzeptor im zweiten aromatischen Substituenten, möglichst in para-Stellung zu dem C-Atom, das mit dem Grundkörper verknüpft ist.

Aus den SAR-Studien ergaben sich weitere Merkmale, die zur besseren Inhibition oder höheren Selektivität beitragen (in Abbildung 19 grün markiert). Demnach sollte ein Chinolin-4-yl-Rest bessere Ergebnisse als ein Pyridin-4-yl-Rest erzielen, da er zusätzlich hydrophobe Wechselwirkungen mit den lipophilen Seitenketten der Aminosäuren Isoleucin 211, Alanin 230 und Leucin 430 eingehen kann. Eine Methylgruppe am Pyridin-2-yl-Substituenten könnte durch Wechselwirkungen mit einer kleinen hydrophoben Bindungstasche zu zusätzlicher Selektivität beitragen. Idealerweise sollten daher beide Substituenten kombiniert werden, da sich die positiven Beiträge beider summieren.

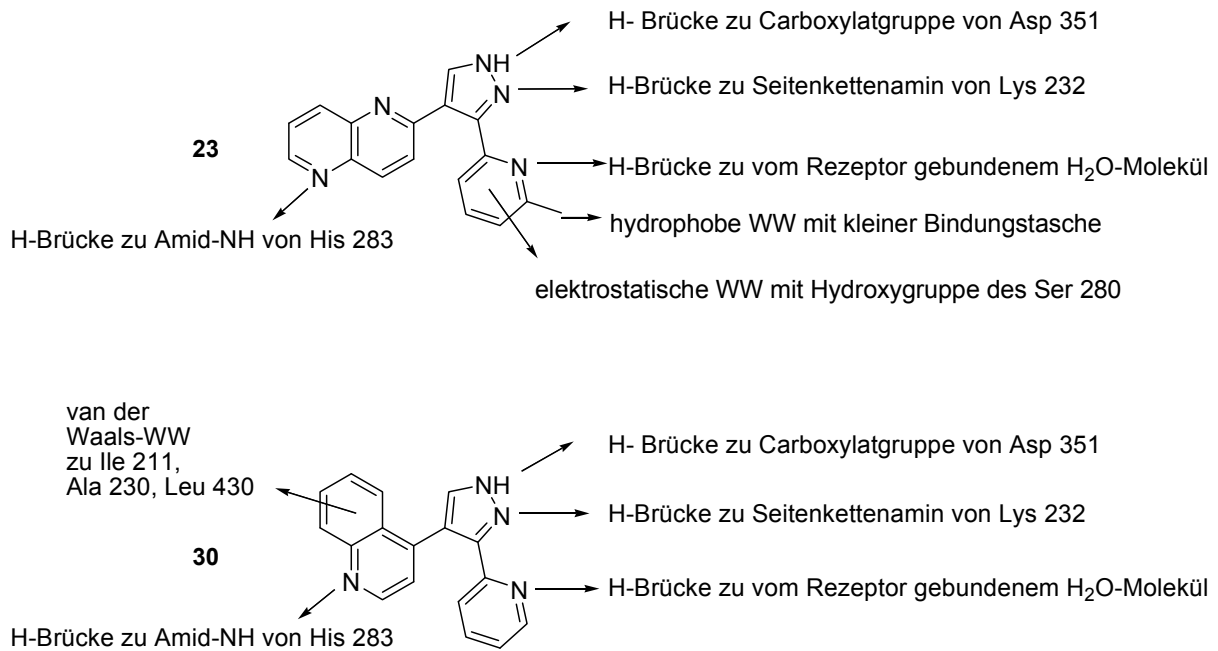


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Bindung der Inhibitoren 23 und 30 in der ATP-Bindungstasche von T β RI.

(23 nach Gellibert *et al.*⁴⁵, 30 nach Singh *et al.*⁴⁴)

3.3 Selektivität der T β RI-Inhibitoren gegenüber der p38 MAP Kinase

Da die T β RI-Inhibitoren ausgehend von den p38 MAP Kinase Inhibitormolekülen entwickelt wurden, ist es interessant, die wichtigsten Unterschiede der beiden Kinasen und ihrer Inhibitoren nochmals zusammenzufassen:⁴⁷

- T β RI-Inhibitoren tragen bevorzugt Pyridin-2-yl-, p38 MAP-Kinase-Inhibitoren Pyridin-4-yl-Substituenten.
- p38 MAP-Kinase-Inhibitoren benötigen an dem Substituenten, der die Wechselwirkung zur *hinge region* ausbildet, stärkere H-Brückenakzeptoren als T β RI-Inhibitoren, da die *hinge region* der p38 MAP-Kinase flexibler ist⁴⁸.
- Die *gate-keeper residues* sind verschieden: Serin bei T β RI, Threonin bei p38 MAPK, weshalb die hydrophobe Tasche der p38 MAP Kinase größer ist.

Viele T β RI-Inhibitoren binden jedoch auch an die p38 MAP Kinase und/oder anderen Kinasen.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Vorbemerkungen

Alle im Folgenden diskutierten Verbindungen wurden dargestellt, um neue Daten für die Struktur-Wirkungsbeziehungsstudien (SAR) zu erhalten. Da der Focus dieser Arbeit auf der Darstellung kleiner Bibliotheken unterschiedlicher Verbindungsklassen lag, wurden mehrfach auch schlechte Ausbeuten ohne Optimierungsversuche in Kauf genommen.

Um in den biologischen Tests an den von der Firma Merck bearbeiteten Kinasen, der so genannten Kinaseplattform, eingesetzt werden zu können, ist eine Reinheit der Substanzen von >95% nötig. Die Verbindungen wurden deshalb nur so weit gereinigt, bis sie diesem Kriterium entsprachen.

Des Weiteren wurden alle Verbindungen, die Stereozentren enthalten, als Racemate dargestellt. Erst nachdem die Verbindungen in den Tests positiv auffallen, müssen die Enantiomere in reiner Form untersucht werden.

Die Analytik der Verbindungen erfolgte mittels NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie. Neben ^1H -, ^{13}C - und DEPT135-NMR-Spektren wurden, wenn nötig oder hilfreich, auch 2D-Methoden wie COSY, HMQC oder CHSFH angewandt.

4.2 Offenkettige Amide

Ableitung der Substanzklasse

Eine Möglichkeit, Moleküle zu erhalten, die den bekannten und potenten Verbindungen ähnlich sind, aber nicht unter die bestehenden Patente fallen, besteht in der Synthese der analogen offenkettigen Verbindungen.

Ausgehend von Verbindung SB 431542 (**33**) wurde der Imidazolring in Gedanken an der gestrichelt gezeichneten Linie aufgeschnitten und das resultierende Amidin durch ein Amid ersetzt (Abbildung 20).

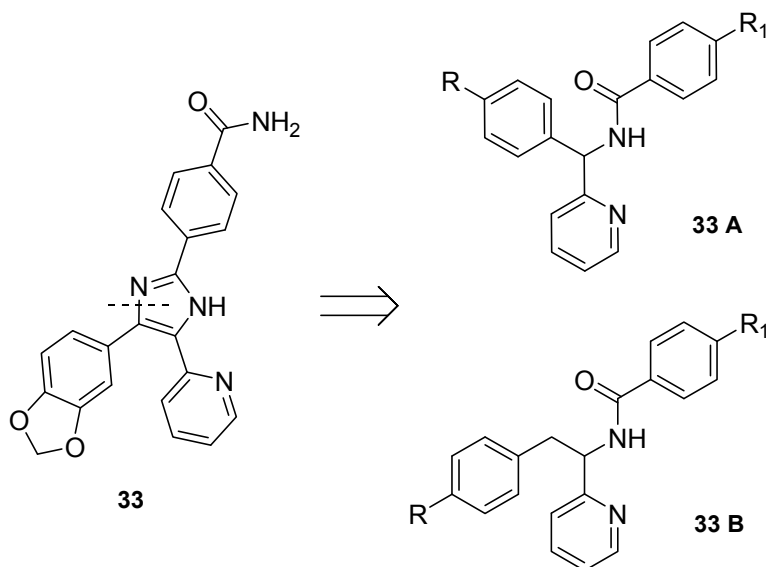


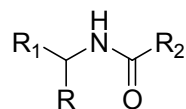
Abbildung 20: Ableitung der einfachen offenen Verbindungen aus dem Inhibitor SB 431542 (**33**).

Synthesen der ersten Amide

Zunächst wurden in der Arbeitsgruppe vorhandene Amine, unter deren zwei aromatischen Substituenten sich ein Heteroaromat befand, unter Zugabe von Triethylamin als Base mit ebenfalls verfügbaren Säurechloriden umgesetzt.

Obwohl diese Verbindungen nicht alle der in der Einleitung beschriebenen Kriterien für potentielle potente Inhibitoren erfüllen, sollten auf diese Weise schnell die ersten Verbindungen dargestellt werden, um deren biologische Aktivität testen zu können. In Tabelle 1 sind die dargestellten Amide der ersten Synthesereihe gezeigt.

Tabelle 1: Dargestellte Amide aus vorhandenen Verbindungen



| Molekül-Nr. | R | R1 | R2 |
|-------------|--------------------|------|-------------------------|
| 34 | Ph | 2-Py | 4-NO ₂ -Ph |
| 35 | Ph | 2-Py | 4-MeO-Ph |
| 36 | Ph | 2-Py | 4-Me-Ph |
| 37 | Ph | 3-Py | 4-NO ₂ -Ph |
| 38 | Ph | 3-Py | 2-Naphthyl |
| 39 | Ph | 4-Py | 4-NO ₂ -Ph |
| 40 | Ph | 4-Py | 4-MeO-Ph |
| 41 | Ph | 4-Py | 4-Me-Ph |
| 42 | Ph | 4-Py | 3,4-(Methylenedioxy)-Ph |
| 43 | 4-F-Ph | 2-Py | 4-F-Ph |
| 44 | 4-F-Ph | 2-Py | 4-Me-Ph |
| 45 | 4-F-Ph | 2-Py | <i>tert</i> -Butyl |
| 46 | CH ₂ Ph | 2-Py | 4-MeO-Ph |
| 47 | 2-Py | 4-Py | 4-Me-Ph |

Ergebnisse der Rezeptortests und Ableitung neuer Strukturvarianten

Wie zu erwarten war, zeigten die Verbindungen der Tabelle 1 allesamt keine Aktivität gegenüber den Kinasen der Plattform. Unter der Annahme, dass die abgeleiteten Verbindungen in der gleichen Weise wie die Originale binden, fehlen - je nach Rest - vor allem die Bindungsmöglichkeiten mit dem Peptidrückgrat in der *hinge region* (vgl. Abb. 16 und 17, Kapitel 3.2). Bei den Methylaminderivaten (Abbildung 20, **33 A**) entspricht außerdem der Winkel zwischen den Aromaten nicht dem der ursprünglichen Verbindungen. Die negativen Testergebnisse bestätigen demnach, dass bestimmte Anforderungen von den Molekülen erfüllt werden müssen, um inhibitorische Wirkung auf TβRI ausüben zu können.

Die Strukturen, die anschließend entworfen wurden, weisen daher eine größere Ähnlichkeit mit den bereits bekannten Inhibitoren auf. Vom Pyrazolderivat **48** in Abbildung 21, das 2004

von den *Lilly Research Laboratories*⁵⁶ patentiert wurde, wurde ein offenkettiges Amid **49** abgeleitet.

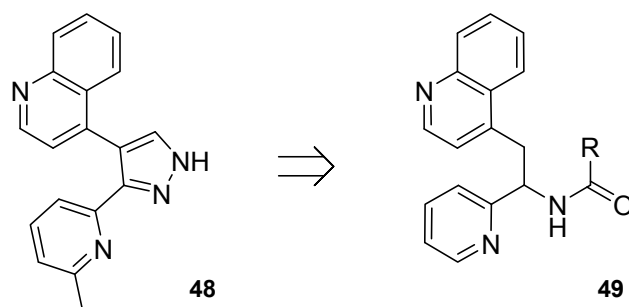


Abbildung 21: Ableitung der offenkettigen Amide des Typs **49** aus dem Imidazolderivat **48**.

Dieses Amid **49** erfüllt die in der Einleitung beschriebenen Anforderungen an potentielle T β RI Inhibitoren, da die Amidgruppe als Wasserstoffbrückendonator und –akzeptor wirken kann und sowohl einen Heterozyklus mit Stickstoffatom in 2-Position als auch einen mit Stickstoffatom in 4-Position trägt. Entscheidende Unterschiede bestehen allerdings in der Anordnung des Wasserstoffbrückendonors (blau) und –akzeptors (rot) und der durch die Ringöffnung deutlich erhöhten Flexibilität des Moleküls. Ob dies toleriert wird und ob die flexibler gewordenen Verbindungen überhaupt noch am Rezeptor binden können, sollte durch die Inhibitortests an einer Reihe strukturanaloger offenkettiger Amide untersucht werden.

Dabei sollten Amine mit zwei unterschiedlichen Heterozyklen dargestellt werden, von denen einer das Stickstoffatom in ortho- und der andere in para-Position trägt. Der Rest R sollte in der Größe und den funktionellen Gruppen variieren. Die letzteren sollten sich dabei in Analogie zu SB 431542 (**33**, Abbildung 20) bevorzugt in der para-Position befinden.

Synthesen

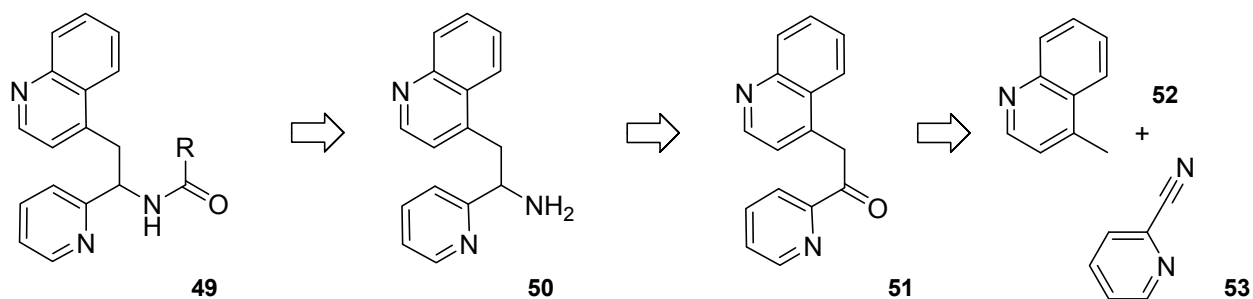


Abbildung 22: Retrosynthese der Amide des Typs **49**.

Die Retrosynthese der Amide des Typs **49** ist in Abbildung 22 gezeigt. Der Rest R steht in diesem Fall für ein 4-substituiertes Benzol oder einen *tert*-Butylrest.

Die Amine des Typs **50** wurden in einer dreistufigen Reaktionsfolge meist ohne Reinigung der Zwischenprodukte dargestellt (Abbildung 23). Zunächst wurde ein Methyларomat des Typs **54** mit Lithiumdiisopropylamid bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ deprotoniert, mit einem aromatischen Nitril umgesetzt und das entstandene Lithiumiminiumsalz mit wässriger Salzsäure zum Keton **55** hydrolysiert. Im nächsten Schritt wurde durch Zugabe von Hydroxylamin Hydrochlorid in Pyridin als Lösungsmittel das Oxim dargestellt, welches nach Fällung aus der Reaktionslösung mittels Zugabe von Wasser ohne weitere Reinigung mit Zink in einer Mischung aus Ammoniak-Lösung, Wasser und Ethanol zum Amin **56** reduziert wurde.⁵⁷ Die Reinigung der Amine erwies sich als schwierig. Da die Amide jedoch einfach durch Umkristallisation oder Säulenchromatographie gereinigt werden können, wurden die Amine roh umgesetzt. Die eben vorgestellte Reaktionsfolge erwies sich trotz der moderaten Ausbeuten als die am besten geeignete, da die Amine mit zufrieden stellender Reinheit gewonnen wurden. Die Ausbeuten und Substitutionsmuster der dargestellten Amine werden in Tabelle 2 gezeigt.

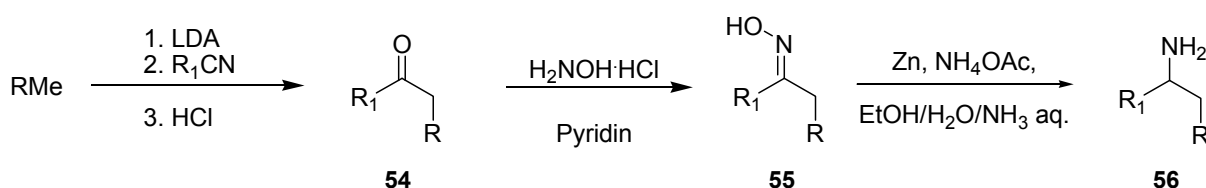


Abbildung 23: Synthese der Amine.

Tabelle 2: Synthese der Amine (a: Rohausbeute)

| Molekül-Nr. | R | R ₁ | Keton Ausbeute | Oxim Ausbeute | Amin Ausbeute |
|-------------|----------------|----------------|---------------------|------------------|------------------|
| 57 | 2-Pyridyl | 4-Pyridyl | - | 47% | 63% |
| 58 | 6-Me-2-Pyridyl | 2-Pyridyl | 5,3% über 3 Stufen | | |
| 59 | 6-Me-2-Pyridyl | 4-Pyridyl | 78% | 53% | n.b. |
| 60 | 2-Chinolin | 2-Pyridyl | 92% ^a | 45% | 32% |
| 61 | 2-Chinolin | 4-Pyridyl | quant. ^a | 46% | 58% |
| 62 | 4-Chinolin | 2-Pyridyl | 68% | 44% | 84% |
| 63 | 2-Pyrazin | 2-Pyridyl | 63% | 96% ^a | 18% |

Als alternativer Syntheseweg der Amine wurde die Darstellung durch Alkylierung der Imine des Typs **66** aus Aminomethylaromaten des Typs **64** und Benzaldehyd **65** mit anschließender saurer Hydrolyse des erhaltenen Imins **67** nach Wang *et al.*⁵⁸ getestet (Abbildung 24). Die Produkte wiesen jedoch eine deutlich geringere Reinheit auf als die auf dem zuerst diskutierten Weg dargestellten, so dass der alternative Weg verworfen wurde.

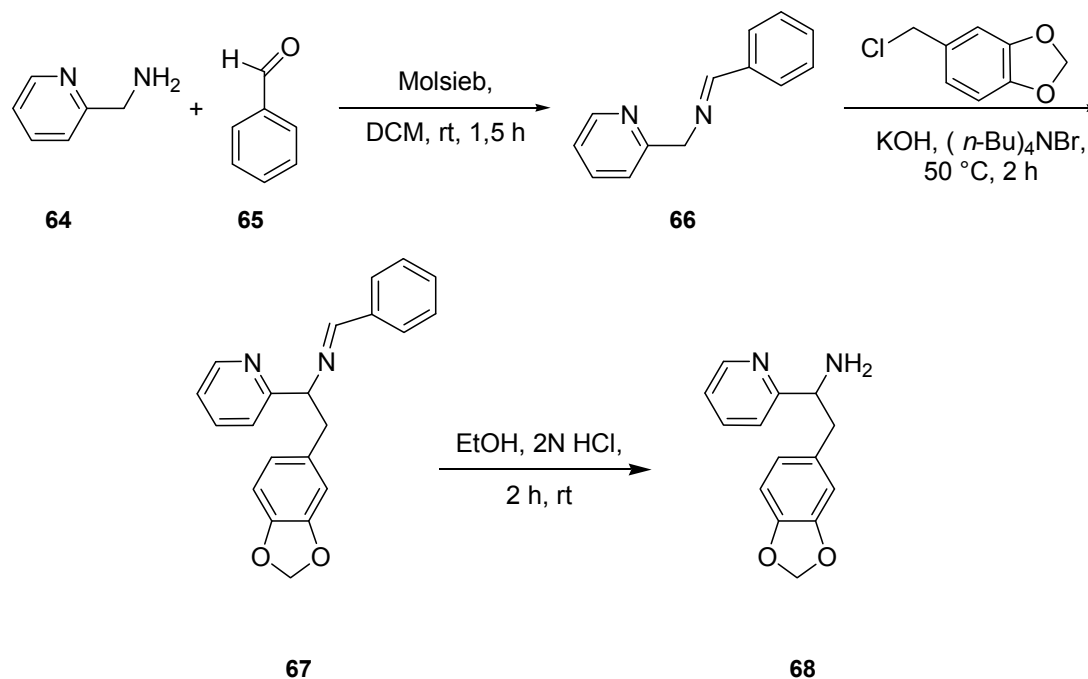
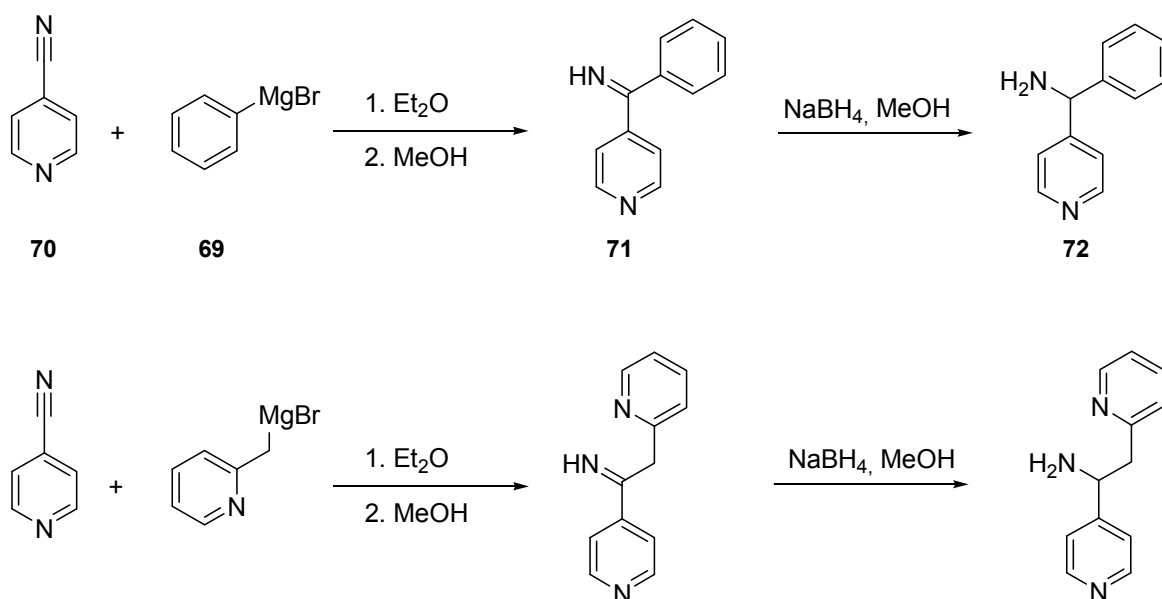


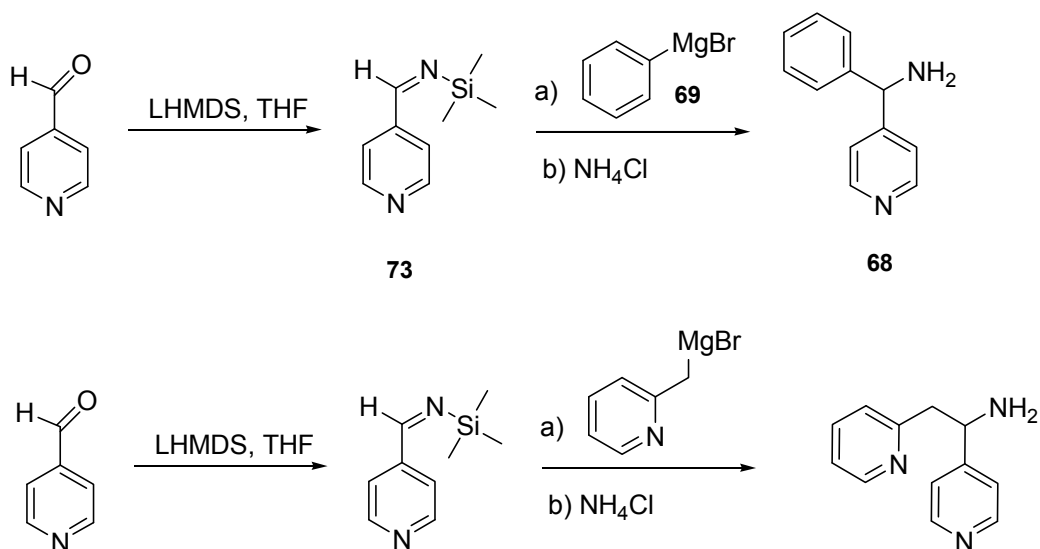
Abbildung 24: Alternativer Syntheseweg zu den Aminen des Typs **68**.

Als eine weitere alternative Syntheseroute zu den Aminen wurde die Addition einer Grignardverbindung des Typs **69** an ein Nitril des Typs **70** durchgeführt. Wird für die Grignardreaktion Diethylether als Lösungsmittel gewählt und das entstandene Imin **71** durch Zugabe von Methanol ausgefällt, soll es laut einer Vorschrift von Dejaegher *et al.*⁵⁹ möglich sein, das Imin mit Natriumborhydrid direkt zum Amin **72** zu reduzieren. Diese Reaktion wurde mit dem in Abbildung 25 dargestellten Testsystem durchgeführt. Leider konnte die direkte Reduktion zum Amin jedoch nicht auf das gewünschte System übertragen werden. Anstelle des Amins konnte immer nur das Keton isoliert werden. Dieses hätte zwar auf demselben Weg wie die Ketone des Typs **55** in das Amin umgewandelt werden können, jedoch sind die zur Darstellung der Grignardverbindungen benötigten Bromide teurer bzw. synthetisch schwerer zugänglich als die Methylheterozyklen, die im beschrittenen Syntheseweg eingesetzt werden konnten.

Abbildung 25: Aminsynthese nach Dejaegher *et al.*⁶⁰.

(oben: Testsystem, unten: Syntheseziel)

Auch die Addition von Grignard-Reagenzien des Typs **69** an *N*-Trimethylsilylimine⁶¹ wie z. B. **73** (Abbildung 26), dargestellt aus den entsprechenden Aldehyden und Lithiumbis(trimethylsilyl)amid, führte zu keinem besseren Ergebnis als die zuerst vorgestellte dreistufige Reaktion. Auch diese Reaktion wurde zuerst an einem Testsystem durchgeführt.

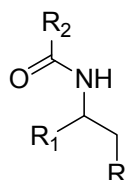
Abbildung 26: Aminsynthese nach Hart *et al.*⁶².

(oben: Testsystem, unten: Syntheseziel)

Die auf dem in Abbildung 23 gezeigten Weg dargestellten Amine wurden anschließend mit verschiedenen Säurechloriden in Dichlormethan mit Triethylamin als Base in die

entsprechenden Amide überführt. Die eingesetzten Säurechloride sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Dargestellte Amide



| Molekül-Nr. | R | R ₁ | R ₂ |
|-------------|----------------|----------------|--------------------|
| 74 | 2-Pyridyl | 4-Pyridyl | 4-F-Phenyl |
| 75 | 6-Me-2-Pyridyl | 2-Pyridyl | 4-F-Phenyl |
| 76 | 6-Me-2-Pyridyl | 2-Pyridyl | 4-Me-Phenyl |
| 77 | 6-Me-2-Pyridyl | 4-Pyridyl | 4-F-Phenyl |
| 78 | 6-Me-2-Pyridyl | 4-Pyridyl | 4-Me-Phenyl |
| 79 | 6-Me-2-Pyridyl | 4-Pyridyl | <i>tert</i> -Butyl |
| 80 | 2-Pyrazin | 2-Pyridyl | 4-F-Phenyl |
| 81 | 2-Chinolin | 2-Pyridyl | 4-F-Phenyl |
| 82 | 4-Chinolin | 2-Pyridyl | <i>tert</i> -Butyl |

Ergebnisse und Auswertung der Rezeptortests

Leider zeigten auch diese Substanzen in den Rezeptortests keinerlei inhibitorische Aktivität. Vermutlich sind die offenkettigen Verbindungen zu flexibel oder in ihrer bevorzugten räumlichen Struktur nicht mit dem Rezeptor kompatibel bzw. nicht in der Lage, die nötigen Wechselwirkungen auszubilden. Dr. Ulrich Grädler aus der *molecular modelling* Abteilung der Firma Merck führte daraufhin *docking* Studien mit den getesteten Molekülen durch (siehe Abbildung 27). Hier zeigte sich, dass die heterozyklischen Substituenten durchaus in der Lage sein könnten, Wasserstoffbrücken zum amidischen Proton des Histidins 283 und zum rezeptorgebundenen Wassermolekül zu bilden. Weitere Wasserstoffbrücken sind jedoch auf Grund der Geometrie des Moleküls nicht möglich. Der Abstand der Amidgruppe zum Carboxylat der Asparaginsäure 351 ist deutlich zu groß (siehe grün markierten Bereich in Abbildung 27). Dazu kommt, dass die *tert*-Butyl- oder die 4-substituierten Phenylamide zu sperrig für die Bindungstasche des Rezeptors sein könnten. Am unteren Rand der Graphik ist zu sehen, dass sich eine Methylgruppe des *tert*-Butylrests und das Peptidrückgrat des

Rezeptors sehr nahe kommen. Dies kann zu ungünstigen Abstoßungswchselwirkungen führen. Auch dies könnte ein Grund für die fehlende Rezeptorbindung sein.

Aus diesen Erkenntnissen wurde ein neues Projekt abgeleitet, das in Kapitel 4.6 vorgestellt und diskutiert wird.

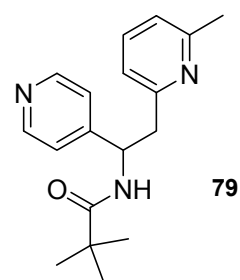
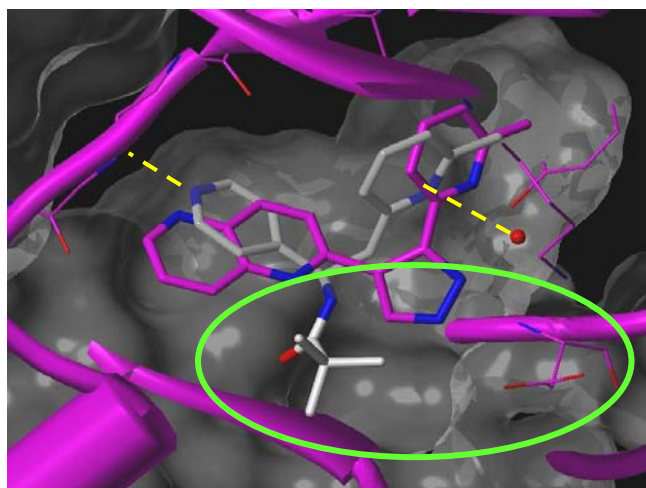


Abbildung 27: Wahrscheinliche Lage des Moleküls 79 (graue Struktur) in der Bindungstasche des T β RI.

Die möglichen Wasserstoffbrücken sind durch gestrichelte gelbe Linien dargestellt. Der Komplex (pink) aus dem Inhibitor und T β RI ist unter dem Code 1VJY in der Proteindatenbank www.pdb.org hinterlegt. Herzlich Dank an Dr. Ulrich Grädler (Merck KGaA, Darmstadt) für die Bereitstellung der Graphik und die Erläuterungen dazu.

4.3 Benzimidazole

Ableitung der Substanzklasse

Mit den Verbindungen der Klasse der Benzimidazole sollte überprüft werden, ob der Einschub eines Benzolrings zwischen dem Imidazolring und den Substituenten in Strukturen wie Molekül **20** toleriert wird (siehe Abbildung 28).

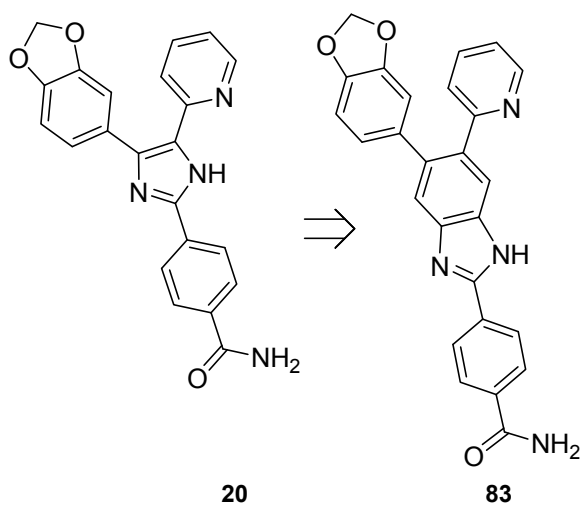


Abbildung 28: Ableitung der Benzimidazolderivate aus SB 431542 (20).

Die Abstände zwischen den Stickstoffatomen und somit den potentiellen Bindungsstellen im Molekül werden dadurch deutlich verändert und das planare Ringsystem vergrößert. Die Wechselwirkungen der aromatischen Substituenten des Benzimidazols mit dem Rezeptor und dem daran gebundenen Wassermolekül sollten erhalten bleiben. Ob jedoch die Wasserstoffbrücke des imidazolischen Stickstoffatoms gebildet werden kann, ist auf Grund der größeren Abstände fraglich (siehe Abbildung 29). Da auch die Amidgruppe eine Wechselwirkung zum Rezeptor ausbildet, stellt sich auch hier die Frage, ob diese Wechselwirkung erhalten bleibt. Es sind jedoch auf jeden Fall interessante Daten zu erwarten, die die Durchführung der Experimente rechtfertigen.

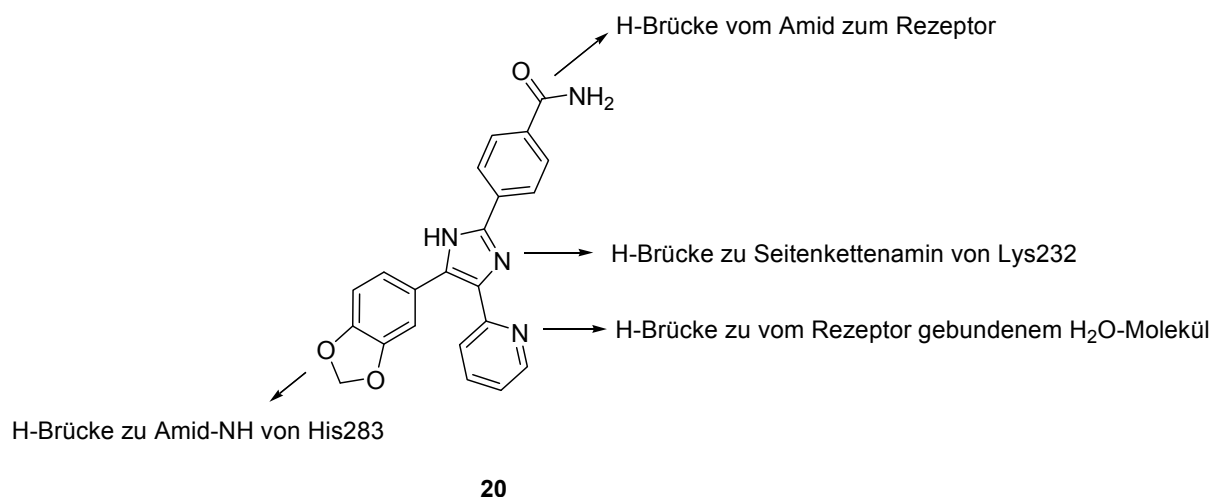


Abbildung 29: Vermutete Bindungsstellen der Verbindung SB 4315442 (20) an T β RI.

Synthesen

Die Darstellung sollte ausgehend von 1,2-Dibrom-4,5-dinitrobenzol **84** oder 1,2-Diamino-4,5-dibrombenzol **85** über eine palladiumkatalysierte Reaktion erfolgen. Auf Grund des relativ einfachen Zugangs zu ihren Edukten und deren Stabilität wurde die Suzuki-Kupplung ausgewählt. In einer Publikation von Khanapure *et al.*⁶³ wird von zwei aufeinander folgenden Suzuki-Kupplungen an einem symmetrisch substituierten Dibrombenzolderivat **86** berichtet.

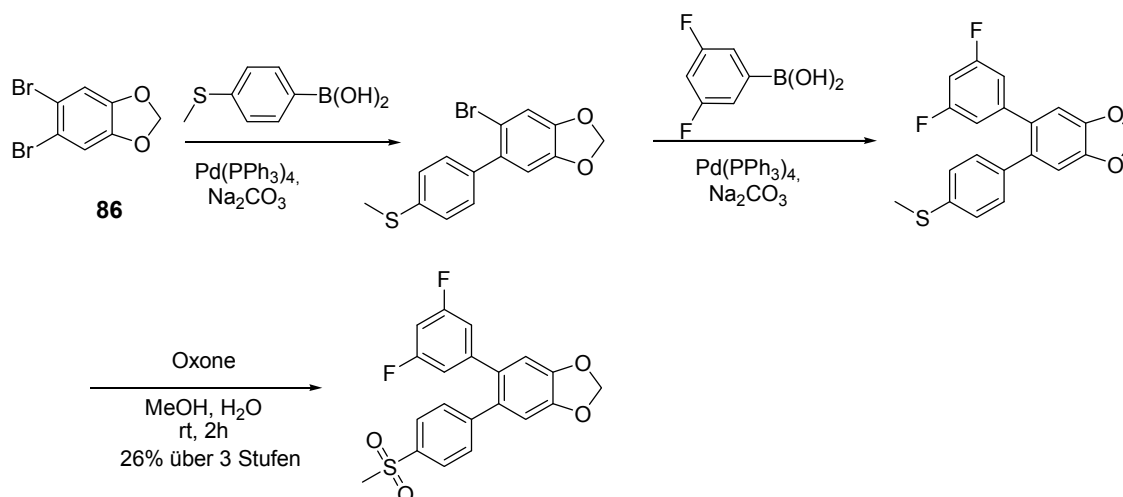


Abbildung 30: Beispiel zweier aufeinander folgender Suzuki-Kupplungen von Khanapure *et al.*⁶³.

Deshalb wurde zuerst ein Syntheseweg ausgehend von 1,2-Diamino-4,5-dibrombenzol **85** gewählt. Dieses wurde durch Bromierung des Dinitrobenzols **87** mit Dibromisocyanursäure in konz. Schwefelsäure und anschließender Hydrierung mit Wasserstoff und Raney-Nickel als Katalysator dargestellt. Die Bromierung lieferte mäßige Ausbeuten (40%) an reinem

Produkt **84** und einige weitere Produktfraktionen mit schwer abtrennbaren Nebenprodukten (Mono-, Tri- und Tetrabrombenzol). Die Hydrierung mit Raney-Nickel und Wasserstoff in Ethanol verlief zufrieden stellend mit 78% Ausbeute zur Diaminoverbindung **85**. Hydrierungsmethoden unter Verwendung von unedlen Metallen und Salzsäure (z.B. Zinn, Zinndichlorid, Eisen) führten zwar zur Reduktion der Nitrogruppen, gleichzeitig aber auch zum Verlust eines oder beider Bromatome.

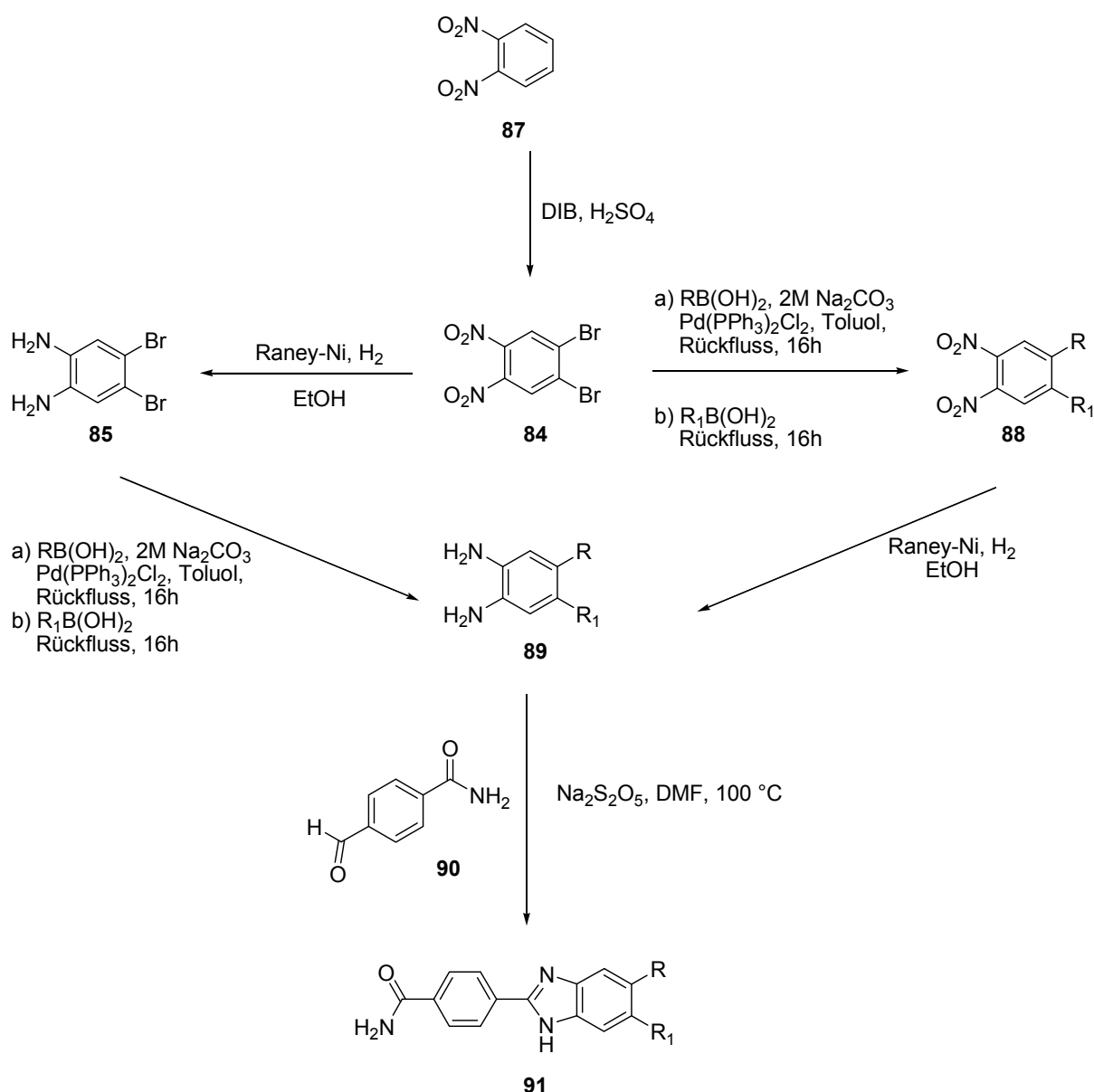


Abbildung 31: Synthesewege zu den Benzimidazolen des Typs 91.

In der folgenden Suzuki-Kupplung sollte durch Zugabe von genau einem Äquivalent Boronsäure zur Dibromverbindung **85** sichergestellt werden, dass nur ein Bromatom ersetzt wird. Es konnten jedoch keine Bedingungen gefunden werden, unter denen dies selektiv ablief. Es wurde nur ein Gemisch aus nicht-, mono- und di-substituiertem Produkt erhalten.

Wirklich überraschend war dies nicht, da es in der Literatur auch einige Beispiele für statistische Produktverteilungen gibt⁶⁴. Das Gemisch kann zwar in den meisten Fällen einfach mittels Säulenchromatographie getrennt werden, jedoch sollte ein System gefunden werden, dass den Reinigungsaufwand möglichst gering hält und nicht unnötig große Mengen an uninteressanten symmetrisch substituierten Nebenprodukten ergibt.

Deshalb wurde eine andere Synthesestrategie verfolgt. Hierbei sollten die Reaktivitätsunterschiede zwischen Chlor und Brom ausgenutzt werden. Um die Umsetzbarkeit dieser Idee zu überprüfen, wurden einige Vorversuche durchgeführt. Sowohl mit 1-Brom-3,4-dinitrobenzol als auch mit 1-Chlor-3,4-dinitrobenzol gelang die Suzuki-Kupplung mit 4-Fluorbenzylboronsäure. Wurde eine Mischung aus je einem Äquivalent Chlorbenzol, Brombenzol und 4-Fluorbenzylboronsäure eingesetzt, so fand die Suzuki-Kupplung nur am Brombenzol statt. Nach diesen viel versprechenden Vorversuchen wurde 1-Brom-2-chlor-4,5-dinitrobenzol durch Bromierung von 1-Chlor-3,4-dinitrobenzol mit DIB in Schwefelsäure synthetisiert.

Tabelle 4: Bedingungen der zweiten Suzuki-Kupplung

| | Base | Katalysator | LM | Temp. | t | Ergebnis |
|---|--------------------------------|--|--------------------|------------|--------|---------------------|
| 1 | K ₃ PO ₄ | Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ | Toluol | Rückfluss | 16 h | keine Umsetzung |
| 2 | CsF | Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ | Toluol | Rückfluss | 48 h | Spuren des Produkts |
| 3 | CsF | Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ | Toluol/EtOH 1:1 | Rückfluss | 48 h | Zersetzung |
| 4 | CsF | Pd(dppf)Cl ₂ | Toluol | MW, 130 °C | 10 min | Zersetzung |
| 5 | K ₃ PO ₄ | Pd(dppf)Cl ₂ | Toluol | MW, 165 °C | 10 min | Zersetzung |
| 6 | CsF | Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ | Toluol | MW, 165 °C | 10 min | Spuren des Produkts |
| 7 | CsF | Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂ | Toluol/EtOH 1:1 | MW, 165 °C | 10 min | keine Umsetzung |

Die Suzuki-Kupplung des ersten Äquivalents 4-Fluorphenylboronsäure verlief mit 67% Ausbeute selektiv am Bromatom. Dies konnte durch nur einen Peak im GC/MS-Spektrum mit m/z = 296 und 298 (3:1), der dem Molekularionenpeak der Verbindung entspricht, gezeigt werden.

Die zweite Kupplung mit 3,4-Methylenedioxyphenylboronsäure lieferte auch bei langen Reaktionszeiten sowie unter Einsatz des Mikrowellensynthesizers nur Spuren des Produkts (siehe Tabelle 4). Dies könnte auf den +M-Effekt des Arylrests zurückzuführen sein, da

Suzuki-Kupplungen im Allgemeinen an elektronenarmen Systemen besser funktionieren als an elektronenreichen. Das im Vorversuch eingesetzte System war elektronenärmer.

Da dieser Weg keinerlei Verbesserung gegenüber dem bereits vorgestellten darstellte, wurde er nicht weiter verfolgt.

