

Neuartige Kinaseinhibitoren zur multitargeted Therapie der Alzheimer-Krankheit

Dissertation

zur Erlangung des

Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftliche Fakultät I

Biowissenschaften-

der Martin-Luther-Universität

Halle-Wittenberg,



vorgelegt

von

Herrn Ansgar Opitz

geb. am 03.09.1993 (Braunschweig)

Gutachter 1:

Prof. Dr. Andreas Hilgeroth

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Str. 4, 06120 Halle (Saale)

Gutachter 2:

Prof. Dr Wolfgang Sippl

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Str. 4, 06120 Halle (Saale)

Gutachter 3:

Jun.-Prof. Dr. Pierre Koch

Eberhard Karls Universität Tübingen Auf der Morgenstelle 8, 72076 Tübingen

Datum der Verteidigung:

19.10.2021

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	IX

I. Theoretischer Teil

1 Einleitung.....	1
1.1 Alzheimer-Krankheit.....	3
1.1.1 Aktuelle Therapieoptionen	4
1.2 Die Amyloid-Hypothese.....	5
1.2.1 Bildung und physiologische Bedeutung	6
1.2.2 Aggregation und Pathologie.....	7
1.2.3 Therapieansätze	7
1.3 Die Tau-Hypothese	10
1.3.1 Aufbau und physiologische Bedeutung.....	10
1.3.2 Aggregation und Pathologie.....	12
1.3.3 Therapieansätze	14
1.4 Proteinkinasen.....	15
1.4.1 Mit AD assoziierte Tau-Proteinkinasen	16
1.4.1.1 Glycogensynthase-Kinase 3	17
1.4.1.2 Mitogen-aktivierte Proteinkinase.....	18
1.4.1.3 Cyclin-abhängige Kinase	21
1.4.1.4 Tyrosinkinase Fyn	23
1.5 Inhibitoren von mit AD assoziierten Proteinkinasen.....	24
1.5.1 GSK3-Inhibitoren	25
1.5.2 JNK-Inhibitoren.....	27
1.5.3 ERK-Inhibitoren	28
1.5.4 CDK-Inhibitoren.....	29
1.5.5 Tyrosinkinase Fyn-Inhibitoren.....	30
1.5.6 Schlussfolgerungen	31

1.6	1-Aza-9-oxafluoren-Derivate als Inhibitoren mit AD assoziierter Proteinkinasen	32
2	Zielstellung der Arbeit	36
3	Ergebnisse und Diskussion	39
3.1	Synthese und Analytik	39
3.1.1	Synthese kommerziell nicht verfügbarer oder instabiler Edukte.....	40
3.1.1.1	Chinone.....	40
3.1.1.2	Iodalkane	41
3.1.1.3	Benzylchloride	42
3.1.2	Synthese der an Position 3 substituierten Pyridine	42
3.1.3	Synthese und Analyse der 4-Phenyl- <i>N</i> -acetyl-1,4-dihydropyridine	45
3.1.3.1	Grundlagen der Reaktion	46
3.1.3.2	Experimentelle Durchführung	47
3.1.3.3	Nebenprodukte und Modifikationen der Reaktion.....	49
3.1.3.4	Ausbeuten der Reaktion.....	52
3.1.3.5	Betrachtungen und Theorien zum Reaktionsverlauf	53
3.1.3.6	Strukturelle Charakterisierung der <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine	54
3.1.4	Synthese und Analyse der Azoxafluorene.....	57
3.1.4.1	Grundlagen der Reaktion und postulierter Reaktionsmechanismus	57
3.1.4.2	Anfängliche experimentelle Durchführung	60
3.1.4.3	Optimierungen der experimentellen Vorgehensweise	61
3.1.4.4	Ausbeuten und Reaktionszeit.....	63
3.1.4.5	Strukturelle Analyse der Verbindungen	67
3.1.5	Synthese und Analyse der Methoxyazoxafluorene.....	71
3.1.5.1	Experimentelle Durchführung	71
3.1.5.2	Ausbeuten	72
3.1.5.3	Eigenschaften und Strukturelle Analyse der Verbindungen	73
3.1.6	Synthese und Analyse der längerkettigen Alkoxyazoxafluorene	73
3.1.6.1	Entwicklung der Synthese	73
3.1.6.2	Experimentelle Durchführung	74
3.1.6.3	Ausbeuten	75
3.1.6.4	Eigenschaften und strukturelle Analyse der Verbindungen.....	76