Daraufhin wurde eine weitere Route in Angriff genommen. In der Literatur⁶⁵ wird beschrieben, dass in Suzuki-Kupplungen durch die Wahl des Katalysators zwischen Brom und Iod unterschieden werden kann. Wird ein phosphanhaltiger Palladiumkatalysator eingesetzt, so erfolgt die Kupplung nur am Bromatom, nicht aber am Iodat. Dieses kann in einer Kupplung mit phosphanfreiem Palladiumkatalysator ausgetauscht werden.

Um dies nachzuvollziehen, sollte das 1-Brom-2-iod-4,5-dinitrobenzol **95** synthetisiert werden (siehe Abbildung 32). Es bieten sich dazu zwei Möglichkeiten an: die Nitrierung von 1-Iod-3-nitrobenzol **92** mit anschließender Bromierung des erhaltenen 1-Iod-3,4-dinitrobenzols **93** oder die Nitrierung von 1-Brom-3-nitrobenzol **96** zu **97** mit anschließender Iodierung.

Die Nitrierung des 1-Iod-3-nitrobenzols **92** führte nicht zum gewünschten Produkt. Es konnte nur das 1-Iod-2,4,5-trinitrobenzol **94** als gelbes Pulver erhalten werden. Sowohl der Molekularionenpeak von $m/z = 339$ im GC/MS-Spektrum als auch das ¹H-NMR Spektrum mit zwei Singulets bei 8.44 ppm und 8.50 ppm sprechen für diese Trinitroverbindung, auch wenn sie auf Grund des deaktivierenden Effekts der Nitrogruppen nicht erwartet wurde.

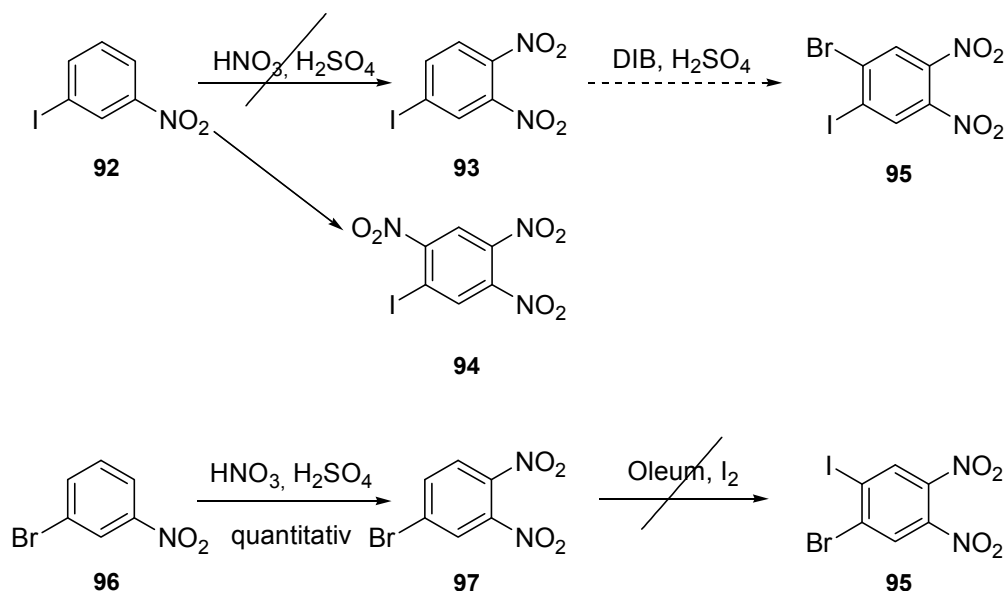


Abbildung 32: Synthesewege zum 1-Brom-2-iod-4,5-dinitrobenzol.

Die Nitrierung des 1-Brom-3-nitrobenzols **96** analog einer Vorschrift von Lindley *et al.*⁶⁶ gelang hingegen quantitativ. Im Massenspektrum der Verbindung **96** wurde der erwartete Bromdoppelpeak bei $m/z = 246$ und 248 gefunden und das $^1\text{H-NMR}$ zeigte drei Signale zwischen 7.85 und 8.10 ppm. Allerdings gelang die darauf folgende Iodierung mit Iod in Oleum analog einer Vorschrift von Arotzky *et al.*⁶⁷ zur Iodierung des 1,2-Dinitrobenzols nicht.

Da beide alternativen Syntheserouten misslangen, wurde doch auf die ursprüngliche Synthesestrategie zurückgegriffen und deren Nachteile in Kauf genommen. Da die Lagerstabilität der Nitroverbindung höher als die der Aminoverbindung erschien, erfolgte zuerst die Suzuki-Kupplung und dann die Reduktion der Nitrogruppen. Außerdem konnte die Reduktion nach erfolgter Substitution der Bromatome auch mit unedlen Metallen in Salzsäure durchgeführt werden, was schneller und einfacher war als die Hydrierung mit Raney-Nickel und Wasserstoff. In Abbildung 33 ist der schlussendlich gewählte Syntheseweg gezeigt.

Die Suzuki-Kupplungen wurden als sukzessive Eintopfreaktion geführt, d.h. ein Äquivalent einer Boronsäure wurde zusammen mit einer Base (2 M Kalium- oder Natriumcarbonatlösung) und einem Katalysator ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ oder $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Dann wurden 1,2 Äquivalente einer zweiten Boronsäure zugegeben und wiederum über Nacht erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde mittels DC und GC/MS verfolgt. Das erhaltene Rohprodukt wurde direkt weiter umgesetzt, da nach der Reduktion die unpolaren Nebenprodukte einfacher abgetrennt werden konnten. Die Reduktion der Nitrogruppen zur Diaminoverbindung des Typs **89** erfolgte mit Zinnpulver in Ethanol und 6 M Salzsäure unter Rückfluss innerhalb einer Stunde.

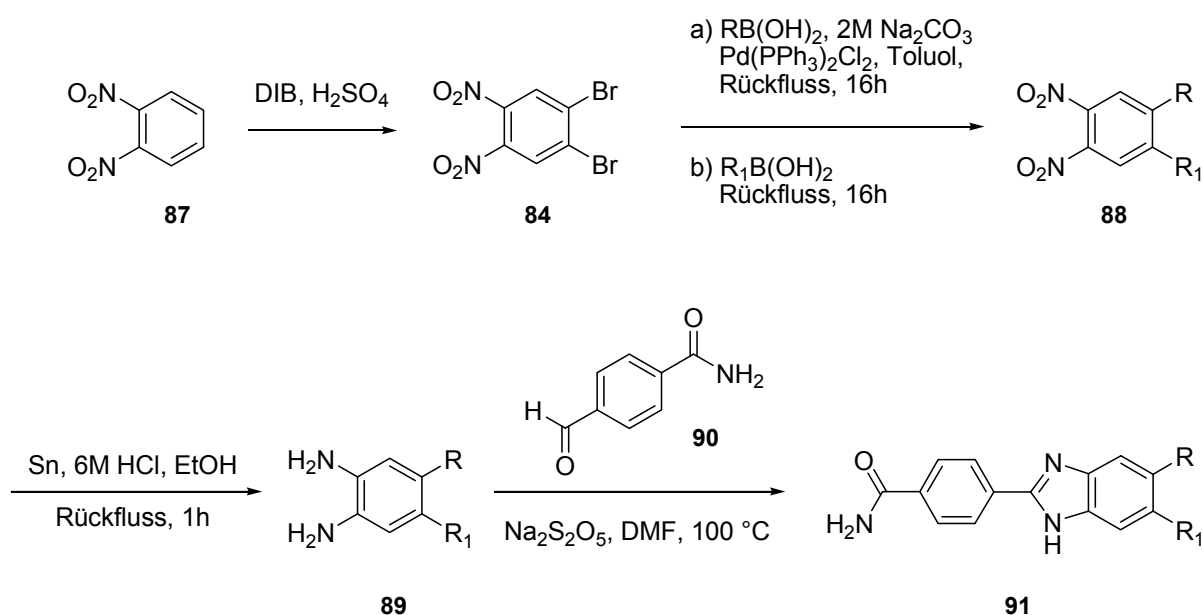


Abbildung 33: Gewählter Syntheseweg zu den Benzimidazolen.

Das 4-Formylbenzamid **90** wurde aus Terephthalaldehydsäure nach einer Vorschrift von Meisenbach *et al.*⁶⁸ dargestellt.

Die Verbindungen des Typs **89** wurden durch Erhitzen auf 100 °C mit 4-Formylbenzamid **90** und Natriumdisulfit in Dimethylformamid zu den Benzimidazolen des Typs **91** umgesetzt.⁶⁹

Die Isolierung dieser erfolgte durch Fällung aus der Reaktionslösung durch Zugabe von Wasser. Um den möglichen Einfluss des Amids auf die Wirksamkeit zu untersuchen, wurden die Diaminobenzole **89** auch mit Terephthalaldehydsäure in 1 M Salzsäure und Ethanol umgesetzt.⁷⁰

Da die Einführung von heterozyklischen Substituenten über die Suzuki-Kupplungen unter den für die substituierten Phenylboronsäuren angewandten Bedingungen nicht gelang, wurden zwei Benzimidazole mit 2- und 4-Fluorphenylsubstituenten dargestellt. Diese Idee baute auf den Ergebnissen von Gellibert *et al.*⁴⁶ auf, die besagen, dass die inhibitorischen Aktivitäten von Thiazolen mit Pyridin-2-yl-substituent mit denen von Thiazolen mit 2-Fluorphenylsubstituent vergleichbar sind (Abbildung 34).

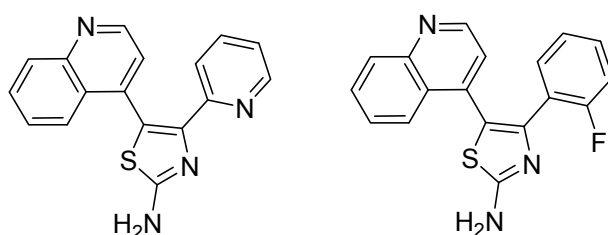


Abbildung 34: Inhibitoren mit vergleichbarer Bindungsstärke.

Auch wenn diese Substituenten nicht ideal sind, sollten sie zur Klärung der Frage ausreichen, ob die Benzimidazole überhaupt noch an T β RI binden können. Daher wurden die Benzimidazole **97** und **98** (Abbildung 35) über den oben beschriebenen Palladium-katalysierten Weg dargestellt.

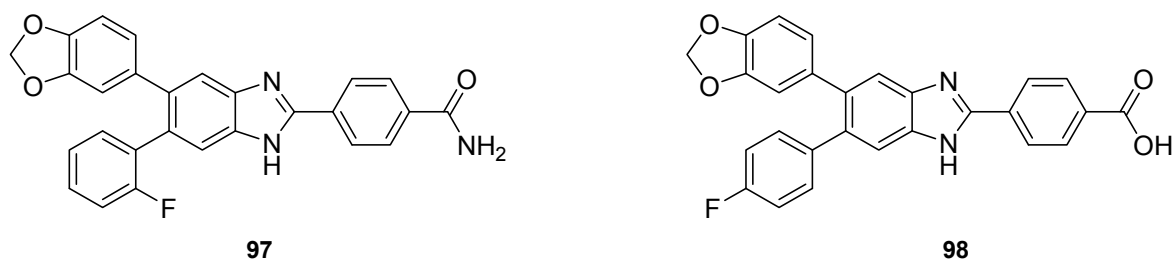


Abbildung 35: Dargestellte Benzimidazole.

Auswertung der biologischen Daten

Leider zeigten auch die beiden getesteten Benzimidazole **97** und **98** keine biologische Aktivität.

Die Erweiterung des planaren Grundkörper wird, wie bereits vermutet, nicht toleriert. Es ist anzunehmen, dass das Molekül zu gross für eine optimale Lage in der Bindungstasche des Rezeptors wird. Möglich wäre auch, dass der 2-Fluorphenyl-Substituent den Pyridin-Substituenten nicht ideal ersetzen kann. Da die Wahrscheinlichkeit einer inhibitorischen Wirkung des Benzimidazols mit 2-Pyridyl-Substituenten aber auf Grund der bisherigen Ergebnisse sehr klein ist, wurde die letzte These nicht experimentell überprüft.

4.4 γ -Lactone

Ableitung der Substanzklasse

Verbindungen aus der Klasse der 3,4-diarylsubstituierten Furan-2(5H)one, vereinfacht α,β -diarylsubstituierte γ -Lactone genannt, sind in der Natur sehr selten.⁷¹ In der Literatur und in Patenten wird jedoch über ihre biologische Wirksamkeit wie z.B. gegen Bakterien⁷² berichtet. Sie sind vor allem als Inhibitoren der Cyclooxygenase 2 (COX2) und damit u. a. als Entzündungshemmer bekannt.^{71,73} Einige γ -Lactone wirken auch cytotoxisch gegenüber verschiedenen humanen Krebszellarten.⁷⁴ Davon abgesehen sind die 3,4-disubstituierten Lactone interessante Edukte für die Synthese verschiedener Naturstoffe.^{75, 76}

Der wohl prominenteste Vertreter ist der Wirkstoff Rofecoxib **99** (Abbildung 36). Rofecoxib ist ein selektiver Inhibitor der Cyclooxygenase 2, der unter dem Handelsnamen Vioxx[®] bis zum September 2004 als Schmerz- und Rheumamittel auf dem Markt war. Wegen erhöhtem Herz- und Schlaganfallrisiko bei längerer Einnahme musste es die amerikanische Firma Merck & Co. Inc. jedoch vom Markt nehmen.

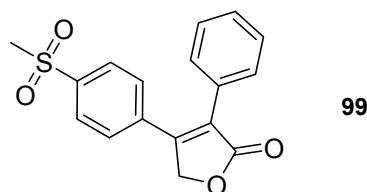


Abbildung 36: Der COX2-Inhibitor Rofecoxib (Vioxx[®]) (**99**).

Die Verbindungsklasse der Lactone wurde aus bekannten Inhibitoren mit Pyrazol-Grundgerüst abgeleitet (siehe Abbildung 37). Durch die Synthese der Lactone sollte überprüft werden, ob die Estergruppe in der Lage ist, ebenfalls Wasserstoffbrücken zum Rezeptor bzw. dem von ihm fest gebundenen Wassermolekül auszubilden. Die vorhandenen SAR-Daten waren noch zu unklar, um darüber eine Aussage zu machen.

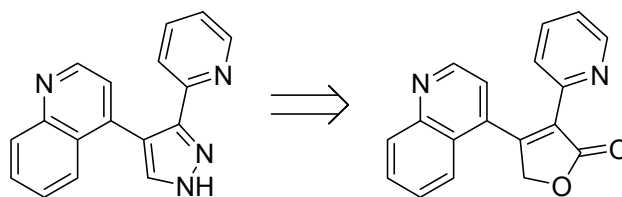


Abbildung 37: Ableitung der Verbindungsklasse der γ -Lactone aus einem bekannten Inhibitor mit Pyrazol-Grundgerüst.

Synthesen

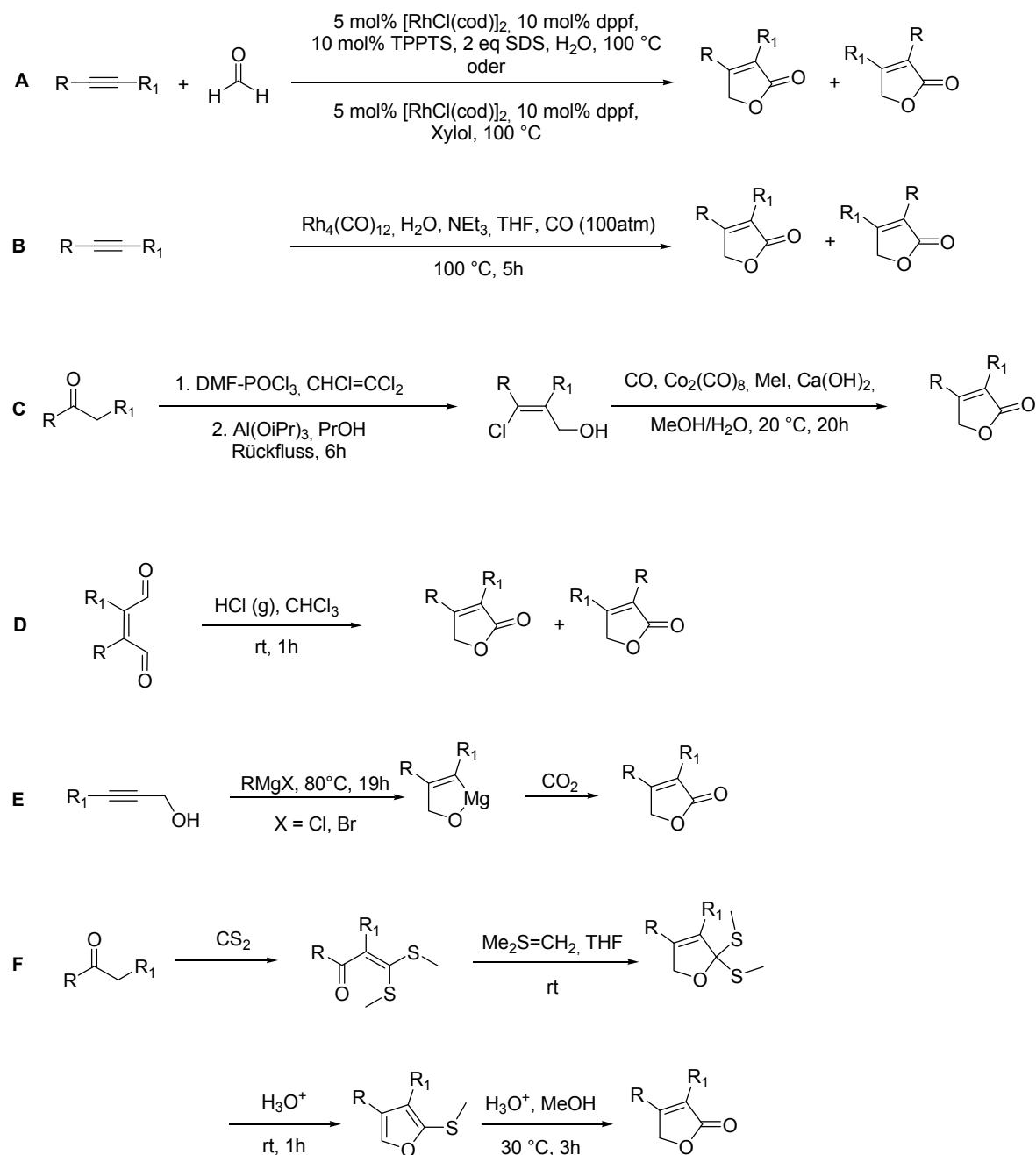


Abbildung 38: Einige Synthesewege zu den 3,4-diarylsubstituierten Lactonen⁷⁷ des Typs 102.
(A Fuji *et al.*⁷⁸; B Doyama *et al.*⁷⁹; C Miura *et al.*⁸⁰; D Toda *et al.*⁸¹; E Forgione *et al.*⁸²; F Okazaki *et al.*⁸³)

Auf Grund der großen Anwendungsbreite der Lactone sind viele Synthesewege bekannt. In Abbildung 38 ist nur eine Auswahl an Wegen zu den α,β -diarylsubstituierten γ -Lactonen gezeigt. Viele dieser Synthesemethoden erfordern allerdings komplizierte Edukte und eignen sich daher nicht für die Synthese vielfältiger Substanzbibliotheken.

Eine weit verbreitete, einfache Reaktion geht von substituierten Essigsäuren des Typs **100** und α -Bromketonen des Typs **101** aus (Abbildung 39). Diese reagieren unter basischen Bedingungen zu den jeweiligen Estern ab, die dann in einem zweiten Schritt zu den Lactonen des Typs **102** zyklisiert werden. Die Reaktionstemperaturen und -dauer sowie die eingesetzten Basen variieren zwischen den Veröffentlichungen verschiedener Autoren (z.B. NEt_3 , MeCN, rt, 1h, dann DMSO, NaH, rt, 1h⁷³; NEt_3 , MeCN, rt, 1h, dann NEt_3 , MeCN, Rückfluss, 6h⁸⁴). Acetonitril ist dabei das am häufigsten verwendete Lösungsmittel.

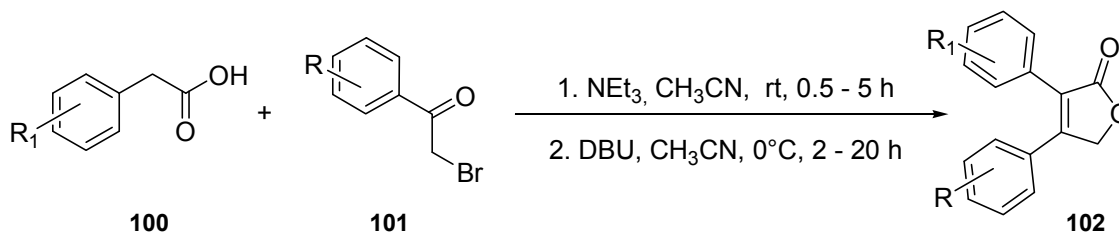


Abbildung 39: Beispiel für den klassischen Syntheseweg zu α,β -ungesättigten γ -Lactonen des Typs **102**.

Die Mehrzahl der arylsubstituierten Essigsäuren des Typs **100** können z.B. über die Willgerodt-Kindler-Reaktion aus den entsprechenden Ketonen oder über die Arndt-Eistert-Synthese aus den entsprechenden Benzoesäurechloriden dargestellt werden (Abbildung 40). Bei der Darstellung der heteroarylsubstituierten Essigsäuren erwies sich die Isolierung und Reinigung auf Grund der guten Wasserlöslichkeit bei allen pH-Werten als schwierig.

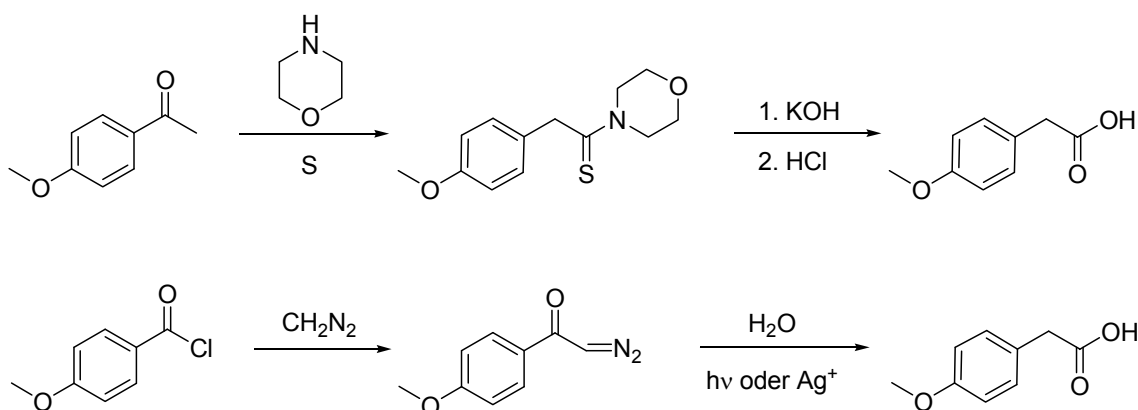


Abbildung 40: Die Willgerodt-Kindler-Reaktion (oben) und die Arndt-Eistert-Homologisierung (unten) am Beispiel von 4-Methoxyphenylacetic acid.

Die Darstellung der benötigten α -Bromketone des Typs **101** erfordert harsche Bedingungen. Ketone, die diese Bedingungen tolerieren, können z.B. mit Brom direkt zum α -Bromketon umgesetzt werden. Weitere, häufig angewandte Bedingungen sind u. a. Brom in Essigsäure,

Brom und Aluminiumtrichlorid, Brom in Bromwasserstoffsäure oder Kupfer(II)bromid in Essigsäureethylester unter Erhitzen.

Einen großen Nachteil weist diese Reaktion in Bezug auf die Darstellung von Bibliotheken auf: soll das Substitutionsmuster eines 3,4-substituierten Lactons umgekehrt werden (z. B. 3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-methoxyphenyl)lacton zu 4-(4-Fluorphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-lacton), müssen zwei neue Edukte dargestellt werden.

Deshalb wurde nach einer weiteren Synthesestrategie gesucht mit der dieses Problem vermieden werden kann. Bellina *et al.*⁸⁵ und Zhang *et al.*⁸⁶ berichten von aufeinander folgenden Suzuki-Kupplungen sowie von Stille-Kupplungen⁸⁷ am 3,4-Dichlorlacton **104** oder 3,4-Dibromlacton. Dabei wird in der ersten Kupplung selektiv das Chlor- bzw. Bromatom in 4-Position ausgetauscht (**105**). Im Rahmen dieser Arbeit war die Suzuki-Methode die beste Lösung, da im Projekt „Benzimidazole“ (Kapitel 4.3) ebenfalls Boronsäuren benötigt wurden.

Zur Synthese der ersten Lactonderivate wurde dementsprechend die Suzuki-Reaktionsfolge gewählt, da beide Regioisomere der Lactone dargestellt werden sollten.

Aus der preiswerten Mucochloressäure **103** kann durch Reduktion mit Natriumborhydrid in Methanol in einer Stufe 3,4-Dichlor-2(5H)furanon **104** in 70% Ausbeute dargestellt werden. Im ¹H-NMR-Spektrum zeigte diese Verbindung nur ein Singulett bei 4.92 ppm, das im Vergleich zum Edukt hochfeldverschoben war.

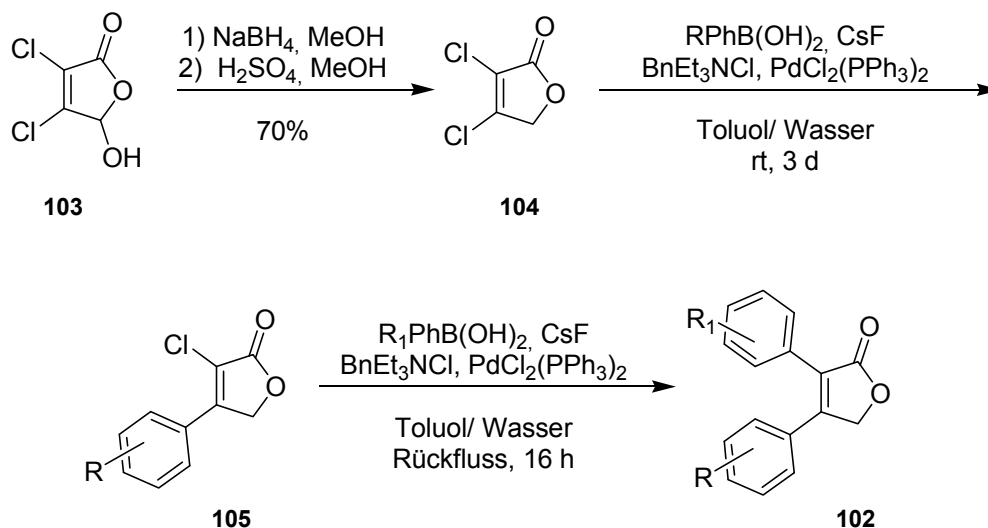
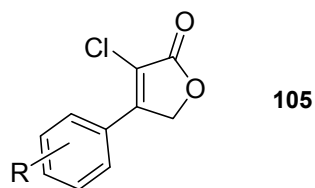


Abbildung 41: Syntheseweg über zwei aufeinander folgende Suzuki-Kupplungen.

Die erste Suzuki-Kupplung erfolgte mit zwei Äquivalenten der Boronsäure in einer Toluol-Wasser-Mischung (1:1) unter Zugabe von Benzyltriethylammoniumchlorid als Phasentransferkatalysator, Bis(triphenylphosphan)palladiumdichlorid als Katalysator und

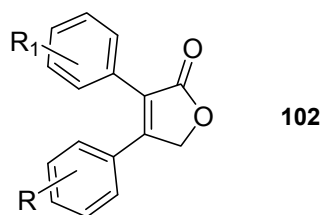
Cäsiumfluorid als Base durch 48-stündiges Rühren bei Raumtemperatur. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung wurde die zweite Kupplung mit denselben Reagenzien, jedoch über Nacht unter Erhitzen zum Rückfluss, durchgeführt. Es wurden die von Zhang *et al.*⁸⁶ publizierten Bedingungen angewandt, da sie entgegen der Meinung von Bellina *et al.*⁸⁵ hier zu besseren Ergebnissen führten. In Tabelle 6 sind die über die Suzuki-Reaktionsfolge erhaltenen Lactone und die Ausbeuten der Umsetzungen aufgelistet.

Tabelle 5: Ausbeuten der Suzuki-Kupplungen am 3,4-Dichlorlacton 104



| | R | Ausbeute der 1. Kupplung |
|------------|-------------------|--------------------------|
| 106 | 4-F | 64% |
| 107 | 4-MeO | 73% |
| 108 | 3,4-Methylendioxy | 51% |
| 109 | 3-CF ₃ | 74% |

Tabelle 6: Ausbeuten der zweiten Suzuki-Kupplung



| | R | R ₁ | Ausbeute der 2. Kupplung |
|------------|-------------------|--------------------|--------------------------|
| 110 | 4-F | 3,4-Methylendioxy | 85% |
| 111 | 4-F | 4-F | Nebenprodukt |
| 112 | 4-F | 4-MeO | 64% |
| 113 | 4-F | 2-MeO-pyridin-3-yl | 75% |
| 114 | 4-MeO | 4-F | 96% |
| 115 | 4-MeO | 3-CF ₃ | 73% |
| 116 | 3,4-Methylendioxy | 4-F | 81% |
| 117 | 3-CF ₃ | 4-F | 70% |

Ergebnisse der Rezeptortests

Von den getesteten Lactonen zeigte nur das in Abbildung 42 dargestellte Lacton **116** inhibitorische Aktivität gegenüber einer Kinase aus der Diabetesforschung. Erstaunlicherweise zeigten alle Verbindungen mit ähnlicher Struktur wie z.B. das 3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-methoxyphenyl)lacton **114** im Test keinerlei Inhibitionseffekte, weder gegen diese Kinase noch gegen eine andere der verwendeten Kinase-Plattform.

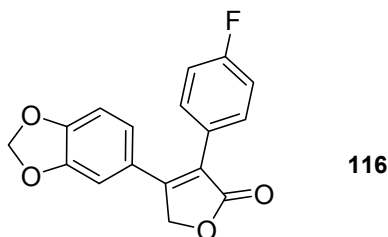


Abbildung 42: Lacton mit inhibitorischer Aktivität.

Das Lacton **116** wurde daraufhin von der Firma Merck auf seine pharmakokinetischen Eigenschaften in der Maus untersucht.

Tabelle 7: Pharmakokinetische Daten des Lactons 116 in der Maus

| | |
|--------------------------|--------------|
| Halbwertszeit $t_{1/2}$ | ca. 45 min |
| Orale Bioverfügbarkeit F | < 5% |
| Clearance Cl | 5,8 l/(h*kg) |

Das Lacton **116** erwies sich in mehrerer Hinsicht als ungeeignet für die Weiterentwicklung: zum einen war die Halbwertszeit mit ca. 45 min sehr kurz. Um einen einigermaßen konstanten Wirkstoffspiegel im Blut aufbauen zu können, sollten die Halbwertszeiten der Wirkstoffe über 2 Stunden liegen^{9, 88}. Zum anderen war auch die Bioverfügbarkeit F bei oraler Gabe kleiner als 5%. Das bedeutet, dass das Lacton **116** extrem schlecht in die Zellen aufgenommen werden kann oder in der Leber sofort abgebaut wird (so genannter *First-Pass-Effekt*). Potentielle Wirkstoffe zeichnen sich durch Bioverfügbarkeiten zwischen 40 und 80%, in seltenen Fällen sogar > 80%, aus. Wirkstoffe mit Werten unter 20% gelten als nicht geeignet für die weitere Entwicklung⁸⁹. Des Weiteren ist die *clearance* CL mit 5,8 l/(h*kg)

⁹ Eine Faustregel besagt, dass der zeitliche Abstand zwischen den Wirkstoffgaben der Halbwertszeit entsprechen soll, wenn ein konstanter Plasmaspiegel hergestellt oder aufrechterhalten werden soll. In der Praxis kommen allerdings häufig auch Intervalle vor, die der zwei- bis dreifachen Halbwertszeit entsprechen.

oder 96 ml/(min*kg) hoch, d. h. der im Blut angekommene Wirkstoff wird wieder sehr schnell daraus entfernt.

Ableitung neuer Varianten

Um weitere Vergleichssubstanzen zu bekommen, deren biologische Testergebnisse den dünnen Datenbestand der SAR-Studien erweitern und dabei helfen könnten, die ungewöhnliche Bindungsselektivität des Rezeptors besser zu verstehen, sollten trotz des ebenfalls zu erwartenden schlechten pharmakokinetischen Profils einige weitere Lactone synthetisiert werden. Dabei sollte der 4-Fluorphenylrest in 3-Position beibehalten und nur der Methylendioxy substituent am anderen Phenylring variiert werden. Zusätzlich dazu sollten entsprechende phenolsubstituierte Lactone dargestellt werden (siehe Abbildung 43).

Synthesen der Strukturanaloga zu **116**

Die Synthese der Strukturanaloga (Abbildung 43) erfolgte auf dem klassischen Weg, der bereits in Abbildung 39 vorgestellt wurde. Die benötigten Methoxyphenacylbromide des Typs **101** wurden im organisch-chemischen Grundpraktikum durch Friedel-Crafts-Acylierung nach dem Organikum⁹⁰ und anschließender Bromierung mit Brom in Chloroform analog einer Vorschrift von Clive *et al.*⁹¹ dargestellt.

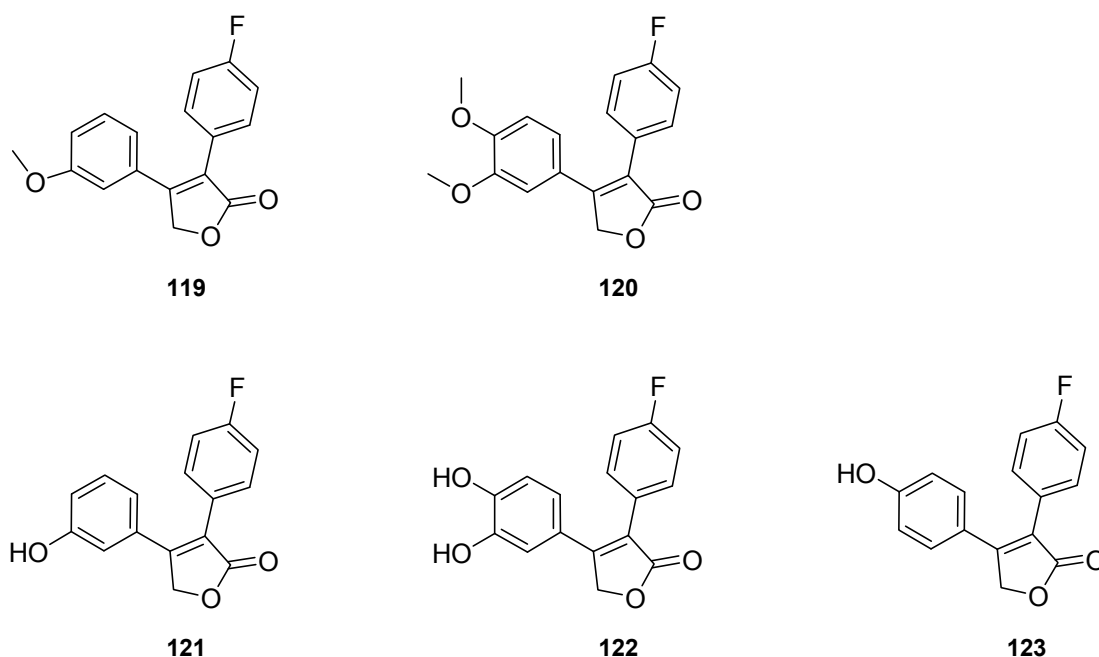
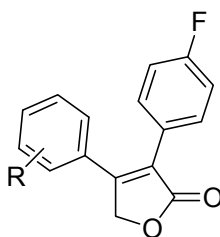


Abbildung 43: Variationen des Lactons **116**.

Die Synthese der Lactone erfolgte in Acetonitril bei Raumtemperatur (siehe Abbildung 39). Das Essigsäurederivat des Typs **100** und das Phenacylbromid des Typs **101** wurden gelöst und mit 1,1 Äquivalenten Triethylamin versetzt. Nachdem die Edukte dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden konnten (2 – 16 h), wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und mit 2 Äquivalenten DBU versetzt. Per GC-MS und DC wurde die Umsetzung verfolgt. Die Ausbeuten sind aus der Tabelle 8 zu entnehmen.

Das Lacton **112** wurde sowohl auf dem klassischen als auch auf dem palladiumkatalysierten Weg dargestellt. Die Ausbeuten unterscheiden sich nicht signifikant (klassisch: 56%, palladiumkatalysiert: 64%), so dass sich prinzipiell also beide Wege eignen. Je nach Verfügbarkeit der Edukte kann der einfachere Weg ausgewählt werden.

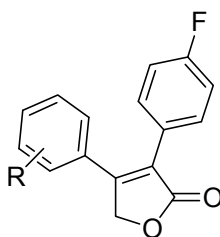
Tabelle 8: Ausbeuten der klassischen Lactonsynthesen



| | R | Ausbeute |
|------------|-----------|-----------------|
| 119 | 3-MeO | 18% |
| 112 | 4-MeO | 56% |
| 120 | 3,4-DiMeO | 64% |

Die phenolsubstituierten Lactone **121**, **122** und **123** wurden durch Spaltung der Methylether **119**, **112** und **120** dargestellt. Dazu wurde das Lacton in Toluol gelöst, mit Aluminiumtrichlorid versetzt und ca. 2 h unter Rückfluss erhitzt⁹². Alternativ dazu kann der Ether auch in einer Pyridinium-Hydrochlorid-Schmelze gespalten werden⁹³. Die Ausbeuten waren bei beiden Methoden vergleichbar. Die Versuche mit Bortribromid in Dichlormethan bei -78 °C oder Raumtemperatur sowie das Erhitzen in 48%iger Bromwasserstoffsäure führten zu keinem reproduzierbaren Ergebnis.

Tabelle 9: Ausbeuten der Etherspaltungen



| | R | Methode | Ausbeute |
|------------|----------|----------------------|----------|
| 121 | 3-OH | AlCl ₃ | 84% |
| 123 | 4-OH | AlCl ₃ | 74% |
| 122 | 3,4-DiOH | Pyridin Hydrochlorid | 88% |

Ergebnisse der Rezeptortests

Auch in der neuen Serie der Lactone mit den vom Methylendioxybenzol abgeleiteten Substituenten zeigte keine der Verbindungen eine biologische Wirkung.

Bei späteren Wiederholungen der biologischen Tests mit Verbindung **116** stellte sich heraus, dass es sich beim Ergebnis des ersten Tests der Verbindung um ein so genanntes *false positive* handelte, d.h. ein positives Ergebnis, das nicht reproduziert werden konnte und eventuell auf Verunreinigungen in der Probe vor oder während des Test zurück zu führen war. Dadurch wurde auch klar, warum die stukturanalogen Verbindungen allesamt keine Aktivität zeigten.

Ableitung weiterer Strukturvarianten

Mit dem Lacton **111** wurden von Dr. Ulrich Grädler *docking* Studien durchgeführt. Ziel war es, die Lage des Moleküls in der Bindungstasche von T β RI zu ermitteln, um dann die Substituenten optimal anpassen zu können.

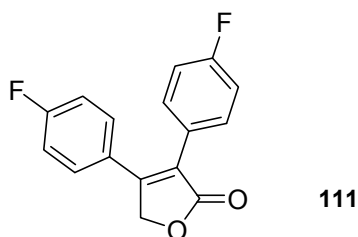


Abbildung 44: Di-4-fluorphenyl-substituiertes Lacton 111.

Die wahrscheinlichste Lage des Moleküls im Rezeptor ist in Abbildung 45 dargestellt. Der 4-Fluorphenylring in β -Position des Lactons bildet vermutlich die bereits häufig gesehene Wasserstoffbrücke zum Amidstickstoff des Histidins 283. Das Sauerstoffatom der Carboxylgruppe des Lactons könnte Wechselwirkungen zum rezeptorgebundenen Wassermolekül oder zum Amin der Lysinseitenkette (Lys 232) eingehen. Verglichen mit anderen potenten Inhibitoren fehlt in diesem Molekül ein Wasserstoffbrückendonator, der mit dem Carboxylat des Aspartats 351 wechselwirken kann.

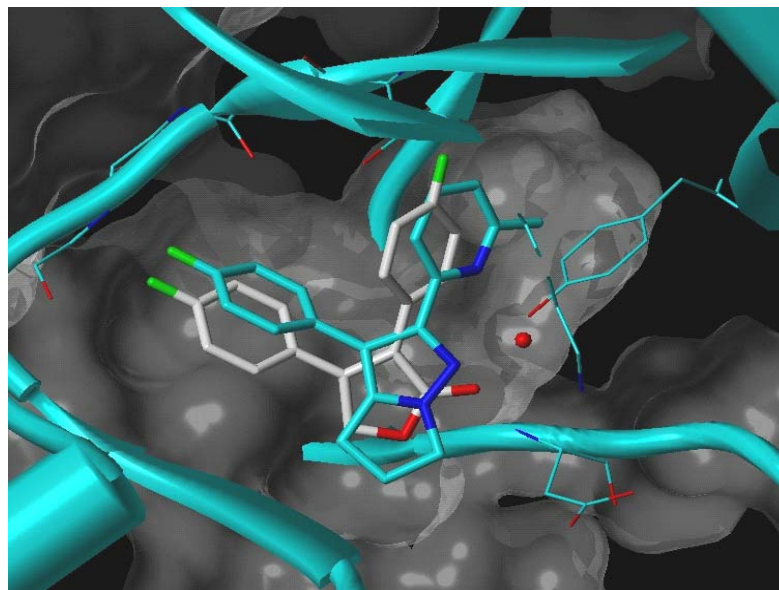


Abbildung 45: Ergebnis der *docking*-Studie mit dem Di-4-fluorphenyl-substituierten Lacton **111** (grau dargestellt). Herzlich Dank an Dr. Ulrich Grädler (Merck KGaA, Darmstadt) für die Bereitstellung der Graphik und die Erläuterungen dazu.

Bisher standen noch nicht ausreichend SAR-Daten zur Verfügung, um genaueres über die Rolle des Carbonyl-Sauerstoffs aussagen zu können. Um hierzu weitere Daten zu gewinnen, sollte nun vor allem das Lacton **124** (Abbildung 46) dargestellt werden. Dieses Lacton trägt dieselben Substituenten wie andere bekannte, potente Inhibitoren. Durch den Vergleich der Inhibitionsdaten könnte es möglich werden, die Rolle der Carbonylgruppe aufzuklären. Neben dem Lacton **124** sollten auch noch einige weitere Lactone mit einem oder zwei heteroarylischen Substituenten synthetisiert werden.

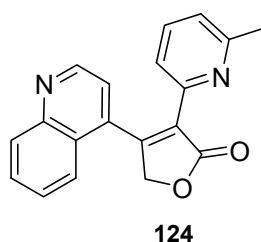


Abbildung 46: Lacton 124 mit dem bisher als optimal betrachteten Substitutionsmuster.

Synthesen

Die Synthese sollte auf dem klassischen Weg erfolgen, da die Darstellung und Umsetzung der Heteroarylboronsäuren häufig Schwierigkeiten bereitet, besonders wenn es sich um Pyridin-2-boronsäuren handelt⁹⁴. Dazu mussten zuerst einige der benötigten Edukte dargestellt werden.

Durch Lithiierung von 2,6-Lutidin mit *n*-BuLi und anschließendem Einleiten von Kohlendioxid wurde das Lithiumsalz der 6-Methylpyridylessigsäure **125** dargestellt. Wurde das Salz direkt mit einem Phenacylbromid umgesetzt, so konnte keine Reaktion beobachtet werden. Wahrscheinlich ist dies auf die größtenteils kovalente Natur der Li-O-Bindung zurück zu führen, die die Nucleophilie des Carboxylats vermindert. Jedoch konnte auch das Kaliumsalz nicht zur Reaktion gebracht werden. Deshalb wurde das Lithiumsalz in Methanol gelöst und mit einer auf pH = 5 eingestellten methanolischen Suspension des stark sauren Ionenaustauschers Amberlite IR120 einige Minuten bis zum erneuten Erreichen des pH = 5 gerührt. Filtration und Entfernen des Lösungsmittels ergab die 6-Methylpyridylessigsäure **125** als gelblichen Feststoff. Vorherige Versuche, die Pyridylessigsäure bei einem pH-Wert nahe ihrem isoelektrischen Punkt aus wässriger Lösung zu isolieren, gelangen nicht. Der Erfolg der Reaktion konnte sowohl im ¹H- als auch im ¹³C-NMR-Spektrum gezeigt werden (Singuletts bei 2.39 ppm mit der Intensität 3 und bei 3.43 ppm mit der Intensität 2 im ¹H-Spektrum, Signale bei 23.8 und 47.3 ppm im ¹³C-Spektrum). Diese Reaktionsführung ist deutlich einfacher als die bereits 1950 von Doering *et al.*⁹⁵ am Beispiel der Pyridin-2-essigsäure publizierte, die über Veresterung und folgende Esterspaltung abläuft oder die 1947 von Malan *et al.*⁹⁶ veröffentlichte, welche die Willgerodt-Kindler-Reaktion nutzt.

Diese Verbindung sowie weitere Essigsäuren des Typs **100** sollten mit verschiedenen α -Bromketonen des Typs **101** umgesetzt werden.

Deshalb wurde das 2-Brom-1-(chinolin-4-yl)ethanon **126** aus Chinolin-4-ylethanon **127** dargestellt. Dieses wurde in einer radikalischen Reaktion aus Chinolin **128** mit

2,3-Butadion **129**, Natriumperoxysulfat, Silbernitrat und Schwefelsäure nach einer Vorschrift von Citterio *et al.*⁹⁷ in 44% Ausbeute bezüglich des Umsatzes dargestellt. Im ¹H-NMR-Spektrum ist anhand des Auftretens dreier Signale mit chemischen Verschiebungen der Protonen von über 8.0 ppm (8.95, 8.39 und 8.10 ppm) zu erkennen, dass es sich um das 4-Acetylchinolin **127** handelt. Beim 2-Acetylchinolin werden kleinere Werte für die Protonenverschiebung erwartet. Die von Fontana *et al.*⁹⁸ publizierte Acetylierung mit Brenztraubensäure konnte nicht nachvollzogen werden.

Die anschließende Bromierung zu **126** erfolgte in siedendem Chloroform durch Zugabe von Brom innerhalb von 2 h in 38% Ausbeute. Dabei wurde das Hydrobromid erhalten.

2-Brom-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)ethanon **128** wurde in zwei Stufen in 62% Ausbeute aus 3,4-Methylenedioxybenzoesäurechlorid **129** dargestellt. Dieses wurde nach einer Vorschrift von Walker *et al.*⁹⁹ mit Diethylmalonat **130** und Magnesium zum Diethylmalonatderivat **131** umgesetzt, die Ester gespalten und sofort decarboxyliert. Das erhaltene 1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)ethanon **132** wurde nach Drake *et al.*¹⁰⁰ in quantitativer Ausbeute bromiert.

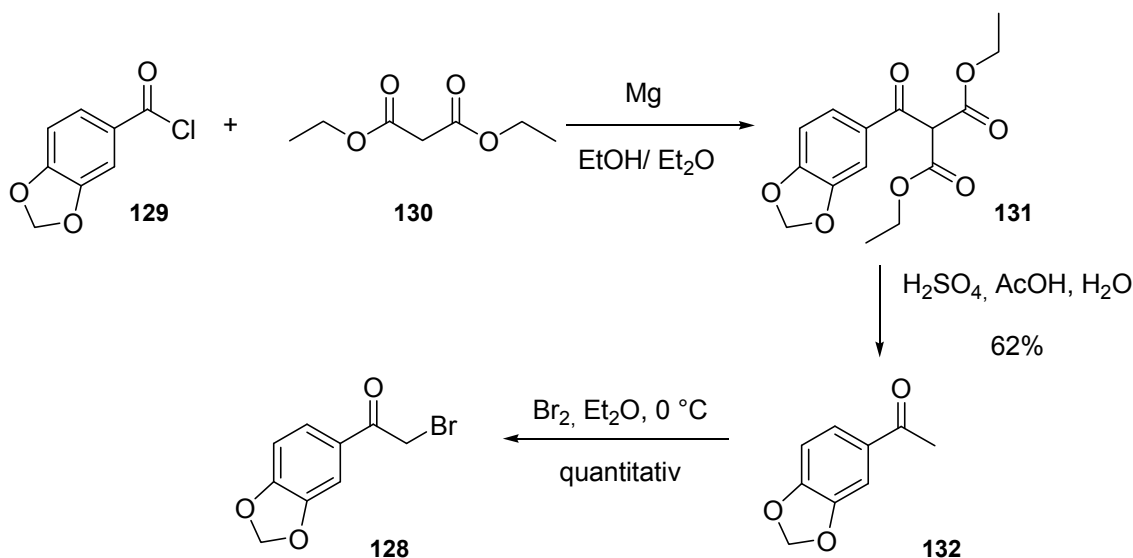


Abbildung 47: Synthese des 2-Brom-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)ethanons **128**.

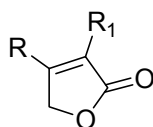
Die Bromierung des 4-Acetylpyridins **133** gelang nach einer Vorschrift von Barlin *et al.*¹⁰¹ in quantitativer Ausbeute.

Die Reaktion der α -Bromketone und der Essigsäuren wurde wieder in Acetonitril mit Triethylamin bei Raumtemperatur und späterer Zugabe von DBU bei 0 °C durchgeführt.

Enthielten beide Edukte einen Heterozyklus wie bei der Synthese der Lactone **134** und **135**, konnte kein Produkt gefunden werden, die Edukte waren im DC und GC/MS jedoch auch nicht mehr zu erkennen. Auch nach einer anderen Vorschrift, bei der die Ethersynthese durch Rühren mit Triethylamin bei Raumtemperatur und die anschließende Zyklisierung unter Rückfluss erfolgt, konnte das erwartete Produkt nicht gefunden werden.

Da die Darstellung der interessantesten Verbindungen mit zwei Heteroarylsubstituenten nicht gelang, wurden stattdessen, wie bereits im Benzimidazolprojekt (Kapitel 4.4), die Lactone mit 2-Fluorphenyl- und 4-Fluorphenylsubstituenten **139** und **140** dargestellt. Diese Substituenten sind auch bei den Lactonen nicht ideal und lassen daher keine Aktivitäten erwarten, die diejenigen der bereits publizierten Inhibitoren übertreffen, jedoch sollten sie zur Klärung der Frage ausreichen, ob die Lactone überhaupt an den TGF β I-Rezeptor binden können. Damit würde die Datenmenge der SAR-Studien entscheidend erweitert.

Tabelle 10: Ausbeuten der Synthesen der heteroarylsubstituierten Lactone auf dem klassischen Weg



| | R | R ₁ | Ausbeute |
|------------|--------------------------|--------------------------|----------|
| 135 | 3,4-Methylenedioxyphenyl | 2-Pyridyl | 64% |
| 136 | 4-Pyridin | 3,4-Methylenedioxyphenyl | 11% |
| 137 | 4-Pyridin | 2-Pyridyl | 0% |
| 138 | 4-Chinolin | 2-Pyridyl | 0% |

Die Di(fluorphenyl)-substituierten Lactone **139** und **140** wurden mittels Suzuki-Kupplungen dargestellt. Das Produkt der ersten Kupplung wurde nicht gereinigt, sondern nach der Aufarbeitung direkt weiter umgesetzt. Es wurden beide Regioisomere dargestellt, um eventuell Aussagen darüber machen zu können, ob die Carbonylgruppe oder der Ringsauerstoff als Wasserstoffbrückenakzeptor wirkt.

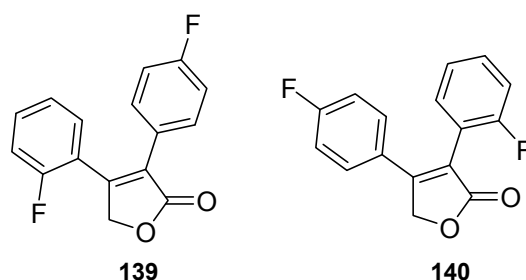


Abbildung 48: Lactone mit 2-Fluor- und 4-Fluorphenylsubstituenten **139** und **140**.

Auswertung der Rezeptortests

Die Di(fluorphenyl)-substituierten Lactone **139** und **140** zeigten in den Rezeptortests beide keine Aktivität. Das Lacton **135**, das einen 2-Pyridin- und einen Methylenedioxyphenyl-Substituenten trägt (siehe Tabelle 10) war sehr schwach aktiv (siehe Tabelle 11). Die Inhibition der Verbindungen wurde bei zwei verschiedenen Konzentrationen bestimmt. Bei jeder Inhibitionsbestimmung wurde eine Kontrollmessung durchgeführt, bei der kein Inhibitor eingesetzt wurde. Die Inhibitionswerte der Verbindungen beziehen sich auf diese Kontrolle. Je größer die Inhibitionswerte in Prozent sind, desto schlechter inhibiert die Verbindung. 100% der Kontrolle bedeutet also überhaupt keine Inhibition. Bei Werten von 50 – 60% kann bei einer Konzentration von 10^{-4} (wie z. B. beim Lacton **135**) auf einen IC_{50} -Wert von $> 10 \mu\text{M}$ geschlossen werden. Die bekannten potenten Inhibitoren von $T\beta\text{RI}$ liegen im einstelligen nanomolaren Bereich, sind also um den Faktor 1000 wirksamer. Es kann deshalb bei Lacton **135** noch lange nicht von einem biologisch aktiven Molekül gesprochen werden.

Tabelle 11: Ergebnisse des Rezeptortests von Lacton **135**

| Konzentration in mol/L | % Signal bezogen auf die Kontrollsubstanz |
|------------------------|---|
| 10^{-4} | 63 |
| 10^{-5} | 89 |

Zugang zu den gesättigten Lactonen durch Hydrierung der Doppelbindung

Durch die Hydrierung der Doppelbindung kann auf einfache Weise eine neue Verbindungsklasse erschlossen werden: 3,4-disubstituierten Dihydrofuran-2(3H)one.

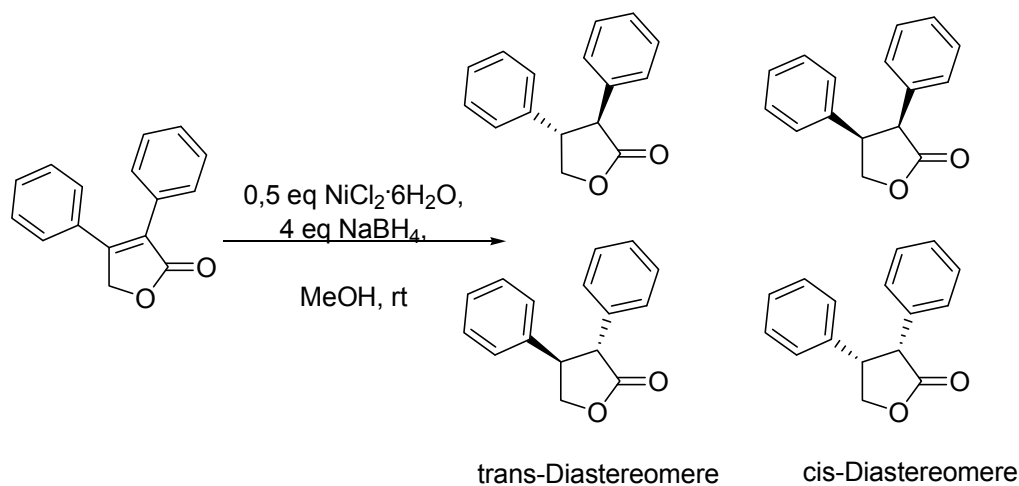


Abbildung 49: Hydrierung der ungesättigten Lactone.

Die ersten Untersuchungen zur Hydrierung wurden von Silvia Eger in ihrer Bachelorarbeit vorgenommen.¹⁰² Hier zeigte sich, dass die Hydrierung mit Palladium auf Kohle und Wasserstoff in Ethanol auch bei erhöhtem Druck (53 bar) und unter Zusatz konzentrierter Essigsäure nicht möglich ist.

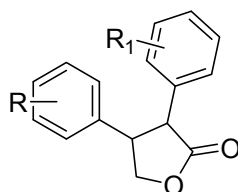
Nach einer Vorschrift von Abe *et al.*¹⁰³ konnten die ungesättigten Lactone unter milden Bedingungen in Methanol mit Natriumborhydrid unter Zusatz von Nickelchlorid hydriert werden. Es wurde festgestellt, dass die Rührdauer bis zur Aufarbeitung der Reaktion das Verhältnis zwischen den cis- und trans-Diastereomeren bestimmt. So konnten bei Reaktion über Nacht nur die trans-Diastereomere erhalten werden. Bei deutlich kürzeren Reaktionszeiten von 1 – 2 Stunden konnten auch die cis-Produkte gewonnen werden. Die Hydrierung des Edukts war zu diesem Zeitpunkt bereits vollständig. Die Trennung des entstandenen Diastereomergemisches in das trans- und cis-Enantiomerenpaar ist mittels HPLC möglich.

Am Beispiel des Lactons **110** wurde dies beobachtet. Hier wurden nach 1,5 h die cis- und trans-Diastereomere im Verhältnis 1:1 gefunden, beim Rühren über Nacht hingegen nur die trans-Diastereomere.

Ausführlichere Untersuchungen der Hydrierung im Hinblick auf die Zeitabhängigkeit der Produktbildung oder die Stabilität der cis-Diastereomere in Lösung wurden nicht vorgenommen, da der Fokus dieser Arbeit nicht auf mechanistischen Studien lag. Alle

weiteren Hydrierungen wurden über Nacht gerührt. Die Ausbeuten nach Reinigung sind aus der Tabelle 12 zu entnehmen.

Tabelle 12: Ausbeuten der Hydrierungen der ungesättigten Lactone



| | R | R ₁ | Ausbeute |
|------------|-----------|----------------|----------|
| 142 | 3-MeO | 4-F | 64% |
| 143 | 4-MeO | 4-F | 97% |
| 144 | 3,4-DiMeO | 4-F | 62% |

Ergebnisse der Rezeptortests

Wie auch ihre ungesättigten Analoga zeigten alle getesteten gesättigten Lactone keine Aktivität. Überraschend war dies nicht, da sich die Geometrie der gesättigten Lactone stark von der der als Inhibitoren bekannten Moleküle unterscheidet. Vom ungesättigten Lacton kann näherungsweise angenommen werden, dass die in Kapitel 3 erläuterten Wasserstoffbrücken ausgebildet werden können. Durch den Übergang von sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatomen zu sp^3 -hybridisierten Atomen verändert sich die sterische Ausrichtung der Substituenten jedoch deutlich. Bringt man im ungesättigten und im gesättigten Lacton die aromatischen Substituenten in 4-Position zur Deckung, so zeigen die Carbonylgruppen in unterschiedliche Richtungen, ebenso wie die aromatischen Substituenten in 3-Position. Die ungesättigten Lactone können also auf keinen Fall dieselben Wechselwirkungen zum Inhibitor ausbilden wie die ungesättigten.

Da die Synthese einfach und schnell durchzuführen war und für Lactone die noch keine aussagekräftigen SAR-Daten existieren, war die Durchführung der Hydrierungen dennoch gerechtfertigt.

Fazit

Aus den Daten, die aus den Rezeptortests der Lactone gewonnen wurden, kann geschlossen werden, dass sich die Klasse der 3,4-diarylsubstituierten ungesättigten Furanone, sowie die der gesättigten Furanone nicht als Inhibitoren von T β RI und den anderen Kinasen der Kinaseplattform der Firma Merck eignen.

4.5 γ -Lactame

Ableitung der Substanzklasse

Die Idee, γ -Lactame, die eigentlich als 3,4-diarylsubstituierte 1*H*-Pyrrol-2(5*H*)-one zu bezeichnen sind, darzustellen, ergab sich aus dem γ -Lacton-Projekt. In Abbildung 50 kann man erkennen, dass sich die räumliche Anordnung der Arylsubstituenten bei den Lactonen nur minimal von der bei den Lactamen unterscheidet, d. h. die Substituenten beider Substanzklassen sollten die selben Wechselwirkungen mit dem Rezeptor eingehen können.

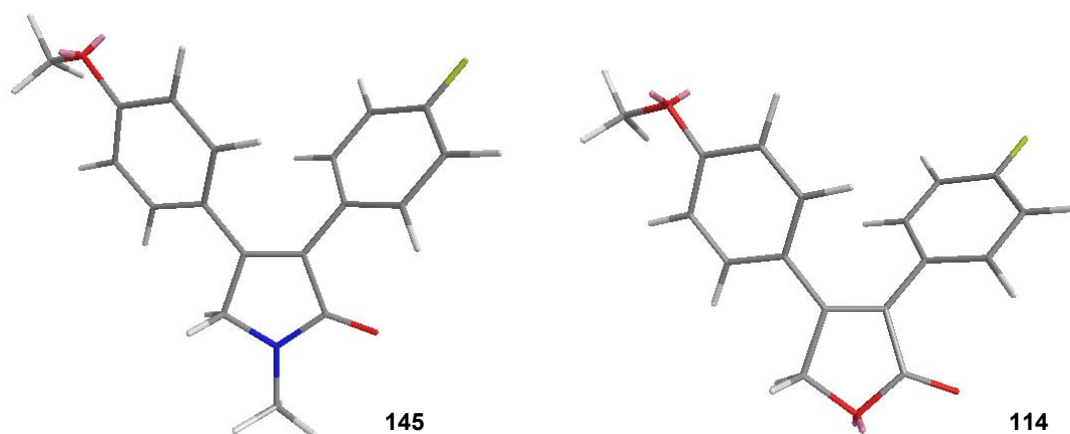


Abbildung 50: Räumliches Modell des γ -Lactams 145 und des γ -Lactons 114.

(erzeugt mit Chem3D Ultra mittels MM2-Energieminimierung)

Die Lactame sind vor allem auf Grund der Trivalenz des Ringstickstoffatoms interessant. Trägt dieses Atom ein Wasserstoffatom, könnte es die den Lactonen vermutlich fehlende Wechselwirkung zum Carboxylat des Asparagins 351 ausbilden. Durch substituierte Alkylketten könnte man eventuell zusätzliche Bindungsstellen des Rezeptors erschließen und somit die Selektivität erhöhen. Allerdings ist nicht vorherzusagen, ob die Lactame überhaupt eine stabile Bindung zum aktiven Zentrum des Rezeptors ausbilden.

Synthesen

Die Lactame können auf klassischem Wege analog zu den Lactonen dargestellt werden. Anstelle der 2-substituierten Essigsäure wird das entsprechende Essigsäureamid im Basischen mit einem α -Bromketon zur Reaktion gebracht¹⁰⁴. Eine Testreaktion mit den einfachsten Edukten, Phenylessigsäureamid und 2-Bromacetophenon, unter Erhitzen mit Triethylamin in Acetonitril führte jedoch nicht zum Erfolg.

Daraufhin wurde versucht, die Lactame direkt aus den Lactonen zu gewinnen. Diese Reaktionsführung hat den großen Vorteil, dass in nur einem Schritt aus den bereits vorhandenen Lactonen eine neue Verbindungsklasse erschlossen werden kann.

Die ersten Versuche wurden in wässriger Methylamin-Lösung durchgeführt. Da Methylamin bei Normaldruck und Raumtemperatur als Gas vorliegt, wurde die Reaktion im Mikrowellensynthesizer unter Verwendung von fest verschlossenen, druckbeständigen Reaktionsgefäßen durchgeführt. In Abbildung 51 ist die Reaktionsgleichung dargestellt. Neben dem gewünschten Lactam entstand auch die Verbindung **146**, die durch einen nucleophilen Angriff an der Methylengruppe und anschließende Amidbildung oder der Öffnung des Lactons durch Methylamin mit nachfolgender Substituion der Hydroxygruppe entstanden sein sollte.

Die zur Minimierung des Nebenprodukts **146** untersuchten Bedingungen können Tabelle 13 entnommen werden. Als beste Bedingungen für die Darstellung der Lactone erwiesen sich die der Umsetzung Nr.7 (Tabelle 13), die mit 40 eq Methylamin als 1,5%-ige wässrige Lösung in 15 min ein gutes Verhältnis zwischen Produkt **145** und Nebenprodukt **146** ergaben.

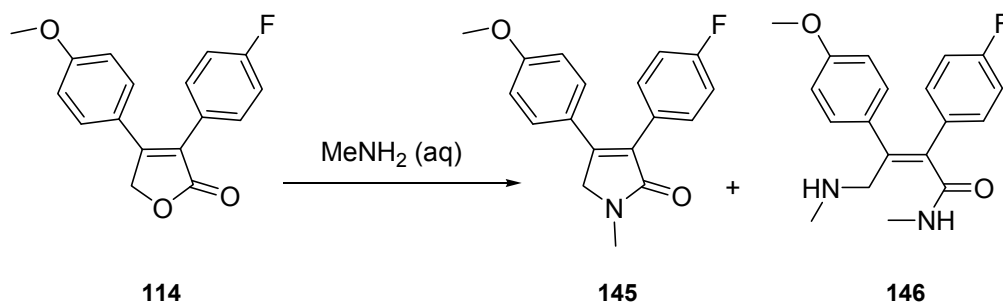


Abbildung 51: Synthese der Lactame aus den Lactonen.

Tabelle 13: Untersuchung der Reaktionsbedingungen der Überführung der Lactone in die Lactame im Mikrowellensynthesizer.

| Nr. | MeNH ₂ (aq) | T | t | Zusatz | Edukt 114 : Produkt 145 : Nebenprodukt 146 |
|-----|------------------------|--------|---------|-----------|---|
| 1 | 1000 eq, 40%-ig | 150 °C | 20 min | | 0:1:2 |
| 2 | 20 eq, 40%-ig | 150 °C | 20 min | | 8:1:0,5 |
| 3 | 20 eq, 40%-ig | 150 °C | 60 min | | 0,5:9:10 |
| 4 | 20 eq, 40%-ig | 150 °C | 120 min | | 0:1:1 |
| 5 | 1000 eq, 40%-ig | 150 °C | 30 min | kat. HCl | Zersetzung |
| 6 | 1000 eq, 40%-ig | 150 °C | 30 min | kat. AcOH | Zersetzung |
| 7 | 40 eq, 1,5%-ig | 150 °C | 15 min | | 0:3:1 |

Ergebnisse der Rezeptortests

Zunächst wurde das in Abbildung 50 und 51 dargestellte Lactam **145** synthetisiert und getestet. Es zeigte analog zu den Lactonen keine Aktivität. Da es nicht die bereits als optimal identifizierten Substituenten trägt, ist dieses Ergebnis nicht überraschend.

Auf Grund der fehlenden Aktivität des getesteten Lactams **145**, der Inaktivität aller dargestellten Lactone (Kapitel 4.4) und der nur sehr geringen Chance, dass die Lactame mit idealen Substituenten bessere biologische Ergebnisse liefern, wurde die Umwandlung der Lactone in Lactame nicht weiter optimiert und das Projekt im Rahmen dieser Arbeit nicht weiterverfolgt.

4.6 Verlängerte offenkettige Amide

Ableitung der Substanzklasse

Ausgehend von den Erkenntnissen, die aus den *docking* Studien von Dr. U. Grädler zu den offenkettigen Amiden gewonnen werden konnten, wurde die Synthese einer weiteren Molekülklasse in Angriff genommen.

Verglichen mit den offenkettigen Amiden aus Kapitel 4.2 wurde der Abstand zwischen der Amidgruppe und den aromatischen Substituenten um eine Methylengruppe vergrößert. So könnte eine zusätzliche Wasserstoffbrücke zwischen dem Amidstickstoff des potentiellen Inhibitors und der Carboxylatgruppe des Aspartats 351 des Rezeptors gebildet werden (siehe Abbildung 53, mit einer grünen Ellipse markierter Bereich). Dabei kann die Atomfolge der Amidgruppe beibehalten oder umgekehrt werden. In diesem Kapitel sollen die Amide mit „umgekehrter“ Atomfolge, wie an Verbindung **164** verdeutlicht und im Folgenden nun „CN-Amid“ genannt, diskutiert werden.

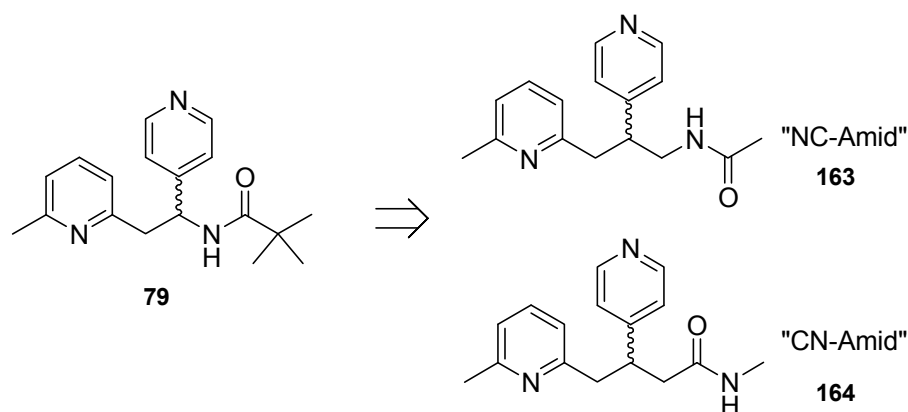


Abbildung 52: Ableitung der verlängerten offenkettigen Amide **163** und **164** aus **79**.

Aus Abbildung 53 lässt sich abschätzen, dass der Abstand des amidischen Wasserstoffmoleküls vom Carboxylat in den Verbindungen **163** und **164** nun innerhalb der Reichweite einer Wasserstoffbrücke liegt. Außerdem wurden die sperrigen Substituenten am Amidstickstoff durch die kleine Methylgruppe ersetzt, um ungünstige Wechselwirkungen mit dem Peptidrückgrat des Rezeptors zu vermeiden.

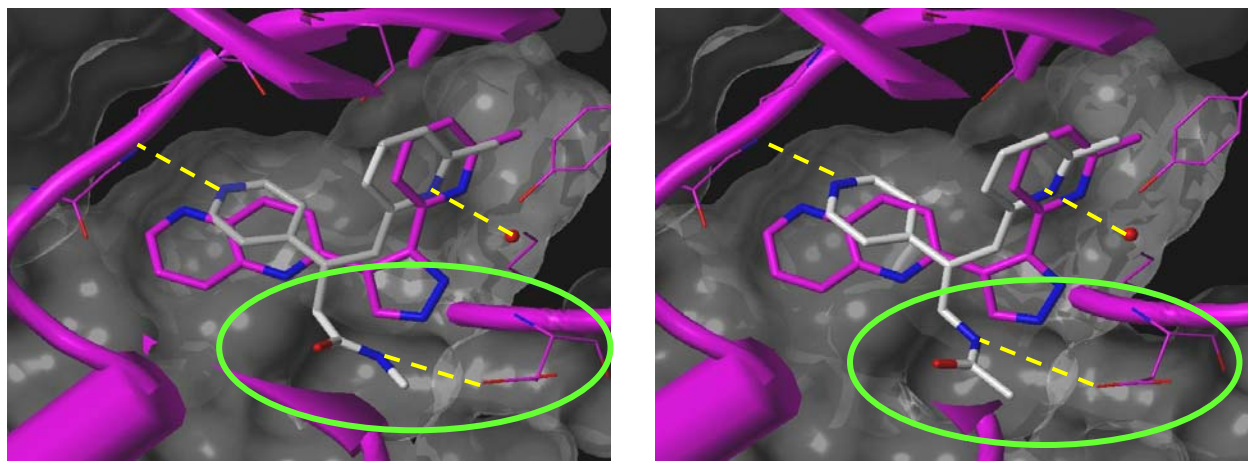


Abbildung 53: Vermutete Bindung der verlängerten offenkettigen Verbindungen 163 und 164 an TβRI.

Herzlich Dank an Dr. Ulrich Grädler (Merck KGaA, Darmstadt) für die Bereitstellung der Graphik und die Erläuterungen dazu.

Synthese

Die Synthese der „CN-Amide“ verläuft über drei einfache Stufen. Aus 2-Bromessigsäuremethylester und Triphenylphosphan wurde durch Rühren in Essigsäureethylester über Nacht das entsprechende Phosphoniumbromid **166** in 87% Ausbeute als weißer Feststoff erhalten¹⁰⁵. Die Wittigreaktion der Pyridinaldehyd **165** mit dem Triphenylphosphoniumbromid **166** gelang nur in unbefriedigenden Ausbeuten zwischen 30 und 40%. Die Reaktion wurde nicht optimiert, möglicherweise hätte die Ausbeute durch Variation der Base oder des Lösungsmittels gesteigert werden können. Die erhaltenen Mengen an **167** waren jedoch für die weiteren Umsetzungen ausreichend. Die Michael-Addition der Lithiumsalze des 2,6-Lutidins, 2-Picolins **168** und der Methylchinoline an die ungesättigten Ester **167** wurde unter Schutzgas bei -78 °C durchgeführt. Zur Deprotonierung der Methylgruppen wurde Lithiumdiisopropylamid (LDA) verwendet. Auch hier liegen die Ausbeuten nur bei 40 – 50%.

Durch Rühren des Esters **169** in einer 8 M Lösung von Methylamin in Methanol bei Raumtemperatur konnte das Methylamid erhalten werden. Die Reinigung der Methylamide mittels Säulenchromatographie lieferte das Produkt nicht in ausreichender Reinheit. Deshalb wurden die Substanzen durch präparative HPLC mit Wasser und Acetonitril (6:4) als mobiler Phase erneut gereinigt.

Auch die Methylester wurden mittels HPLC gereinigt und auf ihre inhibitorische Aktivität untersucht.

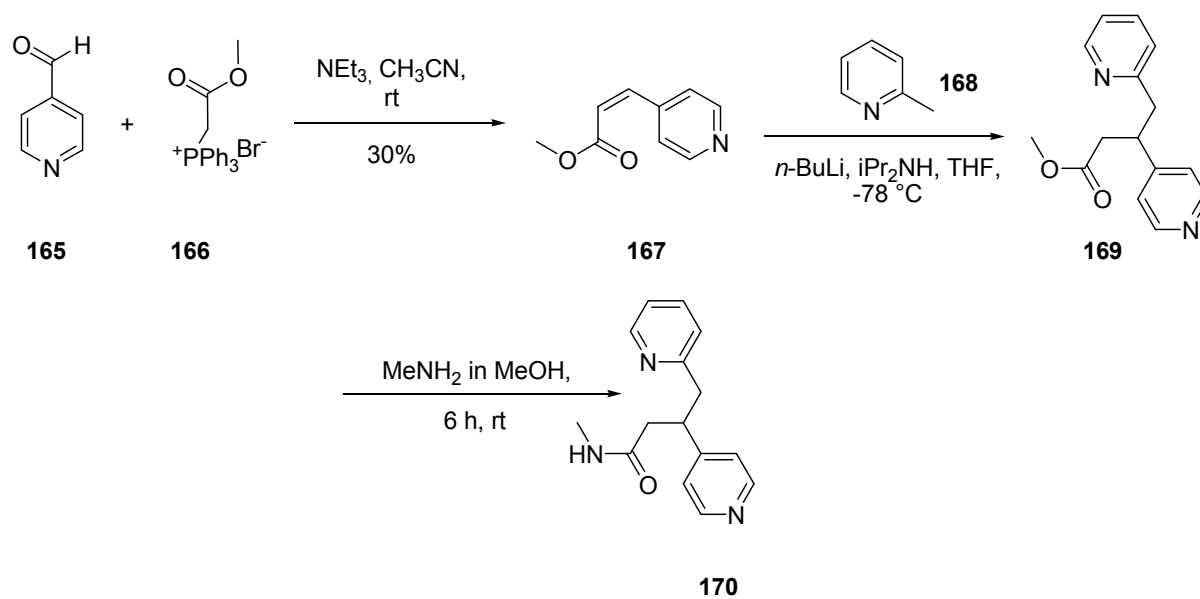
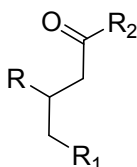


Abbildung 54: Synthese der „CN-Amide“.

Analog zur Synthese des *N*-Methyl-4-(pyridin-2-yl)-3-(pyridin-4-yl)butanamid **170** (Abbildung 54) wurden aus verschiedenen heterozyklischen Edukten weitere Amide dargestellt, die in Tabelle 14 aufgelistet sind.

Tabelle 14: Übersicht der dargestellten Ester und Amide



| Ester ($\text{R}_2 = \text{OMe}$) | Amid ($\text{R}_2 = \text{NHMe}$) | R | R_1 |
|--|--|--------------|---------------|
| 171 | 174 | Pyridin-2-yl | Pyridin-4-yl |
| 172 | 175 | Pyridin-2-yl | Chinolin-4-yl |
| 170 | - | Pyridin-4-yl | Pyridin-2-yl |
| 173 | 176 | Pyridin-4-yl | Chinolin-2-yl |

Ergebnisse der Rezeptortests

Auch die verlängerten offenkettigen Amide erwiesen sich als inaktiv auf der Kinaseplattform. Obwohl die *molecular modelling* Studien postulieren, dass sich einige Wasserstoffbrückenbindungen zum Rezeptor ausbilden können, wird in den Rezeptortests keine Bindung der offenkettigen Amide an den Rezeptor festgestellt. Ein Grund dafür ist nicht offensichtlich. Eine mögliche Erklärung ist die durch die offenkettige Form bedingte höhere Flexibilität der Moleküle. Starre Moleküle, deren funktionelle Gruppen in eine bestimmte, für die Wechselwirkung zum Rezeptor günstige sterische Ausrichtung gezwungen werden, binden meist stärker als flexible Moleküle mit denselben funktionellen Gruppen.

4.7 Imidazole

Ableitung der Substanzklasse

Die *molecular modelling* Studien von Dr. U. Grädler umfassten auch weitere Substanzklassen. In Abbildung 55 ist die Kristallstruktur eines Pyrrolderivats **178**, das als sehr guter Inhibitor wirkt, im Komplex mit T β RI in türkis graphisch dargestellt. Mittels *docking* Studien wurde die wahrscheinlichste Lage eines potentiellen Inhibitors, hier das Imidazoimidazol **179**, ermittelt. Beide Moleküle können annähernd denselben Raum besetzen und die gleichen Wasserstoffbrücken zum Rezeptor ausbilden. Es ist daher möglich, dass das Imidazoimidazol **179** ebenfalls inhibitorische Aktivität zeigt.

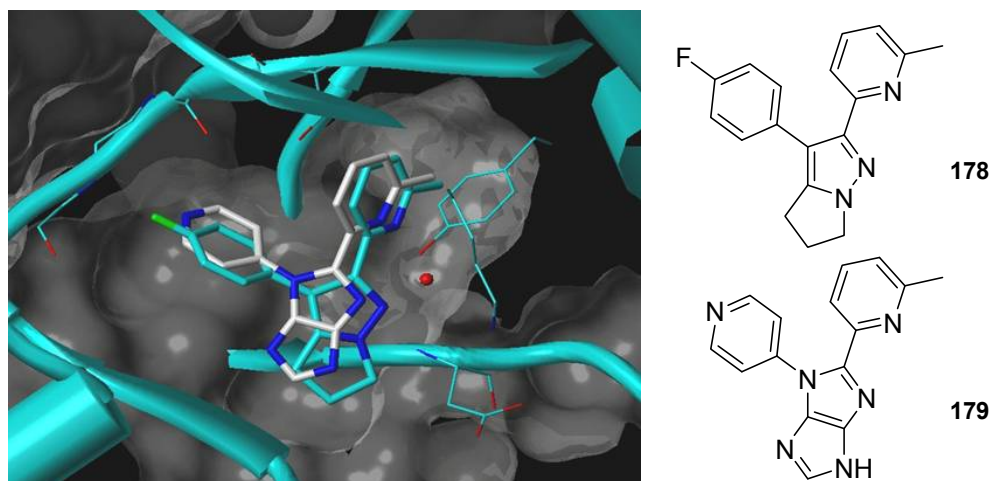


Abbildung 55: Bindungstasche des T β RI im Komplex mit Inhibitoren.

In türkis dargestellt: T β RI im Komplex mit einem Pyrrolderivat **178** (pdb-Code 1RW8), in weiß dargestellt: vermutliche Lage des potentiellen neuen Inhibitors **179** in der Bindungstasche.

Herzlich Dank an Dr. Ulrich Grädler (Merck KGaA, Darmstadt) für die Bereitstellung der Graphik und die Erläuterungen dazu.

Um die Synthese einfacher zu gestalten und zuerst zu zeigen, dass die aus den *docking* Studien resultierenden Annahmen durch Rezeptortests bestätigt werden können, wurde mit der Synthese von 1,2-disubstituierten Imidazolen wie z. B. **181** (Abbildung 56) begonnen. Nach den bisherigen SAR-Daten bildet der zweite Imidazolring des Imidazoimidazols **180** vermutlich keine zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindungen zum Rezeptor aus und kann deshalb für die ersten Untersuchungen weggelassen werden, ohne einen Verlust an Informationen befürchten zu müssen.

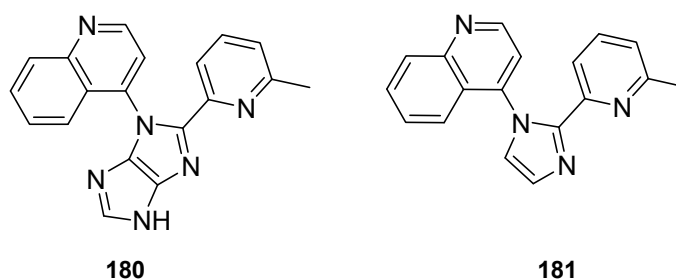


Abbildung 56: Syntheseideen ausgehend von den *docking* Studien.

Es sollte wiederum eine kleine Bibliothek verschieden substituierter Imidazole dargestellt werden. Aus den bisherigen SAR-Daten geht eindeutig hervor, dass zwei heterozyklische Substituenten für die Aktivität entscheidend sind. Daher wurden hauptsächlich Imidazole dargestellt, welche zwei Heterozyklen tragen. Dabei wurden Pyridin- und Chinolinreste mit einem Stickstoffatom in 2- oder 4-Position verwendet.

Synthesen

Wie bei allen klassischen Heterozyklen sind viele verschiedene Synthesewege zu den Imidazolen bekannt. In Abbildung 57 werden einige Wege vorgestellt.

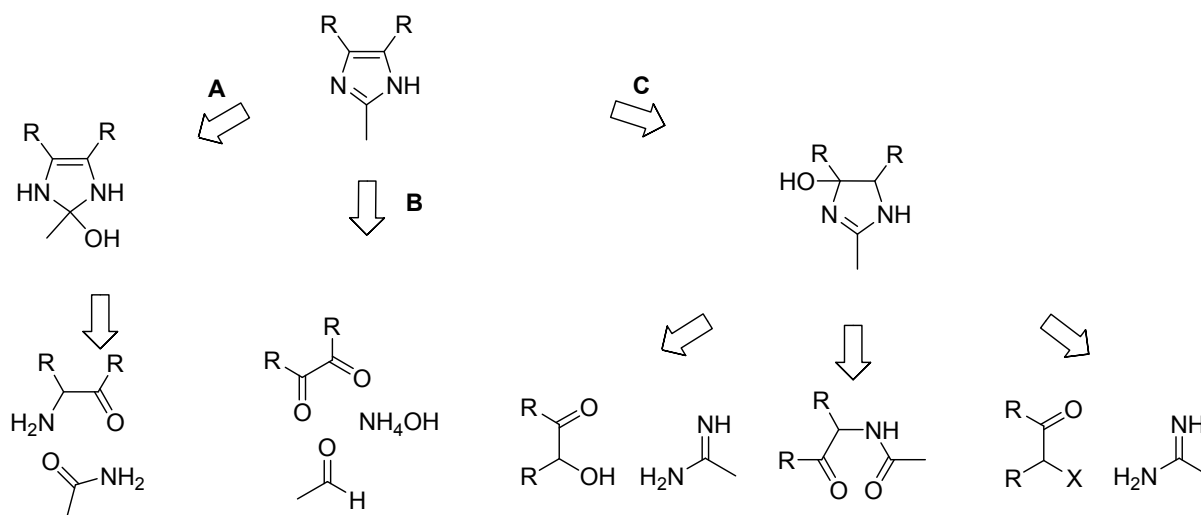


Abbildung 57: Mögliche Retrosynthesen zum Imidazol.

Von den in Abbildung 57 dargestellten Imidazolsynthesen bot sich für die Synthese der 1,2-disubstituierten Imidazole mit $R = H$ der zweistufige Weg **B** ausgehend vom entsprechenden Pyridinaldehyd mit Glyoxal und Ammoniaklösung an, da die benötigten Edukte am einfachsten zugänglich waren.

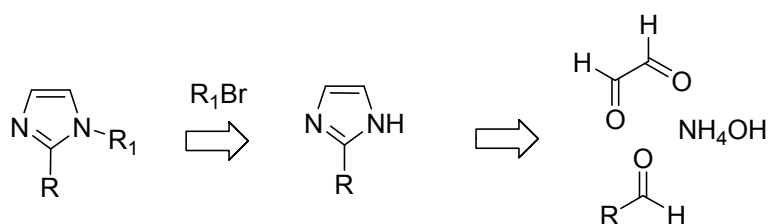
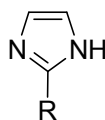


Abbildung 58: Retrosynthetische Darstellung der Imidazole.

Die Imidazole wurden aus den entsprechenden Aldehyden durch Rühren über Nacht bei Raumtemperatur mit wässriger Glyoxal- und Ammoniaklösung in Ethanol dargestellt.¹⁰⁶ Die Ausbeuten waren moderat. Grund dafür war die recht gute Wasserlöslichkeit der Imidazole. Durch Flüssig-Flüssig-Extraktion der wässrigen Lösung mit Essigsäureethylester wäre es möglich gewesen, die Ausbeuten zu erhöhen. Die erhaltenen Produktmengen waren jedoch ausreichend für die folgenden Umsetzungen. In Tabelle 15 sind die Ausbeuten aufgeführt.

Tabelle 15: Ausbeuten der Imidazolsynthesen



| R ₁ = H, R = | 2-Pyridyl | 4-Pyridyl | 6-Me-2-pyridyl | 4-Chinolyly |
|-------------------------|------------|------------|----------------|-------------|
| | 182 | 183 | 184 | 185 |
| Ausbeute | 40% | 30% | 56% | 42% |

Die benötigten Edukte wurden, soweit nicht kommerziell zu erschwinglichen Preisen erhältlich, selbst dargestellt.

Neben den Chinolinaldehyden **188** und **191** wurde hier auch die Synthese der Chinolincarbonsäuren **187** und **190** untersucht, die auch als Edukte für andere Projekte interessant waren. Die Wahl des Lösungsmittels bestimmt bei der Oxidation mit Selendioxid das Verhältnis von Säure und Aldehyd; wird Pyridin verwendet¹⁰⁷, so entsteht bevorzugt die Säure, bei Dioxan der Aldehyd¹⁰⁸.

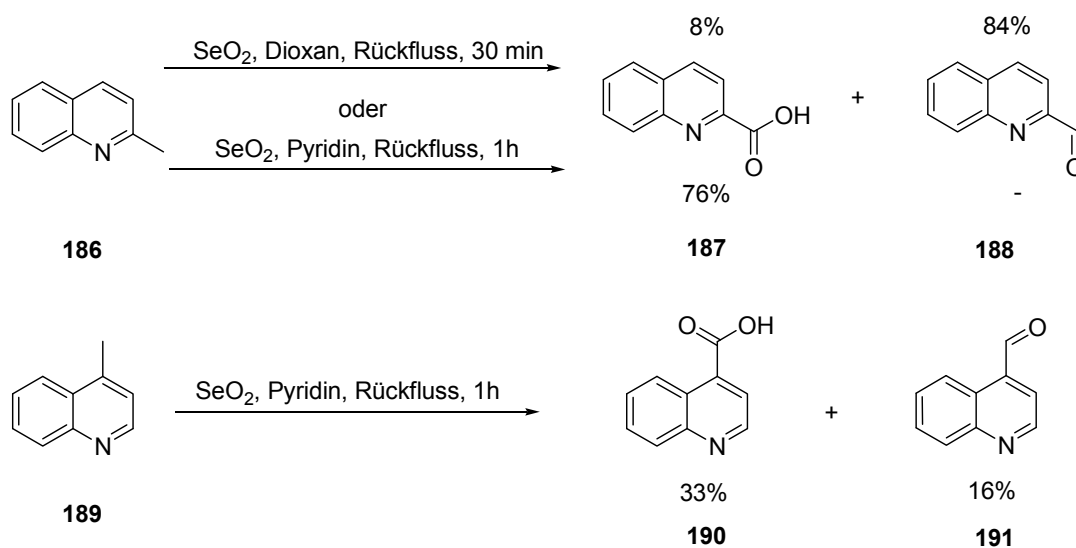


Abbildung 59: Synthese der Chinolincarbonsäuren **187** und **190** und –aldehyde **188** und **191**.

Der 6-Methylpyridin-2-aldehyd **193** wurde durch Oxidation mit Selendioxid in Dioxan bei 150 °C unter Mikrowellenbestrahlung aus 2,6-Lutidin **192** dargestellt.¹⁰⁹

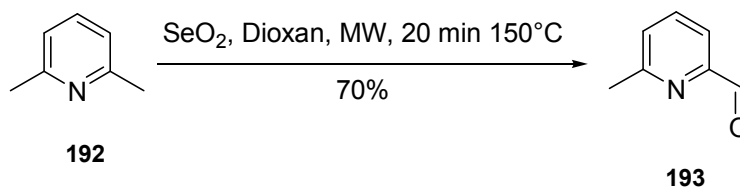


Abbildung 60: Synthese des 6-Methylpyridin-2-aldehyds.

Auch einige Bromide wurden dargestellt. 2-Brom-6-methylpyridin **195** wurde über eine Variante der Sandmeyer-Reaktion nach Schubert *et al.*¹¹⁰ mit Bromwasserstoffsäure, Brom und Natriumnitrit aus dem Amin **194** erhalten. Der postulierte Mechanismus verläuft über die Perbromverbindung Br_3^- , die nach Diazotierung desamins molekularen Stickstoff verdrängt. Die schlechte Ausbeute wurde toleriert, da nur eine kleine Menge des Produkts benötigt wurde.

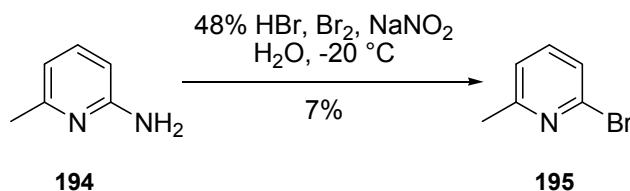


Abbildung 61: Variante der Sandmeyer-Reaktion zur Synthese des 2-Brom-6-methylpyridins **195**.

Auch 4-Brom-2-methylchinolin **196** wurde über eine Sandmeyer-Reaktion dargestellt. Die Ausbeuten waren hier ebenso schlecht wie bei den anderen Bromierungen. Um eine höhere Ausbeute zu erzielen, wurden noch andere Varianten der Sandmeyer-Reaktion erprobt. Der Versuch einer Diazotierung mit Bromwasserstoffsäure, Brom und Natriumnitrit führte nicht zur Umwandlung des Amins in ein Bromid sondern zu einer einfachen Bromierung am Aromaten unter Erhalt der Aminogruppe.

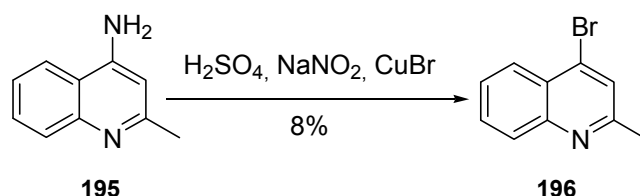


Abbildung 62: Sandmeyer-Reaktion zur Synthese des 4-Brom-2-methylchinolins **196**.

Die Synthese des 2-Bromchinolins **197** und des 4-Bromchinolins **198** gestaltete sich schwierig. Die Chichibabin-Reaktion ausgehend von Chinolin **128** mit Natriumamid verlief mit moderaten Ausbeuten von 17% an 2-Aminochinolin **199** und 1% an 4-Aminochinolin **200**. Als Nebenprodukt entstanden größere Mengen (ca. 30 %) an 2,2'-Bichinolin. Die Diazotierung des 4-Aminochinolins **200** gelang mit Nitrosylschwefelsäure, beim Verkochen mit Kupfer(I)bromid-Lösung wurde jedoch nur die Hydroxyverbindung erhalten. Auch die Einführung eines Iodids durch Kaliumiodid gelang nicht. Die Variante mit Brom in Bromwasserstoffsäure, die beim 4-Amino-2-methylchinolin nur zur Bromierung am aromatischen Ring führte, gelang hier in 10% Ausbeute an isoliertem Produkt **200**.