3.1.7	Synthese und Analytik der (2-Hydroxyethoxy)-substituierten Azoxafluorene	78
3.1.7.1	Experimentelle Durchführung	78
3.1.7.2	Betrachtungen zur Durchführung und zum Reaktionsmechanismus.....	79
3.1.7.3	Eigenschaften und Strukturelle Analyse der Verbindungen	81
3.1.8	Syntheseversuch der 2-aminoethoxy-substituierten Azoxafluorene	82
3.1.9	Syntheseversuch von 1-Aza-9-oxafluorenen und α -Carbolinen mit <i>ortho</i> -Chinonen und stickstoffhaltigen <i>para</i> -Chinonen.....	83
3.1.10	Syntheseversuch der 3-Amino-1-aza-9-oxafluorene bzw. 8-Amino-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene.....	84
3.2	Ergebnisse der Proteinkinaseinhibitionsassays.....	86
3.2.1	Auswahl der Testsubstanzen und ermittelte K_i -Werte	88
3.2.2	Auswertung und Interpretation der Testergebnisse.....	89
3.2.2.1	Testergebnisse der PROQINASE GmbH.....	89
3.2.2.2	Testergebnisse des Arbeitskreises von V. KRYSSTOF	91
3.3	<i>Docking</i> -Untersuchungen.....	96
4	Zusammenfassung und Ausblick	99
4.1	Zusammenfassung.....	99
4.2	Ausblick.....	102
II. Experimenteller Teil		
5	Geräte, Methoden und Chemikalien.....	105
5.1	Methoden und Geräte der Analytik und Synthese	105
5.1.1	Generelle Methoden der Synthese	105
5.1.2	Chromatographie	106
5.1.2.1	Schwerkraftsäulenchromatographie.....	106
5.1.2.2	Dünnschichtchromatographie (DC).....	107
5.1.2.3	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).....	108
5.1.3	Massenspektrometrie (MS).....	108
5.1.4	Kernresonanzchromatographie (NMR)	109
5.1.5	Schmelzpunktbestimmung.....	110
5.1.6	Sonstige verwendete Geräte.....	111
5.1.7	In silico-Untersuchungen	112

5.1.7.1	Konformationsanalyse der <i>N</i> -Acetyl-1,4-Dihydropyridine	112
5.1.7.2	<i>Molecular-Modelling</i> -Untersuchungen zum Bindungsmodus ausgewählter Inhibitoren	112
5.2	Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel	114
6	Synthese der Verbindungen	117
6.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV).....	117
6.2	Verbindungsmonographien.....	120
6.2.1	Synthese kommerziell nicht erhältlicher Edukte.....	120
6.2.2	Synthese der 3-substituierten Pyridine.....	125
6.2.3	Synthese der <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine.....	134
6.2.4	Synthese der 3-Alkoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	147
6.2.5	Synthese der 3-Benzyl-oxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	153
6.2.6	Synthese der 3-Halogen-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	162
6.2.7	Synthese der weiteren Azoxafluoren-Derivate	166
6.2.8	Synthese der 6-methoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-methoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	169
6.2.9	Synthese der 6-ethoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-ethoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	178
6.2.10	Synthese der 6-propoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-propoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	188
6.2.11	Synthese der 6-isopropoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-isopropoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	198
6.2.12	Synthese der (2-hydroxyethoxy)-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzo[<i>a</i>]fluoren-Derivate	206
6.2.13	Nebenprodukte	210
7	Biochemische Testverfahren	216
7.1	Bestimmung von IC ₅₀ -Werten mittels des ³³ PanQinase®-Assays der PROQINASE GmbH	216
7.1.1	Testergebnisse	217
7.2	Bestimmungen der Inhibitionen der Verbindungen durch den Arbeitskreis von V.KRYSTOF.....	218

7.2.1 Testergebnisse	219
8 Literaturverzeichnis.....	223
Eidesstattliche Erklärung.....	246
Danksagung.....	247
Lebenslauf	248

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Substitutionsmuster bereits synthetisierter wichtiger Azoxafluorene	33
Tabelle 2: Ausbeuten der Synthese der 3-Alkoxy- und 3-Benzoyloxy-pyridine	44
Tabelle 3: Ausbeuten der Synthesen der 4-Phenyl- <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine.....	52
Tabelle 4: Auflistung der Verhältnisse der Integrale der E- und Z-Rotamere von 2-H und 4-H der synthetisierten 4-Phenyl- <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine	56
Tabelle 5: Ausbeuten und Reaktionszeiten der Synthesen der 1-Aza-9-oxafluorene und 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene	64
Tabelle 6: Ausbeuten der Synthesen der 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene bzw. 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene.....	72
Tabelle 7: Ausbeuten der 6-Alkoxy-1-aza-9-oxafluoren-Derivate bzw. 5-Alkoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivate.....	76
Tabelle 8: Strukturübersicht für die durch die PROQINASE GmbH getesteten Verbindungen	88
Tabelle 9: Durchschnittliche K_i -Werte für die durch die PROQINASE GmbH getesteten Verbindungen.....	88
Tabelle 10: Errechnete durchschnittliche K_i -Werte für die durch den Arbeitskreis von V. KRYSSTOF getesteten Verbindungen. V. = Verbindungen. - = nicht bestimmt.....	89
Tabelle 11: K_i -Werte der verschiedenen am Benzylring substituierten 3-Benzoyloxy-1-aza-9-oxafluoren-Derivate	89
Tabelle 12: K_i -Werte der verschiedenen am Benzylring und an Position 5 substituierten 8-Benzoyloxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivate	90
Tabelle 13: Verwendete Magnetrührplatten	111
Tabelle 14: Verwendete Fein-, Präzisions- und Handelswaagen	112
Tabelle 15: Parameter der durch die PROQINASE GmbH durchgeführten Proteinkinaseinhibitoren-Assays	217
Tabelle 16: Auflistung der durch die ProQinase GmbH in Doppelbestimmung ermittelten IC_{50} -Werte.....	217
Tabelle 17: Parameter der durch den Arbeitskreis von V.KRYSSTOF durchgeführten Proteinkinaseinhibitoren-Assays	218
Tabelle 18: Strukturübersicht für die durch den Arbeitskreis von V. KRYSSTOF getesteten Verbindungen.....	219
Tabelle 19: Auflistung der durch den Arbeitskreis von V.KRYSSTOF ermittelten, prozentualen Restaktivitäten der untersuchten Proteinkinase bei einer Inhibitor-Konzentration von 10 μ M.....	220
Tabelle 20: Auflistung der durch den Arbeitskreis von V.Krystof kalkulierten IC_{50} -Werte für die untersuchten Verbindungen	222

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Physiologische und pathologische Spaltung von APP.....	6
Abbildung 2: Schematische Abbildung des Tau-Proteins.....	11
Abbildung 3: Auswahl an GSK3-Inhibitoren	27
Abbildung 4: Auswahl an JNK-Inhibitoren (SP600125) und ERK-Inhibitoren (Ulixertinib, VX-11e) .	28
Abbildung 5: Auswahl an CDK-Inhibitoren	29
Abbildung 6: Auswahl an Fyn-Inhibitoren.....	31
Abbildung 7: Darstellung der Docking-Ergebnisse von Ib , Ic , Id und Ie an einer aktiven Konformation von GSK3 β	34
Abbildung 8: Darstellung der Docking-Ergebnisse von If an einer aktiven CDK1 (1) und von Ig an einer aktiven GSK3 β (2).....	35
Abbildung 9: 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren-Synthese nach HILGEROTH <i>et al.</i>	36
Abbildung 10: Eintopfreaktion nach VOIGT zur Synthese von 3,4-disubstituierten 1-Aza-9-Oxafluorenen	36
Abbildung 11: Übersicht der angestrebten Zielverbindungen.....	37
Abbildung 12: Schematische Darstellung der Synthesestrategie für die Verwendung von <i>p</i> -Chinon-Derivaten.....	39
Abbildung 13: Theoretische Produkte der Umsetzung von Verbindung 19 mit Chinonvariationen	40
Abbildung 14: Synthesen der Chinonvariationen	41
Abbildung 15: Synthese der Methoxybenzylchloride	42
Abbildung 16: Synthese der 3-Alkoxy- und 3-Benzoyloxy-Pyridin-Derivate	43
Abbildung 17: Darstellung der <i>N</i> -Acetylierung der Pyridin-Derivate und der Grenzstrukturen des resultierenden Pyridinium-Kations	46
Abbildung 18: Reaktionsschema der 4-Phenyl- <i>N</i> -acetyl-1,4-dihydropyridin-Synthese.....	47
Abbildung 19: Bei der Synthese der 4-Phenyl- <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine entstehende, charakterisierte Nebenprodukte.....	49
Abbildung 20: Postulierte Reaktionswege für die Bildung von Biphenyl.....	51
Abbildung 21: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Synthese der 4-Phenyl- <i>N</i> -acetyl-1,4-dihydropyridine.....	54
Abbildung 22: Darstellung der möglichen Isoformen von Verbindung 27	55
Abbildung 23: Darstellung des bei der NMR Spektroskopie gebildeten Anisotropiekegels entlang der Carbonylgruppe von Verbindung 19	55
Abbildung 24: ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 19	56
Abbildung 25: Pterocarpan-Synthese nach ENGLER <i>et al.</i> am Beispiel der Reaktion von 2 <i>H</i> -Chromen mit 2-Methoxy-1,4-benzochinon	58
Abbildung 26: Scandium(III)-katalysierte 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren-Synthese nach Fukuzumi <i>et al.</i>	59

Abbildung 27: Darstellung des vermuteten Mechanismus für die Reaktion eines 3-substituierten <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridinen mit einem <i>p</i> -Chinon	60
Abbildung 28: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Deiodierung von 3-Iod-4-phenylbenzofuro[2,3- <i>b</i>]pyridin-6-ol	67
Abbildung 29: ¹ H NMR-Spektrum von Verbindung 40	68
Abbildung 30: Darstellung des Ringstrom-induzierten Magnetfeldes am Beispiel eines 1-Aza-9-oxafluorens	68
Abbildung 31: ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 45	69
Abbildung 32: Ausschnitte der ¹ H-NMR-Spektren von Verbindung 52 (links) und 53 (rechts)	70
Abbildung 33: Ausschnitt des ¹ H- ¹ H-COSY-Spektrums von Verbindung 53 bei 400 MHz von 7,0 bis 9,0 ppm	71
Abbildung 34: Darstellung der Synthese der 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene	72
Abbildung 35: Darstellung der Synthese der 6-Ethoxy, 6-Propoxy und 6-Isopropoxy-1-aza-9-oxafluorene	74
Abbildung 36: Darstellung der überlagerten ¹ H-NMR-Spektren der Verbindungen 66 , 78 und 89 im Bereich von 0,8 bis 4,4 ppm	77
Abbildung 37: Schematische Darstellung des Reaktionsmechanismus der Synthese der 5-(2-Hydroxyethoxy)-10-aza-11-oxabenz[<i>a</i>]fluorene am Beispiel von Verbindung 101 und des Nebenproduktes der 5-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)-10-aza-11-oxabenz[<i>a</i>]fluorene am Beispiel von Verbindung 110	79
Abbildung 38: Ausschnitt von 5,05-3,5 ppm aus den ¹ H-Spektren von Verbindung 98 (links, schwarz) und Verbindung 100 (rechts, rot)	81
Abbildung 39: Postulierter Reaktionsmechanismus der erprobten Aminoethylierungsstrategie am Beispiel von Verbindung 42 als Ausgangsstoff	82
Abbildung 40: Angenommener Reaktionsmechanismus für die Aminierung von 3-Brom-1-aza-9-oxafluorenen dargestellt am Beispiel von Verbindung 50	85
Abbildung 42: Ermittelte Bindungsmodi von Verbindung 32 (links, Inhibitor grün dargestellt) und Verbindung 98 (rechts, Inhibitor türkis dargestellt) an CDK1/B	97
Abbildung 43: Ermittelter Bindungsmodus von Verbindung 67 an der Tyrosinkinase Fyn	98
Abbildung 44: Überblick zu möglichen Derivatisierungen der Azoxafluoren-Leitstruktur.	102
Abbildung 45: Überblick zur möglichen Synthese und Derivatisierung von Diazafluorenen	103
Abbildung 46: Darstellung möglicher Synthesewege zur Herstellung des 6-Amino-1,9-diazafluoren-Grundkörpers.	104