Es konnte nicht genug des 4-Bromchinolins **200** dargestellt werden, um das vorgeschlagene Imidazol **181** zu synthetisieren. Da es sich von Verbindung **205** nur durch das Fehlen einer Methylgruppe in 2-Position am Chinolinring unterscheidet, wurden die biologischen Ergebnisse von Verbindung **205** abgewartet, bevor weitere Versuche zur Darstellung des 4-Bromchinolins unternommen werden sollten.

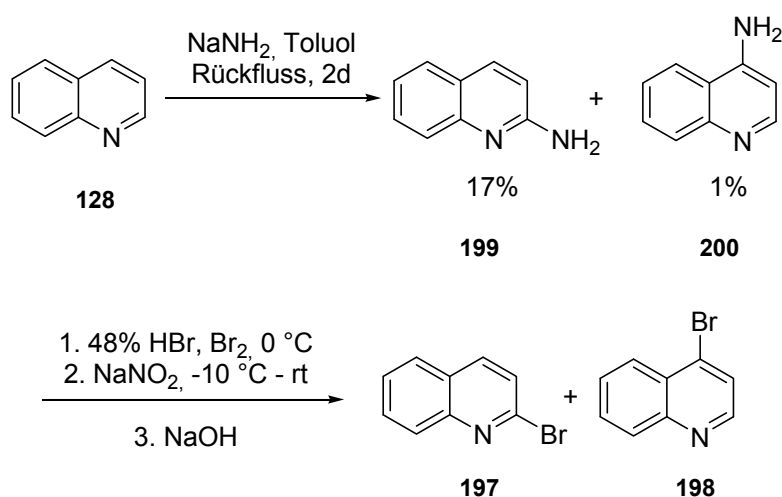
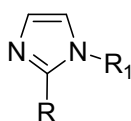


Abbildung 63: Synthese der Chinolylbromide 197 und 198.

Die Kupplung des Bromaromaten an das Imidazol wurde zuerst durch Deprotonierung des Imidazols und Umsetzung mit einem Bromaromaten nach verschiedenen Vorschriften durchgeführt¹¹¹. Das gewünschte Produkt konnte jedoch nicht erhalten werden. Erst unter den Bedingungen der Ullmann-Kupplung nach Zhang *et al.*¹¹² mit Kupferiodid, L-Prolin als Ligand und Kaliumcarbonat als Base in DMSO bei 150 °C war die Synthese erfolgreich. Die Ausbeuten schwankten mit ca. 40 – 80% zwischen mäßig und gut. In Tabelle 16 sind die dargestellten Imidazole zusammengefasst.

Tabelle 16: Dargestellte Imidazole



| | R | R ₁ |
|------------|----------------|------------------------------|
| 201 | 2-Pyridyl | 2-Pyridyl |
| 202 | 2-Pyridyl | 4-CF ₃ -2-pyridyl |
| 203 | 2-Pyridyl | 2-Me-4-chinolyl |
| 204 | 4-Pyridyl | 2-Pyridyl |
| 205 | 6-Me-2-pyridyl | 2-Me-4-chinolyl |
| 206 | 4-Chinolyl | 2-Pyridyl |
| 207 | 4-Chinolyl | 6-Me-2-pyridyl |

Neben den Imidazolen mit zwei heterozyklischen Substituenten **201** – **207** wurden noch zwei Moleküle (**208** und **209**) mit nur einem Pyridinsubstituenten dargestellt. Die Synthese verlief nach demselben Schema wie bereits in diesem Kapitel beschrieben. Aus Verbindung **208** wurde durch Reduktion der Nitrogruppe mit Zinn in Salzsäure die Aminoverbindung **209** dargestellt.

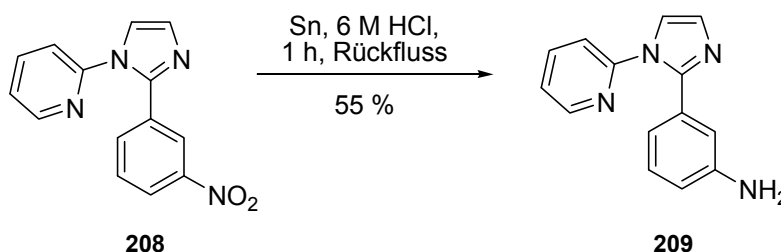


Abbildung 64: Reduktion der Nitrogruppe von Verbindung **208**.

Ergebnisse der Rezeptortests

Es wurden die sieben Imidazole **201** – **207** mit zwei stickstoffhaltigen aromatischen Substituenten dargestellt. Dabei tragen vier der Moleküle je einen Substituenten mit Stickstoffatom in 2- und 4-Position. Das in den *docking* Studien als ideal identifizierte Molekül **181** konnte nicht dargestellt werden, jedoch ein sehr ähnliches (**205**), das sich nur durch eine zusätzliche Methylgruppe am Chinolinring vom „idealen“ Molekül unterscheidet. Leider zeigte auch in dieser Verbindungsklasse keines der Moleküle in den Kinaseinhibitionstests positive Ergebnisse.

Auch die beiden Imidazole **208** und **209**, die einen Pyridinsubstituenten und einen Phenylring mit einer stickstoffhaltigen funktionellen Gruppe tragen, zeigten keinerlei Aktivität auf der Kinaseplattform.

Auf Grund der negativen Testergebnisse wurde dieses Projekt nicht weiter verfolgt.

4.8 Varianten des bekannten Inhibitors SD-208

Der Inhibitor SD-208 (Abbildung 65) der Firma Scios Inc. (jetzt Johnson & Johnson)¹¹³ ist als potenter T β RI-Inhibitor bekannt. Er unterscheidet sich von vielen bekannten Inhibitoren durch seinen Grundkörper, einem Pteridinring. Wie bereits erwähnt, besitzen die meisten andern Inhibitoren einen heterozyklischen Fünfring als Grundkörper. Um weitere Daten über die Bindungsverhältnisse in T β RI-Inhibitor-Komplexen zu erhalten, ist es sehr interessant, Varianten dieses Systems zu untersuchen.

Die Synthesen einiger dieser Varianten wurden von Dana David während ihrer Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. U. Groth durchgeführt¹¹⁴.

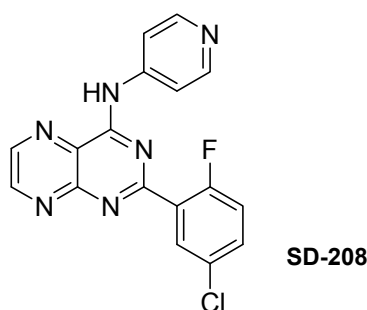


Abbildung 65: Ausgangspunkt der Variationen: T β RI-Inhibitor SD-208 der Firma Scios.

Ableitung der Substanzklasse

Frühere SAR-Studien verschiedener Gruppen zeigten, dass besonders der 2-Fluor-5-chlorphenylring entscheidend für die Bindung an den Rezeptor ist.¹¹⁵ Auch der 4-Aminopyridin substituent spielt eine entscheidende Rolle. Wurden diese beiden Substituenten verändert, so verringerte sich die Aktivität der neuen Verbindungen drastisch. Bereits kleine Modifikationen wie z. B. der Austausch eines Fluoratoms gegen ein Chloratom reichten aus, um die Aktivität stark zu beeinträchtigen. Deshalb wurde in dieser Arbeit das Substitutionsmuster beibehalten und nur der Grundkörper variiert.

Auf Grund der in *docking* Studien der Firma Merck KGaA ermittelten wahrscheinlichen Lage des Inhibitors in der Bindungstasche (Abbildung 66) wird vermutet, dass das Stickstoffatom des Pyridinrings die Wasserstoffbrücke zum Rückgrat-Amid des Histidins 283 ausbildet, während das N1-Atom im Pteridinring die H-Brücke zum Lysin 232 eingeht.

Der Fluorchlorphenylring muss eine oder mehrere Wechselwirkungen mit dem *selectivity pocket* eingehen, da Veränderungen an diesem Substituenten zu einem deutlichen Aktivitätsverlust führen. Diese Wechselwirkungen müssen von vergleichbarer Stärke sein wie die, die in den meisten anderen Inhibitoren vom Pyridin-2-ylring ausgebildet werden (siehe

türkis und golden gezeichnete Moleküle in Abbildung 66). Die N5- und N8-Stickstoffatome scheinen nicht zur Bindung beizutragen. Aus den *docking* Studien ist auch zu schließen, dass der Stickstoff in 3-Position keine wichtige Rolle spielt.

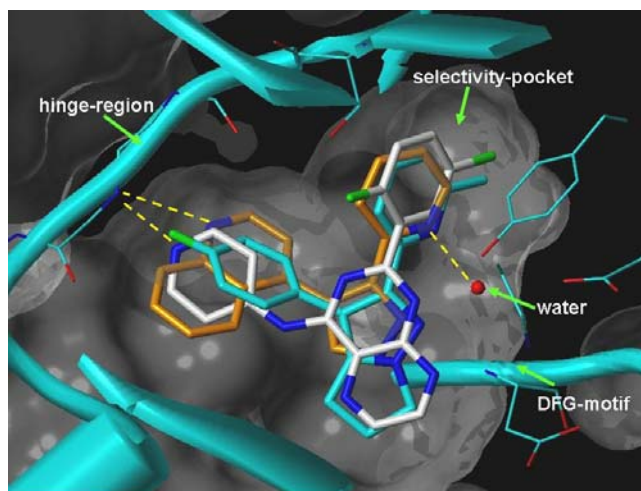


Abbildung 66: Ergebnis des *dockings* von SD-208 (weiß) in die aktive Domäne von TPRI.
Herzlich Dank an Dr. Ulrich Grädler (Merck KGaA, Darmstadt) für die Bereitstellung der Graphik und die Erläuterungen dazu.

Um diese Vermutungen zu belegen, wurden verschiedene Analoga synthetisiert. Da der Beitrag der Stickstoffe in 5- und 8-Position zur Bindung als vernachlässigbar angesehen wurde, wurde das Pteridingerüst durch ein Chinazolin (**211**) ersetzt. Um die Rolle der Stickstoffatome im Chinazolin **211** zu klären, sollten sie nacheinander durch Kohlenstoffatome ersetzt werden, was zu den Stoffklassen der Chinoline (**212**) und Isochinoline (**213**) führt (Abbildung 67).

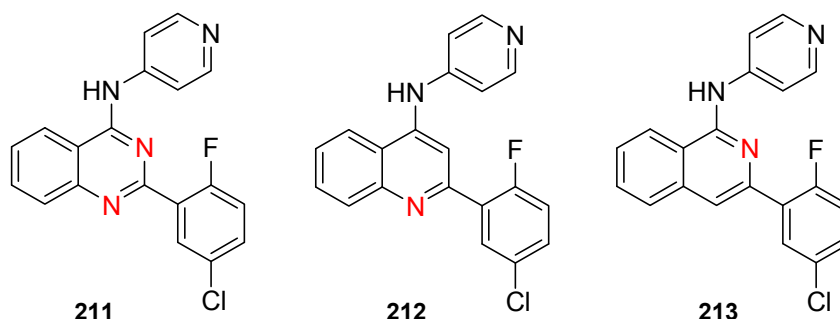


Abbildung 67: Interessante Analoga des SD-208.

Synthesen

Das Grundgerüst des Chinazolinderivats **211** wurde durch *N*-Acylierung des 2-Aminobenzonitrils **214** mit 5-Chlor-2-fluorbenzoesäurechlorid **215** und folgender Radziszewski-Reaktion mit spontan erfolgendem anschließenden Ringschluss dargestellt. Mittels Chlorierung von **217** mit Phosphorylchlorid und anschließender Umsetzung von **218** im Basischen mit 4-Aminopyridin wurde Verbindung **211** erhalten.

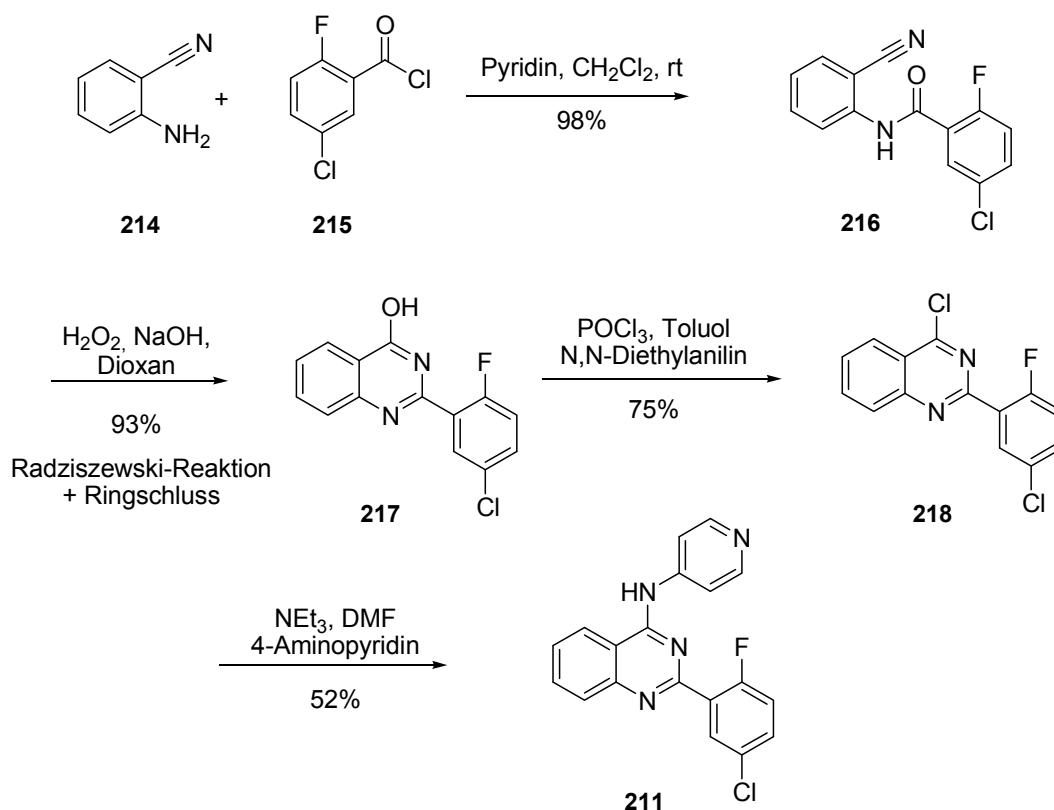
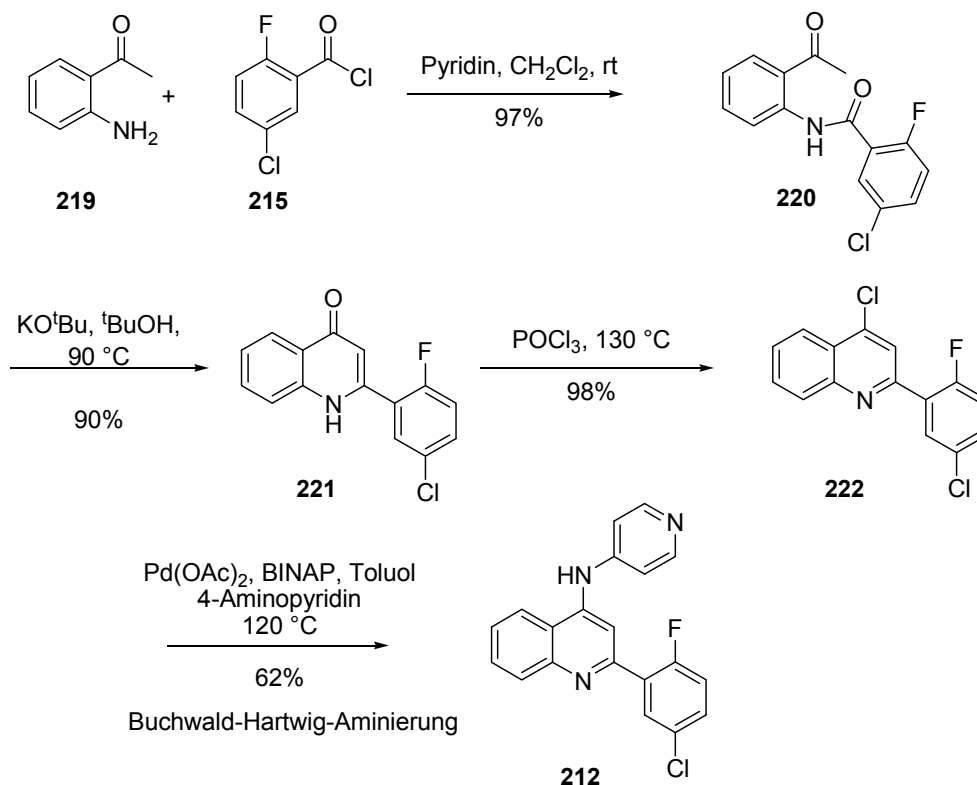


Abbildung 68: Synthese des Chinazolinderivats **211**.

Das Chinolinderivat **212** wurde ebenfalls durch *N*-Acylierung mit 5-Chlor-2-fluorbenzoesäurechlorid **215** dargestellt, als zweites Edukt wurde hier 2-Aminoacetophenon **219** verwendet. Nach Enolisierung von **220** erfolgte der Ringschluss zum Chinolinon **221**, das wiederum durch Chlorierung und Buchwald-Hartwig-Aminierung zur Verbindung **212** umgesetzt wurde.

Die Synthese des Isochinolins **213** ist bisher leider noch nicht abgeschlossen.

Abbildung 69: Synthese des Chinolinderivats **212**.

Ergebnisse der Rezeptortests

Die beiden Endverbindungen **211** und **212** sowie ihre Vorstufen wurden auf ihre inhibitorische Aktivität getestet. Wie vorausgesagt, zeigten nur die Endverbindungen, die bereits den 4-Aminopyridinsubstituenten enthielten, Aktivität gegenüber der Proteinkinase T β RI. In Tabelle 17 sind die IC₅₀-Werte der dargestellten Verbindungen und des Ausgangsmoleküls SD-208 aufgelistet.

Tabelle 17: Ergebnisse der biologischen Tests der Analoga von SD-208.

| Verbindung | IC ₅₀ [nM] |
|-----------------------|-----------------------|
| SD-208 | 26 |
| Chinazolin 211 | 72 |
| Chinolin 212 | 12 |

Das Chinolinderivat **212** erwies sich mit einem IC₅₀-Wert von 12 nM als bester Inhibitor, besser sogar als das Ausgangsmolekül SD-208 mit einem IC₅₀-Wert von 26 nM. Allerdings sind IC₅₀-Werte meist mit einem großen Fehler behaftet, so dass man bei Unterschieden von

Faktor 2 noch von vergleichbarer Aktivität sprechen sollte. Das Chinazolin **211** zeigte ebenfalls Aktivität, mit einem IC_{50} -Wert von 72 nM jedoch eine um den Faktor 3 schlechtere als das Ausgangsmolekül SD-208.

Die erhaltenen Ergebnisse untermauern die vorher gemachte Annahme, dass das N1-Stickstoffatom die für die Bindung maßgebliche Wechselwirkung eingeht. Die höhere Aktivität des Chinolins **212**, verglichen mit der des Pteridins SD-208 und des Chinazolins **211**, die beide ebenfalls ein Stickstoffatom in 3-Position des Grundkörpers besitzen, ist an Hand dieser wenigen Daten schwer zu erklären. Das Chinolin **212** ist elektronenreicher als das Chinazolin **211**, die Wasserstoffbrücke könnte dadurch stabiler sein. Diese Erklärung steht allerdings im Widerspruch zur Beobachtung, dass das elektronenärmere Pteridin SD-208 aktiver ist als das Chinazolin **211** und dürfte daher nicht zutreffen. Um eine wissenschaftlich fundierte Aussage zu machen, sind daher unbedingt zusätzliche Daten erforderlich.^h

Ausblick

Interessante Erkenntnisse sind aus den biologischen Testdaten von Verbindungen zu erwarten, die elektronenärmer bzw. elektronenreicher sind und sich trotzdem im sterischen Anspruch nicht stark von Verbindung **211** und **212** unterscheiden. Sehr interessante Verbindungen wären hier die fluorsubstituierten Chinoline wie z. B. **223** oder **225** und das Isochinolin **224**, da Fluor- und Wasserstoffatome vergleichbare Atomradien haben (F: 1,2 Å, H: 1,35 Å)¹¹⁶, das zusätzliche Fluoratom sollte jedoch die Elektronendichte an Stickstoffatom erniedrigen. Des Weiteren werden die Testergebnisse des Isochinolins **213** genauere Aussagen über die Rolle der beiden Stickstoffatome im Chinazolin zulassen. Die aufgestellte These der bedeutenden Rolle des N1-Stickstoffatoms im Chinazolin wird nur haltbar sein, wenn das Isochinolin **213** einen deutlich höheren IC_{50} -Wert als das Chinazolin **211** und das Chinolin **212** aufweist.

^h D. David verfolgt dieses Thema in ihrer Dissertation an der Universität Konstanz weiter.

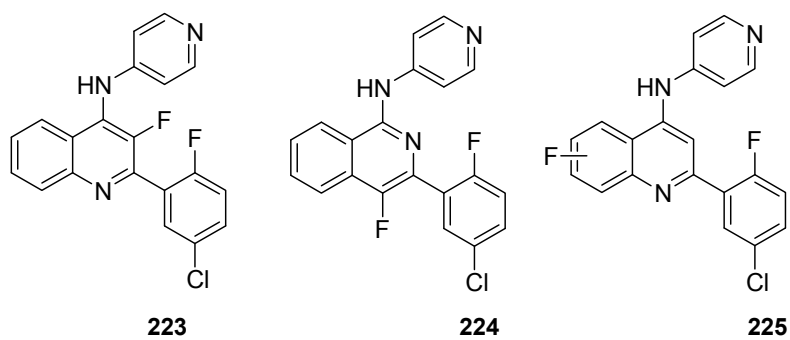


Abbildung 70: Interessante Varianten des SD-208.

4.9 Fazit

Bis auf das Chinazolin **211** und das Chinolin **212** zeigte keine der dargestellten Verbindungen inhibitorische Aktivität gegenüber den Kinasen der Testplattform.

Die beiden Verbindungen **211** und **212** unterscheiden sich nur minimal vom Ausgangsmolekül SD-208. Die Geometrie des Grundkörpers sowie die Substituenten wurden nicht verändert. Auch die Stickstoffatome, die nach den Ergebnissen der *docking* Studien für die Wasserstoffbrücken verantwortlich sind, blieben erhalten. Bereits die Vorstufen von **211** und **212**, denen nur der Aminopyridin-Substituent fehlt, zeigten keinerlei Aktivität mehr.

Dies zeigt, dass die Inhibitoren optimal in die Bindungstasche des T β RI passen müssen, um mit ausreichender Stärke zu binden und somit die Aktivität des Rezeptors zu inhibieren. Schon der Wegfall einer Wasserstoffbrücke wie z. B. der vom Aminopyridin gebildeten, führt zum kompletten Aktivitätsverlust.

In den Teilprojekten der offenkettigen Amide, der Benzimidazole, der Lactone sowie der Lactame wurden die Ausgangsmoleküle viel stärker verändert als im Projekt der Varianten von SD-208. Im erstgenannten wurde z. B. durch die Ringöffnung die Flexibilität der Moleküle deutlich erhöht. Im Teilprojekt der Benzimidazole wurde das aromatische Grundgerüst drastisch vergrößert. Bei den Lactonen und Lactamen sollten die Carboxylgruppen die Bindungen übernehmen, die vorher von Stickstoffatomen gebildet wurden. Die durch diese Veränderungen entstandenen Moleküle weisen sterische und elektronische Verhältnisse auf, die sich deutlich vom Ausgangsmolekül unterscheiden.

In den Teilprojekten der verlängerten offenkettigen Amidien und der Imidazole wurden *molecular modelling* Studien durchgeführt, die zeigten, dass die Moleküle alle notwendigen Bindungen eingehen könnten. Dass trotzdem keines der Moleküle inhibitorische Aktivität zeigt, weist darauf hin, dass die Bindungsvorgänge am Rezeptor viel komplexer sind als man auf den ersten Blick annehmen könnte.

Aktive Moleküle lassen sich außerhalb der patentierten Literatur nur schwer finden.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Ableitung und Synthese neuer potentieller Inhibitoren für transmembranständige Proteinkinasen, besonders des TGF β Rezeptor Typ I (T β RI). Dabei sollten durch Darstellung kleinster Molekülbibliotheken und deren *in vitro* Testung neue Daten für die SAR-Studien erhalten werden. Die Arbeit lässt sich in drei Teilaufgaben gliedern.

5.1 Sichtung der Literatur und Ableitung neuer potentieller Inhibitorklassen

Die meisten Inhibitoren des T β RI weisen strukturelle Ähnlichkeiten auf. Als wichtigste Voraussetzungen für die Bindung wurden folgende Merkmale der Inhibitoren identifiziert:

- Ein Grundkörper mit je einem H-Brückenakzeptor und –donor benachbart zueinander
- Zwei Substituenten ohne sterisch stark anspruchsvolle Gruppen am Grundkörper, darunter:
 1. ein in 2-Position stickstoffhaltiger Heterozyklus neben dem Donor- und Akzeptorpaar
 2. ein H-Brückenakzeptor im zweiten aromatischen Substituenten, möglichst in para-Stellung zum C-Atom, das mit dem Grundkörper verknüpft ist.

Die Grundkörper waren in den meisten bekannten potenten Inhibitoren Fünfringheterozyklen mit zwei Stickstoffatomen.

Als geeignete Substituenten wurden Pyridine, Chinoline und Fluoraromaten identifiziert.

Nach Sichtung der relevanten Literatur und der Patente wurden **vier Verbindungsklassen** ausgewählt, zu denen noch keine T β RI-Inhibitoren bekannt sind.

Die **offenkettigen Amide** wurden durch Öffnen der Ringstruktur des Grundkörpers der bekannten potenten Inhibitoren abgeleitet.

Mit der Klasse der **Benzimidazole** sollte überprüft werden, ob die inhibitorische Aktivität des Inhibitors nach Einschub eines Benzolrings in das Grundgerüst erhalten bleibt.

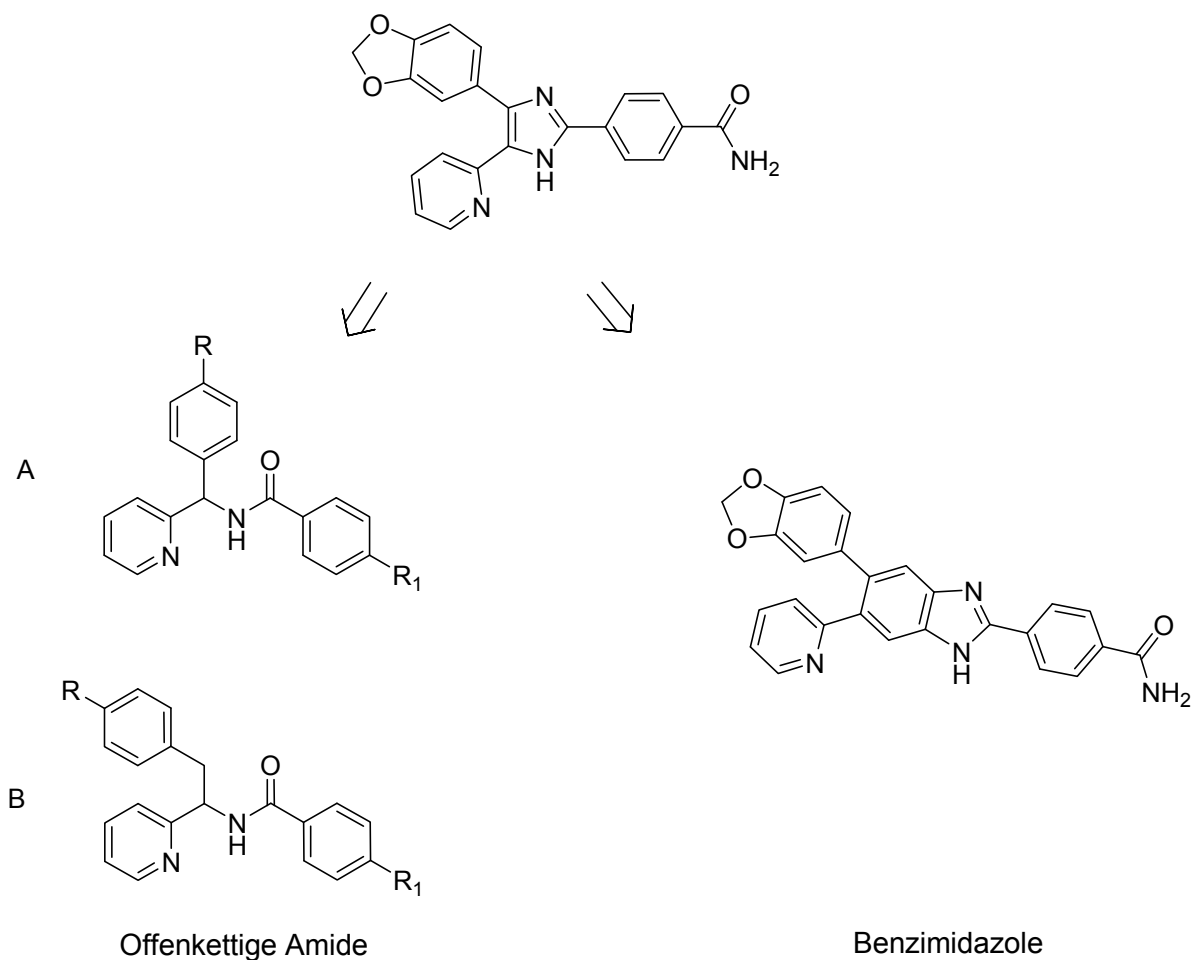


Abbildung 71: Ableitung der Verbindungsklassen der offenkettigen Amide und der Benzimidazole aus einem bekannten und potenten Inhibitor.

Die **γ -Lactone** und **γ -Lactame** wurden aus den bekannten Inhibitoren mit Pyrazol-Grundkörper abgeleitet. Es sollte überprüft werden, ob die Ester- bzw. Amidgruppe die Wechselwirkungen der beiden Stickstoffatome im Pyrazol ebenfalls ausbilden kann.

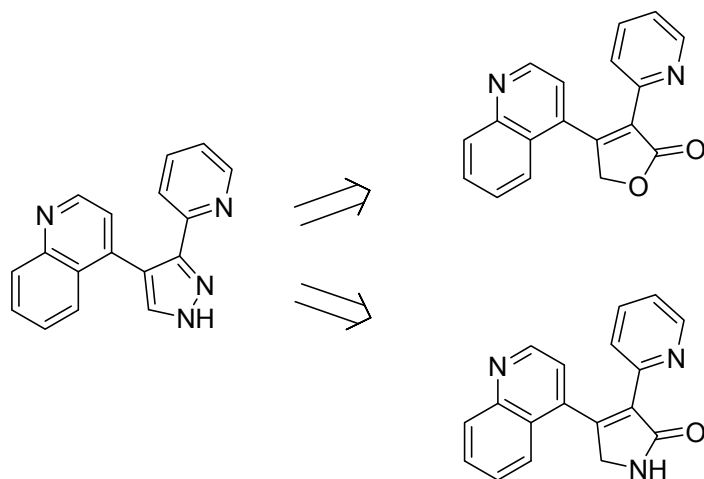


Abbildung 72: Ableitung der Verbindungsklassen der Lactone und Lactame.

5.2 Synthesen

Aus den entsprechenden Säurechloriden und Aminen wurden 14 **offenkettige Amide** der Struktur A und neun der Struktur B (siehe Abbildung 71) dargestellt. Die für die Synthese der Amide benötigten Amine der Struktur B wurden ebenfalls synthetisiert.

Die **Benzimidazole** wurden über zwei aufeinander folgende Suzukikupplungen am 1,2-Dibrom-4,5-dinitrobenzol, anschließende Reduktion der Nitrogruppen und Ringschluss mit einem Aldehyd dargestellt. Es wurden zwei Benzimidazole synthetisiert und zum Test angegeben.

Das Teilprojekt der **γ -Lactone** war das umfangreichste dieser Arbeit. Über den Syntheseweg zweier aufeinander folgender Suzuki-Kupplungen am 3,4-Dichlorfuran-2(5H)on wurden zehn Lactone dargestellt, drei weitere wurden auf dem klassischen Weg aus Phenacylbromiden und Phenylelessigsäuren erhalten. Durch Spaltung der Methylester dreier Lactone wurden drei weitere Lactone dargestellt. Über eine Hydrierungsreaktion wurden drei Lactone in die gesättigten Analoga überführt.

Durch Umwandlung eines γ -Lactons mit Methylamin wurde ein **γ -Lactam** dargestellt.

5.3.1 Ableitung weiterer Verbindungen

Im Kinase-Inhibitionstest erwiesen sich leider alle dargestellten Verbindungen der vier ersten Verbindungsklassen als inaktiv.

In Zusammenarbeit mit Dr. Ulrich Grädler von der Firma Merck KGaA wurden mittels *molecular modelling* und *docking* Studien **zwei weitere Verbindungsklassen** als viel versprechend identifiziert. Hierbei handelte es sich um die folgenden Projekte:

Die **verlängerten offenkettigen Amide** wurden aus den Verbindungen des Projekts offenkettige Amide abgeleitet. In den *molecular modelling* Studien zeigte sich, dass der Abstand zwischen den aromatischen Substituenten und dem Amid um eine Methylengruppe grösser sein sollte, damit die für die Bindung an den Rezeptor benötigten Wechselwirkungen eingegangen werden können (siehe Abbildung 27 und Abbildung 53).

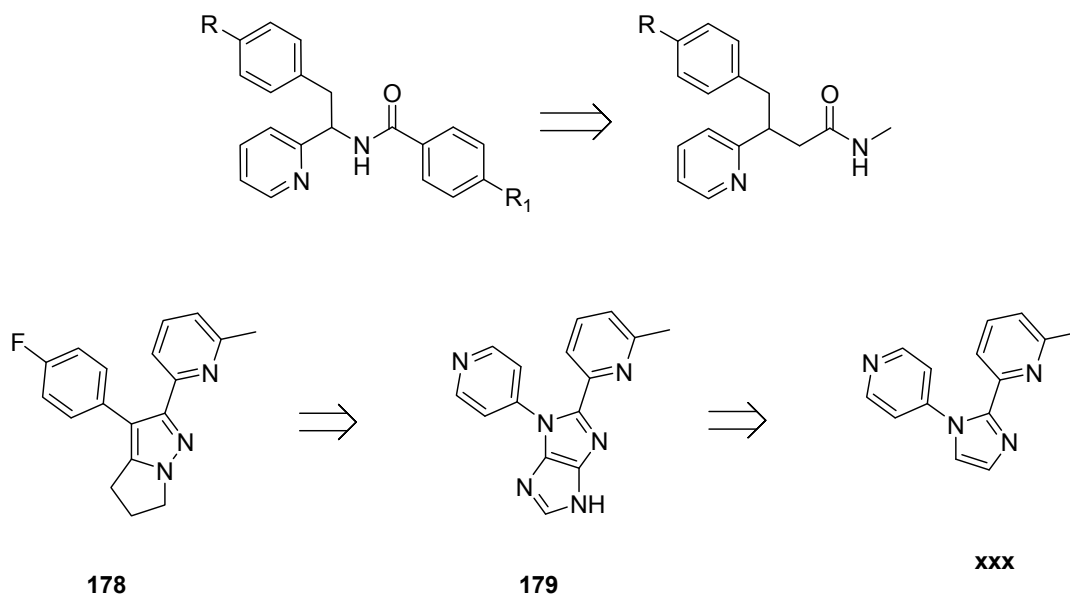


Abbildung 73: Ableitung der Verbindungsklassen der verlängerten offenkettigen Amide und der Imidazole.

Die **Imidazole** wurden aus dem bekannten Inhibitor **178** abgeleitet. *Docking* Studien ergaben, dass das Molekül **179** denselben Raum wie **178** besetzen kann. Um schneller erste Testdaten zu erhalten, wurde das Molekül zum Imidazol-Derivat vereinfacht.

In einem weiteren Projekt wurden **Varianten des bekannten Inhibitors SD-208** dargestellt. Das Pteridingerüst wurde vereinfacht, um die für die Rezeptorbindung verantwortlichen Stickstoffatome zu identifizieren.

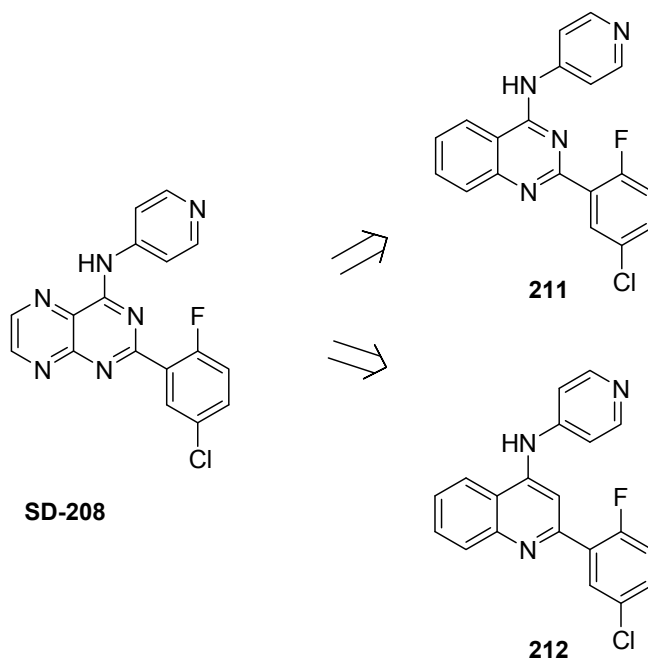


Abbildung 74: Ableitung der Varianten von SD-208

5.3.2 Synthesen und Ergebnisse der Rezeptortests

Die **verlängerten offenkettigen Amide** wurden in einer dreistufigen Synthese aus Wittig-Reaktion, Michael-Addition eines Lithiumorganyls und Umwandlung des Methylesters in das Methylamid dargestellt. Es wurden 4 Ester und 3 Amide dargestellt.

Die **Imidazole** wurden aus den entsprechenden Aldehyden mit Glyoxal und Ammoniak-Lösung und anschließender Ullmann-Kupplung des zweiten Aromaten dargestellt. Auf diese Weise wurden neun Imidazole synthetisiert.

Die synthetischen Arbeiten zum Teilprojekt „**Varianten des bekannten Inhibitors SD-208**“ wurden von D. David im Rahmen ihrer Diplomarbeit durchgeführt.

Die dargestellten verlängerten offenkettigen Amide und die Imidazole zeigten keine biologische Aktivität.

Die aus SD-208 abgeleiteten Verbindungen **211** und **212** inhibierten T β RI mit einem IC₅₀-Wert von 72 nM bzw. 12 nM. Die Aktivität von Molekül **212** ist damit mit der des Ausgangsmoleküls vergleichbar (26 nM). Als relevantes Stickstoffatom wurde das N1-Atom identifiziert.

Als kurzes Fazit lässt sich sagen, dass sich ausserhalb der patentierten Literatur nur schwer Moleküle finden lassen, die inhibitorische Aktivität gegenüber T β RI aufweisen.

6. Experimentalteil

6.1 Allgemeines

Durchführung der Experimente

Sämtliche luft- und feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss an einer Schutzgas-Feinvakuumlinae unter Stickstoffatmosphäre mittels Standard-Schlenktechnik durchgeführt. Empfindliche Katalysatoren und Reagenzien wurden in einer *Glove-Box* (Labmaster 130 von MBRAUN) aufbewahrt und eingewogen. Die verwendeten Lösungsmittel wurden bei Bedarf nach den gängigen Methoden getrocknet¹¹⁷ und unter einer Stickstoffatmosphäre destilliert. Wenn nicht anders angegeben, wurden die kommerziell erworbenen Substanzen nicht gereinigt.

Experimente am Mikrowellensynthesizer

Für die Experimente, die unter Mikrowellenbestrahlung durchgeführt wurden, konnte ein SmithSynthesizerTM der Firma Personal Chemistry, jetzt Biotage, verwendet werden. Es standen zwei verschiedene Reaktionsgefäße (Vials) zur Verfügung, mit denen Ansatzgrößen von 0,5 – 10 mL möglich waren. Die Vials wurden mit Aluminium-Septum-Kronendeckeln verschlossen, so dass Reaktionen mit einem Überdruck von bis zu 20 bar durchgeführt werden konnten. Die Mikrowellenleistung wurde durch Kontrolle der Temperatur mittels eines IR-Sensors automatisch entsprechend der gewählten Temperatur im Bereich von 0 und 300 Watt geregelt.

Präparative HPLC

Für die präparative HPLC wurde eine Säule der Firma Machery-Nagel (VP 250/21 Nucleosil[®] 100-7 C18, Katalog-Nr. 715652) oder eine Crom-Sil 120 ODS-4 HE (10 µm, 250 x 40 mm, Serial No 20129971) verwendet.

Flash-Chromatographie

Die säulenchromatographische Reinigung wurde mit MN Kieselgel 60 M (Korngröße 40 - 63 µm, 230 - 400 mesh ASTM, Macherey-Nagel, Düren) bei einem Überdruck von 0,15 - 0,3 bar durchgeführt. Die Lösungsmittel wurden über KOH oder CaCl₂ vorgetrocknet und destilliert.

Dünnschichtchromatographie

Die Bestimmung der R_f -Werte wurde auf DC-Fertigfolien Polygram Sil G/UV₂₅₄ (0,2 mm Kieselgel) der Firma Macherey-Nagel durchgeführt. Zur Detektion wurde eine UV-Lampe (254 nm und 366 nm), Phosphormolybdänsäurepentahydrat (5 g in 100 ml Ethanol), 5%ige ethanolische Schwefelsäure oder I₂/Kieselgel verwendet.

Kernresonanzspektroskopie

Die ¹H- und ¹³C-Spektren wurden an einem JNM-LA-400 der Firma JEOL (¹H: 400 MHz, ¹³C: 100,6 MHz) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind auf zugesetztes Tetramethylsilan (0,00 ppm) oder auf die Signale der unvollständig deuterierten Lösungsmittel geeicht und beziehen sich auf die δ -Skala.

Folgende Abkürzungen wurden für die Angabe der Multiplizität der Signale verwendet:

| | | | |
|----|----------------|----|----------------|
| s | Singulett | m | Multipllett |
| d | Dublett | dd | Doppeldublett |
| t | Triplet | dt | Doppeltriplett |
| q | Quartett | sp | Septett |
| br | breites Signal | | |

Massenspektroskopie

Die Massenspektren wurden, soweit möglich, auf einer GC/MS-Kombination eines *Hewlett Packard HP 6890 Series GC System* mit daran angeschlossenen *Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector* (electron impact-Ionisierung mit 70 eV) aufgenommen.

Die MALDI-TOF-Massenspektren wurden von Dominik Gauss und Michael Burgert an einem Bruker Biflex III Spektrometer aufgenommen. Als Ionisationsquelle diente ein gepulster Stickstofflaser (337 nm). Die verwendete Matrix ist jeweils angegeben.

Gaschromatographie

Die angegebenen Retentionszeiten wurden auf einer GC/MS-Kombination eines *Hewlett Packard HP 6890 Series GC System* mit daran angeschlossenen *Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector* (electron impact-Ionisierung mit 70 eV) ermittelt. Es wurde eine Säule Zebron ZB5 der Firma Phenomenex (Länge 30,0 m, Durchmesser 250 μ m, Schichtdicke 0,25 μ m, Beschichtungsmaterial 5% Phenyl-95%-methylpolysiloxan) mit 10 m

unbeschichteter Vorsäule verwendet. Als Trägergas wurde Helium verwendet, es wurde mit konstantem Fluss (3 mL/min) im *split mode* (6,7:1; *split flow* 20,0 mL/min) gemessen. Weitere technische Daten: *Front Inlet Pressure* 1,65 bar, *Front Inlet Temperature* 250 °C, MS Quad 150 °C, MS Source 230 °C, *Total flow* 24,9 mL/min.

Folgende Temperaturgradienten wurden angewandt:

Methode 1: 1 min 50 °C, dann $\Delta t = 50$ °/min bis 280 °C, 5 min 280 °C.

Methode 2: 50 °C 1 min, dann $\Delta t = 50$ °/min bis 280 °C, 10 min 280 °C.

Methode 3: 1 min 50 °C, dann $\Delta t = 30$ °C/min bis 280 °C, 4 min 280 °C.

6.2 Biologische Tests

Die biologischen Tests wurden von der Firma Merck KGaA durchgeführt.

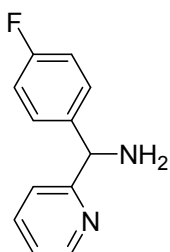
Sie werden ähnlich den von Peng *et al.*¹¹⁸ beschriebenen *Filter-Bindung Assays* gehandhabt. Allerdings wird an Stelle des kurzen, synthetischen Phospho-Smad-Peptids (pKSmad3(-3)), das gesamte Smad2 als zu phosphorylierendes Substrat verwendet.

Die Tests werden in 96-well Microtiter Platten durchgeführt. Eine Mischung aus ATP, Smad2, T β RI und den Inhibitoren in einem Puffer wurden bei pH 7,5 und 30 °C inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0,5%iger Phosphorsäure beendet. Die Reaktionsmischung wurde dann in 96-well *MultiScreen* MAPH Filterplatten übertragen, die vorher mit 0,5%iger Phosphorsäure äquilibriert wurden und bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit 0,5%iger Phosphorsäure wurde die Reaktionslösung auf *MultiScreen* Adaptor Platten überführt und mit Microscint 20 versetzt. Die Radioaktivität wurde mit Hilfe eines *Microplate Scintillation Counters* bestimmt.

In einer Kontrollprobe wird ohne Zugabe des Inhibitors die maximale Szintillation bestimmt. Inhibieren die Verbindungen das Enzym, so nimmt die Szintillation ab. Die Testergebnisse werden in % der maximalen Szintillation angegeben. Die Testung der Verbindungen wird normalerweise mit 10 μ M Lösungen des Inhibitors durchgeführt. Zeigt eine Verbindung inhibitorische Eigenschaften, wird der Test bei unterschiedlichen Konzentrationen des Inhibitors von hoch-mikromolar bis sub-nanomolar wiederholt. Wird die Szintillation gegen die Inhibitorkonzentration aufgetragen, kann der IC₅₀-Wert bestimmt werden. Dieser ist als die Konzentration des Inhibitors bestimmt, bei der genau 50% der Szintillation der Kontrollprobe messbar sind.

6.3 Synthesen der offenkettigen Amide

(4-Fluorphenyl)(pyridin-2-yl)methanamin



$C_{12}H_{11}FN_2$
MW: 202,23 g/mol

In einem Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter wurden aus 2,2 g (92 mmol) Magnesiumspänen und 17,4 g (100 mmol) 1-Brom-4-fluorbenzol in ca. 100 mL abs. Diethylether das Grignard-Reagenz dargestellt. Zum erkalteten Reagenz wurde eine Lösung aus 10,5 g (92 mmol) 2-Cyanopyridin in 20 mL Diethylether getropft und 3h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde weitgehend im Vakuum entfernt und der Rückstand ca. 30 mL 2 N HCl versetzt und 20 min gerührt. Mit 2 M Natronlauge wurde neutralisiert und anschließend mehrfach mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phasen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt. Der Feststoff (10,2 g, 50,8 mmol, 55%) war für die weitere Umsetzung ausreichend rein.

5,11 g (25,4 mmol) des ungereinigten Ketons und 2 eq Hydroxylamin Hydrochlorid wurden in 25 mL Pyridin gelöst und vier Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die warme Reaktionslösung wurde unter Rühren in 200 mL Wasser gegossen. Nach Erkalten und 30 min stehen im Kühlschrank wurden die ausgefallenen Kristalle abgesaugt und über Nacht an Luft und anschließend im Vakuum getrocknet. Die Reinheit des Oxims war für die weitere Umsetzung ausreichend.

Das Oxim wurde in 175 mL einer Mischung aus 25%iger Ammoniak-Lösung, Wasser und Ethanol (3:2:2) gelöst und mit 1,93 g (25 mmol) Ammoniumacetat versetzt. Die Mischung wurde auf 100 °C erhitzt und es wurde portionsweise Zinkstaub (100 mmol, 4 eq) zugegeben. Dann wurde eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung über eine Kieselgurschicht abfiltriert und der Rückstand dreimal mit Ethanol gewaschen. Im Vakuum wurde das Ethanol entfernt. Die Restlösung wurde mit 2 M Natronlauge basisch gestellt und mehrfach mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel

entfernt. Es blieben 4,05 g (18,7 mmol, 74%) einer gelben Flüssigkeit zurück, die rein genug für die weitere Umsetzung war.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 2.13 (s, 2H, NH₂), 5.15 (s, 1H, CH), 6.92 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.07 (m, 1H, C5-H), 7.17 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C3-H), 7.30 (m, 2H, C2'-H, C6'-H), 7.53 (td, J₁ = 1.5 Hz, J₂ = 7.7 Hz, 1H, C4-H), 8.49 (d, J = 4.6 Hz, 1H, C6-H).

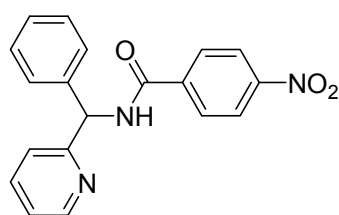
¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 60.2 (CH), 115.4, 115.6 (C3', C5'), 121.7 (C5), 122.3 (C3), 128.9 (C2', C6'), 139.0 (C4), 140.7 (C1'), 149.6 (C6), 161.2 (C2), 163.7 (C4').

Synthese der Amide 34 - 47

Allgemeine Arbeitsvorschrift

Äquimolare Mengen des Amins und des Triethylamins wurden in Diethylether vorgelegt. Die äquimolare Menge des Säurechlorids in Diethylether wurde langsam zugetropft. Nach 1h rühren bei Raumtemperatur wurde ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde noch zweimal mit Diethylether extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Die Rohprodukte wurden so oft aus Aceton umkristallisiert bis sie im GC-Spektrum eine Reinheit von >98% aufwiesen.

4-Nitro-*N*-(phenyl(pyridin-2-yl)methyl)benzamid 34



C₁₉H₁₅N₃O₃
MW: 333,34 g/mol

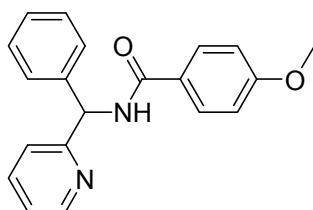
R_t (Methode 2): 12,53 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 6.21 (d, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 7.16 – 7.26 (m, 6H, Ph-H, C5'-H), 7.34 (d, J = 7.4 Hz, 1H, C3'-H), 7.60 (dt, J₁ = 6.2 Hz, J₂ = 7.8 Hz, 1H, C4'-H), 7.99 (d, J = 8.6 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.22 (d, J = 8.6 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 8.54 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6''-H), 8.68 (d, J = 6.2 Hz, 1H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 57.8 (C1), 122.9 (C4''), 123.1 (C3''', C5'''), 127.6 (C4'), 128.0 (C3', C5'), 128.5 (C2''', C6'''), 128.9 (C2', C6'), 137.4 (C3''), 140.1 (C1'''), 141.7 (C1'), 148.8 (C2''), 149.7 (C4'''), 158.1 (C2''), 164.4 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 333 (11%, [M]⁺), 241 (5%), 240 (17%), 184 (17%), 183 (100%, [M-OCPHNO₂]⁺), 168 (13%), 167 (52%, [M-NO₂PhCONH]⁺), 150 (26%), 105 (9%), 104 (20%), 92 (8%), 79 (5%), 78 (7%), 76 (13%).

4-Methoxy-N-(phenyl(pyridin-2-yl)methyl)benzamid 35



C₂₀H₁₈N₂O₂
MW: 318,37 g/mol

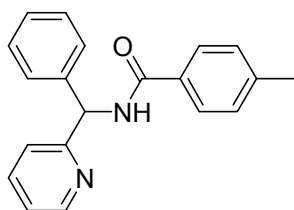
R_t (Methode 1): 9,25 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.73 (s, 3H, OCH₃), 6.24 (d, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 6.86 (m, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.14, 7.21 (2 m, 6H, Ph, C5'-H), 7.33 (d, J = 7.4 Hz, 1H, C3''-H), 7.81 (m, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.31 (d, J = 6.2 Hz, 1H, NH), 8.52 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 55.7 (OCH₃), 57.6 (C1), 113.8 (C3''', C5'''), 122.5 (C5''), 123.0 (C3''), 126.7 (C1'''), 127.4 (C2', C6'), 129.0 (C3', C5'), 142.3 (C1'), 148.8 (C6''), 158.8 (C2''), 166.2 (C4'''), 166.0 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 318 (11%, [M]⁺), 225 (14%), 223 (5%), 184 (14%), 183 (100%, [M-OCPHOMe]⁺), 168 (7%), 167 (26%, [M-MeOPhCONH]⁺), 136 (3%), 135 (38%), 107 (4%), 105 (4%), 92 (6%), 78 (3%), 77 (10%).

4-Methyl-N-(phenyl(pyridin-2-yl)methyl)benzamid 36



C₂₀H₁₈N₂O
MW: 302,37 g/mol

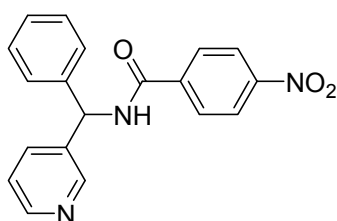
R_t (Methode 1): 8,38 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 2.30 (s, 3H, CH₃), 6.24 (d, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 7.17 (m, 6H, Ph, C5'-H), 7.32 (d, J = 8.2 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.53 (m, 1H, C3''-H), 7.72 (d, J = 7.0 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.36 (d, J = 6.6 Hz, 1H, C4''-H), 8.51 (t, J = 2.5 Hz, 1H, C6''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 21.4 (CH₃), 57.5 (C1), 122.4 (C5''), 122.9 (C3''), 127.1 (C2', C6'), 127.4 (C2''', C5'''), 128.6 (C3', C5'), 129.1 (C3', C5'), 131.5 (C4''), 141.8 (C4'''), 142.1 (C1'), 148.8 (C6''), 158.7 (C2''), 166.2 (CO).

MS (GC-MS): *m/z* = 302 (10%, [M]⁺), 209 (20%), 207 (7%), 184 (14%), 183 (100%, [M-OCPHMe]⁺), 168 (9%), 167 (36%, [M-MePhCONH]⁺), 119 (35%), 105 (6%), 91 (22%), 65 (7%).

4-Nitro-*N*-(phenyl(pyridin-3-yl)methyl)benzamid 37



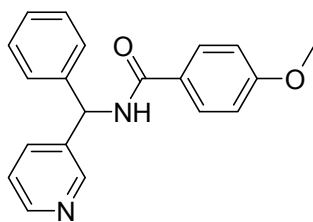
C₁₉H₁₅N₃O₃
MW: 333,34 g/mol

R_t (Methode 2): 11,84 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 6.41 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CH), 7.23 (m, 3H, C2'-H, C4'-H, C6'-H), 7.35 (m, 3H, C3'-H, C5'-H, C5''-H), 7.56 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C4''-H), 7.94 (d, J = 8.6 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.19 (d, J = 8.6 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 8.41 (d, J = 4.3 Hz, 1H, C6''-H), 8.46 (s, 1H, C2''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 56.3 (C1), 124.1 (C3''', C5'''), 128.0 (C5''), 128.9 (C2', C6'), 129.6 (C3', C5'), 135.8 (C3''), 137.0 (C4''), 139.7 (C1'''), 140.0 (C1'), 149.2 (C6''), 149.2 (C2''), 150.1 (C4'''), 165.3 (CO).

MS (GC-MS): *m/z* = 334 (20%), 333 (100%, [M]⁺), 332 (7%), 255 (5%), 184 (12%), 183 (77%, [M-OCPHNO₂]⁺), 181 (5%), 168 (18%), 167 (39%, [M-NO₂PhCONH]⁺), 166 (16%), 151 (6%), 150 (52%), 140 (6%), 139 (12%), 120 (9%), 105 (17%), 104 (32%), 92 (10%), 79 (5%), 78 (5%), 77 (8%), 76 (14%).

4-Methoxy-N-(phenyl(pyridin-3-yl)methyl)benzamid 38

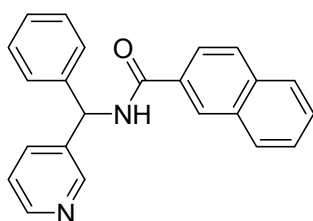
$C_{20}H_{18}N_2O_2$
MW: 318,37 g/mol

R_t (Methode 2): 12,12 min.

1H -NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.74 (s, 3H, OCH₃), 6.34 (d, J = 7.0 Hz, 1H, CH), 6.78 (m, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 6.97 (t, J = 7.0 Hz, 1H, C4'-H), 7.08 – 7.27 (2m, 5H, C2'-H, C3'-H, C5'-H, C6'-H, C5''-H), 7.47 (dd, J₁ = 5.9 Hz, J₂ = 6.6 Hz, 1H, C4''-H), 7.68 (m, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.53 (t, J = 4.7 Hz, 1H, C6''-H), 8.42 (d, J = 3.9 Hz, 1H, C2''-H).

^{13}C -NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 55.4 (CH₃), 55.5 (C1), 113.8 (C3''', C5'''), 123.5 (C5''), 126.1 (C1'''), 127.7 (C2', C6'), 128.0 (C4'), 129.0 (C3', C5'), 135.2 (C3''), 137.2 (C4''), 140.5 (C1'), 148.6 (C6''), 149.0 (C2''), 162.4 (C4'''), 168.3 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 319 (8%), 318 (40%, [M]⁺), 301 (4%), 207 (8%), 184 (3%), 183 (32%, [M-MeOPhCONH]⁺), 168 (5%), 167 (8%, [M-MeOPhCONH]⁺), 166 (6%), 136 (12%), 135 (100%), 107 (6%), 105 (4%), 92 (6%), 78 (3%), 77 (15%).

N-(Phenyl(pyridin-3-yl)methyl)-2-naphthamid 39

$C_{23}H_{18}N_2O$
MW: 338,4 g/mol

R_t (Methode 2): 9,98 min.

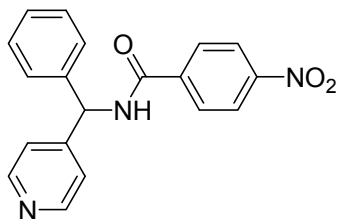
1H -NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 6.45 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CH), 6.93 (d, J = 7.4 Hz, 1H, C4'-H), 7.18 – 7.33 (m, 6H, C2'-H, C3'-H, C5'-H, C6'-H, C6'''-H, C7'''-H), 7.49 (m, 2H, C5'''-H, C8'''-H), 7.56 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C5''-H), 7.79 (m, 3H, C3'''-H, C4'''-H, C4''-H), 8.25 (s, 1H, C1'''-H), 8.45 (s, 1H, C6''-H), 8.56 (s, 1H, C2''-H).

^{13}C -NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 56.2 (C1), 124.1 (C5''), 127.4 (C3'''), 128.2 (C4'), 128.3 (C7'''), 128.4 (C2', C6'), 128.6 (C5'), 129.1 (C4'''), 129.4 (C3', C5'), 129.6 (C8'''), 131.5

(C9b'''), 133.0 (C2'''), 135.4 (C4''), 135.6 (C9a'''), 140.8 (C1'), 149.3 (C6''), 149.5 (C2''), 167.3 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 339 (28%), 338 (76%, [M]⁺), 321 (9%), 207 (6%), 184 (8%), 183 (41%, [M-OCNaphthyl]⁺), 168 (7%), 167 (17%, [M-NaphthylCONH]⁺), 166 (8%), 156 (34%), 155 (100%), 154 (6%), 140 (5%), 128 (14%), 127 (82%), 126 (6%), 77 (7%).

4-Nitro-*N*-(phenyl(pyridin-4-yl)methyl)benzamid 40



$C_{19}H_{15}N_3O_3$
MW: 333,34 g/mol

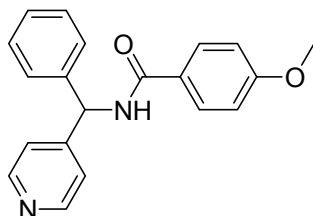
R_t (Methode 2): 8,56 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 6.33 (d, J = 7.5 Hz, 1H, CH), 6.78 (d, J = 7.1 Hz, 1H, NH), 7.20 (m, 5H, Ph), 7.32 (m, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.93 (dd, J₁ = 2.0 Hz, J₂ = 7.1 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.23 (d, J = 8.6 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 8.51 (d, J = 5.5 Hz, 2H, C2''-H, C6''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 55.8 (CH), 122.1 (C3''', C5'''), 122.6 (C3'', C5''), 127.2 (C4'), 127.6 (C2', C6'), 128.0 (C2''', C6'''), 128.6 (C3', C5'), 139.0 (C1'''), 139.2 (C1'), 148.7 (C4''), 149.0 (C2'', C6''), 149.9 (C4'''), 159.7 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 302 (9%), 284 (9%), 209 (21%), 207 (7%), 184 (15%), 183 (100%, [M-OCPhNO₂]⁺), 168 (12%), 167 (40%, [M-NO₂PhCONH]⁺), 166 (6%), 119 (38%), 105 (7%), 91 (24%), 78 (5%), 65 (7%).

4-Methoxy-*N*-(phenyl(pyridin-4-yl)methyl)benzamid 41



$C_{20}H_{18}N_2O_2$
MW: 318,37 g/mol

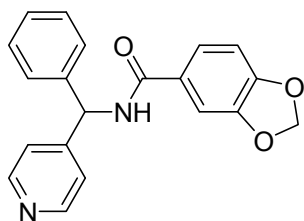
R_t (Methode 1): 10,23 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.78 (s, 3H, OCH₃), 6.30 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CH), 6.63 (d, J = 7.0 Hz, 1H, C4'-H), 6.85 (d, J = 7.0 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.16 (m, 4H, C2'-H, C3'-H, C5'-H, C6'-H), 7.29 (m, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.71 (d, J = 4.7 Hz, C2'''-H, C6'''-H), 8.47 (d, J = 3.9 Hz, 2H, C2''-H, C6''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 55.7 (OCH₃), 57.0 (CH), 114.1 (C3''', C5'''), 122.4 (C3'', C5''), 126.0 (C1'''), 128.1 (C2', C6'), 128.5 (C4'), 129.2 (C2'', C6''), 129.3 (C3', C6'), 140.3 (C1'), 150.3 (C2'', C6''), 150.6 (C4''), 162.8 (C4'''), 166.4 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 319 (7%, [M]⁺), 318 (28%), 206 (5%), 183 (38%, [M-OCPHOMe]⁺), 168 (8%), 167 (11%, [M-NHOCPhOMe]⁺), 136 (12%), 135 (100%), 107 (8%), 92 (10%), 77 (16%).

(3,4-Methylenedioxy)-N-(phenyl(pyridin-4-yl)methyl)benzamid 42



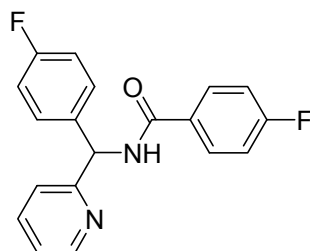
C₂₀H₁₆N₂O₃
MW: 332,35 g/mol

R_t (Methode 3): 9,95 – 10,90 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 5.96 (s, 2H, CH₂), 6.28 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CH), 6.70 (d, J = 7.4 Hz, 1H, C5'''-H), 6.75 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C2'''-H), 7.19 (m, 5H, Ph), 7.28 (m, 3H, C3''-H, C5''-H, C6'''-H), 8.46 (d, J = 5.9 Hz, 2H, C2''-H, C6''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 57.0 (CH), 101.9 (CH₂), 107.9 (C2'''), 108.1 (C5'''), 122.0 (C6'''), 122.3 (C3'', C5''), 128.0 (C2', C6'), 128.4 (C4'), 129.2 (C3', C5'), 140.0 (C1'), 148.2 (C3'''), 150.1 (C2'', C6''), 150.4 (C4''), 150.8 (C4'''), 166.2 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 333 (16%), 332 (73%, [M]⁺), 184 (5%), 183 (30%, [M-OCPHO₂CH₂]⁺), 168 (4%), 167 (9%, [M-NHOCPhO₂CH₂]⁺), 150 (13%), 149 (100%), 139 (4%), 122 (3%), 121 (16%), 91 (4%), 65 (9%), 63 (5%).

4-Fluor-N-(phenyl(pyridin-2-yl)methyl)benzamid 43

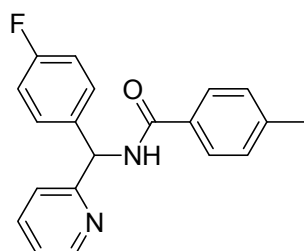
$C_{19}H_{14}F_2N_2O$
MW: 324,32 g/mol

R_t (Methode 2): 7,28 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 6.19 (d, J = 6.5 Hz, 1H, CH), 6.90 (tt, J_1 = 2.5 Hz, J_2 = 8.7 Hz, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.04 (tt, J_1 = 2.4 Hz, J_2 = 8.6 Hz, 2H, C2'-H, C6'-H), 7.17 (q, J = 5.7 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.30 (m, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 7.59 (dt, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 7.7 Hz, 1H, C5''-H), 7.84 (m, 2H, C3''-H, C5''-H), 8.46 (d, J = 6.2 Hz, 1H, C6''-H), 8.54 (d, J = 6.2 Hz, 1H, NH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 57.0 (CH), 115.5, 115.7 (C3', C5'), 122.8, 123.0 (C3''', C5'''), 129.6 (C2', C6', C1''', C2''', C6'''), 130.6 (C5''), 137.3 (C4''), 138.0 (C1'), 148.9 (C6''), 158.4 (C1''), 160.9 (C4'), 165.4 (C4'''), 166.0 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 325 (4%), 324 (21%, $[M]^+$), 229 (4%), 213 (9%), 202 (13%), 201 (100%, $[M-OCPHF]^+$), 186 (8%), 185 (25%, $[M-NHOCPhF]^+$), 184 (4%), 124 (3%), 123 (40%), 105 (10%), 95 (21%), 78 (4%), 75 (4%).

4-Methyl-N-(phenyl(pyridin-2-yl)methyl)benzamid 44

$C_{20}H_{17}FN_2O$
MW: 320,36 g/mol

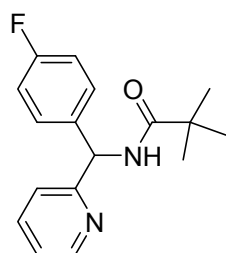
R_t (Methode 2): 8,12 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.32 (s, 3H, CH_3), 6.21 (d, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 6.89 (t, J = 6.6 Hz, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.18 (m, 4H, C3'''-H, C5'''-H, C2'-H, C6'-H), 7.31 (m, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 7.56 (dd, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 7.6 Hz, 1H, C5''-H), 7.72 (2s, 2H, C3''-H, C5''-H), 8.40 (d, J = 6.2 Hz, 1H, C6''-H), 8.54 (d, J = 4.6 Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 21.4$ (CH_3), 56.8 (CH), 115.3, 115.5 ($\text{C}3'$, $\text{C}5'$), 122.8 ($\text{C}5''$), 127.1 ($\text{C}3''$), 129.1 ($\text{C}2'$, $\text{C}6'$), 131.4 ($\text{C}1'''$), 137.1 ($\text{C}4''$), 138.0 ($\text{C}1'$), 141.9 ($\text{C}4'''$), 148.9 ($\text{C}6''$), 158.5 ($\text{C}1''$), 160.8 ($\text{C}4'$), 166.3 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 321$ (4%), 320 (15%, $[\text{M}]^+$), 225 (5%), 209 (10%), 202 (14%), 201 (100%, $[\text{M-OCPHMe}]^+$), 186 (7%), 185 (20%, $[\text{M-NHOCPhMe}]^+$), 119 (29%), 105 (8%), 91 (18%), 78 (3%), 65 (5%).

***N*-((4-Fluorphenyl)(pyridin-2-yl)methyl)pivalamid 45**



$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}$
MW: 286,34 g/mol

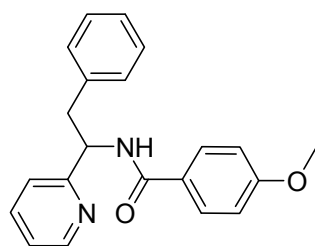
R_t (Methode 2): 5,83 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 1.35$ (t, $J = 7.3$ Hz, 9H, $(\text{CH}_3)_3$), 6.50 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, CH), 7.00 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H, $\text{C}3'$ -H, $\text{C}5'$ -H), 7.50 (dd, $J_1 = 5.1$ Hz, $J_2 = 8.6$ Hz, 2H, $\text{C}2'$ -H, $\text{C}6'$ -H), 7.73 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, $\text{C}5''$ -H), 7.83 (d, $J = 7.97$ Hz, 1H, $\text{C}3''$ -H), 8.26 (2s, 2H, $\text{C}4''$ -H, $\text{C}6''$ -H), 8.68 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 27.5$ (CH_3), 39.3 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 55.9 (CH), 116.6, 116.8 ($\text{C}3'$, $\text{C}5'$), 125.3 ($\text{C}5''$), 126.4 ($\text{C}3''$), 129.1 ($\text{C}2'$, $\text{C}6'$), 148.9 ($\text{C}6''$), 164.1 ($\text{C}2''$), 166.7 ($\text{C}4'$), 179.4 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 287$ (5%), 286 (26%, $[\text{M}]^+$), 229 (33%), 202 (19%), 201 (100%, $[\text{M-OC}^t\text{Bu}]^+$), 187 (29%), 186 (100%), 185 (88%, $[\text{M-NHOC}^t\text{Bu}]^+$), 184 (11%), 175 (5%), 124 (5%), 105 (9%), 79 (5%), 78 (5%), 57 (14%).

4-Methoxy-*N*-(2-phenyl-1-(pyridin-2-yl)ethyl)benzamid 46



$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$
MW: 332,4 g/mol

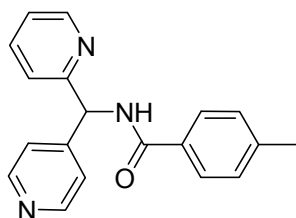
R_t (Methode 1a): 9,87 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 3.29 (dd, J_1 = 8.6 Hz, J_2 = 13.6 Hz, 1H, CHCH $\underline{\text{H}}$), 3.40 (dd, J_1 = 8.6 Hz, J_2 = 13.6 Hz, 1H, CHCH $\underline{\text{H}}$), 5.49 (q, J = 8.2 Hz, 1H, CH), 6.62 (q, J = 9.0 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 6.92 (m, 5H, Ph), 7.49 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C5'-H), 7.55 (m, 1H, C3'-H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 7.99 (m, 1H, C4'-H), 8.47 (d, J = 5.5 Hz, 1H, C6'-H), 8.84 (d, J = 8.6 Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 45.2 (C2), 53.7 (C1), 54.8 (OCH $_3$), 113.1 (C3''', C5'''), 124.6 (C5'), 124.8 (C3'), 126.1 (C1'''), 126.6 (C4''), 128.2 (C2'', C6''), 128.6 (C2''', C6'''), 129.2 (C4'), 135.5 (C4'), 140.9 (C1'''), 145.1 (C6'), 156.7 (C2'), 162.0 (C4'''), 166.1 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 242 (7%), 241 (44%, $[\text{M-PhCH}_2]^+$), 180 (10%), 136 (9%), 135 (100%), 107 (5%), 92 (8%), 77 (10%).

4-Methyl-N-(pyridin-2-yl(pyridin-4-yl)methyl)benzamid 47



$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$
MW: 303,36 g/mol

R_t (Methode 2): 8,96 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 2.34 (CH $_3$), 6.21 (d, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 7.21 (m, 5H, C3'''-H, C5'''-H, C5'-H, C3''-H, C5''-H), 7.63 (t, J = 7.6 Hz, 1H, C3'-H), 7.74 (d, J = 8.2 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.38 (d, J = 6.6 Hz, 1H, C4'-H), 8.46 (dd, J_1 = 1.6 Hz, J_2 = 4.7 Hz, 2H, C2''-H, C6''-H), 8.56 (d, 4.7 Hz, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 21.6 (CH $_3$), 56.8 (CH), 122.4 (C5', C3'), 123.0 (C3'', C5''), 127.3 (C2''', C6'''), 129.5 (C3''', C5'''), 130.5 (C1'''), 137.5 (C4'), 142.4 (C4'''), 149.3 (C6'), 150.2 (C2'', C6''), 150.8 (C4''), 157.4 (C2'), 166.7 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 303 (5%, $[\text{M}]^+$), 210 (5%), 209 (31%), 208 (17%), 185 (13%), 184 (100%, $[\text{M-OCPhMe}]^+$), 169 (10%), 168 (35%, $[\text{M-NHOCPhMe}]^+$), 119 (42%), 91 (26%), 65 (7%).

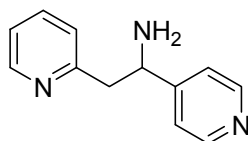
Synthese der Amine 57 - 62

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

In einem Dreihalskolben mit Tieftemperaturthermometer, Argon-T-Stück und Tropftrichter wurden 200 mL THF mit 31,5 mmol Diisopropylamin versetzt und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. 31,5 mmol *n*-Buthyllithium (1,6 M in Hexan) wurden langsam zugetropft. Das Kältebad wurde entfernt und die Mischung 10 min gerührt. Die Mischung wurde wieder auf ca. $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und weitere 10 min gerührt. Nun wurden langsam 30 mmol des entsprechenden Methylaromaten zugetropft und anschließend das Kältebad entfernt. Nach 90 min rühren wurden 30 mmol des Cyanopyridins, in 25 mL abs. THF gelöst, zugetropft. Es wurde 3 h bei rt gerührt. Das Lösungsmittel wurde weitgehend im Vakuum entfernt und der Rückstand mit ca. 30 mL 2 N Salzsäure versetzt, dann wurde 20 min gerührt. Mit 2 M Natronlauge wurde neutralisiert und anschließend mehrfach mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phasen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt. Der orangefarbene Feststoff war für die weitere Umsetzung ausreichend rein.

Das ungereinigte Keton und 2 eq Hydroxylamin Hydrochlorid wurden in Pyridin (1 mL pro mmol) gelöst und vier Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die warme Reaktionslösung wurde unter Rühren in ca. 160 mL Wasser gegossen. Nach Erkalten und 30 min stehen im Kühlschrank wurden die ausgefallenen Kristalle abgesaugt und über Nacht an Luft und anschließend im Vakuum getrocknet. Sollte nichts ausfallen sein, wurde die Lösung mehrfach mit Diethylether extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinheit des Oxims war für die weitere Umsetzung ausreichend.

Das Oxim wurde in einem Lösungsmittelgemisch (7 mL pro mmol) aus 25%iger Ammonik-Lösung, Wasser und Ethanol (3:2:2) gelöst und mit 1 eq Ammoniumacetat versetzt. Die Mischung wurde auf $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhitzt und es wurde portionsweise Zinkstaub (4 eq) zugegeben. Dann wurde eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung über eine Kieselgurschicht abfiltriert und der Rückstand dreimal mit Ethanol gewaschen. Im Vakuum wurde das Ethanol entfernt. Die Restlösung wurde mit 2 M Natronlauge basisch gestellt und mehrfach mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Es blieb eine gelbe Flüssigkeit zurück, die meist rein genug für die weitere Umsetzung war.

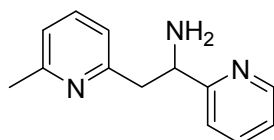
2-(Pyridin-2-yl)-1-(pyridin-4-yl)ethanamin 57

$C_{12}H_{13}N_3$
MW: 199,25 g/mol

Aus 970 mg (4,88 mmol) des Ketons wurden 495 mg (2,32 mmol, 47%) des Oxims und aus 480 mg (2,26 mmol) des Oxims 285 mg (1,42 mmol, 63%) des Amins **57** erhalten.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 1.94 (s, br, 2H, $-NH_2$), 2.94 (dd, J_1 = 9.0 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-HH), 3.05 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 13.6 Hz, 1H, C2-HH), 4.44 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 9.0 Hz, 1H, C1-H), 6.97 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C5''-H), 7.09 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 7.4 Hz, 1H, C3''-H), 7.24 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.50 (dd, J_1 = 1.6 Hz, J_2 = 7.8 Hz, 1H, C4''-H), 8.46 (d, J = 5.8 Hz, 2H, C2'-H, C6'-H), 8.50 (d, J = 4.3 Hz, 1H, C6''-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 47.3 (C2), 54.9 (C1), 121.6 (C3''), 124.0 (C3', C5'), 136.5 (C4''), 149.4 (C6''), 149.8 (C2', C6'), 154.3 (C4'), 158.3 (C2'').

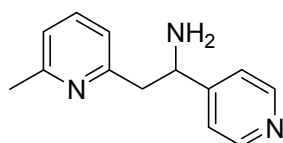
2-(6-Methylpyridin-2-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethanamin 58

$C_{13}H_{15}N_3$
MW: 213,28 g/mol

Aus 50 mmol (5,35 g, 5,8 mL) 2,6-Lutidin und 50 mmol (5,2 g) 2-Cyanopyridin wurden über drei Stufen 450 mg (2,1 mmol, 5,3%) des Amins **58** erhalten.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.48 (s, 3H, CH_3), 2.89 (dd, J_1 = 9.0 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-HH), 3.02 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-HH), 4.39 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 9.0 Hz, 1H, C1-H), 6.95 (d, J = 5.9 Hz, 1H, C3''-H), 7.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C5'-H), 7.37 (dd, J_1 = 4.3 Hz, J_2 = 7.8 Hz, 1H, C4''-H), 7.58 (dt, J_1 = 1.56 Hz, J_2 = 7.8 Hz, 1H, C3'-H), 7.75 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C4'-H), 8.56 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6'-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 24.1 (CH_3), 42.8 (C2), 54.8 (C1), 120.8 (C3''), 121.2 (C5''), 121.6 (C5'), 122.6 (C3'), 136.7 (C4''), 137.0 (C4'), 149.6 (C6'), 157.6 (C2''), 158.0 (C6''), 160.2 (C2').

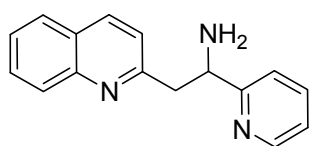
2-(6-Methylpyridin-2-yl)-1-(Pyridin-4-yl)ethanamin 59

$C_{13}H_{15}N_3$
MW: 213,28 g/mol

Aus 30 mmol (3,21 g, 3,5 mL) 2,6-Lutidin und 30 mmol (3,12 g) 4-Cyanopyridin wurden 5,01 g (23,5 mmol, 78%) Keton erhalten. 3,4 g (16 mmol) des Ketons wurden mit 2,23 g (32 mmol) Hydroxylamin Hydrochlorid umgesetzt. Es wurden 1,93 g (8,49 mmol, 53%) des Oxims erhalten. Die Reduktion von 1,90 g (8,36 mmol) des Oxims lieferte 1,20 g (5,6 mmol, 67%) des Amins **59**.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 2.48 (s, 3H, CH_3), 2.89 (dd, $J_1 = 9.0$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, 1H, C2-H), 3.02 (dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, 1H, C2-H), 4.39 (dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 9.0$ Hz, 1H, C1-H), 6.95 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H, C3''-H), 7.23 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.37 (dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, 1H, C4''-H), 8.42 (m, 2H, C2'-H, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 24.5 (CH_3), 47.5 (C2), 55.1 (C1), 120.8 (C3''), 121.2 (C5''), 121.7 (C3', C5'), 136.7 (C4''), 149.8 (C2', C6'), 154.4 (C4'), 157.6 (C2''), 158.0 (C6'').

1-(Pyridin-2-yl)-2-(chinolin-2-yl)ethanamin 60

$C_{16}H_{15}N_3$
MW: 249,31 g/mol

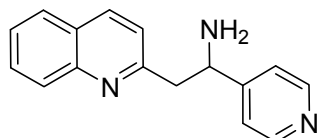
Aus 50 mmol (7,16 g, 6,77 mL) Chinaldin und 50 mmol (5,2 g) 2-Cyanopyridin wurden 11,51 g (46 mmol, 92%) Keton erhalten, durch Umsatz mit 92 mmol Hydroxylamin Hydrochlorid entstanden 5,47 g (20,8 mmol, 45%) des Oxims. Die Reduktion lieferte 1,65 g (6,62 mmol, 32%) des Amins **60**.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 2.43 (s, br, 2H, $-\text{NH}_2$), 3.33 (m, 1H, C2-H), 3.45 (m, 2H, C1-H), 7.14 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H, C3''-H), 7.18 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, C5'-H), 7.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, C6''-H), 7.48 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, C7''-H), 7.58 (dt, $J_1 = 1.56$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, 1H, C3'-H),

7.67 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, C5''-H), 7.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, C4'-H), 8.02 (m, 2H, C4''-H, C8''-H), 8.56 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 46.9$ (C2), 56.9 (C1), 121.6 (C5'), 122.4 (C3''), 122.6 (C3'), 126.3 (C6''), 127.1 (C9b''), 127.8 (C5''), 129.2 (C8''), 129.8 (C7''), 136.7 (C4'), 137.0 (C4''), 148.2 (C9a''), 149.6 (C6'), 160.2 (C2'), 163.7 (C2'').

1-(Pyridin-4-yl)-2-(chinolin-2-yl)ethanamin **61**



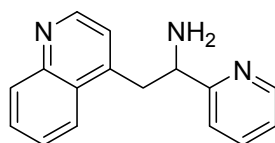
$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3$
MW: 249,31 g/mol

Aus 50 mmol (7,16 g, 6,77 mL) Chinaldin und 50 mmol (5,2 g) 4-Cyanopyridin wurden 12,6 g (50 mmol, quantitativ) Keton erhalten, durch Umsatz mit 100 mmol Hydroxylamin Hydrochlorid entstanden 6.0 g (22,8 mmol, 46%) des Oxims. Die Reduktion lieferte 3,3 g (13,2 mmol, 58%) des Amins **61**.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.26$ (s, br, 2H, $-\text{NH}_2$), 3.09 (dd, $J_1 = 8.9$ Hz, $J_2 = 14.1$ Hz, 1H, C2-HH), 3.18 (dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 14.1$ Hz, 1H, C2-HH), 4.25 (dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 8.9$ Hz, 1H, C1-H), 7.04 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, C3''-H), 7.23 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.39 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, C6''-H), 7.59 (m, 1H, C7''-H), 7.66 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, C5'-H), 7.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, C4''-H), 7.97 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, C8''-H), 8.42 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H, C2'-H, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 47.7$ (C2), 54.6 (C1), 121.5 (C3''), 121.9 (C3', C5'), 125.9 (C6''), 126.6 (C9b''), 127.4 (C8''), 128.7 (C5''), 129.4 (C7''), 136.2 (C4''), 147.6 (C9a''), 149.6 (C2', C6'), 154.2 (C4'), 158.7 (C2'').

2-(Chinolin-4-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethanamin **62**



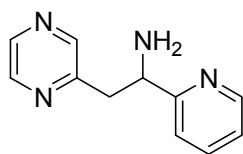
$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3$
MW.: 249,31 g/mol

Aus 10 mmol (1,43 g, 1,32 mL) Lepidin und 10 mmol (1,04 g) 2-Cyanopyridin wurden 1,7 g (6,8 mmol, 68%) Keton erhalten, aus 4 mmol des Ketons (1,56 g) wurden durch Umsatz mit 8 mmol Hydroxylamin Hydrochlorid 0,42 g (1,5 mmol, 44%) des Oxims. Die Reduktion lieferte 0,68 g (2,72 mmol, 84%) des Amins **62**.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 1.82 (s, br, 2H, -NH₂), 3.31 (dd, J_1 = 8.2 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-H_H), 3.56 (dd, J_1 = 6.2 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-H_H), 4.35 (dd, J_1 = 6.2 Hz, J_2 = 8.2 Hz, 1H, C1-H), 7.01 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C3''-H), 7.07 (d, J = 4.3 Hz, 1H, C5'-H), 7.11 (m, 1H, C6''-H), 7.48 (2m, 2H, C3'-H, C7''-H), 7.65 (m, 1H, C5''-H), 8.04 (2m, 2H, C4'-H, C8''-H), 8.56 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6'-H), 8.69 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C2''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 26.6 (C2), 39.8 (C1), 117.1 (C5'), 120.5 (C3'), 123.3 (C3''), 124.0 (C5''), 126.1 (C6''), 127.7 (C9b''), 128.8 (C7''), 129.5 (C8''), 136.0 (C4'), 147.7 (C9a''), 148.6 (C6'), 149.7 (C2'), 153.8 (C4''), 155.4 (C2').

1-(Pyridin-2-yl)-2-(pyrazin-2-yl)ethanamin **63**



C₁₁H₁₂N₄
MW: 200,24 g/mol

Aus 10 mmol (0,941 g, 0,92 mL) 2-Methylpyrazin und 20 mmol (1,04 g) 2-Cyanopyridin wurden 1,25 g (6,25 mmol, 63%) Keton erhalten, aus dem durch Umsatz mit 13 mmol Hydroxylamin Hydrochlorid 1,28 g (5,96 mmol, 96%) des Oxims entstanden. Die Reduktion lieferte 0,23 g (1,45 mmol, 18%) des Amins **63**.

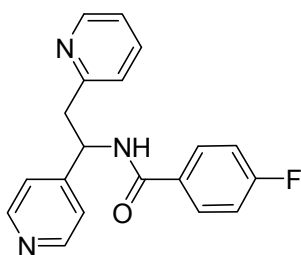
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.25 (dd, J_1 = 6.4 Hz, J_2 = 17.1 Hz, 1H, C2-H_H), 3.71 (dd, J_1 = 10.1 Hz, J_2 = 18.0 Hz, 1H, C2-H_H), 5.21 (dd, J_1 = 6.8 Hz, J_2 = 9.9 Hz, 1H, C1-H), 7.01 (m, 1H, C3''-H), 7.24 (m, 1H, C5'-H), 7.42 (d, J = 7.9 Hz, 1H, C3'-H), 7.68 (d, J = 3.3 Hz, 1H, C4'-H), 7.72 (dq, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 7.8 Hz, 1H, C5''-H), 8.55 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C6'-H), 8.59 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6''-H).

Synthese der Amide 68- 76

Allgemeine Arbeitsvorschrift

Äquimolare Mengen des Amins und des Triethylamins wurden in Diethylether vorgelegt. Die äquimolare Menge des Säurechlorids in Diethylether wurde langsam zugetropft. Nach 1h rühren bei Raumtemperatur wurde ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde noch zweimal mit Diethylether extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Die Rohprodukte wurden aus Aceton umkristallisiert bis sie im GC-Spektrum eine Reinheit >98% aufwiesen.

4-Fluor-N-(2-(pyridin-2-yl)-1-(pyridin-4-yl)ethyl)benzamid 68



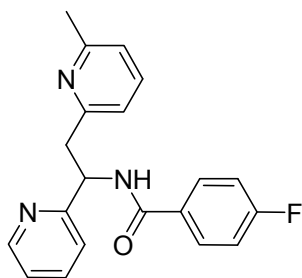
$C_{19}H_{16}FN_3O$
MW: 321,35 g/mol

R_t (Methode 2): 8.35 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.18 (dd, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 14.3 Hz, 1H, C2-H_H), 3.38 (dd, J_1 = 4.3 Hz, J_2 = 14.5 Hz, 1H, C2-H_H), 5.44 (dd, J_1 = 4.3 Hz, J_2 = 7.0 Hz, 1H, C1-H), 6.96 (d, J = 7.9 Hz, 1H, C3''-H), 7.11 (m, 4H, C3'''-H, C5'''-H, C3'-H, C5'-H), 7.53 (m, 1H, C5''-H), 8.06 (dt, J_1 = 2.5 Hz, J_2 = 6.0 Hz, 1H, C4''-H), 8.42 (dd, J_1 = 1.4 Hz, J_2 = 4.5 Hz, 2H, C2'-H, C6'-H), 8.50 (d, J = 5.0 Hz, 1H, C6'-H), 9.14 (d, J = 6.6 Hz, 1H, NH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 41.9 (C2), 53.2 (C1), 115.4, 115.7 (C3''', C5'''), 121.4 (C5''), 122.4 (C3''), 124.6 (C3', C5'), 129.4 (C2''', C6'''), 130.0 (C1'''), 137.6 (C4''), 148.5 (C6''), 149.4 (C4'), 151.3 (C2', C6'), 157.3 (C2''), 165.6 (C4'''), 168.9 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 321 (2%, $[M]^+$), 229 (4%), 198 (18%, $[M-OCPHF]^+$), 183 (7%), 182 (26%, $[M-HNOCPHF]^+$), 181 (16%), 124 (5%), 123 (60%), 95 (31%), 94 (11%), 93 (100%), 92 (3%), 78 (4%), 75 (5%).

4-Fluor-N-(2-(6-methylpyridin-2-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethyl)benzamid 69

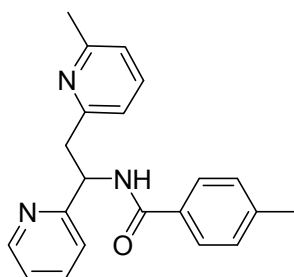
$C_{20}H_{18}FN_3O$
MW: 335,37 g/mol

R_t (Methode 1): 7,88 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.53 (s, 3H, CH_3), 3,34 (dd, J_1 = 5.3 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, $CHCHH$), 3.45 (dd, J_1 = 6.7 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, $CHCHH$), 5.54 (q, J = 6.6 Hz, 1H, CH), 6.81 (d, J = 7.6 Hz, 1H, $C5''$ -H), 6.96 (d, J = 7.7 Hz, 1H, $C3''$ -H), 7.10 (m, 3H, $C3'''$ -H, $C5'''$ -H, $C5'$ -H), 7.39 (t, J = 7.7 Hz, 1H, $C3'$ -H), 7.50 (dt, J_1 = 1.8 Hz, J_2 = 7.7 Hz, 1H, $C4''$ -H), 7.94 (m, 2H, $C2'''$ -H, $C6'''$ -H), 8.53 (d, J = 4.6 Hz, 1H, $C6'$ -H), 8.87 (d, J = 6.3 Hz, 1H, NH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 24.4 (CH_3), 42.2 (CH_2), 55.2 (CH), 115.3 + 115.5 ($C3'''$, $C5'''$), 120.9 ($C3''$), 121.2 ($C5'$), 121.2 ($C5''$), 122.0 ($C3'$), 129.4 ($C2'''$, $C6'''$), 130.6 ($C1'''$), 136.4 ($C4'$), 136.9 ($C4''$), 149.0 ($C6'$), 157.3 ($C2'$), 157.4 ($C6''$), 160.1 ($C2''$), 163.4 ($C4'''$), 165.5 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 335 (9%, $[M]^+$), 229 (18%), 213 (4%), 212 (26%, $[M-OcPhF]^+$), 197 (6%, $[M-HNOcPhF]^+$), 196 (4%), 195 (11%), 124 (6%), 123 (82%), 108 (10%), 107 (100%), 106 (5%), 95 (28%), 79 (4%), 78 (3%), 75 (4%).

4-Methyl-N-(2-(6-methylpyridin-2-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethyl)benzamid 70

$C_{21}H_{21}N_3O$
MW: 331,41 g/mol

R_t (Methode 2): 9,02 min.

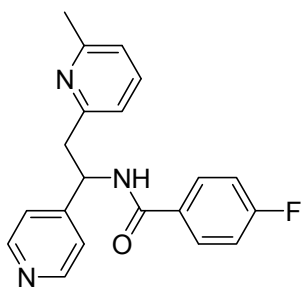
1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.34 (s, 3H, $PhCH_3$), 2.48 ($PyCH_3$), 3.30 (dd, J_1 = 5.5 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, $C2-HH$), 3.39 (dd, J_1 = 6.6 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, $C2-HH$), 5.49 (dd, J_1 = 6.6

Hz, $J_2 = 11.7$ Hz, 1H, C1-H), 6.75 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, C5''-H), 6.89 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, C3''-H), 7.02 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, C3'-H), 7.04 (m, 1H, C5'-H), 7.18 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, C4''-H), 7.44 (dt, $J_1 = 1.6$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, 1H, C4'-H), 7.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.47 (dd, $J_1 = 1.6$ Hz, $J_2 = 5.8$ Hz, 1H, C6'-H), 8.78 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 21.4$ (CH_3'''), 24.3 (CH_3''), 42.2 (C2), 55.3 (C1), 120.8 (C3''), 121.1 (C5'), 121.3 (C5''), 121.7 (C3'), 127.1 (C2''', C6'''), 129.1 (C3''', C5'''), 131.6 (C1'''), 135.9 (C4'), 136.2 (C4''), 141.8 (C4'''), 149.0 (C6'), 157.4 (C2'), 157.5 (C6''), 160.3 (C2''), 166.6 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 331$ (13%, $[\text{M}]^+$), 225 (24%), 213 (6%), 212 (39%, $[\text{M-HNOCPHMe}]^+$), 197 (7%, $[\text{M-HNOCPHMe}]^+$), 195 (14%), 120 (9%), 119 (93%), 108 (10%), 107 (100%), 91 (33%), 65 (9%).