Abkürzungsverzeichnis

δ	Chemische Verschiebung
6-BIDECO	6-Bromindirubin-3-[O-(<i>N,N</i> -diethylcarbamyloxy)]
6-BIO	6-Bromindirubin-3-oxim
6-BIMYEO	6-Bromindirubin-3-[O-(2-morpholin-1-ylethyl)-oxim]hydrochlorid
A β	β -Amyloid
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
ACh	Acetylcholin
ACh-EI	Acetylcholinesterase-Inhibitor
AD	<i>Alzheimer Disease</i> = Alzheimer Erkrankung
ADI	ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL
AICD	<i>APP Intracellular Domain</i> = Intrazellulär abgespaltene Domäne des APP
Akt	Proteinkinase B
Ala, A	Alanin
AMBAR	<i>Alzheimer Management By Albumin Replacement</i> = Alzheimer Behandlung mittels Albumin-Austausch
AMP	Antimikrobielles Peptid
AP	Amyloid-Plaques
APCI	<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i> = Chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck
APP	<i>Amyloid Precursor Protein</i> = Amyloid Vorläuferprotein
ARIA	<i>Amyloid related imaging abnormalities</i> = Amyloid-abhängige Bildgebungsabnormalitäten
AS	Aminosäure
Asn, N	Asparagin
Asp, D	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
BACE1	<i>β-site APP cleaving Enzyme 1</i> = β -Sekretase
BAD	<i>Bcl-2-Antagonist of Cell Death</i>
Brine	gesättigte Natriumchloridlösung
CAK	CDK-aktivierende Kinase
CBD	Cyclin-Bindungs-Domäne
CBF	<i>Cyclin box fold</i> = konserviertes Bindungsmotiv der Cycline
CDCl ₃	deutერიertes Chloroform
CDK	<i>Cyclin dependent Kinase</i> = Cyclin-abhängige Kinase
CDK1/B	CDK1 im Komplex mit Cyclin B
CDK2/A	CDK2 im Komplex mit Cyclin A
CDK2/E	CDK2 im Komplex mit Cyclin E

CDK4/D	CDK4 im Komplex mit Cyclin D
CDR-SB	<i>Clinical Dementia Rating–Sum of Boxes</i>
CK	Casein-Kinase
COSY	Correlation Spektroskopie = Korrelationsspektroskopie
CSF	<i>Cerebrospinal fluid</i> = Cerebrospinalflüssigkeit
Cys, C	Cystein
DC	Dünnschichtchromatographie
dest.	destilliert
DFG	Asparaginsäure-Phenylalanin-Glycin-Wiederholungssequenz
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EMA	EUROPEAN MEDICINE AGENCY
EOAD	<i>Early onset Alzheimer Dementia</i> = Alzheimer Demenz mit frühem Beginn
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinases</i> = Extrazellulär signalregulierte Kinase
ESI	Elektronen-Spray-Ionisation
FcRn	neonataler Fc Rezeptor
FP	front pocket = vordere Bindungstasche
Glu, E	Glutaminsäure bzw. dessen Anion Glutamat
Gly, G	Glycin
GSK 3	Glykogensynthase-Kinase 3
gTauO	granuläres Tau-Protein-Oligomer
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> = Heteronukleare Mehrfachbindungskorrelation
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> = Hochleistungsflüssigchromatographie
HR-MS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i> = Hochauflösende Massenspektrometrie
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> = Heteronukleare Einzelquantenkohärenz
IUPAC	INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY
IgG	Immunglobulin G
Ile, I	Isoleucin
INK4	<i>Inhibitors of CDK4</i> = Inhibitoren der CDK4
IQWiG	Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen
J	Kopplungskonstante
JBD	JNK-Bindungs-Domäne
JIP	<i>JNK interacting protein</i>
JNK	c-Jun N-terminale Kinase
LBD	<i>Lewy-Body-Dementia</i> = Lewy-Körper-Demenz

Leu, L	Leucin
LM	Laufmittel
LMTM	Leuco-Methylthioninium Bis(hydromethansulfonat)
LOAD	<i>Late onset Alzheimer Dementia</i> = Alzheimer Demenz mit spätem Beginn
Lys, K	Lysin
MAP	Mikrotubulus-assoziiertes Protein
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MAP2K	MAPK-Kinase
MAP3K	MAP2K-Kinase
MBD	Microtubulus-Bindungs-Domäne
MCI	<i>Mild cognitive impairment</i> = leichte kognitive Beeinträchtigung
MEK	MAPK/ERK-Kinasen
MMST	<i>Mini Mental State Test</i>
MW	Mittelwert
n.d.	nicht durchgeführt
NFT	<i>Neurofibrillary tangles</i> = Neurofibrilläre Bündel
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat Rezeptor
p38	p38 Mitogen-aktivierte Proteinkinase
PC	Perchlorsäure
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
Phe, F	Phenylalanin
PHF	<i>Paired helical filaments</i> = gepaarte helikal angeordnete Filamente von aggregiertem Tau-Protein
PI3K	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat 3-kinase
PKA	Proteinkinase A
PP	Proteinphosphatase
ppm	<i>parts per million</i> = Teile pro Million
Pro, P	Prolin
PrP ^C	zelluläres Prionprotein
PS	Präsenilin
PSD	<i>Postsynaptic density</i>
PSD-95	<i>Postsynaptic density protein 95</i>
P-Tau	Tau-Protein-Monomer
RA	Restaktivität
Raf	Ras-aktivierte Kinase
RNS	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
S	Schwefelsäure
SD	<i>Standard deviation</i> = Standardabweichung

Ser, S	Serin
SF	Straigt filaments = gerades Filament aus aggregiertem Tau-Protein
SFK	Src-Familie-Kinasen
SH-Domäne	Src-Homologie-Domäne
SMKI	<i>Small-molecule kinase inhibitors</i> = niedermolekularer Proteinkinaseinhibitor
Src	Familie der Tyrosin-Kinasen
TAT ₄₈₋₅₇	<i>HIV-Trans-activator-of-transcription-protein</i>
TauO	Tau-Protein-Oligomer
TDZD	Thiadiazolidindion
Thr, T	Threonin
TLC	<i>Thin layer chromatography</i> = Dünnschichtchromatographie
TS	Testsubstanzen
TTBK	Tau-Tubulin-Kinase
Tyr, Y	Tyrosin
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
V/V	Volumen-Volumen-Verhältnis
Val, V	Valin
VaD	<i>Vaskular Dementia</i> = Vaskuläre Demenz
WBB	Wasserstoffbrückenbindung
WHO	WORLD HEALTH ORGANIZATION
Wt	<i>wild type</i> = Wildtyp
ZNS	Zentralnervensystem

I.

Theoretischer Teil

1 Einleitung

Wenn wir uns die Frage stellen, was einen Menschen ausmacht, fallen vielen von uns wahrscheinlich unterschiedliche Antworten ein. Die Persönlichkeit, bestehend aus Charakterzügen, Angewohnheiten und lebenslangen Erfahrungen, machen einen Menschen zu dem, was er ist, werden einige sagen. Andere führen vielleicht an, dass die Fähigkeit rational oder kreativ zu denken im Mittelpunkt des menschlichen Wesens steht und damit das Potential Wissenschaft, Kunst und Kultur hervorzubringen. Andere wiederum werden behaupten, dass die Fähigkeiten in einer komplexen sozialen Gesellschaft miteinander zu agieren und zu leben das wesentlich Menschliche ausmacht. Was aber haben alle diese Punkte gemeinsam?

Über 54 Millionen Menschen auf der Welt sind laut **ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL (ADI)** im Jahr 2020 im Begriff diese Fähigkeiten, die wir als essentiell für das Menschsein betrachten, zu verlieren oder haben sie bereits verloren.¹ Grund dafür sind neurodegenerative Erkrankungen, die wir als Demenzen bezeichnen. Was viele wahrscheinlich mit Altersvergesslichkeit verbinden, hat in der Realität weitaus mehr Facetten. Der Verlust höherkortikaler Hirnfunktionen wie dem Gedächtnis, dem Denken, dem Erlernen neuer Fähigkeiten, der Orientierung, dem Sprachvermögen oder der Urteilskraft können diese Krankheiten auszeichnen.² Die Beschreibung von Menschen, die ihre Liebsten an diese Krankheiten verloren haben, machen klar, dass den Betroffenen mit der Zeit jedoch alles genommen wird, was sie einst ausmachte. In späteren Stadien erkennt weder der Erkrankte noch der Angehörige den jeweils anderen geliebten Menschen wieder.^{3,4} Letztlich führen diese Demenz-Erkrankungen auch oft zum Tod der Betroffenen. Spätestens wenn es im fortgeschrittenen Krankheitsstadium zu Bettlägerigkeit, Inkontinenz, Schluckbeschwerden und körperlichem Abbau kommt, steigt die Anfälligkeit für Komorbiditäten stark.^{5,6} Demenzen sind global gesehen die fünfthäufigste Todesursache.⁷ Im Jahr 2017 starben alleine in Deutschland über 44.000 Menschen in Folge einer Demenzerkrankung.⁸ Vorhersagen sprechen dafür, dass sich die Zahl der Erkrankten alle 20 Jahre nahezu verdoppeln wird und im Jahr 2050 über 131 Millionen Menschen weltweit betroffen sein werden.¹ Grund dafür ist vor allem eine steigende Lebenserwartung.^{1,9} Denn das Altern ist der größte Risikofaktor für das Entstehen einer Demenz.⁶ Liegt die Prävalenzrate für die Ausbildung einer Demenz bei unter 60 Jährigen noch bei unter 0,1 Prozent, steigt sie schon in der Altersgruppe der 60 bis 64 Jährigen auf 0,6 Prozent an und verdoppelt sich nahezu alle fünf Jahre. Die Altersgruppe der über 90 Jährigen weist eine Prävalenzrate von 40,8 Prozent auf.¹⁰ Eine Erkrankung wie Demenz, die mit einem stark erhöhten Pflegeaufwand einhergeht, ist in ihren Folgen nicht nur auf die Betroffenen beschränkt, sondern stellt auch die Angehörigen sowie unsere gesamte Gesellschaft vor große Herausforderungen. Einen derart schwerkranken Menschen zu pflegen, ist für dem Erkrankten nahe stehende Personen eine außergewöhnliche Belastungsprobe, die neben der Beeinflussung der sozialen und wirtschaftlichen Situation auch die Gesundheit der Pflegenden