4-Fluor-N-(2-(6-methylpyridin-2-yl)-1-(pyridin-4-yl)ethyl)benzamid 71



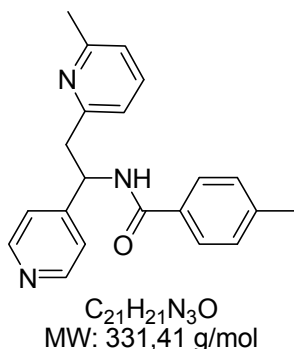
$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}$
MW: 335,37 g/mol

R_t (Methode 2): 8,55 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.57$ (s, 3H, CH_3), 3.10 (dd, $J_1 = 6.2$ Hz, $J_2 = 14.1$ Hz, 1H, C2-HH), 3.37 (dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.3$ Hz, 1H, C2-HH), 5.40 (dd, $J_1 = 6.0$ Hz, $J_2 = 10.7$ Hz, 1H, C1-H), 6.70 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, C5''-H), 7.08 (m, 5H, C3'-H, C5'-H, C3''-H, C3'''-H, C5'''-H), 7.40 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, C4''-H), 7.94 (dd, $J_1 = 5.1$ Hz, $J_2 = 8.6$ Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 8.42 (d, $J = 5.1$ Hz, 2H, C2'-H, C6'-H), 9.53 (d, $J = 5.8$ Hz, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 24.5$ (CH_3), 41.8 (C2), 53.0 (C1), 115.4, 115.6 (C3''', C5'''), 121.3 (C3''), 121.6 (C5''), 121.8 (C2', C6'), 129.5 (C2''', C6'''), 130.2 (C1'''), 137.4 (C4''), 149.6 (C1'), 150.9 (C3', C5'), 156.6 (C6''), 157.4 (C2''), 165.4 (C4'''), 166.1 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 335$ (2%, $[\text{M}]^+$), 212 (13%, $[\text{M-OCPHF}]^+$), 197 (4%, $[\text{M-HNOCPHF}]^+$), 196 (3%), 195 (8%), 124 (3%), 123 (40%), 108 (10%), 107 (100%), 106 (4%), 95 (20%).

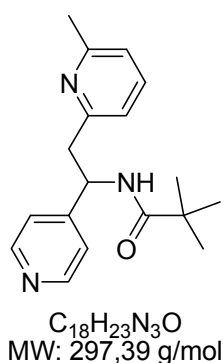
4-Methyl-N-(2-(6-methylpyridin-2-yl)-1-(pyridin-4-yl)ethyl)benzamid 72

R_t (Methode 2): 9,84 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.35 (PhCH₃), 2.55 (PyCH₃), 3.10 (dd, J_1 = 6.6 Hz, J_2 = 14.5 Hz, 1H, C2-H_H), 3.33 (dd, J_1 = 5.0 Hz, J_2 = 14.5 Hz, 1H, C2-H_H), 5.40 (dd, J_1 = 6.4 Hz, J_2 = 10.6 Hz, 1H, C1-H), 6.69 (d, J = 7.5 Hz, 1H, C3''-H), 7.07 (d, J = 4.7 Hz, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.20 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.37 (t, J = 7.8 Hz, 1H, C5''-H), 7.78 (d, 8.2 Hz, 2H, C2'''-H, C6'''-H), 7.93 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C4''-H), 9.38 (d, J = 6.3 Hz, 1H, NH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 21.8 (PhCH₃), 24.7 (PyCH₃), 42.1 (C2), 53.2 (C1), 121.7 (C3''), 121.9 (C5''), 127.4 (C3'', C5''), 129.5 (C2''', C6'''), 130.3 (C3''', C5'''), 131.5 (C1'''), 142.4 (C4''), 149.7 (C4'), 151.8 (C2', C6'), 157.1 (C6''), 157.8 (C2''), 166.8 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 331 (3%, [M]⁺), 213 (3%), 212 (18%, [M-OCPhMe]⁺), 197 (4%, [M-HNOCPHMe]⁺), 196 (4%), 195 (9%), 120 (4%), 119 (36%), 108 (9%), 107 (100%), 106 (3%), 92 (3%), 91 (20%), 65 (6%).

N-(2-(6-methylpyridin-2-yl)-1-(pyridin-4-yl)ethyl)pivalamid 73

R_t (Methode 2): 6,54 min.

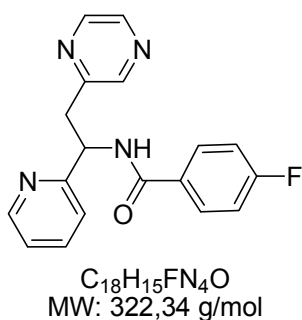
1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 1.18 (s, 9H, (CH₃)₃), 2.96 (dd, J_1 = 6.4 Hz, J_2 = 14.1 Hz, 1H, C_HH), 3.23 (dd, J_1 = 4.4 Hz, J_2 = 14.1 Hz, 1H, C_HH), 5.15 (dd, J_1 = 6.2 Hz, J_2 = 10.7 Hz, 1H,

CH), 6.60 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, C3''-H), 6.95 (3m, 3H, C2'-H, C6'-H, C5''-H), 7.33 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, C4''-H), 8.36 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, C3'-H, C5'-H), 8.56 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 24.4$ (PyCH₃), 27.5 (CH₃), 38.7 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 41.9 (CH₂), 52.4 (CH), 121.1 (C3''), 121.5 (C5''), 121.9 (C3', C5'), 137.1 (C4''), 149.5 (C2', C6'), 151.4 (C4'), 156.7 (C6''), 157.4 (C2''), 178.1 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 298$ (3%), 297 (13%), 241 (10%), 240 (57%), 213 (5%), 212 (29%, [M-OCPHF]⁺), 198 (12%), 197 (52%, [M-HNOCPHF]⁺), 196 (7%), 195 (15%), 182 (4%), 108 (10%), 107 (100%), 92 (4%), 79 (3%), 65 (4%), 57 (17%).

4-Fluor-*N*-(2-(pyrazin-2-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethyl)benzamid 74

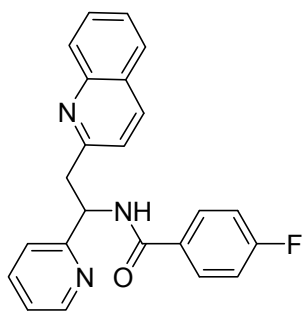


R_t (Methode 2): 7,56 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 3.42$ (dd, $J_1 = 5.1$ Hz, $J_2 = 18.0$ Hz, 1H, C2-H_H), 3.71 (dd, $J_1 = 10.2$ Hz, $J_2 = 18.0$ Hz, 1H, C2-H_H), 5.88 (q, $J = 5.0$ Hz, 1H, C1-H), 7.03 (m, 2H, C3'''-H, C5'''-H), 7.15 (m, 1H, C5'-H), 7.39 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, C3'-H), 7.61 (3m, 4H, C4'-H, C2'''-H, C6'''-H, CC4''-H), 7.75 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, C3''-H), 8.01 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, C6''-H), 8.51 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 35.1$ (C2), 61.3 (C1), 114.8, 115.0 (C3''', C5'''), 122.1 (C5'), 122.9 (C3'), 131.3 (C2''', C6'''), 136.7 (C1'''), 138.4 (C4'), 139.5 (C4''), 148.5 (C5''), 150.0 (C3''), 151.1 (C1''), 159.3 (C6'), 163.3 (C2'), 165.8 (C4'''), 168.4 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 321$ (9%, [M-H]⁺), 320 (43%), 319 (4%), 242 (11%), 198 (13%), 197 (100%, [M-OCPHF]⁺), 183 (3%, [M-HNOCPHF]⁺), 182 (21%), 170 (3%), 124 (7%), 123 (87%), 95 (41%), 79 (3%), 78 (5%), 75 (6%).

4-Fluor-N-(2-(Chinolin-4-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethyl)benzamid 75

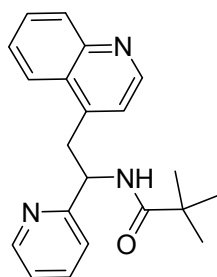
$C_{23}H_{18}FN_3O$
MW: 371,41 g/mol

R_t (Methode 2): 12,27 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.56 (dd, J_1 = 5.4 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-H_H), 3.72 (dd, J_1 = 6.2 Hz, J_2 = 13.7 Hz, 1H, C2-H_H), 5.71 (q, J = 6.2 Hz, 1H, C1-H), 6.92 – 7.21 (m, 5H, C3'''-H, C5'''-H, C5'-H, C6''-H), 7.44 (m, 2H, C3'-H, C7''-H), 7.68 (m, 2H, C4'-H, C5''-H), 7.93 (m, 4H, C2'''-H, C6'''-H, C4''-H, C8''-H), 8.50 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6'-H), 8.84 (d, J = 6.6 Hz, 1H, NH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 42.9 (C2), 54.7 (C1), 115.3 + 115.5 (C3''', C5'''), 121.1 (C5'), 122.1 (C3''), 122.4 (C3'), 126.1 (C6''), 126.8 (C9b''), 127.6 (C5''), 128.5 (C8''), 129.4 (C2''', C6'''), 129.6 (C1'''), 130.6 (C7''), 136.5 (C6''), 147.3 (C9a''), 149.0 (C6'), 158.9 (C2'), 159.8 (C4'''), 165.6 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 371 (14%, $[M]^+$), 248 (23%, $[M-OCPhF]^+$), 233 (6%, $[M-HNOCPhF]^+$), 232 (5%), 231 (11%), 229 (11%), 144 (13%), 143 (100%), 123 (60%), 95 (19%).

N-(2-(Chinolin-4-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethyl)pivalamid 76

$C_{21}H_{23}N_3O$
MW: 333,43 g/mol

R_t (Methode 2): 8,02 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 1.22 (s, 9H, 3CH₃), 3.16 (dd, J_1 = 9.8 Hz, J_2 = 12.9 Hz, 1H, C2-H_H), 3.94 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 12.9 Hz, 1H, C2-H_H), 5.34 (m, 1H, C1-H), 6.35 (d, J = 7.8

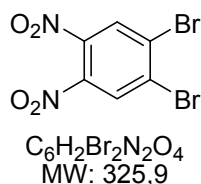
Hz, 1H, C3''-H), 6.66 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, C5'), 7.13 (dd, $J_1 = 5.2$ Hz, $J_2 = 7.4$ Hz, 1H, C6''-H), 7.32 (dd, $J_1 = 1.6$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, 1H, C8''-H), 7.58 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H, C3'-H), 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, C5''-H), 8.38 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, C4'-H), 8.56 (d, 4.7 Hz, 1H, C6'-H), 8.59 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, C2'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 27.5$ (CH_3), 38.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 39.3 (C2), 54.4 (C1), 122.4 (C5'), 123.0 (C2'', C3'), 124.2 (C5''), 126.9 (C6''), 127.8 (C9b''), 129.3 (C7''), 129.6 (C8''), 136.3 (C4'), 143.9 (C9a''), 147.9 (C6'), 149.3 (C2'', C4''), 157.7 (C2'), 178.4 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 333$ (6%, $[\text{M}]^+$), 233 (12%), 232 (13%), 231 (20%), 191 (31%), 144 (12%), 143 (100%), 115 (8%), 107 (31%), 85 (5%), 79 (6%), 57 (28%, $[\text{C}_4\text{H}_9]^+$).

6.4 Synthesen der Benzimidazole

1,2-Dibrom-4,5-dinitrobenzol 84



10 g (60 mmol) 1,2-Dinitrobenzol wurden in 40 mL konz. H₂SO₄ gelöst. 22,4 g (78 mmol) Dibromisocyanursäure wurden in 150 mL H₂SO₄ bei 50 °C gelöst und langsam zugetropft. Anschließend wurde 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgesaugt, mit Wasser und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Der trockene Feststoff wurde in Dichlormethan gelöst und der unlösliche Rückstand abfiltriert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurden 13,8 g Rohprodukt erhalten. Das Filtrat wurde mit Natronlauge neutralisiert und mehrfach mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurden zusätzlich 3,4 g Rohprodukt erhalten. Nach zweimaliger säulenchromatographischer Reinigung über Kieselgel (Eluent: Petrolether/Essigsäureethylester 5:1) wurden 7,8 g (24 mmol, 40%) sauberes Produkt und 5,85 g (ca. 18 mmol, ca. 30%) einer Mischfraktion aus Mono-, Di- Tri- und Tetrabrom-dinitrobenzol erhalten.

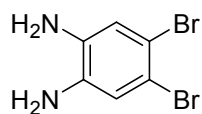
R_F (Petrolether : Ethylacetat = 5:1): 0,59.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 1:1): 0,86.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.18 (s, 2H, C3-H, C4-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 129.6 (C3, C6), 130.8 (C1, C2).

MS (GC-MS): m/z = 323, 325, 327 (47%, 91%, 47%, [M]⁺), 277 (5%), 247, 249, 251 (6%, 7%, 6%), 237 (4%), 235 (9%), 233 (13%), 231 (6%), 219, 221, 223 (5%, 19%, 5%), 198 (3%), 196 (5%), 172 (6%), 171 (6%), 159 (13%), 157 (18%), 156 (16%), 155 (34%), 154 (25%), 153 (31%), 152 (31%), 144 (5%), 143 (43%), 142 (5%), 141 (42%), 131 (3%), 118, 116 (4%, 4%), 92 (5%), 88 (6%), 87 (3%), 76 (5%), 75 (9%), 74 (100%), 73 (25%), 64 (8%), 62 (24%), 61 (10%), 53 (4%), 50 (4%).

1,2-Diamino-4,5-dibrombenzol 85

$C_6H_6Br_2N_2$
MW: 265,93

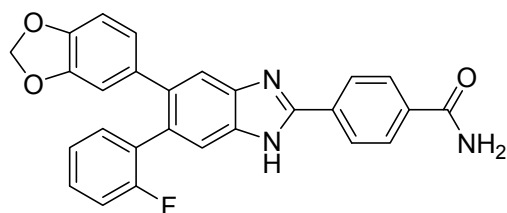
4,3 g (13 mmol) 1,2-Dibrom-4,5-dinitrobenzol wurden in 100 mL Ethanol gelöst. Es wurden ca. 10 mol% Raney-Nickel zugegeben und über Nacht an einer Hydrierapparatur bei Raumtemperatur und Normaldruck hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Raney-Nickels wurde mit Ethanol gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Petrolether aufgenommen. Mit 2 M Salzsäure wurde mehrfach extrahiert, dann neutralisiert und mit Diethylether rückextrahiert. Es wurden 2,7 g (10 mmol, 78%) sauberes Produkt erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 1:1): 0,40.

^1H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 6.90 (s, 2H, C3-H und C4-H).

$^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 112.9 (C1, C2), 120.1 (C3, C6), 135.5 (C4, C5).

MS (GC-MS): m/z = 264, 266, 268 (53%, 100%, 49%, $[M]^+$), 238 (5%), 185, 187 (11%, 10%, $[M-Br]^+$), 158,160 (8%, 9%), 133 (5%), 106 (10%), 105 (6%), 79 (6%), 78 (13%), 76 (7%), 52 (7%), 51 (5%).

Synthese der Benzimidazole**4-(6-(2-Fluorphenyl)-5-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-benzamid 97**

$C_{27}H_{18}FN_3O_3$
MW: 451,45 g/mol

0,5 g (1,55 mmol) 1,2-Dibrom-4,5-dinitrobenzol, 0,24 g (1,7 mmol) 3,4-(Methylenedioxy)-phenylboronsäure und 2,4 mL 2 M Natriumcarbonatlösung wurden in Toluol suspendiert und

entgast. Es wurde eine Spatelspitze Bistriphenylphosphinpalladiumdichlorid zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Zur Reaktionslösung wurden 0,24 g (1,7 mmol) 2-Fluorphenylboronsäure und erneut eine Spatelspitze Bistriphenylphosphin-palladiumdichlorid gegeben und die Mischung wieder über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde mehrfach mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde ohne Reinigung reduziert.

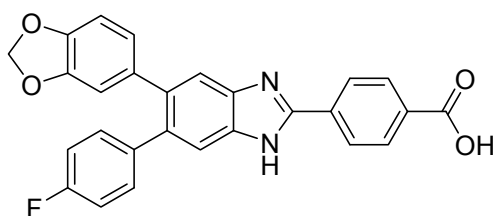
Dazu wurden 0,50 g Zinn und je 5 mL Wasser und konzentrierte Salzsäure (37%), sowie ca. 1 mL Ethanol zur Verbesserung der Löslichkeit zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 h zum Rückfluss erhitzt, der Reaktionsfortschritt wurde mittels GC/MS verfolgt. Nach vollständiger Reaktion wurde zuerst mit Essigsäureethylester extrahiert, dann die wässrige Phase basisch gestellt und das Produkt mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und Essigsäureethylester gereinigt.

0,03 g (0,093 mmol) der Zwischenproduktfraktion wurden mit 0,02 g (1,4 mmol) 4-Formylbenzaldehyd und 0,03 g (1,4 mmol) Natriumdisulfit in 1 mL Dimethylformamid ca. 5 h auf 100 °C erhitzt. Die erkaltete Lösung wurde mit Wasser versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Der Niederschlag wurde gut mit Wasser gewaschen, erneut in DMF gelöst und wieder mit Wasser gefällt, abfiltriert und getrocknet.

HPLC-Reinheit: 57%

MS (MALDI-TOF, ohne Matrix): $m/z = 451,1$.

4-(6-(4-Fluorphenyl)-5-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)-benzoesäure 98



$C_{27}H_{17}FN_2O_4$
MW: 452,43 g/mol

1 g (3,1 mmol) 1,2-Dibrom-4,5-dinitrobenzol, 0,47 g (3,4 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure und 4,7 mL 2 M Natriumcarbonatlösung wurden in Toluol suspendiert und entgast. Es wurde eine Spatelspitze Bistriphenylphosphinpalladiumdichlorid zugegeben und über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Zur Reaktionslösung wurden 0,57 g (3,4 mmol) 3,4-(Methylenedioxy)-

phenylboronsäure und erneut eine Spatelspitze Bistriphenylphosphinpalladiumdichlorid gegeben und die Mischung wieder über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde mehrfach mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde über Kieselgel säulenchromatographisch mit Petrolether und Essigsäureethylester (5:1) gereinigt.

0,31 g (0,81 mmol) des gereinigten Zwischenprodukts wurden mit 1 g Zinn und je 3 mL Wasser und konzentrierte Salzsäure (37%), sowie 5 mL Ethanol 1 h zum Rückfluss erhitzt, der Reaktionsfortschritt wurde mittels GC/MS verfolgt. Nach vollständiger Reaktion wurde zuerst mit Essigsäureethylester extrahiert, dann die wässrige Phase basisch gestellt und das Produkt mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Es wurden 0,20 g (0,62 mmol, 67%) des zweiten Zwischenprodukts erhalten.

Diese wurden mit 0,09 g (0,62 mmol) Terephthalaldehydsäure und 0,7 mL 1 N Salzsäure in 1,5 mL Ethanol bei rt gerührt. Die Lösung wurde mit Natriumhydrogencarbonat basisch gestellt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die wässrige Phase wurde anschließend mit Salzsäure angesäuert und das Produkt mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt. Durch Lösen des Rückstands in DMF und Fällen mit Wasser wurde das Produkt **98** in ausreichender Reinheit erhalten.

HPLC-Reinheit: 65%

MS (MALDI-TOF, ohne Matrix): $m/z = 452,5$.

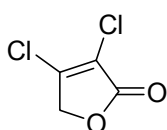
MS (MALDI-TOF, Matrix DHB): $m/z = 453,0$.

6.5 Synthesen der γ -Lactone

Syntheseweg über zwei Suzuki-Kupplungen

Die mit * gekennzeichneten Verbindungen wurden von Silvia Eger im Rahmen ihrer Bachelorarbeit im Sommersemester 2005 dargestellt.

3,4-Dichlorfuran-2(5H)-on **104**



$C_4H_2Cl_2O_2$
MW: 152,96 g/mol

18,5 g (110 mmol) Mucochloresäure **103** wurden in 30 mL Methanol gelöst und auf 0 °C gekühlt. 6,24 g (165 mmol, 1,5 eq) Natriumborhydrid wurden portionsweise zugegeben. Nach 30 min rühren wurden 10,8 g konz. Schwefelsäure und 55 mL Methanol zugegeben und noch ca. 10 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt. Nach Umkristallisation aus Pentan/Diethylether (1:1) wurden 10,34 g (67,7 mmol, 62% Ausbeute) weiße Kristalle erhalten.

R_t (Methode 3): 4,35 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 4.88 (s, 2H, CH_2).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 70.9 (CH_2), 121.1 ($ClCHCO$), 148.9 (CH_2CHCl), 165.9 (CO).

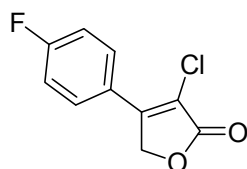
MS (GC-MS): m/z = 151, 152, 153, 154 (5%, 46%, 6%, 29%, $[M]^+$), 123, 125, 127 (100%, 63%, 10%, $[M-CHO]^+$), 124 (5%), 117, 119 (53%, 17%, $[M-Cl]^+$), 94, 95, 96, 97 (14%, 28%, 10%, 18%), 87, 89 (23%, 12%), 73, 75 (34%, 11%), 61 (10%), 60 (11%), 59 (5%), 53 (5%).

Einfache Suzuki-Kupplungen an 3,4-Dichlorfuran-2(5H)-on

Allgemeine Arbeitsvorschrift

1 Äquivalent 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104**, 2 Äquivalente der entsprechenden Boronsäure, 2,5 Äquivalente Cäsiumfluorid und 5 mol% Benzyltriethylammoniumchlorid wurden in je 5 mL pro mmol Furanon Wasser und Toluol gelöst. Unter Rühren wurde die Mischung entgast und mit Stickstoff geflutet. Nach Zugabe von 5 mol% Bistriphenylphosphin-palladiumdichlorid wurde ca. 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 2 M Salzsäure wässrig-sauer aufgearbeitet und das Produkt mit Toluol extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum blieb ein gelblicher Feststoff zurück, der säulenchromatographisch gereinigt wurde.

3-Chlor-4-(4-fluorphenyl)furan-2(5H)-on **106***



$C_{10}H_6ClFO_2$
MW: 212,6 g/mol

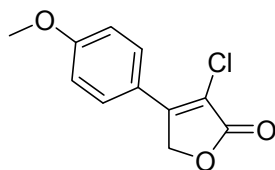
Aus 2,07 g (13,5 mmol) 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** und 4,50 g (27 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure wurden 2,81 g einer Mischung aus mono- und di-substituierten Produkt erhalten, die ungetrennt in der nächsten Reaktion eingesetzt wurden. Das Verhältnis von mono- zu disubstituiertem Produkt wurde mittels GC-Spektrometrie zu 5:1 bestimmt. Als ungefähre Ausbeuten ergeben sich daraus: ca. 2,2 g (10,6 mmol, 78%) 3-Chlor-4-(4-fluorphenyl)furan-2(5H)-on und 0,57 g (2,1 mmol, 16%) 3,4-Di(4-fluorphenyl)furan-2(5H)-on.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 3:1): 0,32.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 5.21 (s, 2H, C5-H₂), 7.25 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.85 (m, 2H, C2'-H, C6'-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 69.8 (C5), 116.6 (C2', C6'), 125.0 (C3), 129.5 (C3', C5'), 150.2 (C1'), 163.1 (C4), 165.3 (C4'), 168.8 (C2).

MS (GC-MS): m/z = 214 (28%), 213 (9%), 212 (86%, $[M]^+$), 183 (100%, $[M-CHO]^+$), 155 (65%, $[M-CHO-CO]^+$), 133 (15%, $[C_8H_5F]^+$), 120 (48%, $[C_8H_5F]^+$), 99 (14%, $[C_6H_8F]^+$).

3-Chlor-4-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-on 107

$C_{11}H_9ClO_3$
MW: 224,64 g/mol

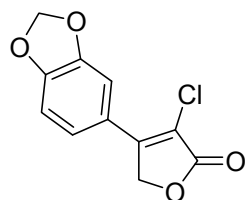
Aus 3,3 g (21 mmol) 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** und 6,43 g (42 mmol) 4-Methoxyphenylboronsäure wurden 3,43 g (15,3 mmol, 73%) des Produkts **107** erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 3:1): 0,28.

^1H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.88 (s, 3H, O-CH₃), 5.19 (s, 2H, C5-H₂), 7.01 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.79 (m, 2H, C2'-H, C6'-H).

$^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 55.6 (OMe), 70.1 (C5), 114.7 (C3', C5'), 114.9 (C1'), 121.3 (C3), 129.2 (C2', C6'), 151.4 (C4), 162.3 (C4'), 169.6 (C2).

MS (GC-MS): m/z = 224, 225, 226 (100%, 12%, 33%, $[M]^+$), 195 (59%, $[M-CHO]^+$), 167 (25%, $[M-CHO-CO]^+$), 151 (15%, $[C_8H_4ClO]^+$), 132 (24%, $[C_9H_8O]^+$), 123 (15%, $[C_7H_4Cl]^+$).

4-(3,4-Methylenedioxyphenyl)3-chlorofuran-2(5H)-on 108

$C_{11}H_7ClO_4$
MW: 238,62 g/mol

Aus 1,148 g (7,5 mmol) 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** und 2,5 g (15 mmol) 3,4-(Methylenedioxy)phenylboronsäure wurden 0,72 g (3,0 mmol, 41 %) des Produkts **108** erhalten.

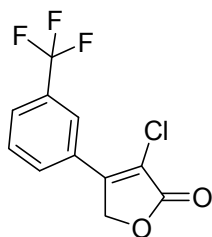
R_F (Petrolether : Ethylacetat = 3:1): 0,31.

^1H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 5.16 (s, 2H, C5-H₂), 6.07 (s, 2H, O-CH₂-O), 6.92 (d, J = 8,59 Hz, 1H, C5'-H), 7.27 (q, J₁ = 8,20 Hz, J₂ = 1,95 Hz, 1H, C4'-H), 7.41 (d, J = 1,56 Hz, 1H, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 70.0$ (C5), 102.0 (O-CH₂-O), 107.2 (C2'), 108.9 (C5'), 110.0 (C3), 115.5 (C6'), 122.7 (C1'), 148.5 (C4'), 150.5 (C3'), 151.0 (C4), 169.4 (C2).

MS (GC-MS): $m/z = 240$ (33%), 239 (16%), 238 (100%, $[\text{M}]^+$), 209 (9%, $[\text{M-CHO}]^+$), 179 (56%, $[\text{C}_9\text{H}_4\text{ClO}_2]^+$), 151 (13%, $[\text{C}_8\text{H}_4\text{ClO}]^+$).

3-Chlor-4-(3-trifluormethylphenyl)furan-2(5H)-on **109**



$\text{C}_{11}\text{H}_6\text{ClF}_3\text{O}_2$
MW.: 262,61 g/mol

Aus 0,81 g (5,28 mmol) 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** und 2 g (10,56 mmol) 3-Trifluormethylphenylboronsäure wurden 1,03 g (3,92 mmol, 74%) des Produkts **109** erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 5:1): 0,23.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 5.12$ (s, 2H, CH₂), 7.58 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, C5'-H), 7.69 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, C6'-H), 7.88 (s, 1H, C4'-H), 7.90 (s, C2'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 70.0$ (C5), 119.1 (C3), 122.0 (C2'), 123.8 (C4'), 123.9 (CF₃), 128.2 (C5'), 129.9 (C6'), 130.4 (C3'), 150.2 (C4), 168.5 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 262$, 263, 264 (62%, 7%, 20%, $[\text{M}]^+$), 243, 245 (13%, 5%, $[\text{M-F}]^+$), 233, 234, 235 (100%, 11%, 33%, $[\text{M-CHO}]^+$), 227 (5%, $[\text{M-Cl}]^+$), 207 (22%), 206 (9%), 205 (68%), 204 (7%), 197 (10%), 187 (11%), 185 (33%), 183 (8%), 182 (5%), 173 (21%), 171 (6%), 170 (21%), 169 (24%), 151 (15%), 149 (6%), 136 (7%), 133 (5%), 99 (7%), 75 (7%), 74 (6%).

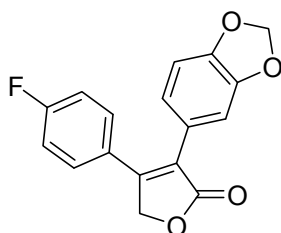
Suzuki-Kupplungen an 4-Aryl-3-chlorfuran-2(5H)-on

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

1 Äquivalent des entsprechenden 4-Aryl-3-chlor-(5H)-furan-2-on, 2 Äquivalente der entsprechenden Boronsäure, 2 Äquivalente Cäsiumfluorid und 5 mol% Benzyltriethylammoniumchlorid wurden in je 5 mL pro mmol Furanon Wasser und Toluol gelöst. Unter Rühren wurde die Mischung entgast und mit Stickstoff geflutet. Nach Zugabe von 5 mol%

Bistriphenylphosphinpalladiumdichlorid wurde über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde mit 2 M Salzsäure wässrig-sauer aufgearbeitet und das Produkt mit Toluol extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum blieb ein gelblicher Feststoff zurück, der säulenchromatographisch gereinigt wurde.

4-(4-Fluorphenyl)-3-(3,4-(methylenedioxy)phenyl)-furan-2(5H)-on **110***



$C_{17}H_{11}FO_4$
MW: 298,27 g/mol

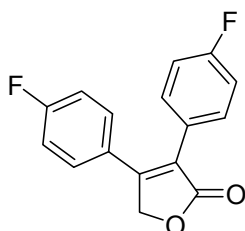
375 mg des 5:1-Gemisches aus 3-Chlor-4-(4-fluorphenyl)furan-2(5H)-on **106** und dem Nebenprodukt 3,4-Di-(4-fluorphenyl)furan-2(5H)-on **111** wurden umgesetzt. Die Verbindungen wurden mittels RP-HPLC (Wasser/Acetonitril) getrennt.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 3:1): 0,30.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 5.12 (s, 2H, C5-H₂), 5.99 (s, 2H, OCH₂O), 6.82 (d, J = 7.8 Hz, 1H, C5'-H), 6.86 (d, J = 2.0 Hz, 1H, C2'-H), 6.91 (q, J₁ = 8.2 Hz, J₂ = 1.6 Hz, 1H, C6'-H), 7.05 (m, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.34 (m, 2H, C2''-H, C6''-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 70.4 (CH₂), 101.3 (OCH₂O), 108.9 (C2'), 109.6 (C5'), 115.9 + 116.5 (C3'', C5''), 123.5 (C6'), 125.9 (C1'), 127.0 (C3), 129.6 + 129.7 (C2'', C6''), 148.0 (C1''), 148.3 (C4), 154.1 (C3'), 165.0 (C4''), 173.5 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 300 (3%), 299 (16%), 298 (100%, [M]⁺), 270 (8,5%, [M-CO]⁺), 241 (58%, [M-CHO-CO]⁺), 211 (16%, [C₁₄H₈FO]⁺), 183 (50%, [C₁₃H₈F]⁺), 147 (31%, [C₉H₇O₂]⁺), 123 (15%, [C₈H₁₂O]⁺).

3,4-Di-(4-fluorphenyl)-furan-2(5H)-on 111*

$C_{16}H_{10}F_2O_2$
MW: 272,25 g/mol

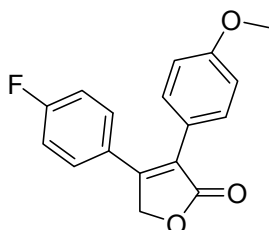
Entstand als Nebenprodukt bei der Kupplung der 4-Fluorboronsäure an 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** in ca. 16% Ausbeute. Die Trennung erfolgte mittels RP-HPLC.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 3:1): 0,32.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 5.14 (s, 2H, C5-H₂), 7.06 (m, 4H, C3'-H, C3''-H, C5'-H, C5''-H), 7.30 (m, 2H, C2'-H, C6'-H), 7.39 (m, 2H, C2''-H, C6''-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 70.5 (C5), 115.9, 116.1 (C3', C5'), 116.3, 116.5 (C3'', C5''), 125.1 (C1'), 125.8 (C3), 126.7 (C1''), 129.5, 129.6 (C2'', C6''), 131.1, 131.2 (C2', C6'), 154.9 (C4), 161.7, 164.2 (C4', C4''), 173.0 (C2).

MS (GC-MS): m/z = 273 (14%), 272 (69%, $[M]^+$), 244 (6%, $[M-CO]^+$), 215 (100%, $[M-CHO-CO]^+$), 194 (14%, $[C_{14}H_7F]^+$), 123 (24%, $[C_8H_8F]^+$).

4-(4-Fluorphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on 112

$C_{17}H_{13}FO_3$
MW: 284,28 g/mol

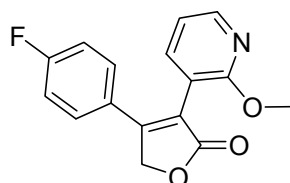
R_t (Methode 2): 9,64 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.81 (s, 3H, CH₃), 5.10 (s, 2H, CH₂), 6.89 (m, 2H, C2'-H, C6'-H), 7.02 (m, 2H, C2''-H, C6''-H), 7.31 – 7.36 (2m, 4H, C3'-H, C6'-H, C3''-H, C6''-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 55.5 (OCH₃), 70.7 (CH₂), 114.7 (C2', C6'), 116.6, 116.9 (C2'', C6''), 122.4 (C4'), 126.0 (C3', C5'), 127.6 (C3'', C5''), 130.0 (C3), 131.0 (C4''), 151.6 (C4), 153.9 (C1'), 160.3 (C1''), 173.9 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 284, 285$ (100%, 16%, $[M]^+$), 256 (12%, $[M-CO]^+$), 228 (18%), 227 (90%, $[M-CH-OCO]^+$), 225 (5%), 213 (5%), 212 (20%), 211 (6%), 197 (6%), 196 (21%), 195 (6%), 194 (6%), 184 (12%), 183 (37%), 182 (5%), 181 (5%), 170 (7%), 161 (20%), 157 (6%), 134 (5%), 133 (50%), 123 (16%), 109 (11%).

4-(4-Fluorphenyl)-3-(2-methoxypyridin-3-yl)-furan-2(5H)-on **113**



$C_{16}H_{12}FNO_3$
MW: 285,27 g/mol

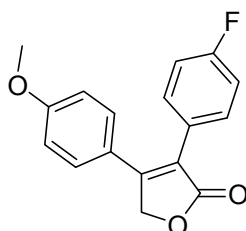
Aus 164 mg (0,77 mmol) des 3-Chlor-4-(4-fluorphenyl)furan-2(5H)-ons **106** wurden 165 mg (1,02 mmol, 75%) Produkts **113** erhalten.

R_t (Methode 1): 6,42 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 3.63$ (s, 3H, OCH_3), 5.18 (s, 2H, $-CH_2-$), 6.94 (m, 1H, $C5'$ -H), 6.98 (m, 2H, $C2''$ -H, $C6''$ -H), 7.18 (m, 2H, $C3''$ -H, $C5''$ -H), 7.63 (dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 7.2$ Hz, 1H, $C6'$ -H), 8.18 (dd, $J_1 = 1.7$ Hz, $J_2 = 5.3$ Hz, 1H, $C4'$ -H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): $\delta = 53.1$ (OCH_3), 70.5 (CH_2), 114.0 ($C5'$), 116.2 , 116.4 ($C2''$, $C6''$), 117.1 ($C3'$), 121.5 ($C3$), 127.8 ($C4'$), 129.2 , 129.3 ($C3''$, $C5''$), 140.4 ($C4''$), 148.1 ($C6'$), 156.7 ($C4$), 161.3 ($C2'$), 165.7 ($C1''$), 173.8 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 284, 285, 286$ (15%, 100%, 18%, $[M]^+$), 270 (9%, $[M-CH_3]^+$), 256 (8%, $[M-CHO]^+$), 254 (5%, $[M-OCH_3]^+$), 241 (11%, $[M-CO_2]^+$), 240 (47%, $[M-HCO_2]^+$), 229 (7%), 228 (41%, $[M-CHCO_2]^+$), 227 (6%), 226 (11%), 214 (9%), 213 (42%), 212 (12%), 210 (6%), 199 (5%), 198 (23%), 197 (9%), 196 (8%), 195 (6%), 185 (105), 184 (11%), 183 (5%), 171 (5%), 170 (17%), 169 (9%), 165 (7%), 158 (5%), 157 (12%), 144 (5%), 134 (13%), 133 (8%), 132 (5%), 123 (13%), 121 (11%), 120 (13%), 109 (10%), 95 (5%).

3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on 114

$C_{17}H_{13}FO_3$
MW: 284,28 g/mol

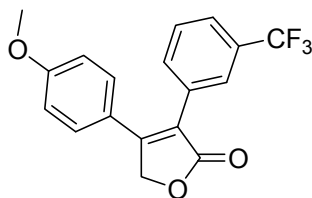
Aus 500 mg (2,23 mmol) des 3-Chlor-4-(4-methoxyphenyl)furan-2(5H)-ons **107** und 623 mg (4,46 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure wurden 610 mg (2,15 mmol, 96%) des Produkts **114** erhalten.

R_t (Methode 2): 9,80 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.83 (s, 3H, CH_3), 5.16 (s, 2H, CH_2), 6.86 (m, 2H, $C3''$ -H, $C5''$ -H), 7.09 (m, 2H, $C3'$ -H, $C5'$ -H), 7.27 (m, 2H, $C2''$ -H, $C6''$ -H), 7.43 (m, 2H, $C2'$ -H, $C6'$ -H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 55.3 (OCH_3), 70.4 (CH_2), 114.4 ($C3''$, $C5''$), 115.7, 115.9 ($C3'$, $C5'$), 122.8 ($C2'$, $C6'$), 126.5 ($C1'$), 129.0 ($C2''$, $C6''$), 131.2 ($C3$), 131.3 ($C1''$), 155.9 ($C4$), 161.5 ($C4''$), 164.0 ($C4'$), 173.7 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 284, 285 (100%, 19%, $[M]^+$), 255 (7%, $[M-CHO]^+$), 239 (4%), 228 (12%), 227 (76%, $[M-CHOCHO]^+$), 212 (18%), 211 (7%), 197 (5%), 196 (16%), 195 (5%), 194 (4%), 184 (9%), 183 (33%), 182 (5%), 176 (4%), 170 (4%), 157 (6%), 136 (5%), 135 (59%), 133 (4%), 109 (6%).

4-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-trifluormethylphenyl)-furan-2(5H)-on 115

$C_{18}H_{13}F_3O_3$
MW: 334,29 g/mol

Aus 0,58 g (2,58 mmol) 3-Chlor-4-(4-(methoxy)phenyl)furan-2(5H)-on **107** und 0,98 g (5,16 mmol) 3-Trifluormethylphenylboronsäure wurden 0,60 g (1,79 mmol, 70%) des Produkts **115** erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 5:1): 0,15.

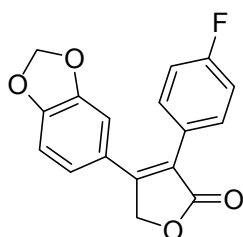
R_t (Methode 2): 9,36 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.81 (s, 3H, CH₃), 5.19 (s, 2H, CH₂), 6.86 (d, J = 8.9 Hz, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.27 (m, 2H, C2''-H, C6''-H), 7.52 (t, J = 6.8 Hz, 1H, C5'-H), 7.64 (t, J = 6.8 Hz, 2H, C6'-H, C4'-H), 7.75 (s, 1H, C2'-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 55.2 (CH₃), 70.4 (CH₂), 114.4 (C3'', C5''), 122.2 (C2'), 125.2 (C6'), 126.1 (C5'), 129.1 (C2'', C6''), 130.7 (C3'), 131.0 (C3), 131.5 (C1''), 132.7 (C1'), 157.2 (C4), 161.7 (C4''), 173.2 (CO).

MS (GC-MS): ^{m/z} = 333, 334, 335 (8%, 100%, 21%, [M]⁺), 315 (8%, [M-F]⁺), 305 (19%, [M-CHO]⁺), 289 (5%, [M-OCHO]⁺), 278 (14%), 277 (81%, [M-CHOCHO]⁺), 262 (16%), 261 (6%), 246 (5%), 233 (10%), 232 (5%), 183 (8%), 178 (5%), 170 (4%), 165 (13%), 159 (5%), 153 (40%).

3-(4-Fluorphenyl)-4-(3,4-(methylenedioxy)phenyl)-furan-2(5H)-on **116***



C₁₇H₁₁FO₄
MW: 298,27 g/mol

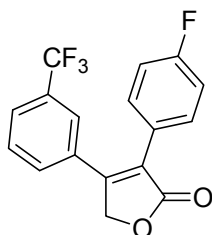
Aus 0,70 g (2,9 mmol) 3-Chlor-4-(3,4-(methylenedioxy)phenyl)furan-2(5H)-on **108** und 0,92 g (5,88 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure wurden 0,70 g (2,35 mmol, 81 %) des Produkts **116** erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 2:1): 0,43.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 5.12 (s, 2H, CH₂), 6.00 (s, 2H, OCH₂O), 6.74 (d, J = 1.6 Hz, 1H, C5''-H), 6.79 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C2''-H), 6.86 (q, J₁ = 1.6 Hz, J₂ = 8.2 Hz, 1H, C6''-H), 7.09 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.42 (m, 2H, C2'-H, C6'-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 70.6 (CH₂), 101.8 (OCH₂O), 107.5 (C2''), 108.9 (C5''), 115.9, 116.1 (C3', C5'), 122.1 (C6''), 124.4 (C1''), 126.3 (C3), 131.2, 131.2 (C2', C6'), 148.3 (C1'), 149.8 (C4), 155.6 (C4''), 161.7 (C3''), 164.1 (C4''), 173.5 (CO).

MS (GC-MS): ^{m/z} = 298, 299, 300 (100 %, 18 %, 3 %, [M]⁺), 269 (7 %, [M-CHO]⁺), 241 (60 %, [M-CHO-CO]⁺), 211 (14 %, [C₁₄H₈FO]⁺), 183 (38 %, [C₁₃H₈F]⁺).

3-(4-Fluorphenyl)-4-(3-trifluormethylphenyl)furan-2(5H)-on 117

$C_{17}H_{10}F_4O_2$
MW: 322,25 g/mol

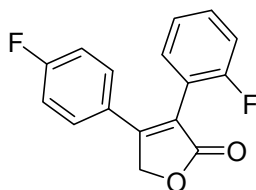
Aus 600 mg einer 3:2-Mischung aus 3-Chlor-4-(3-trifluormethylphenyl)furan-2(5H)-on **109** und 3-(3-Trifluormethylphenyl)-4-(3-trifluormethylphenyl)furan-2(5H)-on und 638 mg (4,55 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure wurden ca. 600 g eines Gemisches erhalten. Aus 400 mg davon wurden mittels RP-HPLC mit Wasser und Acetonitril (45:55) 150 mg (0,47 mmol) **117** erhalten.

R_t (Methode 1): 6,00 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 4.93 (s, 2H, CH_2), 6.82 (t, J = 8.5 Hz, 2H, $C3'$ -H, $C5'$ -H), 7.14 (dd, J_1 = 5.5 Hz, J_2 = 8.3 Hz, 2H, $C2'$ -H, $C6'$ -H), 7.30 (2m, 2H, $C4''$ -H, $C5''$ -H), 7.41 (s, 1H, $C2''$ -H), 7.68 (d, J = 5.6 Hz, 1H, $C2''$ -H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 70.4 (CH_2), 116.2 + 116.4 ($C3'$, $C5'$), 124.4 ($C2''$), 125.6 ($C4''$), 127.1 (CF_3), 127.5 ($C1'$), 130.1 ($C5''$), 131.1 ($C6''$), 131.4 ($C3''$), 131.5 ($C3$), 131.9 ($C1''$), 154.7 ($C4$), 164.9 ($C4'$), 173.3 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 323 (15%, $[M+H]^+$), 322 (82%, $[M]^+$), 303 (8%), 294 (5%), 293 (6%, $[M-CHO]^+$), 266 (19%), 265 (100%, $[M-HCOCO]^+$), 264 (8%), 245 (25%), 225 (12%), 207 (6%), 197 (6%), 196 (29%), 194 (6%), 173 (8%), 149 (16%), 121 (15%).

3-(2-Fluorphenyl)-4-(4-Fluorphenyl)furan-2(5H)-on 139

$C_{16}H_{10}F_2O_2$
MW: 272,25 g/mol

Es wurden 0,50 g (3,27 mmol) 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** und 0,91 g (6,54 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure sowie 0,91 g (6,54 mmol) 2-Fluorphenylboronsäure eingesetzt.

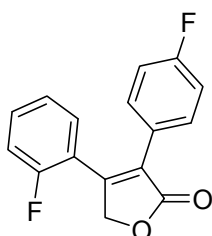
R_t (Methode 2): 6,00 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 5.23 (s, 2H, CH_2), 6.97 – 7.19 (m, 5H, $\text{C}3'$, $\text{C}4'$, $\text{C}5'$, $\text{C}3''$, $\text{C}5''$), 7.32 (m, 2H, $\text{C}2''$, $\text{C}6''$), 7.34 (t, J = 7.4 Hz, 1H, $\text{C}6'$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 70.6 (CH_2), 116.0, 116.1 ($\text{C}3''$, $\text{C}5''$), 116.26, 116.3 ($\text{C}3'$), 118.3 ($\text{C}1'$), 118.2 ($\text{C}5'$), 124.7 ($\text{C}6'$), 126.8 ($\text{C}7'$), 129.1 ($\text{C}2''$, $\text{C}6''$), 131.0 ($\text{C}4'$), 131.3 ($\text{C}1''$), 157.0 ($\text{C}4$), 158.5 ($\text{C}2'$), 162.7 ($\text{C}4''$), 172.9 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 273 (12%), 272 (74%, $[\text{M}]^+$), 271 (26%), 244 (8%, $[\text{M-CO}]^+$), 243 (13%), 227 (5%, $[\text{M-OCOH}]^+$), 216 (15%), 215 (100%, $[\text{M-CHOCOH}]^+$), 214 (24%), 212 (4%), 207 (5%), 201 (4%), 195 (16%), 194 (17%), 175 (8%), 149 (10%), 123 (7%), 94 (4%).