negativ beeinträchtigt.¹¹⁻¹³ Pflegende Angehörige sind zum Beispiel wesentlich öfter von Depressionen oder Angststörungen betroffen und krankheitsanfälliger als der Durchschnitt der Bevölkerung.^{14,15} Die volkswirtschaftlichen Konsequenzen sind enorm. Allein von 2010 bis 2015 stiegen die mit Demenz verbundenen globalen Ausgaben von 604 Milliarden US-Dollar auf 818 Milliarden US-Dollar.¹⁶ Das entspricht einem Anstieg von 35 Prozent in 5 Jahren. Prognosen deuten mit zunehmender Lebenserwartung und demographischem Wandel auf eine weitere Eskalation der Kosten hin. Im Jahr 2030 sollen die weltweiten demenzbedingten Ausgaben zwischen 2000 und 2540 Milliarden US-Dollar betragen.^{16,17} Viele nationale und internationale Maßnahmen wurden daher bereits ergriffen. Schon im Jahr 2013 verkündeten die Gesundheitsminister der G8-Staaten, es sei ihr erklärtes Ziel, ein Heilmittel oder zumindest eine den Krankheitsverlauf positiv beeinflussende Therapie bis spätestens 2025 zu finden.¹⁸ Im Jahr 2017 beschloss die **WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO)** im Rahmen eines **GLOBAL ACTION PLANS** ihrerseits, die internationalen Bemühungen hinsichtlich Behandlung und Prävention zu harmonisieren und mit einer Verdopplung der eingesetzten Forschungsgelder zu unterstützen.¹⁹ Trotz alledem lassen sich bisher kaum Fortschritte in der Therapie der Demenz erkennen. Erst 2018 gab der Pharmakonzern **PFIZER** den vollständigen Rückzug aus der Erforschung und Entwicklung von Demenz-Therapeutika bekannt.²⁰ Nicht unverständlich, wenn man bedenkt, dass die letzte erfolgreiche Neuzulassung in diesem Bereich 2002 stattgefunden hat.²¹⁻²³ Bisher ist keine den progressiven Verlauf von Demenz positiv beeinflussende Therapie verfügbar, sondern lediglich einige symptomatische Behandlungsformen.^{23,24} Dies ist auch dadurch zu erklären, dass es viele verschiedene demenzbedingende Erkrankungen gibt, die oft auch in Kombination auftreten.²⁵ Das macht epidemiologische Angaben zur Häufigkeitsverteilung einzelner Subtypen schwer, da eine Differenzialdiagnose oft nur *post mortem* via Obduktion vorgenommen werden kann. Geringe Stichprobengrößen und verschiedene Bias hierbei oft keine allgemeingültigen Aussagen zulassen.²⁶ Daher gibt es in der Literatur oft sehr unterschiedliche Angaben hierzu.²⁷⁻²⁹ Insgesamt lassen sich vier größere Subtypen identifizieren, die an circa 95 Prozent aller Demenzfälle beteiligt sind.^{25,27} Die bekannteste Form, die bei bis zu 70 Prozent aller Demenzfälle ausschlaggebend für den geistigen Verfall oder an ihm beteiligt ist, wird als Demenz bei Alzheimer-Krankheit (AD) bezeichnet.³⁰ Oft tritt sie in Kombination mit vaskulärer Demenz (VaD) auf, bei der eine Schädigung der zerebralen Blutgefäße durch Infarkte und Läsionen im Zentrum der Pathogenese steht. Die zweithäufigste Form der neurodegenerativen Demenz ist die Lewy-Körper Demenz (engl. *Lewy-Body-Dementia* (LBD)), bei deren Pathologie die abnormale Faltung und Aggregation des zerebralen Proteins α -Synuclein im Mittelpunkt steht.^{31,32} Die Frontotemporale Demenz wiederum unterscheidet sich vor allem durch eine wesentlich höhere Prävalenz bei Personen unter 65 Jahren von den anderen Demenzerkrankungen.²⁸

Der folgende Abschnitt geht näher auf die Pathologie der Alzheimer-Krankheit ein und bietet einen Überblick über aktuelle medikamentöse Therapiestrategien.