3-(4-Fluorphenyl)-4-(2-Fluorphenyl)furan-2(5H)-on **140**



$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{F}_2\text{O}_2$
MW: 272,25 g/mol

Es wurden 0,50 g (3,27 mmol) 3,4-Dichloro-(5H)-furan-2-on **104** und 0,91 g (6,54 mmol) 2-Fluorphenylboronsäure sowie 0,91 g (6,54 mmol) 4-Fluorphenylboronsäure eingesetzt.

R_t (Methode 2): 6,16 min.

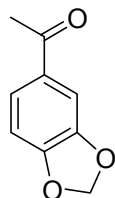
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 5.19 (s, 2H, CH_2), 7.01 – 7.22 (m, 5H, $\text{C}3'$ -H, $\text{C}5'$ -H, $\text{C}3''$ -H, $\text{C}4''$ -H, $\text{C}5''$ -H), 7.42 (m, 3H, $\text{C}2'$ -H, $\text{C}6'$ -H, $\text{C}6''$ -H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 71.2 (CH_2), 115.6, 115.9 ($\text{C}3'$, $\text{C}5'$), 116.6, 116.8 ($\text{C}3''$), 118.9 ($\text{C}1''$), 124.7 ($\text{C}5''$), 128.0 ($\text{C}6''$), 130.0 ($\text{C}1'$), 130.1 ($\text{C}2'$, $\text{C}6'$), 130.9 ($\text{C}4''$), 132.2 ($\text{C}3$), 152.0 ($\text{C}4$), 158.7 ($\text{C}2''$), 161.7 ($\text{C}3'$), 172.6 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 273 (23%), 272 (100%, $[\text{M}]^+$), 271 (6%), 244 (12%, $[\text{M-CO}]^+$), 243 (10%), 227 (12%, $[\text{M-OCOH}]^+$), 225 (7%), 216 (25%), 215 (100%, $[\text{M-CHOCOH}]^+$), 214 (60%), 213 (5%), 212 (9%), 201 (10%), 196 (5%), 195 (23%), 194 (24%), 193 (8%), 188 (7%), 149 (15%), 123 (40%), 121 (9%), 120 (6%), 107 (8%), 94 (6%).

Klassischer Syntheseweg

1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)ethanon **132**



$C_9H_8O_3$
MW: 164,16

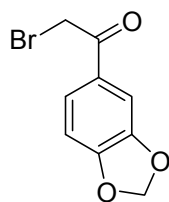
1,07 g (44 mmol, 1,1 eq) Magnesiumspäne wurden in 1 mL abs. Ethanol vorgelegt und mit 100 μ L Tetrachlorkohlenstoff versetzt. Weitere 15 mL Ethanol wurden zugegeben. Eine Mischung aus 7,04 g (44 mmol, 1,1 eq) Diethylmalonat in 4 mL Ethanol und 5 mL Diethylether wurden über einen Tropftrichter so zugegeben, dass die Reaktionslösung siedete. Anfangs wurde mit einer *heatgun* kurz erhitzt. Nach erfolgter Zugabe wurde noch 3 h zum Rückfluss erhitzt. 7,4 g (40 mmol) 3,4-Methylenedioxybenzoesäurechlorid wurden in 50 mL Diethylether gelöst, zur siedenden Lösung gegeben und erneut 1 h gekocht. Nach dem Abkühlen wurde mit 2 M Schwefelsäure sauer gestellt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in einer Mischung aus 12 mL Essigsäure, 1,5 mL konz. Schwefelsäure und 4 mL Wasser aufgenommen und 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 2 M Natronlauge basisch gestellt und die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels blieb ein brauner Feststoff zurück, der aus wenig Ethanol umkristallisiert wurde. Es wurden 4,03 g (24,6 mmol, 62%) des gewünschten Produkts **132** als beiger Feststoff erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 1:1): 0,71.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 2.54 (CH_3), 6.04 (CH_2), 6.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C5-H), 7.43 (s, 1H, C2-H), 7.55 (dd, J_1 = 1.8 Hz, J_2 = 8.1 Hz, 1H, C6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 26.5 (CH_3), 101.9 (CH_2), 107.9 (C2), 119.0 (C5), 124.8 (C6), 132.0 (C1), 148.2 (C3), 151.7 (C4), 196.5 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 164, 165 (100%, 15%, $[\text{M}]^+$), 150 (24%), 149 (100%, $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$), 122 (7%), 121 (83%, $[\text{M}-\text{COCH}_3]^+$), 119 (5%), 91 (16%), 77 (5%), 74 (8%), 65 (33%), 63 (28%), 62 (13%), 61 (4%), 53 (4%), 51 (4%), 50 (5%).

2-Brom-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)ethanon 128

$C_9H_7BrO_3$
MW: 243,05

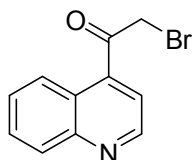
3,17 g (19,3 mmol) 1-(3,4-Methylenedioxyphenyl)ethanon wurden in 150 mL Diethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt. Der Kolben wurde mit einem Septum verschlossen, durch das mit einer Spritze 1 mL (19,3 mmol) Brom in ca. 10 min zugegeben wurde. Die Lösung wurde sofort bei rt vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde mit viel Wasser gewaschen, abfiltriert und über P_4O_{10} im Exsikkator getrocknet. Das Produkt wurde in quantitativer Ausbeute erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 1:1): 0,78.

^1H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 4.38 (s, 2H, CH_2Br), 6.07 (s, 2H, CH_2), 6.86 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C5-H), 7.43 (d, J = 1.7 Hz, 1H, C2-H), 7.58 (d, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 8.1 Hz, 1H, C6-H).

$^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 30.8 (CH_2Br), 102.1 (CH_2), 108.1 (C2), 108.5 (C5), 125.6 (C6), 128.6 (C1), 148.4 (C3), 152.6 (C4), 189.6 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 242, 244 (16%, 16%, $[M]^+$), 150 (9%), 149 (100%), 135 (10%), 121 (14%), 91 (4%), 77 (6%), 65 (9%), 63 (9%), 62 (5%), 51 (4%).

2-Brom-1-chinolin-4-ylethanon 126

$C_{11}H_8BrNO$
MW: 250,09 g/mol

0,35 g (2,05 mmol) 1-Chinolinethanon **127** wurden in einem Rundkolben in 10 mL Diethylether gelöst, mit einem Septum verschlossen und auf 0 °C gekühlt. 0,1 mL (2,05 mmol) Brom wurden zugegeben und die Mischung ca. 5 min nachgerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit Wasser gewaschen. Es wurden 0,18 g (0,72 mmol, 35%) des Produkts erhalten.

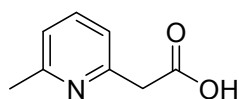
R_t (Methode 1): 5,51 min.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 400 MHz): δ = 4.85 (s, 2H, CH_2Br), 7.59 (m, 1H, C6-H), 7.76 (m, 1H, C7-H), 7.96 (d, J = 8.2 Hz, 1H, C8-H), 7.99 (d, J = 5.1 Hz, 1H, C3-H), 8.06 (dd, J_1 = 0.7 Hz, J_2 = 8.6 Hz, 1H, C5-H), 9.10 (d, J = 5.1 Hz, 1H, C2-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, 100 MHz): δ = 30.6 (CH_2Br), 120.5 (C3), 126.1 (C5), 129.9 (C6), 132.9 (C7), 147.8 (C2), 201.1 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 251, 249 (20%, $[\text{M}]^+$), 157 (11%), 156 (100%, $[\text{M}-\text{CH}_2\text{Br}]^+$), 142 (6%), 129 (8%), 128 (70%, $[\text{M}-\text{COCH}_2\text{Br}]^+$), 115 (9%), 101 (25%), 75 (15%), 74 (6%), 63 (3%), 51 (5%).

2-(6-Methylpyridin-2-yl)essigsäure **125**



$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$
MW: 151,16 g/mol

10 mL (85,8 mmol) 2,6-Lutidin wurden in 100 mL THF vorgelegt und in einem kalten Wasserbad gekühlt. 62 mL (86,8 mmol) *n*-Buthyllithium (1,4 M in Hexan) wurden zugetropft. Nach 30 min nachrühren wurde ein großer Überschuss an CO_2 eingeleitet. Es trat ein Farbumschlag von rot nach gelb ein. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Methanol gelöst. Eine zuvor auf pH = 5 eingestellte Suspension des Ionenaustauschers Amberlite IR 120 wurde zugegeben und einige Minuten gerührt bis sie erneut ein pH-Wert von 5 eingestellt hatte. Die Suspension wurde filtriert, das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt **125** blieb als gelber Rückstand zurück.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 400 MHz): δ = 2.37 (s, 3H, CH_3), 3.43 (s, 2H, CH_2), 6.69 (d, J = 7.50 Hz, 1H, C5), 7.06 (d, J = 7.66 Hz, 1H, C3), 7.51 (t, J = 7.64 Hz, 1H, C4).

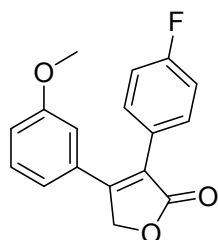
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, 100 MHz): δ = 23.8 (CH_3), 47.3 (CH_2), 120.0 (C5'), 120.8 (C3'), 136.2 (C4'), 156.5 (C2'), 157.9 (C6'), 173.3 (CO_2H).

Zyklisierung zum Lacton

Allgemeine Arbeitsvorschrift

1 Äquivalent der substituierten Essigsäure und 1 Äquivalent des Phenacylbromids wurden in Acetonitril gelöst und mit 1,1 Äquivalenten Triethylamin versetzt. Die Reaktionslösung wurde gerührt bis die Edukte im DC nicht mehr nachweisbar waren (0,5 – 16 h). Nun wurde die Reaktionslösung im Eisbad abgekühlt und 2 Äquivalente DBU zugegeben. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt über Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt.

3-(4-Fluorphenyl)-4-(3-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **119**



$C_{17}H_{13}FO_3$
MW: 284,28 g/mol

Aus 0,5 g (3,24 mmol) 2-(4-Fluorphenyl)essigsäure und 0,74 g (3,24 mmol) 2-Brom-1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethanon in 15 mL Acetonitril wurden nach säulenchromatographischer Reinigung mit Petrolether und Essigsäureethylester (3:1) 0,14 g (0,05 mmol, 15%) des Produkts **119** erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 1:1): 0,05.

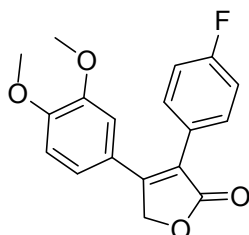
R_t (Methode 2): 9,47 min.

^1H-NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.61 (s, 3H, CH_3), 5.01 (s, 2H, CH_2), 6.74 (t, J = 1.9 Hz, 1H, $C4''$ -H), 6.82 (d, J = 7.8 Hz, 1H, $C2''$ -H), 6.88 (dd, J_1 = 2.5 Hz, J_2 = 8.3 Hz, 1H, $C6''$ -H), 7.01 (m, 2H, $C3'$ -H, $C5'$ -H), 7.21 (m, 1H, $C5''$ -H), 7.37 (m, 2H, $C2'$ -H, $C6'$ -H).

$^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 55.0 (CH_3), 70.6 (CH_2), 113.1 ($C2''$), 115.9 ($C4''$), 116.1, 116.6 ($C3'$, $C5'$), 119.9 ($C6''$), 130.6 ($C5''$), 131.6 ($C2'$, $C6'$), 160.3 ($C3''$), 164.7 ($C4'$), 169.4 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 284, 285 (100%, 18%, $[M]^+$), 256 (13%), 255 (22%, $[M-CHO]^+$), 228 (17%), 227 (93%, $[M-CHOCO]^+$), 213 (5%), 212 (27%), 197 (7%), 196 (22%), 195 (7%), 194 (6%), 184 (11%), 183 (35%), 182 (4%), 181 (4%), 170 (6%), 157 (5%), 136 (4%), 135 (47%, $[C_8H_4FO]^+$), 133 (6%), 109 (5%).

4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)-furan-2(5H)-on 120



$C_{18}H_{15}FO_4$
MW: 314,31 g/mol

Aus 1,0 g (6,48 mmol) 2-(4-Fluorphenyl)essigsäure und 1,68 g (6,48 mmol) 2-Brom-1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethanon in 30 mL Acetonitril wurden nach säulenchromatographischer Reinigung mit Petrolether und Essigsäureethylester 5:1 1,31 g (4,17 mmol, 64%) des Produkts **120** erhalten.

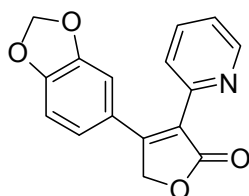
R_t (Methode 2): 10,16 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.58 (s, 3H, C4'-CH₃), 3.90 (s, 3H, C3'-CH₃), 5.18 (s, 2H, CH₂), 6.78 (t, J = 1.8 Hz, 1H, C5''-H), 6.84 (m, 1H, C2''-H), 6.94 (dt, J₁ = 1.7 Hz, J₂ = 8.3 Hz, 1H, C2''-H), 7.1 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.45 (m, 2H, C2'-H, C6'-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 55.4 (C3''-CH₃), 55.8 (C4''-CH₃), 70.3 (CH₂), 110.2 (C2''), 111.0 (C5''), 115.5, 115.7 (C3', C5'), 120.5 (C6''), 122.8 (C1'), 123.1 (C1''), 126.5 (C2''), 131.2, 131.3 (C2', C6'), 148.8 (C3''), 151.1 (C4''), 156.0 (C4), 161.4, 163.8 (C4'), 173.5 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 314, 315 (100%, 20%, [M]⁺), 285 (6%, [M-CHO]⁺), 258 (9%), 257 (50%, [M-CHOHCO]⁺), 242 (6%), 227 (6%), 226 (7%), 199 (4%), 196 (5%), 184 (4%), 183 (18%), 171 (4%), 170 (11%), 166 (4%), 165 (40%), 144 (4%).

4-(3,4-Methylenedioxyphenyl)-3-(pyridin-2-yl)furan-2(5H)-on 135



$C_{16}H_{11}NO_4$
MW: 281,26 g/mol

Aus 500 mg 2-(Pyridin-2-yl)essigsäure Hydrochlorid und 700 mg 2-Brom-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)ethanon wurden 516 mg (1,84 mmol, 64%) Produkt erhalten.

R_F (Petrolether : Ethylacetat = 5:1): 0,22.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 5.20 (s, 2H, CH_2), 5.99 (s, 2H, OCH_2O), 6.79 (d, J = 6.5 Hz, 1H, $\text{C}5''\text{-H}$), 6.80 (s, 1H, $\text{C}2''\text{-H}$), 6.92 (dd, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 8.2 Hz, 1H, $\text{C}6''\text{-H}$), 7.33 (dd, J_1 = 4.9 Hz, J_2 = 7.6 Hz, 1H, $\text{C}5'\text{-H}$), 7.62 (d, J = 7.9 Hz, 1H, $\text{C}3'\text{-H}$), 7.82 (dt, J_1 = 1.8 Hz, J_2 = 7.8 Hz, 1H, $\text{C}4'\text{-H}$), 8.67 (d, J = 4.8 Hz, 1H, $\text{C}6'\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 70.5 (CH_2), 101.7 ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), 108.2 ($\text{C}2''$), 108.6 ($\text{C}5''$), 122.6 ($\text{C}6''$), 123.6 ($\text{C}3'$), 124.0 ($\text{C}3$), 125.1 ($\text{C}5'$), 130.4 ($\text{C}1''$), 137.0 ($\text{C}4'$), 148.1 ($\text{C}6'$), 150.1 ($\text{C}4''$), 150.3 ($\text{C}3''$), 158.36 ($\text{C}2'$), 173.3 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 281 (29%, $[\text{M}]^+$), 280 (100%, $[\text{M}-\text{H}]^+$), 252 (5%, $[\text{M}-\text{CHO}]^+$), 224 (5%, $[\text{M}-\text{CHOCO}]^+$), 223 (4%), 207 (4%), 166 (5%), 165 (3%), 139 (3%).

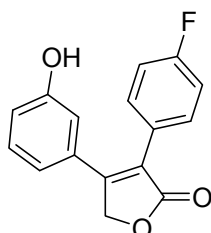
Spaltung des Methylesters

Methode A: Allgemeine Arbeitsvorschrift analog Russell et al.

Das Methyletherderivat wurde mit der gleichen Masse an Aluminiumtrichlorid in Toluol gelöst. Die Lösung wurde ca. 2 h auf 130 °C erhitzt und dann auf 2 N HCl gegossen. Nach mehrmaligem Extrahieren mit Essigsäureethylester wurde die organische Phase getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt.

Methode B: Allgemeine Arbeitsvorschrift

Das Methyletherderivat wurde mit der 10 fachen Masse an trockenem Pyridinium Hydrochlorid 15 min auf 220 °C erhitzt. Die heiße Schmelze wurde auf Wasser gegossen und nach Erkalten mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt.

4-(3-Hydroxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)-furan-2(5H)-on 121

$C_{16}H_{11}FO_3$
MW: 270,26 g/mol

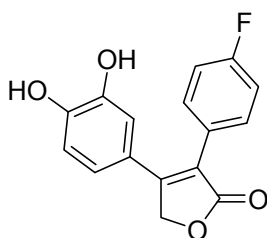
0,15 g (0,53 mmol) 3-(4-Fluorphenyl)-4-(3-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **119** wurden nach Methode 1 zu 0,12 g (0,44 mmol, 84%) des Produkts **121** umgesetzt.

R_t (Methode 1): 7,22 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 5.14 (s, 2H, CH_2), 6.76 – 6.96 (3m, 4H, $C3'$ -H, $C5'$ -H, $C4''$ -H), 7.03 – 7.19 (2m, 2H, $C2''$ -H, $C6''$ -H), 7.41 – 7.46 (m, 2H, $C2'$ -H, $C6'$ -H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 70.5 (CH_2), 114.3 ($C2''$), 115.4 ($C3'$, $C5'$), 115.7 ($C4''$), 118.4 ($C6''$), 129.7 ($C1'$), 130.1 ($C2'$, $C6'$), 131.6 ($C3$), 157.8 ($C3''$), 161.5 ($C4'$), 173.5 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 271 (18%), 270 (100%, $[M]^+$), 242 (11%), 241 (22%, $[M-HCO]^+$), 225 (8%), 214 (17%), 213 (91%, $[M-CH_2OCO]^+$), 212 (8%), 196 (12%), 195 (12%), 194 (7%), 184 (9%), 183 (37%), 170 (10%), 165 (24%), 157 (6%), 149 (6%), 133 (5%), 121 (35%).

4-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)-furan-2(5H)-on 122

$C_{16}H_{11}FO_4$
MW: 286,25 g/mol

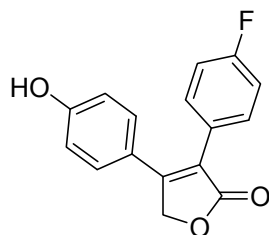
0,10 g (0,32 mmol) 3-(4-Fluorphenyl)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **120** wurden nach Methode 2 zu 0,08 g (0,28 mmol, 88%) des Produkts **122** umgesetzt.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 5.01 (s, 2H, CH_2), 6.66 (dd, J_1 = 2.1 Hz, J_2 = 8.3 Hz, 1H, $C5''$ -H), 6.73 (d, J = 8.3 Hz, 1H, $C2''$ -H), 6.77 (d, J = 2.1 Hz, 1H, $C6''$ -H), 7.02 (t, J = 8.7 Hz,

2H, C3'-H, C5'-H), 7.37 (dd, $J_1 = 5.2$ Hz, $J_2 = 8.1$ Hz, 1H, C2'-H, C6'-H), 8.28 (s, 1H, OH), 8.67 (s, 1H, OH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 70.6$ (CH₂), 114.6 (C3', C5'), 115.6 (C2''), 115.8 (C5''), 120.0 (C6''), 122.0 (C1'), 127.0 (C1''), 131.3 (C2', C6'), 145.3 (C3''), 148.0 (C4''), 156.9 (C4), 161.3 (C4'), 174.0 (CO).

4-(4-Hydroxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)-furan-2(5H)-on **123**



C₁₆H₁₁FO₃
MW: 270,26 g/mol

0,06 g (0,20 mmol) 3-(4-Fluorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **112** wurden nach Methode 1 zu 0,04 g (0,15 mmol, 74%) des Produkts **123** umgesetzt.

R_t (Methode 1): 7,60 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): $\delta = 5.16$ (s, 3H, CH₃), 6.80 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.01 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, C2''-H, C6''-H), 7.42 (dd, $J_1 = 5.7$ Hz, $J_2 = 8.3$ Hz, 2H, C2'-H, C6'-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): $\delta = 70.4$ (CH₂), 115.6 (C3', C5'), 116.1 (C3'', C5''), 121.2 (C1'), 122.1 (C1''), 126.9 (C3), 129.1 (C2'', C6''), 131.2 (C2', C6'), 156.6 (C4''), 160.1 (C4'), 174.0 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 271$ (17%), 270 (100%, [M]⁺), 269 (5%), 241 (8%, [M-COH]⁺), 225 (8%, [M-OCO]⁺), 214 (12%), 213 (76%, [M-CH₂OCO]⁺), 212 (10%), 196 (7%), 195 (7%), 194 (5%), 184 (8%), 183 (34%), 170 (8%), 165 (20%), 157 (6%), 121 (48%).

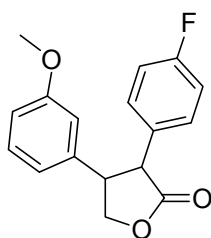
Hydrierung zum gesättigten γ -Lacton

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

Die Hydrierungen erfolgten nach einer Vorschrift von Abe *et al.*¹⁰³.

1 eq Lacton und 0,5 eq $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ wurden in Methanol gelöst, portionsweise mit insgesamt 4 eq NaBH_4 versetzt und über Nacht bei rt gerührt. Der schwarze Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat mit halbkonzentrierter Salzsäure angesäuert. Das Methanol wurde entfernt und der Rückstand nach Verdünnung mit Wasser mit Diethylether mehrfach extrahiert. Die Etherphase wurde mit ges. Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit Petrolether und Essigsäureethylester (3:1) gereinigt.

3-(4-Fluorphenyl)-4-(3-methoxyphenyl)-dihydrofuran-2(3H)-on **142**



$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{FO}_3$
MW: 286,3 g/mol

Aus 0,40 g (1,41 mmol) 3-(4-Fluorphenyl)-4-(3-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **119** wurden 0,26 g (0,91 mmol, 64%) des Produkts **142** erhalten.

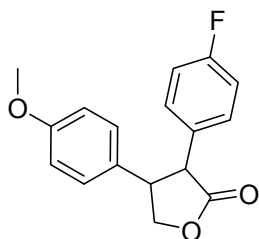
R_t (Methode 2): 9,15 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 3.66 (s, 3H, CH_3), 3.69 (m, 1H, C4-H), 3.84 (d, J = 12.0 Hz, 1H, C3-H), 4.20 (dd, J_1 = 9.3 Hz, J_2 = 10.2 Hz, 1H, C5-H), 4.57 (dd, J_1 = 8.1 Hz, J_2 = 9.0 Hz, 1H, C5-H), 6.64 (d, J = 1.6 Hz, 1H, C5''-H), 6.70 (d, J = 7.6 Hz, 1H, C2''-H), 6.73 (dd, J_1 = 2.3 Hz, J_2 = 8.3 Hz, 1H, C6''-H), 6.89 (m, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.04 (m, 2H, C2'-H, C6'-H), 7.16 (t, J = 7.9 Hz, 1H, C4'').

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 50.4 (C4), 52.1 (C3), 55.1 (CH_3), 71.5 (C5), 112.7 (C2''), 113.4 (C4''), 115.6, 115.8 (C3', C5'), 119.2 (C6''), 129.9, 130.1 (C2', C6'), 130.8 (C5''), 138.1 (C1'), 159.9 (C1''), 160.9 (C4'), 163.4 (C3''), 176.0 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 286, 287 (100%, 18%, $[M]^+$), 268 (9%), 242 (14%, $[M-CO_2]^+$), 241 (25%), 228 (10%), 227 (30%, $[M-CH_3OCO]^+$), 226 (6%), 212 (17%), 211 (29%), 210 (9%), 209 (7%), 197 (9%), 196 (18%), 184 (18%), 184 (9%), 183 (26%), 170 (7%), 165 (9%), 150 (15%), 146 (6%), 136 (30%), 134 (18%), 133 (24%, $[C_8H_5FO]^+$), 121 (10%), 115 (6%), 109 (11%), 108 (19%), 107 (7%), 91 (7%).

3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-dihydrofuran-2(3H)-on **143**



$C_{17}H_{15}FO_3$
MW: 286,3 g/mol

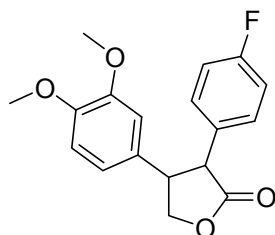
Aus 0,50 g (2,11 mmol) 3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **112** wurden 0,59 g (2,06 mmol, 97%) des Produkts **143** erhalten.

R_t (Methode 2): 9,30 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 3.73 (m, 1H, C4-H), 3.79 (s, 3H, CH_3), 3.85 (t, J = 12.0 Hz, 1H, C3-H), 4.29 (dd, J_1 = 9.2 Hz, J_2 = 10.4 Hz, 1H, C5-H), 4.67 (dd, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 9.1 Hz, 1H, C5-H), 6.87 (m, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.00 (dt, J_1 = 2.6 Hz, J_2 = 8.7 Hz, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.12 (2m, 4H, C2''-H, C6''-H, C2'-H, C6'-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 50.0 (C4), 52.6 (CH_3), 55.3 (C3), 71.8 (C5), 114.5 (C3'', C5''), 115.7, 115.9 (C3', C5'), 128.3 (C2'', C6''), 130.0, 130.1 (C2', C6'), 159.2 (C4''), 161.0, 163.5 (C4'), 176.2 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 286, 287 (100%, 19%, $[M]^+$), 241 (9%), 228 (10%), 213 (10%), 196 (8%), 184 (7%), 183 (25%), 170 (8%), 165 (13%), 151 (6%), 150 (48%), 137 (9%), 136 (96%), 135 (9%), 134 (72%), 133 (18%), 122 (6%), 121 (53%), 119 (12%), 109 (10%), 108 (21%), 107 (8%), 91 (11%), 77 (7%).

3-(4-Fluorphenyl)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-dihydrofuran-2(3H)-on 144

$C_{18}H_{17}FO_4$
MW: 316,32 g/mol

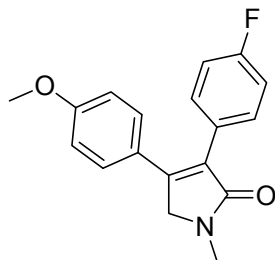
Aus 0,14 g (0,45 mmol) 3-(4-Fluorphenyl)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-furan-2(5H)-on **120** wurden 0,04 g (0,13 mmol, 28%) des Produkts **143** erhalten.

R_t (Methode 1): 7,13 min.

MS (GC-MS): m/z = 317 (19%), 316 (100%), 183 (9%), 181 (7%), 180 (59%), 171 (5%), 170 (5%), 165 (14%), 164 (30%), 152 (5%), 151 (37%), 149 (9%), 136 (12%), 133 (5%), 109 (5%), 108 (6%).

6.6 γ -Lactame

3-(4-Fluorphenyl)-4-(methoxyphenyl)-1-methyl-1*H*-pyrrol-2(5*H*)-on **145**



$C_{18}H_{16}FNO_2$
MW: 297,32 g/mol

20 mg (0,07 mmol) des Lactons **114** wurden mit 0,2 mL einer 40%igen Ammoniaklösung und 3 mL Wasser in einem Mikrowellen-Vial verschlossen und 15 min im Mikrowellensynthesizer auf 150 °C erhitzt. Nach dem Erkalten der Lösung wurde mehrfach mit Essigsäureethylester extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester (1:1) gereinigt. Es wurden ca. 15 mg (0,05 mmol, 71%) des Produkts **145** erhalten.

R_f: (Methode 2): 10,25 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 3.15 (s, 3H, NCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 4.26 (s, 2H, CH₂), 6.81 (d, J = 8.7 Hz, 2H, C3''-H, C5''-H), 7.03 (t, J = 8.7, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.20 (m, 2H, C2''-H, C6''-H), 7.39 (m, 2H, C2'-H, C6'-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 29.3 (NCH₃), 54.3 (CH₂), 55.2 (OCH₃), 114.2 (C3'', C5''), 115.4, 115.6 (C3', C5'), 125.4 (C3), 128.5 (C2'', C6''), 128.9 (C2', C6'), 130.1 (C1'), 131.6 (C1''), 147.0 (C4), 160.4 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 296, 297, 298 (18%, 100%, 19%, [M]⁺), 282 (9%, [M-CH₃]⁺), 269 (8%), 268 (39%, [M-CHO]⁺), 254 (7%), 239 (6%, [M-NHCH₃CHO]⁺), 238 (5%), 225 (5%), 196 (7%), 183 (135), 148 (15%).

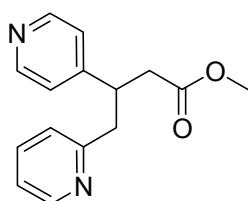
6.7 Synthese der verlängerten offenkettigen Amide

Synthese der zweifach substituierten Butansäuremethylester

Allgemeine Arbeitsvorschrift

0,86 mL (6,12 mmol, 2 eq) Diisopropylamin wurden in abs. THF vorgelegt und unter Schutzgas auf -78 °C gekühlt. 4,2 mL (6,73 mmol, 2,2 eq) *n*-BuLi wurden langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wurde kurz aufgetaut und dann wieder auf -78 °C gekühlt. Es wurden 0,4 mL (3,06 mmol, 1 eq) 4-Methylchinolin zugetropft. Nach 30 min rühren bei -78 °C wurde eine Lösung von 0,5 g (3,06 mmol) des Pyridylacrylates in 10 mL THF zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht aufgetaut, dann mit ges. Ammoniumchloridlösung versetzt und mit Diethylether mehrfach extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit ges. Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan und Methanol (1%) gereinigt. Da die Reinheit noch nicht hoch genug war, war eine weitere Reinigung mittels präparativer RP-HPLC mit Wasser/Acetonitril nötig. Es wurde nur ein Teil der Substanzmenge gereinigt, weshalb keine Ausbeute angegeben werden kann.

4-(Pyridin-2-yl)-3-(pyridin-4-yl)butansäuremethylester 170



$C_{15}H_{16}N_2O_2$
MW: 256,3 g/mol

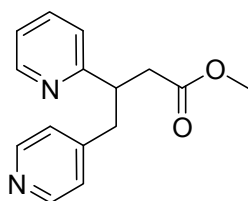
R_t (Methode1): 5,84 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.65 - 2.80 (2m, 2H, CH_2CO), 3.02 - 3.18 (2m, 2H, CH_2CH), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (m, 1H, CH_2CH), 6.97 (d, J = 7.7 Hz, 1H, C5'-H), 7.09 (d, J = 5.1 Hz, 1H, C3'-H), 7.12 (d, J = 5.5 Hz, 2H, C3-H, C5-H), 7.52 (dt, J_1 = 1.7, J_2 = 7.7, 1H, C4'-H), 8.49 (s, br, 2H, C2-H, C6-H), 8.53 (d, J = 4.8 Hz, 1H, C6'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 39.3$ ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}$), 41.6 (CH), 44.0 ($\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}$), 51.6 (OCH_3), 121.6 (C3, C6), 122.6 (C5'), 123.7 (C3'), 136.3 (C4'), 149.4 (C6'), 149.8 (C2, C6), 152.3 (C4), 158.5 (C2'), 171.8 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 256$ (37%, $[\text{M}]^+$), 255 (37%), 241 (23%, $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$), 226 (4%), 225 (25%, $[\text{M} - \text{OCH}_3]^+$), 198 (15%), 197 (100%, $[\text{M} - \text{COOCH}_3]^+$), 195 (9%), 184 (10%), 183 (79%, $[\text{M} - \text{CH}_2\text{COOCH}_3]^+$), 182 (30%), 181 (24%), 169 (5%), 168 (10%), 164 (8%), 156 (4%), 154 (4%), 94 (5%), 93 (44%), 92 (8%, $[\text{pyCH}_2]^+$), 78 (8%, $[\text{py}]^+$), 77 (4%), 65 (8%), 51 (6%).

3-(Pyridin-2-yl)-4-(pyridin-4-yl)butansäuremethylester 171



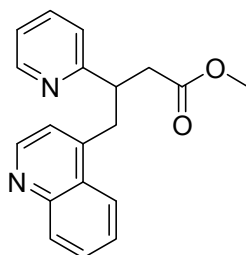
$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$
MW: 256,3 g/mol

R_t (Methode1): 5,75 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.71$ (dd, $J_1 = 6.0$ Hz, $J_2 = 16.2$ Hz, 1H, CHHCO_2Me), 2.91 – 3.10 (3 m, 3H, CHHCO_2Me , CH_2CH), 3.55 (m, 1H, CH), 3.58 (s, 3H, CH_3), 6.93 (s, br, 1H, C5-H), 6.95 (s, br, 2H, C3'-H, C5'-H), 7.11 (m, 1H, C3-H), 7.49 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, C4-H), 8.41 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H, C2'-H, C6'-H), 8.57 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H, C6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 38.7$ ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{COOMe}$), 40.4 (CH_2), 44.6 (CH), 51.6 (Me), 121.9 (C5), 123.6 (C3), 124.5 (C3', C5'), 136.3 (C4), 148.6 (C4'), 149.5 (C6), 149.6 (C2', C6'), 161.3 (C2), 172.6 (CO).

MS (GC-MS): $m/z = 256$ (13%, $[\text{M}]^+$), 255 (15%, $[\text{M}-\text{H}]^+$), 241 (8%), 225 (17%), 197 (17%, $[\text{M} - \text{CONHCH}_3]^+$), 184 (13%), 183 (100%, $[\text{M} - \text{CH}_2\text{CONHCH}_3]^+$), 182 (20%), 168 (5%), 164 (5%), 132 (9%), 104 (5%), 93 (4%), 78 (5%, $[\text{C}_5\text{H}_4\text{N}]^+$), 65 (3%).

4-(Chinolin-4-yl)-3-(pyridin-2-yl)butansäuremethylester 172

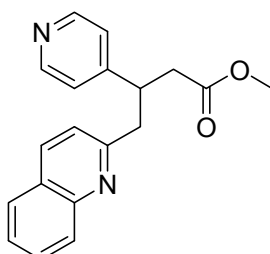
$C_{19}H_{18}N_2O_2$
MW: 306,36 g/mol

R_t (Methode1): 7,11 min.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}$, 400 MHz): δ = 2.87 (m, 1H, CHCH_2HCO), 2.99 (m, 1H, CHCH_2HCO), 3.50 (m, 1H, CHCH_2H), 3.59 (m, 1H, CHCH_2H), 3.62 (s, 3H, OCH_3), 6.79 (d, J = 7.4 Hz, 1H, $\text{C}3'\text{-H}$), 7.00 (d, J = 4.5 Hz, 1H, $\text{C}5\text{-H}$), 7.13 (m, 1H, $\text{C}3\text{-H}$), 7.44 (t, J = 7.4 Hz, 1H, $\text{C}6'\text{-H}$), 7.65 (m, 1H, $\text{C}7'\text{-H}$), 7.76 (t, J = 7.6 Hz, $\text{C}4\text{-H}$), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H, $\text{C}5'\text{-H}$), 8.23 (d, J = 8.4 Hz, 1H, $\text{C}8'\text{-H}$), 8.59 (d, J = 4.5 Hz, 1H, $\text{C}6\text{-H}$), 8.68 (d, J = 4.2 Hz, 1H, $\text{C}2'\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}$, 100 MHz): δ = 37.5 ($\text{CH}_2\text{CNHCH}_3$), 38.9 (CH), 44.0 (CH_2), 51.6 (CH_3), 120.0 (C5), 122.1 (C3'), 123.4 (C3), 123.9 (C5'), 127.0 (C6'), 128.5 (C9b'), 128.6 (C7'), 129.6 (C8'), 136.3 (C4), 146.5 (C9a'), 147.7 (C6), 148.4 (C4'), 149.4 (C2'), 160.9 (C2), 172.4 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 306 (10%, $[\text{M}]^+$), 275 (7%, $[\text{M} - \text{OMe}]^+$), 247 (6%, $[\text{M} - \text{COOMe}]^+$), 234 (18%), 233 (100%, $[\text{M} - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}]^+$), 232 (5%), 231 (6%), 218 (4%), 207 (4%), 154 (5%), 116 (4%), 115 (6%), 78 (3%, $[\text{C}_5\text{H}_4\text{N}]^+$).

4-(Chinolin-2-yl)-3-(pyridin-4-yl)butansäuremethylester 173

$C_{19}H_{18}N_2O_2$
MW: 306,36 g/mol

R_t (Methode1): 7,39 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 2.71 - 2.87 (2m, 2H, CH_2CO), 3.22 - 3.35 (2m, 2H, CH_2CH), 3.51 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (m, 1H, CH), 7.12 (d, J = 8.4 Hz, 1H, $\text{C}3'\text{-H}$), 7.18 (d, J = 5.0 Hz,

2H, C3-H, C5-H), 7.49 (t, J = 7.6 Hz, 1H, C6'-H), 7.69 (d, J = 7.6 Hz, 1H, C7'-H), 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 1H, C5'-H), 8.00, 8.03 (d, J = 8.5 Hz, 1H, d, J = 8.6 Hz, 1H, C8'-H, C4'-H), 8.48 (s, br, 2H, C2-H, C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 39.3 (CH₂CO), 41.4 (CH), 44.6 (CH₂CH), 51.6 (OCH₃), 121.7 (C3, C5), 123.0 (C3'), 126.1 (C6'), 126.8 (C9b'), 127.6 (C5'), 128.8 (C8'), 129.6 (C7'), 136.4 (C4'), 147.8 (C9a'), 149.7 (C2, C6), 152.6 (C4), 158.9 (C2'), 171.9 (CO).

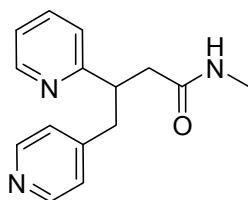
MS (GC-MS): *m/z* = 307 (31%, [M]⁺), 291 (5%, [M - CH₃]⁺), 275 (18%, [M - OCH₃]⁺), 248 (16%), 247 (97%, [M - COOCH₃]⁺), 234 (15%), 233 (88%, [M - CH₂COOCH₃]⁺), 231 (18%), 218 (9%), 167 (5%), 144 (12%), 143 (100%, [CH₃Chin]⁺), 142 (10%), 128 (11%, [Chin]⁺), 123 (5%), 116 (10%), 115 (14%), 102 (4%), 101 (4%), 77 (4%).

Synthese der zweifach substituierten Butansäure-*N*-methyamide

Allgemeine Arbeitsvorschrift

Der Methylester wurde in ethanolischer Methylaminlösung (ca. 8 M) gelöst und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch über Kieselgel mit Dichlormethan und Methanol (1%) gereinigt. Um analysenreine Produkte zu erhalten, war eine weitere Reinigung mittels präparativer RP-HPLC mit Wasser/Acetonitril nötig. Wiederum wurde nur ein Teil gereinigt, weshalb auch hier keine Ausbeuten angegeben werden können.

N-Methyl-3-(pyridin-2-yl)-4-(pyridin-4-yl)butanamid 174



C₁₅H₁₇N₃O
MW: 255,31g/mol

R_t (Methode1): 5,75 min.

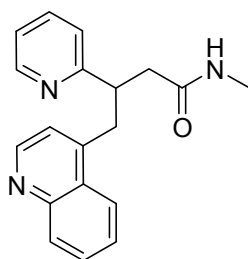
¹H-NMR (CDCl₃/DMSO, 400 MHz): δ = 2.46 – 2.59 (2m, je 1H, CH₂CONHCH₃, s, 3H, NHCH₃), 2.92 – 3.03 (2m, je 1H, CH₂), 3.58 (m, 1H, CH), 6.96 (d, J = 6.2 Hz, 2H, C3'-H,

C5'-H), 6.99 (s, 1H, C5-H), 7.12 (t, J = 6.2 Hz, 1H, C3-H), 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 1H, C4-H), 7.68 (s, 1H, NH), 8.32 (s, 2H, C2'-H, C6'-H), 8.51 (d, J = 4.7 Hz, 1H, C6-H).

¹³C-NMR (CDCl₃/DMSO, 100 MHz): δ = 25.5 (CH₃), 39.9 (CH₂CNHCH₃), 40.6 (CH₂), 44.2 (CH), 121.5 (C5), 123.3 (C3), 124.3 (C3', C4'), 135.9 (C4), 148.9 (C6), 149.0 (C2', C6'), 161.8 (C2), 171.1 (CO).

MS (GC-MS): *m/z* = 255 (3%, [M]⁺), 254 (3%), 225 (7%, [M - NHMe]⁺), 197 (25%, [M - CONHMe]⁺), 195 (5%), 184 (13%), 183 (100%, [M - CH₂CONHMe]⁺), 182 (36%), 181 (12%), 168 (5%), 132 (10%), 106 (18%), 104 (6%), 93 (5%, [CH₂py]⁺), 79 (5%), 78 (7%, [py]⁺), 58 (5%).

N-Methyl-4-(chinolin-4-yl)-3-(pyridin-2-yl)butanamid 175



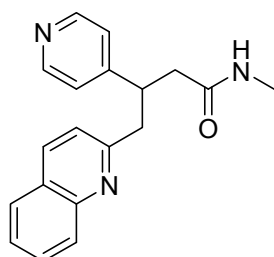
C₁₉H₁₉N₃O
MW: 305,37 g/mol

R_t (Methode1): 8,58 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 2.70 (d, J = 4.6 Hz, 3H, NCH₃), 2.77 (d, J = 7.2 Hz, 2H, CHCH₂CO), 3.41 (dd, J₁ = 9.9 Hz, J₂ = 13.2 Hz, 1H, CHCH_H), 3.60 (q, J = 5.0 Hz, 1H, CHCH_H), 3.78 (m, 1H, CH), 6.72 (d, J = 7.7 Hz, 1H, C3'-H), 6.88 (d, J = 4.3 Hz, 1H, C3-H), 7.08 (m, 1H, C5-H), 7.29 (d, J = 3.9 Hz, 1H, NH), 7.37 (t, J = 7.6 Hz, 1H, C5'-H), 7.58 (t, J = 7.6 Hz, C7'-H), 7.69 (t, J = 7.6 Hz, 1H, C4-H), 8.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H, C5'-H), 8.24 (d, J = 8.4 Hz, 1H, C8'-H), 8.56 (d, J = 4.5 Hz, 1H, C6-H), 8.58 (d, J = 4.2 Hz, 1H, C2'-H).

¹³C-NMR (CDCl₃/DMSO, 100 MHz): δ = 25.9 (CH₃), 37.2 (CH₂CNHCH₃), 41.2 (CH₂), 44.4 (CH), 121.6 (C5), 121.9 (C3'), 123.5 (C3), 124.1 (C5'), 126.4 (C6'), 127.5 (C9b'), 128.9 (C7'), 129.6 (C8'), 136.0 (C4), 146.2 (C9a'), 148.0 (C4'), 149.1 (C6), 149.4 (C2'), 161.8 (C2), 171.9 (CO).

MS (GC-MS): *m/z* = 305 (8%, [M]⁺), 248 (2%), 247 (12%, [M - CONHMe]⁺), 245 (2%), 234 (18%), 233 (100%, [M - CH₂CONHMe]⁺), 231 (6%), 218 (3%), 204 (2%), 154 (4%), 132 (3%), 115 (4%), 106 (4%), 79 (2%), 78 (2%, [py]⁺), 58 (2%).

N-Methyl-4-(chinolin-2-yl)-3-(pyridin-4-yl)butanamid 176

$C_{19}H_{19}N_3O$
MW: 305,37 g/mol

R_t (Methode1): 9,16 min.

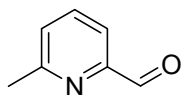
1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.47 (m, 1H, CH_2CO), 2.66 - 2.76 (d, J = 4.4 Hz + m, 4H, $NHCH_3$, CH_2CH), 3.32 (d, J = 6.9 Hz, 2H, CH_2), 3.83 (m, 1H, CH), 6.69 (s, br, 1H, NH), 7.05 (d, J = 8.4 Hz, 1H, C3'-H), 7.09 (d, J = 4.0 Hz, 2H, C2-H, C6-H), 7.51 (t, J = 7.4 Hz, 1H, C6'-H), 7.70 (d, J = 7.5 Hz, 1H, C7'-H), 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C5'-H), 8.00 (s, 1H, C4'-H), 8.01 (s, 1H, C8'-H), 8.44 (s, br, 2H, C2-H, C6-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 26.2 ($NHCH_3$), 41.0 (CH_2CO), 41.9 (CH), 43.4 (CH_2CH), 122.2 (C3, C5), 123.1 (C3'), 126.4 (C6'), 126.9 (C9b'), 127.7 (C5'), 128.4 (C8'), 129.8 (C7'), 136.7 (C4'), 147.3 (C9a'), 149.6 (C2, C6), 152.8 (C4), 159.0 (C2'), 171.5 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 305 (5%, $[M]^+$), 248 (8%), 247 (41%, $[M - CONHMe]^+$), 234 (20%), 233 (100%, $[M - CH_2CONHMe]^+$), 232 (7%), 231 (7%), 218 (4%), 144 (4%), 143 (34%), 142 (4%), 142 (4%), 128 (7%), 116 (4%), 115 (6%).

6.8 Synthese der Imidazole

6-Methylpyridin-2-aldehyd 193



C_7H_7NO
MW: 121,14 g/mol

1,84 g 2,6-Lutidin (17,1 mmol) wurden in einem Mikrowellen-Vial in 0,5 mL Dioxan gelöst, mit 1,9 g (17,1 mmol) SeO_2 versetzt und mit einer Kappe verschlossen. Im Mikrowellensynthesizer wurde die Reaktionslösung 30 min auf 150 °C erhitzt. Der Rückstand wurde in Chloroform gelöst, über Kieselgur filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde über Kieselgel mit Petrolether und Essigsäureethylester (2:1) säulenchromatographiert. Es wurden 1,45 g (12,0 mmol, 70 %) des 6-Methylpyridin-2-aldehyd erhalten.

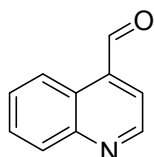
R_t (Methode 3): 5,14 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 2.65 (s, 1H, CH_3), 7.38 (dd, J_1 = 2.0 Hz, J_2 = 6.7 Hz, 1H, C3-H), 7.75 (d, J = 6.8 Hz, 1H, C5-H), 8.17 (d, J = 7.2 Hz, 1H, C4-H), 10.03 (s, 1H, COH).

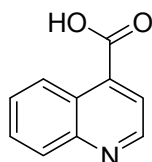
^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 24.0 (CH_3), 119.0 (C3), 127.1 (C5), 137.1 (C4), 152.0 (C2), 159.1 (C6), 193.4 (CO).

MS (GC-MS): m/z = 121 (26%, $[M]^+$), 94 (7%), 93 (100 %, $[M-CO]^+$), 92 (37%, $[M-CHO]^+$), 78 (8%), 67 (6%), 66 (40%, $[C_5H_6]^+$), 65 (31%), 64 (7%), 63 (8%), 62 (3%), 52 (5%), 51 (7%), 50 (5%).

Chinolin-4-aldehyd und Chinolin-4-carbonsäure



$C_{10}H_7NO$
MW: 157,17 g/mol



$C_{10}H_7NO_2$
MW: 173,17 g/mol

33,3 g (300 mmol, 1,5 eq) Selendioxid wurden in 150 mL Pyridin vorgelegt und zum Rückfluss erhitzt. 28,6 g (200 mmol) 2-Methylchinolin in 50 mL Pyridin wurden zugegeben. Nach 25 min wurde die Reaktionsmischung heiß filtriert und das Produkt mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung ausgefällt. Es wurden 5,01 g (31,9 mmol, 16%) des Chinolin-4-aldehyds erhalten.

Die als Nebenprodukt entstandene Chinolin-4-carbonsäure wurde durch Zugabe von Kupfersulfat aus der wässrigen Lösung ausgefällt, abfiltriert und mit verdünnter Salzsäure auf einen pH-Wert von 3,5 eingestellt. Durch Extraktion mit Diethylether konnten 11,38 g (65,7 mmol, 33%) der Säure erhalten werden.

Chinolin-4-aldehyd:

R_t (Methode 1): 4,59 min.

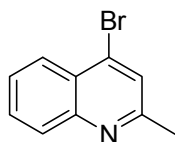
MS (GC-MS): m/z = 157, 158 (100%, 11%, $[M]^+$), 156 (7%), 130 (8%, $[M-HCN]^+$), 129 (79%), 128 (55%), 103 (6%), 102 (25%), 101 (24%), 76 (7%), 75 (19%), 74 (9%), 51 (7%), 50 (5%).

Chinolin-4-carbonsäure

R_t (Methode 1): 5,59 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.72 (t, J = 7.0 Hz, 1H, C7-H), 7.84 (t, 7.6 Hz, C6-H), 7.93 (d, J = 4.3 Hz, C8-H), 8.12 (d, J = 8.4 Hz, C3-H), 8.71 (d, J = 8.5 Hz, C2-H), 9.05 (d, J = 3.5 Hz, C5-H).

4-Brom-2-methylchinolin



$C_{10}H_8BrN$
MW: 222,08 g/mol

10 g (63,2 mmol) 4-Amino-2-methylchinolin wurden in ca. 100 mL eiskalter Schwefelsäure gelöst. 4,8 g (69,52 mmol, 1,1 eq) Natriumnitrit wurden langsam zugegeben und es wurde 2 h bei rt gerührt. 60 mL (ca. 80 mmol) einer Lösung aus Kupfer(I)bromid in 48%iger HBr wurden langsam zugegeben. Nach 4 h wurde die Reaktionsmischung mit Kaliumcarbonat neutralisiert und dann mit Essigsäureethylester mehrfach extrahiert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/ Essigsäureethylester 2:1 gereinigt. Es wurden 8% (1,07 g, 4,82 mmol) des gewünschten Produkts erhalten.

R_t (Methode 3): 6,48 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 2.71 (s, 3H, CH_3), 7.57 (dd, $J_1 = 0.7$ Hz, $J_2 = 8.4$ Hz, 1H, C6-H), 7.60 (s, 1H, C3-H), 7.72 (m, 1H, C7-H), 8.00 (dd, $J_1 = 0.7$ Hz, $J_2 = 8.4$ Hz, 1H, C8-H), 8.12 (dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 8.4$ Hz, 1H, C5-H).

MS (GC-MS): m/z = 221, 222, 223, 224 (100%, 12%, 98%, 11%, $[\text{M}]^+$), 140, 141, 142, 143 (12%, 4%, 36%, 4%, $[\text{M-Br}]^+$), 127 (4%), 116 (9%), 115 (20%), 75 (13%), 74 (6%), 51 (5%).

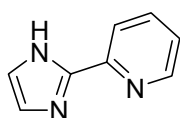
Synthese der Imidazole

Allgemeine Arbeitsvorschrift

Die Synthesen erfolgten analog zu einer Vorschrift von Nakamura *et al.*³⁵.

N mmol des frisch destillierten Aldehyds wurden in $n \cdot 1,5$ mL Ethanol vorgelegt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. 2 eq Glyoxal Hydrat (40% in Wasser) und 7 eq wässrige Ammoniaklösung (15 M) wurden zugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei rt gerührt. Das Ethanol wurde weitgehend entfernt und der Rückstand mehrfach mit Dichlormethan extrahiert. Nach Waschen mit Wasser und Trocknen über MgSO_4 wurde das Lösungsmittel entfernt und der Feststoff säulenchromatographisch gereinigt (Eluent: Essigsäureethylester). Um die Ausbeuten zu erhöhen kann eine flüssig-flüssig Extraktion durchgeführt werden.

2-(1H-Imidazol-2-yl)pyridin **182**



$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3$
MW: 145,16

Aus 10 mL (104 mmol) Pyridin-2-aldehyd wurden 6,1 g (42 mmol, 40%) des Imidazols **182** erhalten.

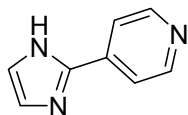
R_t (Methode 3): 6,06 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.11 (s, br, 2H, C4'-H, C5'-H), 7.18 (m, 1H, C5-H), 7.72 (m, 1H, C3-H), 8.15 (m, 1H, C4-H), 8.43 (m, 1H, C6-H), 11.68 (s, br, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 120.2 (C5), 123.1 (C3), 137.4 (C4), 1146.2 (C6), 148.6 (C4', C5').

MS (GC-MS): $m/z = 145$ (100%, $[M]^+$), 118 (14%, $[M-HCN]^+$), 105 (18%), 91 (5%), 78 (13%, $[C_5H_4N]^+$), 64 (5%, $[C_4H_3N]^+$), 51 (5%, $[C_4H_3]^+$).

4-(1*H*-Imidazol-2-yl)pyridin **183**



$C_8H_7N_3$
MW: 145,16

Aus 10 mL (104 mmol) Pyridin-2-aldehyd wurden 4,5 g (31 mmol, 30%) des Imidazols **183** erhalten.

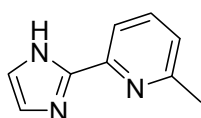
R_t (Methode 3): 7,05 min.

1H -NMR ($CDCl_3 + 5\%DMSO-d_6$, 400 MHz): $\delta = 6.73$ (2H, C4'-H, C5'-H), 7.44 (2H, C2-H, C4-H), 8.15 (2H, C2-H, C6-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3 + 5\%DMSO-d_6$, 100 MHz): $\delta = 118.8$ (C3, C5), 121.3, 124.0 (C4', C5'), 137.4 (C4), 143.5 (C2'), 149.7 (C2, C6).

MS (GC-MS): $m/z = 145$ (100%, $[M]^+$), 118 (23%, $[M-HCN]^+$), 105 (3.5%), 91 (6%), 78 (5%, $[C_5H_4N]^+$), 64 (4%, $[C_4H_3N]^+$), 51 (5.5%, $[C_4H_3]^+$).

2-(1*H*-Imidazol-2-yl)-6-methylpyridin **184**



$C_9H_9N_3$
MW: 159,19

Aus 1 g (8,25 mmol) 6-Methylpyridin-2-aldehyd wurden 0,74 g (4,65 mmol, 56%) des Imidazols **184** erhalten.

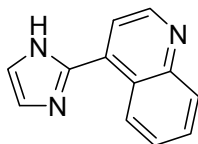
R_t (Methode 3): 8,19 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 2.51$ (s, 3H, CH_3), 7.08 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, C5-H), 7.15 (s, br, 2H, C4'-H, C5'-H), 7.64 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, C4-H), 7.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, C3-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3 + 5\% DMSO-d_6$, 100 MHz): $\delta = 24.1$ (CH_3), 116.7 (C3), 122.7 (C5), 137.3 (C4), 146.6, 147.7 (C4', C5'), 157.7 (C2).

MS (GC-MS): m/z = 159 (100%, $[M]^+$), 144 (15%, $[M-CH_3]^+$), 131 (6%), 118 (4%, $[M-(HCN+CH_3)]^+$), 105 (4%), 92 (7%), 77 (3%), 65 (5%).

4-(1*H*-Imidazol-2-yl)chinolin 185



$C_{12}H_9N_3$
MW: 195,22

Aus 4,6 g (29,3 mmol) Chinolin-4-aldehyd wurden 2,4 g (12,3 mmol, 42%) des Imidazols **185** erhalten.

R_t (Methode 3): 8,75 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.04 – 7.05 (2s, br, 2H, C4-H, C5-H), 7.37 (m, 1H, C6'-H), 7.46 (d, J = 4.6 Hz, 1H, C3'-H), 7.50 (m, 1H, C6'-H), 7.86 (d, J = 8.4 Hz, 1H, C8'-H), 8.68 (d, J = 4.6 Hz, C5'-H), 8.88 (dd, J_1 = 1.2 Hz, J_2 = 8.5 Hz, 1H, C2'-H).

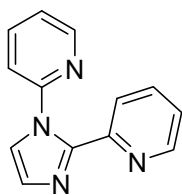
^{13}C -NMR ($CDCl_3$ + 5%DMSO- d_6 , 100 MHz): δ = 118.9 (C3'), 124.7 (C8'), 126.5 (C7'), 128.9 (C6', C5'), 135.4 (C4'), 143.4 (C9a'), 148.4 (C2'), 149.1 (C3, C4).

MS (GC-MS): m/z = 195 (70%, $[M]^+$), 194 (100%, $[M-H]^+$), 167 (5.5%, $[M-(HCN+H)]^+$), 153 (6%), 140 (8%), 113 (4,5%), 101 (3%), 97 (2.5%), 75 (3%), 63 (2%).

Heteroarylierung der Imidazole

Allgemeine Arbeitsvorschrift

1 Äquivalent des Imidazols, 1,1 Äquivalente des Bromaromaten, 0,1 Äquivalente des Kupfer(I)iodids, 0,2 Äquivalente L-Polin und 2 Äquivalente Kaliumcarbonat wurden vermischt und kurz im Hochvakuum evakuiert. Anschließend wurden 2 mL DMSO pro mmol Imidazol zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht auf 150 °C erhitzt. Konnten mittels GC/MS keine Edukte mehr nachgewiesen werden, wurde die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und mindestens achtmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden einmal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde über Kieselgel mit Essigsäureethylester chromatographisch gereinigt.

2-(2-(Pyridin-2-yl)imidazol-1-yl)pyridin 201

$C_{13}H_{10}N_4$
MW: 222,25

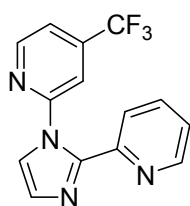
Aus 500 mg (3,44 mmol) 2-(1*H*-Imidazol-2-yl)pyridin **182** wurden 582 mg (2,63 mmol, 76%) Produkt **201** erhalten.

R_t (Methode 3): 8,25 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.06 – 7.10 (2m, 2H, C5-H, C5''-H), 7.20 – 7.24 (2m, 2H, C4'-H, C4''-H), 7.36 (d, J = 1.2 Hz, 1H, C5'-H), 7.64 – 7.69 (2m, 2H, C4-H, C3''-H), 7.96 (d, J = 7.9 Hz, 1H, C3-H), 8.18 (dd, J_1 = 0.8 Hz, J_2 = 3.9 Hz, 1H, C6-H), 8.41 (dd, J_1 = 0.5 Hz, J_2 = 4.7 Hz, 1H, C6''-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 120.3 (C3''), 123.0 (C3), 123.1 (C5''), 123.2 (C5), 129.2 (C5'), 136.7 (C4''), 137.9 (C4), 145.3 (C2), 148.5 (C6''), 148.8 (C6), 149.5 (C2'), 151.5 (C2'').

MS (GC-MS): m/z = 223 (9%), 222 (72%, $[\text{M}]^+$), 221 (100%, $[\text{M}-\text{H}]^+$), 194 (15%), 180 (4%), 168 (13%), 118 (20%), 91 (6%), 78 (19%, $[\text{py}]^+$), 64 (3%), 52 (3%), 51 (7%).

2-(2-(4-Trifluormethylpyridin-2-yl)imidazol-1-yl)pyridin 202

$C_{14}H_9F_3N_4$
MW: 290,24

Aus 1 g (6,88 mmol) 2-(1*H*-Imidazol-2-yl)pyridin **182** wurden 290 mg (0,99 mmol, 37%) Produkt **202** erhalten.

R_t (Methode 3): 5,57 min.

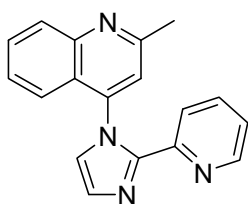
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.14 (dd, J_1 = 5.0 Hz, J_2 = 7.4 Hz, 1H, C5''-H), 7.20 (t, J = 4.3 Hz, 1H, C5-H), 7.23 (s, 1H, C5'-H), 7.43 (s, 1H, C4'-H), 7.72 (dt, J_1 = 1.2 Hz, J_2 = 7.5 Hz, 1H,

C4''-H), 7.86 (dd, $J_1 = 2.3$ Hz, $J_2 = 8.6$ Hz, 1H, C3-H), 8.03 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, C3''-H), 8.21 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, C6''-H), 8.69 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, C6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 120.1$ (C5''), 122.7 (C4), 123.2 (C3'), 123.4 (CF_3), 124.6 (C5'), 125.4 und 125.7 (C4''), 129.5 (C5), 134.9 (C3''), 136.9 (C4'), 145.4 (C2'), 145.9 (C6''), 148.4 (C6'), 149.1 (C2).

MS (GC-MS): $m/z = 291$ (17%), 290 (100%, $[\text{M}]^+$), 289 (100%, $[\text{M-H}]^+$), 271 (11%, $[\text{M-F}]^+$), 262 (18%), 248 (5%), 236 (18%), 187 (4%), 186 (42%), 159 (7%), 146 (23%, $[\text{CF}_3\text{Py}]^+$), 126 (14%), 78 (7%, $[\text{Py}]^+$), 69 (5%), 51 (5%).

2-(2-(2-Methylchinol-4-yl)imidazol-1-yl)pyridin 203



$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4$
MW: 286,33

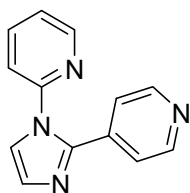
250 mg (1,72 mmol) 2-(1*H*-Imidazol-2-yl)pyridin **182** wurden eingesetzt.

R_t (Methode 3): 9,55 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 2.70$ (s, 3H, CH_3), 6.92 (m, 1H, C5-H), 7.16 (s, 1H, C4'-H), 7.18 8s, 1H, C5'-H), 7.26 (m, 2H, C6''-H, C7''-H), 7.34 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, C3''-H), 7.58 (m, 2H, C4-H, C5''-H), 7.84 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, C6-H), 8.03 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H, C8''-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 25.3$ (CH_3), 119.3 (C3''), 122.0 (C9b''), 122.4 (C3), 122.7 (C5), 123.6 (C5'), 124.5 (C5''), 126.5 (C6''), 128.7 (C7''), 129.6 (C8''), 129.9 (C4'), 136.3 (C4), 145.0 (C4''), 146.2 (C2), 148.3 (C6), 148.6 (C9a''), 148.7 (C2'), 159.2 (C2'').

MS (GC-MS): $m/z = 287$ (19%), 286 (100%), 285 (80%), 271 (10%), 259 (6%), 258 (20%), 257 4%), 245 (15%), 244 (77%), 243 (4%), 218 (15%), 181 (4%), 143 (4%), 140 (5%), 115 (4%), 101 (8%), 78 (4%), 75 (5%), 51 (3%).

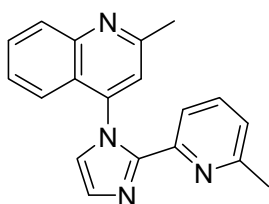
4-(2-(Pyridin-2-yl)-imidazol-1-yl)pyridin 204

$C_{13}H_{10}N_4$
MW: 222,25

800 mg (5,52 mmol) 2-(1*H*-imidazol-4-yl)pyridin **183** wurden eingesetzt.

R_t (Methode 3): 8,50 min.

MS (GC-MS): m/z = 223 (20%), 222 (100%, $[M]^+$), 221 (100%, $[M-H]^+$), 195 (4%), 194 (22%), 169 (4%), 168 (9%), 167 (6%), 119 (6%), 118 (70%), 97 (9%), 92 (4%), 91 (13%), 79 (4%), 78 (46%, $[py]^+$), 64 (8%), 63 (9%), 52 (8%), 51 (20%), 50 (4%).

2-Methyl-6-(2-(2-methylchinol-4-yl)-imidazol-1-yl)pyridin 205

$C_{19}H_{16}N_4$
MW: 300,36

250 mg (1,57 mmol) 2-(1*H*-imidazol-2-yl)-6-methylpyridin **184** wurden eingesetzt.

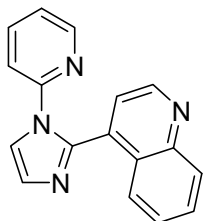
R_t (Methode 3): 9,49 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 1.65 (s, 3H, $PyCH_3$), 2.72 (s, $ChinCH_3$), 6.76 (d, J = 7.7 Hz, 1H, C3-H), 7.14 (s, 1H, C4'-H), 7.20 (s, 2H, C6''-H, C7''-H), 7.26 (m, 1H, C3''-H), 7.32 (s, 1H, C5'-H), 7.45 (t, J = 7.8 Hz, 1H, C4-H), 7.60 (dq, J_1 = 2.1 Hz, J_2 = 6.9 Hz, 1H, C5''-H), 7.81 (d, J = 7.9 Hz, C3-H), 8.03 (d, J = 8.3 Hz, 1H, C8''-H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 23.4 ($PyCH_3$), 25.3 ($ChinCH_3$), 118.8 (C3''), 119.5 (C9b''), 122.2 (C3), 122.8 (C5), 124.2 (C5'), 124.3 (C5''), 126.6 (C6''), 128.6 (C7''), 129.6 (C8''), 130.0 (C4'), 136.7 (C4), 145.8 (C4''), 146.3 (C2), 147.6 (C9a''), 148.6 (C2'), 157.0 (C6), 159.1 (C2'').

MS (GC-MS): $m/z = 301$ (15%), 300 (82%, $[M]^+$), 299 (100%, $[M-H]^+$), 286 (5%), 285 (26%, $[M-CH_3]^+$), 272 (5%), 259 (8%), 258 (36%), 257 (4%), 208 (13%), 181 (4%), 150 (4%), 140 (5%), 115 (4%), 101 (7%), 75 (4%), 65 (4%).

4-(2-(Pyridin-2-yl)-imidazol-1-yl)chinolin 206



$C_{17}H_{12}N_4$
MW: 272,3

500 mg (2,56 mmol) 4-(1*H*-imidazol-2-yl)chinolin **185** wurden eingesetzt.

R_t (Methode 3): 9,99 min.

MS (GC-MS): $m/z = 273$ (19%), 272 (100%, $[M]^+$), 271 (51%), 256 (15%), 245 (10%), 244 (38%), 243 (12%), 218 (7%), 217 (5%), 207 (5%), 205 (9%), 195 (5%), 194 (25%), 118 (10%), 91 (5%), 78 (15%, $[py]^+$), 51 (7%).

4-(2-(2-Methylpyridin-6-yl)-imidazol-1-yl)chinolin 207



$C_{18}H_{14}N_4$
MW: 286,33

250 mg (1.28 mmol) 4-(1*H*-imidazol-2-yl)chinolin **185** wurden eingesetzt.

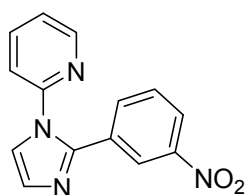
R_t (Methode 3): 10,09 min.

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): $\delta = 2.38$ (s, 3H, CH_3), 6.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, C5-H), 6.93 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, C4-H), 7.20 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, C3''-H), 7.26 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, C3-H), 7.36 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, C5'-H), 7.40 (m, 1H, C7''-H), 7.62 (m, 1H, C6''-H), 7.66 (s, 1H, C4'-H), 7.98 (dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 8.2$ Hz, 1H, C8''-H), 8.05 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, C5''-H), 7.78 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, C2''-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 24.2 (CH₃), 115.1 (C5), 121.5 (C4'), 122.4 (C4), 122.6 (C3''), 126.0 (C8''), 126.6 (C10''), 127.4 (C7''), 129.8 (C5'', C6''), 129.9 (C5'), 137.2 (C4''), 138.5 (C3), 142.7 (C2'), 148.8 (C9''), 149.1 (C2), 149.6 (C2''), 159.0 (C6).

MS (GC-MS): m/z = 287 (20%), 286 (100%, [M]⁺), 285 (36%, [M-H]⁺), 272 (4%), 271 (18%, [M-CH₃]⁺), 270 (4%), 269 (4%), 258 (10%), 245 (3%), 244 (15%), 243 (6%), 231 (3%), 219 (6%), 195 (3%), 194 (26%), 143 (5%), 132 (6%), 131 (7%), 92 (4%), 65 (7%).

2-(2-(3-Nitrophenyl)-imidazol-1-yl)pyridin 208



C₁₄H₁₀N₄O₂
MW: 266,25 g/mol

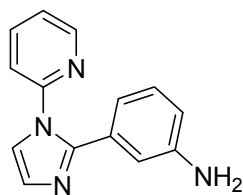
Aus 10 g (52.9 mmol) 2-(3-Nitrophenyl)-1H-imidazol-2-yl wurden 3.5 g (13.15 mmol, 25%) Produkt **208** erhalten.

R_t (Methode 3): 6,99 min.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.15 (d, J = 7.9 Hz, 1H, C5'-H), 7.32 (s, 1H, C4-H), 7.39 (dd, J₁ = 4.9 Hz, J₂ = 7.5 Hz, 1H, C4''-H), 7.50 (m, 2H, C5-H, C2'-H), 7.80 (m, 2H, C6''-H, C5''-H), 8.17 (dt, J₁ = 1.0 Hz, J₂ = 8.2 Hz, 1H, C4''-H), 8.22 (s, 1H, C2''-H), 8.56 (d, J = 4.8 Hz, 1H, C6'-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 119.4 (C3'), 122.5 (C5), 123.2 (C4''), 123.5 (C2''), 123.7 (C5'), 129.3 (C4), 129.9 (C5''), 132.3 (C1''), 134.5 (C6''), 138.9 (C4'), 144.2 (C1), 148.0 (C3''), 149.7 (C6'), 150.3 (C2').

MS (GC-MS): m/z = 267 (16%), 266 (100%, [M]⁺), 265 (56%, [M-H]⁺), 249 (65), 220 (14%, [M-NO₂]⁺), 219 (58%), 218 (8%), 207 (6%), 193 (7%), 192 (9%), 119 (6%), 118 (73%), 109 (5%), 91 (8%), 78 (28%), 51 (9%).

3-(1-(Pyridin-2-yl)-imidazol-2-yl)phenylamin 209

$C_{14}H_{12}N_4$
MW: 236,27 g/mol

3,5 g (13,1 mmol) der Nitroverbindung **208** wurden in 55 mL 6 M Salzsäure gelöst und mit 3,5 g (29,5 mmol, 2,25 eq) Zinnpulver versetzt. Die Reaktionslösung wurde 1 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurden unpolare Verunreinigungen durch Extraktion mit Diethylether entfernt. Die wässrige Phase wurde mit Natriumhydrogencarbonatlösung basisch gestellt und mit Diethylether mehrfach extrahiert. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es wurden 1.69 g (7.15 mmol, 55%) gelbliches Öl erhalten.

R_t (Methode 1): 6,88 min.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 5.79 (d, J = 7.6 Hz, 2H, NH_2), 6.52 (ddd, J_1 = 0.7 Hz, J_2 = 2.2 Hz, J_3 = 8.0 Hz, 1H, $\text{C}4''\text{-H}$), 6.83 (t, J = 1.8 Hz, 1H, $\text{C}2''\text{-H}$), 6.90 (d, J = 8.0 Hz, 1H, $\text{C}4\text{-H}$), 6.96 (t, J = 8.0 Hz, 1H, $\text{C}5''\text{-H}$), 7.21 (2m, 2H, $\text{C}5'''\text{-H}$, $\text{C}3\text{-H}$), 7.43 (d, J = 1.4 Hz, 1H, $\text{C}3'''\text{-H}$), 7.57 (dt, J_1 = 1.8 Hz, J_2 = 7.9 Hz, 1H, $\text{C}4'''\text{-H}$), 8.50 (dd, J_1 = 1.0 Hz, J_2 = 4.8 Hz, 1H, $\text{C}6'''\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 114.6 ($\text{C}2''$), 114.8 ($\text{C}3'$), 117.8 ($\text{C}5$), 119.1 ($\text{C}6''$), 120.8 ($\text{C}6''$), 122.3 ($\text{C}5'$), 128.1 ($\text{C}4$), 128.5 ($\text{C}5''$), 130.6 ($\text{C}1''$), 146.2 ($\text{C}2$), 146.6 ($\text{C}3''$), 148.4 ($\text{C}6'$), 149.8 ($\text{C}2'$).

MS (GC-MS): m/z = 236, 237 (9%, 61%, $[\text{M}]^+$), 235 (100%, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 208 (4%), 118 (18%), 91 (5%), 78 (10%), 51 (3%).

7. Literaturverzeichnis

- ¹ Stand 2000, http://vfa.de/print/de/forschung/amf/amf_laborkliniken.html
- ² Böhm, H.-J.; Klebe, G.; Kubinyi, H. *Wirkstoffdesign*; Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg; Berlin; Oxford, 1996.
- ³ Sachsenmaier, C., *Onkologie* **2001**, *24*, 346 - 355.
- ⁴ Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. *Science* **2002**, *298*, 1912 - 1918.
- ⁵ Klinik für Tumorbiologie Freiburg,
http://www.tumorbio.uni-freiburg.de/04_forschung/04_01_02.html.
- ⁶ Huber, P. E.; Bischof, M.; Jenne, J.; Heiland, S.; Peschke, P.; Saffrich, R.; Groene, H.-J.; Debus, J.; Lipson, K. E.; Abdollahi, A. *Cancer Research* **2005**, *65*, 3643 - 3655.
- ⁷ Ahn, N. G.; Resing, K. A., *Science* **2005**, *308*, 1266 - 1267.
- ⁸ Cohen, M. S.; Zhang, C.; Shokat, K. M.; Taunton, J. *Science* **2005**, *308*, 1318 - 1321.
- ⁹ Noble, M. E. M.; Endicott, J. A.; Johnson, L. N., *Science* **2004**, *303*, 1800 - 1804.
- ¹⁰ Vogtherr, M.; Saxena, K.; Hoelder, S.; Grimme, S.; Betz, M.; Schieberr, U.; Pescatore, B.; Robin, M.; Delarbre, L.; Langer, T.; Wendt, K. U.; Schwalbe, H. *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 1008 – 1012.
- ¹¹ <http://www.naturmednet.de/biblio/fkmfi/0299.html>.
- ¹² Roberts, A. B.; Derynck, R. *Science's STKE* **2001**, 18 December, 43.
- ¹³ Siegel, P. M.; Massagué, J., *Nature reviews Cancer* **2003**, *3*, 807 – 820.
- ¹⁴ Goumans, M.-J.; Lebrin, F.; Valdimarsdottir, G. *Trends in cardiovascular medicine* **2003**, *13*, 301 - 3077.
- ¹⁵ Kirkbride, K. C.; Blobe, G. C. *Expert Opinion on Biological Therapy* **2003**, *3*, 251 - 261.
- ¹⁶ Dumont, N.; Arteaga, C. L. *Cancer Cell* **2003**, *3*, 531 - 536.
- ¹⁷ Pearson, G.; Robinson, F.; Beers Gibson, T.; Xu, B.; Karandikar, M.; Berman, K.; Cobb, M. H., *Endocrine Reviews* **2001**, *22* 2, 153 – 183.
- ¹⁸ Novak, C. *Medscape General Medicine* **2004** *6*, 2,
<http://www.medscape.com/viewarticle/471462>.
- ¹⁹ Chen, Z.; Gibson, T. B.; Robinson, F.; Silvestro, L.; Pearson, G.; Xu, B.-e.; Wright, A.; Vanderbilt, C.; Cobb, M. H. *Chemical Reviews (Washington, D. C.)* **2001**, *101*, 2449 - 2476.
- ²⁰ a) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, **1985**, Schattauer, ISBN 002-344710-9. b) Jacob, L. S. Intensivkurs Pharmakologie, **1995**, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, ISBN 3-541-12831-3.
- ²¹ Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. *Adv. Drug Del. Rev.* **1997**, *23*, 3 – 25.

- ²² Yoshida, F.; Topliss, J. G. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, *43*, 2575 – 2585.
- ²³ Böhm, H.; Klebe, G. *Angewandte Chemie*. **1996**, *108*, 2750 – 2778.
- ²⁴ Fischer, E. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1894**, *27*, 2985 – 2993.
- ²⁵ Torrado, A.; Iglesias, B.; López, S.; de Lera, A. R. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 2435 – 2454.
- ²⁶ Netherton, M. R.; Dai, C.; Neuschütz, K.; Fu, G. C. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 10099 - 10100.
- ²⁷ Moreno-Mañas, M.; Pérez, M.; Pleixats, R. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 2346 – 2351.
- ²⁸ Miyaura, N.; Yamada, K.; Suginome, H.; Suzuki, A. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107*, 972 – 980.
- ²⁹ Aliprantis, A.; Canary, J. W. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, *116*, 6985 – 6986.
- ³⁰ Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chemical Reviews* **1995**, *95*, 2457 – 2483.
- ³¹ Adamo, C.; Amatore, C.; Ciofini, I.; Jutand, A.; Lakmini, H. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 6829 - 6836.
- ³² Kuivila, H. G.; Reuwehr, J. F.; Mangravite, J. A. *Canadian Journal of Chemistry* **1963**, *41*, 3081 - 3090.
- ³³ O'Keefe, D.; Dannock, M. C.; Marcuccio, S. M. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33*, 44, 6679 – 6680.
- ³⁴ Tyrrell, E.; Brookes, P. *Synthesis* **2004**, *4*, 469 – 483.
- ³⁵ Ullmann, F. *Annalen der Chemie* **1904**, *332*, 38.
- ³⁶ Ullmann, F.; Sponagel, P. *Chemische Berichte* **1905**, *38*, 2211.
- ³⁷ Lanthos, I.; Bender, P. E.; Razgaitis, K. A.; Sutton, B. M.; DiMartin, M. J.; Griswold, D. E.; Walz, D. T. *Journal of Medicinal Chemistry* **1984**, *27*, 72 - 75.
- ³⁸ Laufer, S. A.; Wagner, G. K.; Kotschenreuther, D. A.; Albrecht, W. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46*, 3230 - 3244.
- ³⁹ de Laszlo, S. E.; Visco, D.; Agarwal, L.; Chang, L.; Chin, J.; Croft, G.; Forsyth, A.; Fletcher, D.; Frantz, B.; Hacker, C.; Hanlon, W.; Harper, C.; Kostura, M.; Li, B.; Luell, S.; MacCoss, M.; Mantlo, N.; O'Neill, E. A.; Orevillo, C.; Pang, M.; Parsons, J.; Rolando, A.; Sahly, Y.; Sidler, K.; Widmer, W. R.; O'Keefe, S. J. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1998**, *8*, 2689 - 2694.
- ⁴⁰ Dombroski, M. A.; Letavic, M. A.; McClure, K. F.; Barberia, J. T.; Carty, T. J.; Cortina, S. R.; Csiki, C.; Dipesa, A. J.; Elliott, N. C.; Gabel, C. A.; Jordan, C. K.; Labasi, J. M.; Martin, W. H.; Peese, K. M.; Stock, I. A.; Svensson, L.; Sweeney, F. J.; Yu, C. H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 919 - 923.
- ⁴¹ McClure, K. F.; Abramov, Y. A.; Laird, E. R.; Barberia, J. T.; Cai, W.; Carty, T. J.; Cortina, S. R.; Danley, D. E.; Dipesa, A. J.; Donahue, K. M.; Dombroski, M. A.; Elliott, N. C.; Gabel,

- C. A.; Han, S.; Hynes, T. R.; LeMotte, P. K.; Mansour, M. N.; Marr, E. S.; Letavic, M. A.; Pandit, J.; Ripin, D. B.; Sweeney, F. J.; Tan, D.; Tao, Y. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 5728 - 5737.
- ⁴² Adams, J. L.; Boehm, J. C.; Kassis, S.; Gorycki, P. D.; Webb, E. F.; Hall, R.; Sorenson, M.; Lee, J. C.; Ayrton, A.; Griswold, D. E.; Gallagher, T. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3111 - 3116.
- ⁴³ Huse, M.; Chen, Y.-G.; Massague, J.; Kuriyan, J. *Cell (Cambridge, Massachusetts)* **1999**, *96*, 425 - 436.
- ⁴⁴ Singh, J.; Chuaqui, C. E.; Boriack-Sjodin, P. A.; Lee, W.-C.; Pontz, T.; Corbley, M. J.; Cheung, H. K.; Arduini, R. M.; Mead, J. N.; Newman, M. N.; Papadatos, J. L.; Bowes, S.; Josiah, S.; Ling, L. E. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13*, 4355 - 4359.
- ⁴⁵ Gellibert, F.; Woolven, J.; Fouchet, M.-H.; Mathews, N.; Goodland, H.; Lovegrove, V.; Laroze, A.; Nguyen, V.-L.; Sautet, S.; Wang, R.; Janson, C.; Smith, W.; Krysa, G.; Boullay, V.; de Gouville, A.-C.; Huet, S.; Hartley, D. *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, *47*, 4494 - 4506.
- ⁴⁶ Gellibert, F.; de Gouville, A.-C.; Woolven, J.; Mathews, N.; Nguyen, V.-L.; Bertho-Ruault, C.; Patikis, A.; Grygielko, E. T.; Laping, N. J.; Huet, S. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 2210 - 2221.
- ⁴⁷ Sawyer, J. S.; Anderson, B. D.; Beight, D. W.; Campbell, R. M.; Jones, M. L.; Herron, D. K.; Lampe, J. W.; McCowan, J. R.; McMillen, W. T.; Mort, N.; Parsons, S.; Smith, E. C. R.; Vieth, M.; Weir, L. C.; Yan, L.; Zhang, F.; Yingling, J. M. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46*, 3953 - 3956.
- ⁴⁸ Sawyer, J. S.; Beight, D. W.; Britt, K. S.; Anderson, B. D.; Campbell, R. M.; Goodson, T.; Herron, D. K.; Li, H.-Y.; McMillen, W. T.; Mort, N.; Parsons, S.; Smith, E. C. R.; Wagner, J. R.; Yan, L.; Zhang, F.; Yingling, J. M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 3581 - 3584.
- ⁴⁹ Patent der Firma Eli Lilly and Company, WO 02/094833.
- ⁵⁰ Callahan, J. F.; Burgess, J. L.; Fornwald, J. A.; Gaster, L. M.; Harling, J. D.; Harrington, F. P.; Heer, J.; Kwon, C.; Lehr, R.; Mathur, A.; Olson, B. A.; Weinstock, J.; Laping, N. J. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, *45*, 999 - 1001.
- ⁵¹ Patent der Firma SmithKline Beecham Corporation, WO 00/061576.
- ⁵² Patent der Firma SmithKline Beecham Corporation, WO 02/40476 A1.
- ⁵³ Kim, D.-K.; Kim, J.; Park, H.-J. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, *12*, 2013 - 2020.
- ⁵⁴ Patent der Firma Glaxo Group Limited, WO 02/062793 A1.
- ⁵⁵ Patent der Firma Scios Inc., WO 00/12497.
- ⁵⁶ Patent der Firma Eli Lilly and Company, WO 04/48382.
- ⁵⁷ Niemers, E.; Hiltmann, R. *Synlett* **1976**, 593 - 595.

- ⁵⁸ Wang, Y.; Mi, A.; Jiang, Y. *Synthetic Communications* **1992**, *22*, 2, 265 – 269.
- ⁵⁹ Dejaegher, Y.; Mangelinckx, S.; De Kimpe, N. *Synlett* **2002**, *1*, 113 – 114.
- ⁶⁰ Dejaegher, Y.; Mangelinckx, S.; De Kimpe, N. *Synlett* **2002**, *1*, 113 – 114.
- ⁶¹ Hart, D. J.; Kanai, K.; Thomas, D. G.; Yang, T. *Journal of Organic Chemistry* **1983**, *48*, 294 – 298.
- ⁶² Dejaegher, Y.; Mangelinckx, S.; De Kimpe, N. *Synlett* **2002**, *1*, 113 – 114.
- ⁶³ Khanapure, S. P.; Garvey, D. S.; Young, D. V.; Ezawa, M.; Earl, R. A.; Gaston, R. D.; Fang, X.; Murty, M.; Martino, A.; Shumway, M.; Trocha, M.; Marek, P.; Tam, S. W.; Janero David, R.; Letts, L. G. *Journal of medicinal chemistry* **2003**, *46*, 5484 - 5504.
- ⁶⁴ Dong, C.-G.; Hu, Q.-S. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 28, 10006 – 10007. b) (19) Sinclair, D. J.; Sherburn, M. S. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 3730 - 3733.
- ⁶⁵ Hededeus, L. in Schlosser, M. (Editor) *Organometallics in Synthesis - A Manual*, 2nd Edition **2004**, Wiley-VCH, S. 1150.
- ⁶⁶ Lindley, J. M.; McRobbie, I.,M.; Meth-Cohn, O.; Suschitzky, H. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction I* **1980**, 982 - 994.
- ⁶⁷ Arotzky, J.; Butler, R.; Darby, A. C. *Journal of the Chemical Society C* **1970**, *10*, 1480 – 1485.
- ⁶⁸ Meisenbach, M.; Allmendinger, T.; Mak, C.-P. *Organic Process Research & Development* **2003**, *7*, 553 – 558.
- ⁶⁹ Analog Arienti, K. L.; Brunmark, A.; Axe, F. U.; McClure, K.; Lee, A.; Blevitt, J.; Neff, D. K.; Huang, L.; Crawford, S.; Pandit, C. R.; Karlsson, L.; Breitenbucher, J. G. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 6, 1873 - 1885.
- ⁷⁰ Analog Eyrolles, L.; Kagechika, H.; Kawachi, E.; Fukasawa, H.; Iijima, T.; Matsushima, Y.; Hashimoto, Y.; Shudo, K. *Journal of Medicinal Chemistry* **1994**, *37*, 10, 1508 - 1517.
- ⁷¹ Rossi, R.; Bellina, F.; Raugei, E. *Synlett* **2000**, 1749 - 1752., sowie darin zitierte Literaturstellen.
- ⁷² Miao, S.; Andersen, R. J. *Journal of Organic Chemistry* **1991**, *56*, 6275 – 6280.
- ⁷³ Uddin, M. J.; Rao, P. N. P.; Knaus, E. E. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2003**, *40*, 861 - 868.
- ⁷⁴ Nam, N.-H.; Kim, Y.; You, Y.-J.; Hong, D.-H.; Kim, H.-M.; Ahn, B.-Z. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2002**, *12*, 1955 - 1958.
- ⁷⁵ Janini, T. E.; Sampson, P. *Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62*, 5069 – 5073.
- ⁷⁶ Grigg, R.; Kennewell, P.; Savic, V. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 18, 5489 – 5494.
- ⁷⁷ Weitere Syntheserouten: Carter, N. B.; Mabon, R.; Walmsley, R.; Richecoeur, A. M. E.; Sweeney, J. B. *Synlett* **2006**, 1747 - 1749.

- ⁷⁸ Fuji, K.; Morimoto, T.; Tsutsumi, K.; Kakiuchi, K. *Chemical Communications* **2005**, 3295 - 3297.
- ⁷⁹ Doyama, K.; Joh, T.; Onitsuka, K.; Shiohara, T.; Takahashi, S. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1987**, 9, 649 – 650.
- ⁸⁰ Miura, M.; Okuro, K.; Hattori, A.; Nomura, M. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction I* **1989**, 73 – 76.
- ⁸¹ Toda, F.; Takehira, Y.; Kataoka, Y.; Mori, K.; Sato, T.; Segawa, M. *Journal of the Chemical Society Perkin Transaction I* **1984**, 1234 – 1235.
- ⁸² Forgione, P.; Wilson, P. D.; Fallis, A.G. *Tetrahedron Letters* **2000**, 41, 17 – 20.
- ⁸³ Okazaki, R.; Negishi, Y.; Inamoto, N. *Journal of Organic Chemistry* **1984**, 49, 3819 – 3824.
- ⁸⁴ Vijayaraghavan, S. T.; Balasubramanian, T. R. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **1986**, 25B, 760 - 761.
- ⁸⁵ Bellina, F.; Anselmi, C.; Martina, F.; Rossi, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 68, 2290 - 2302.
- ⁸⁶ Zhang, J.; Blazicka, P. J.; Belmont, D.; Davidson, J. G. *Org. Lett.* **2002**, 4, 4559 - 4561.
- ⁸⁷ Rossi, R.; Bellina, F.; Raugei, E. *Synlett* **2000**, 12, 1749 - 1752.
- ⁸⁸ Mannhold, R.; Kubinyi, H.; Timmerman, H. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry* **2001**, Wiley-VCH, ISBN 3-527-30197-6.
- ⁸⁹ Dr. G. Grundler, Vorlesung „Medizinische Chemie“, Uni Konstanz, Wintersemester 04/05
- ⁹⁰ Becker, H. G. O.; Berger, W.; Domschke, G. *Organikum* **2004**, Wiley-VCH; 21. Auflage, ISBN-10: 3527299858.
- ⁹¹ Clive, D. L. J.; Hisaindee, S.; Coltart, D. M. *Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, 24, 9247 - 9254
- ⁹² Analog Russell, A.; Butler, G. B. *Journal of the American Chemical Society* **1949**, 71, 3663 - 3664.
- ⁹³ Analog Buu-Hoi, NG. PH.; Eckert, B.; Demerseman, P. *Journal of Organic Chemistry* **1954**, 19, 726 – 730.
- ⁹⁴ Tyrrell, E.; Brookes, P. *Synthesis* **2003**, 469 - 483.
- ⁹⁵ Doering, W. v. E.; Pasternak, V. Z. *Journal of the American Chemical Society* **1950**, 72, 143 - 146.
- ⁹⁶ Malan, R. L.; Dean, P. M. **1947**, 1797 - 1798.
- ⁹⁷ Citterio, A.; Gentile, A.; Serravalle, M.; Tinucci, L.; Vismara, E. *Journal of Chemical Research, Synopses* **1982**, 272 - 273.
- ⁹⁸ Fontana, F.; Minisci, F.; Nogueira Barbosa, M. C.; Vismara, E. *Journal of Organic Chemistry* **1991**, 56, 2866 – 2869.
- ⁹⁹ Walker, H. G.; Hauser, C. R. *Journal of the American Chemical Society* **1946**, 68, 1386 - 1388.

- ¹⁰⁰ Drake, N. L.; Tuemmler, W. B. *Journal of the American Chemical Society* **1955**, *77*, 1204 - 1209.
- ¹⁰¹ Barlin, G. B.; Davies, L. P.; Ireland, S. J.; Ngu, M. M. L. *Australian Journal of Chemistry* **1989**, *42*, 1735 - 1748.
- ¹⁰² Eger, S. *Bachelorarbeit*, Universität Konstanz, **2005**.
- ¹⁰³ Abe, N.; Fujisaki, F.; Sumoto, K.; Miyano, S. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1991**, *39*, 1167 - 1170.
- ¹⁰⁴ Babu, P. R.; Balasubramanian, T. R. *Indian Journal of Chemistry Section B* **1987**, *26*, 63.
- ¹⁰⁵ Boers, R. B.; Randulfe, P.; van der Haas, N. S.; van Rossum-Baan, N.; Lugtenburg, J. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**, 2094 – 2108.
- ¹⁰⁶ Nakamura, T.; Sato, M.; Kakinuma, H.; Miyata, N.; Taniguchi, K.; Bando, K.; Koda, A.; Kameo, K. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46*, 5416 - 5427.
- ¹⁰⁷ Tagawa, Y.; Yamashita, K.; Higuchi, Y.; Goto, Y. *Heterocycles* **2003**, *60*, 4, 953 – 957.
- ¹⁰⁸ Achremowicz, L. *Synthetic Communications* **1996**, *26*, 1681 - 1684.
- ¹⁰⁹ Goswami, S.; Adak, A. K. *Synthetic Communications* **2003**, *33*, 475 - 480.
- ¹¹⁰ Schubert, U. S.; Eschbaumer, C.; Heller, M. *Organic Letters* **2000**, *2*, 21, 3373 – 3376.
- ¹¹¹ a) Cherng, Y.-J. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 887-890. b) Matsuno, T.; Kato, M.; Tsuchida, Y.; Takahashi, M.; Yaguchi, S.-i.; Terada, s. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1997**, *45*, 291 - 296. c) Ikeda, M.; Maruyama, K.; Nobuhara, Y.; Yamada, T.; Okabe, S. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1996**, *44*, 1700 - 1706.
- ¹¹² Zhang, H.; Cai, Q.; Ma, D. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 5167 - 5173.
- ¹¹³ Patent WO 00/12497
- ¹¹⁴ David, D. *Diplomarbeit* **2006**, Universität Konstanz.
- ¹¹⁵ Private Mitteilung von Dr. G. Hölzemann, Merck KGaA, Darmstadt.
- ¹¹⁶ Patani, G. A.; LaVoie, E. J. *Chemical Reviews* **1996**, *96*, 3147 – 3176.
- ¹¹⁷ W. L. F. Armarego, D. D. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, Butterworth-Heinemann, Oxford, **1996**, 4. Auflage.
- ¹¹⁸ Peng, S.-B.; Yan, L.; Xia, X.; Watkins, S. A.; Brooks, H. B.; Beight, D.; Herron, D. K.; Jones, M. L.; Lampe, J. W.; McMillen, W. T.; Mort, N.; Sawyer, J. S.; Yingling, J. M. *Biochemistry* **2005**, *44*, 2293 - 2304.