1.1 Alzheimer-Krankheit

Die Alzheimer-Krankheit (*Alzheimer Disease* (AD)) ist benannt nach ihrem Entdecker ALOIS ALZHEIMER. Im Jahr 1906 machte der süddeutsche Nervenarzt bei der Obduktion seiner verstorbenen Patientin Auguste Deter einige folgenschwere Entdeckungen. Das Hirn der Patientin, die wegen fortschreitender Gedächtnisschwäche, Desorientiertheit und Apathie in psychiatrischer Behandlung war, zeigte auffällige pathologische Veränderungen.³³ ALZHEIMER entdeckte neben einer generellen Atrophie der Hirnsubstanz eine Häufung von intrazellulären Neurofibrillenbündeln (*Neurofibrillary tangles* (NFT)) sowie extrazellulären Ablagerungen, die später als β -Amyloid-Plaques (AP) identifiziert werden sollten.^{33,34} Damit hatte er bereits bei der ersten Beobachtung der Krankheit die Marker identifiziert, die noch heute zur Diagnose der Krankheit herangezogen werden.

Ihr Nachweis kann heute bereits ohne Obduktion erfolgen. So kann freies β -Amyloid 42 ($A\beta_{1-42}$) und hyperphosphoryliertes Tau (der wesentliche Bestandteil der NFTs) entweder aus der Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) oder mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) detektiert werden.³⁵⁻³⁷ Diese Methoden tragen zu einer neuen biologischen Definition der Erkrankung bei.^{38,39} Ein wichtiges Diagnosekriterium bleiben aber weiterhin neuropsychologische Testverfahren wie der *Mini Mental State Test* (MMST), bei denen Einschränkungen in den Bereichen räumliche und zeitliche Orientierung, Gedächtnis sowie Störungen der Semantik und Aufmerksamkeit ermittelt werden.⁴⁰ Nach diesen wird zwischen drei Schweregraden der AD unterschieden.^{39,41} Bei der leichten AD stehen Störungen des Kurzzeitgedächtnisses und der Semantik meist im Vordergrund, sowie erste affektive Störungen wie Depression und Reizbarkeit.⁴² Komplexe Alltagstätigkeiten sind noch eingeschränkt möglich und die Betroffenen benötigen nur von Zeit zu Zeit pflegerische Unterstützung.³⁸ Bei der Progredienz zur mittelschweren AD sind Verfall von Langzeitgedächtnis und Persönlichkeit sowie zunehmende neurologische Störungen wie Unruhe, Psychosen, gestörter Schlafrythmus und Aggressivität häufige Symptome.⁴² Ein Verlust der Alltagskompetenz macht sich bemerkbar.⁴² Tägliche Pflegemaßnahmen werden ab jetzt benötigt.³⁸ Im späten Stadium der schweren AD ist oft schon kaum eine Kommunikation mit dem Patienten mehr möglich.⁵ Muskelatrophie, Schluckstörungen, Harn- und Stuhlinkontinenz sind Zeichen des zunehmenden körperlichen Verfalls.⁵ Bettlägerigkeit, ständige Betreuung und Pflege sind die Folge.³⁸ Pneumonien als Folge von aspirierter Nahrung und Komorbiditäten sorgen für eine stark erhöhte Sterblichkeit in diesem Stadium.⁵

Neuere Untersuchungen haben belegt, dass die mit AD assoziierten pathologischen Veränderungen bereits Jahrzehnte vor der klinischen Manifestation der Krankheit auftreten.⁴³ Die Manifestation von Symptomen stellt bei weitem nicht das erste Krankheitsstadium dar. Aus diesem Grund wurde das Frühstadium, in dem sich AD-spezifische Biomarker bereits nachweisen lassen, aber keinerlei Symptome bestehen, als präklinische AD definiert.^{43,44} Oft folgt auf dieses eine Phase der leichten kognitiven Einschränkung (*Mild cognitive Impairment* (MCI)), bei der sich

zwar eine geringfügige Verringerung geistiger Fähigkeiten aber noch keine Demenz nachweisen lässt. Jene kann sich aber mit hoher Wahrscheinlichkeit zur AD weiterentwickeln und bildet somit ein weiteres Krankheitsstadium.⁴⁵

AD wird als Krankheit mit polygenetischem Ursprung beschrieben.⁴⁶ Man nimmt an, dass 90 Prozent der Demenzen bei AD mit frühem Beginn vor dem 65. Lebensjahr (*early onset Alzheimer Dementia* (EOAD)) vererbte Ursprünge haben, während dies bei den Demenzen bei AD mit spätem Beginn nach dem 65. Lebensjahr (*late onset Alzheimer Dementia* (LOAD)) nur bei 58 bis 79 Prozent der Erkrankten der Fall ist.⁴⁷ Die exakte Pathogenese der AD ist weiterhin unbekannt. Inzwischen ist jedoch anzunehmen, dass die von Alzheimer beobachteten Faktoren eine entscheidende Rolle bei dieser spielen. So korreliert Anzahl und Verteilung der NFTs im Gehirn am besten von allen bisher bekannten Faktoren mit der Art und Intensität der neurokognitiven Einschränkungen.^{40,43} Außerdem konnte gezeigt werden, dass isolierte genetische Veränderungen, die eine vermehrte Bildung von β -Amyloid zur Folge haben, EOAD auslösen.⁴⁸ Diese familiär autosomal vererbten Formen sind das Fundament, auf dem die Amyloid-Kaskaden-Hypothese begründet ist (siehe Abschnitt 1.2).⁴⁷ Jene sind aber nur verantwortlich für 11 Prozent aller EOAD-Fälle, die wiederum nur 4 bis 6 Prozent aller Fälle von AD insgesamt ausmachen.⁴⁰ Die wesentlich häufigere Form ist die LOAD, auch sporadische AD genannt. Für diese wurden inzwischen mehr als 50 Genloci identifiziert, die mit einem erhöhten Risiko für die Manifestation von AD assoziiert sind. Die genetischen Risikofaktoren beeinflussen vor allem den Lipidtransport, das Immunsystem, die Bildung von NFTs und APs, Endozytose-Prozesse, die Ausbildung vaskulärer Defekte und die Ubiquitinierung von Proteinen.⁴⁷ Auch Umwelteinflüsse wie Veränderungen des Mikrobioms, eine westliche Ernährungsweise, Schlafmangel, ein sitzender Lebensstil, die Einnahme einiger Medikamente wie Benzodiazepine, Aluminiumexposition, Stress und Parodontitis steigern mit hoher Wahrscheinlichkeit das AD-Risiko.⁴⁹⁻⁵³ All das deutet auf eine komplexe multifaktorielle Pathogenese hin.

1.1.1 Aktuelle Therapieoptionen

Im Zuge der Pathologie von AD kommt es zur Degeneration zentralnervöser cholinergischer Neurone, vor allem im Nucleus Basalis, der Efferenzen in nahezu alle Areale des Telencephalon aufweist. Dies hat weitreichende Folgen, da Acetylcholin (ACh) im Cerebrum nicht nur essentiell für Gedächtnisbildung und Lernprozesse ist, sondern auch großen Einfluss auf Neuroplastizität und zerebrale Hämodynamik hat.^{54,55} Die Inhibition der Acetylcholinesterase durch die zugelassenen Arzneistoffe Donepezil, Galantamin und Rivastigmin im synaptischen Spalt hat eine erhöhte Konzentration von ACh in demselben zur Folge.⁵⁵ Dies ermöglicht eine zentrale Signaltransduktion trotz der zunehmenden neuronalen Degeneration. Nachweislich führen diese Acetylcholinesterase-Inhibitoren (ACh-EI) damit zu einer Verbesserung der kognitiven Symptome und der Alltagskompetenz sowie zu einer Verringerung des Betreuungsaufwands bei leichter und mittelschwerer AD.^{56,57} Laut Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) gelten sie für diese Indikation als prinzipiell gleichwertig.⁵⁶

Einleitung

Das glutaminerge Neurotransmittersystem ist in seiner Funktion ebenfalls durch AD gestört. L-Glutamat (Glu) ist im zentralen Nervensystem (ZNS) der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter.⁵⁸ Seine physiologische Funktion ist essentiell für die Erhaltung von Neuroplastizität, Zellüberleben, Gedächtnis- und Lernprozessen. Dem *N*-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR), einem glutaminergen, ligandengesteuerten Ionenkanal, kommt hierbei eine besondere Bedeutung zu. Er weist eine sehr hohe Calciumpermeabilität auf.⁵⁸ Zur Aktivierung benötigt er neben Glutamat und einem Koagonisten (D-Serin oder Glycin) einen anderweitig vermittelten Anstieg des Membranpotentials. In der Folge wird das Magnesium-Ion, das die Pore des Ionenkanals verschließt, verdrängt und Calcium-Ionen können in die Zelle einströmen.⁵⁸ Die Aktivierung des Rezeptors vermittelt die sogenannte Langzeitpotenzierung. Bei dieser wird durch wiederholte Stimulation exzitatorischer Rezeptoren die neuronale Plastizität erhöht und damit dauerhafte Erinnerungs- und Lernprozesse ermöglicht. Außerdem wirkt eine Aktivierung des NMDAR auch der Einleitung des programmierten Zelltods entgegen.⁵⁹ Bei AD kommt es über eine mangelhafte Wiederaufnahme von Glu aus dem synaptischen Spalt, einen verringerten Abbau zu Glutamin und eine gesteigerten Freisetzung aus den präsynaptischen Neuronen zu dauerhaft erhöhten Glu-Spiegeln.⁵⁸ Die resultierende Hyperaktivierung des NMDAR führt zu einem exzessiven Einstrom von Calcium-Ionen in die Zelle. Die erhöhte Calcium-Ionen-Konzentration schränkt langfristig die Zellfunktion ein und führt schließlich zum Untergang der Zelle. Dieser als Exzitotoxizität bezeichnete Prozess trägt wesentlich zur Neurodegeneration bei AD bei. Die Problematik für einen Arzneistoff besteht nun also darin, die Hyperaktivität zu verringern, ohne die physiologische Aktivität zu weit einzuschränken. Der 2002 zugelassene NMDAR-Inhibitor Memantin erfüllt diese Voraussetzungen. Dies gelingt dadurch, dass er nur in den Kanalporen bereits aktivierter Rezeptoren bindet und durch eine teilweise regioselektive Hemmwirkung. Neuere Untersuchungen zeigen, dass die positiven physiologischen Effekte über synaptische NMDAR vermittelt werden, während die Exzitotoxizität vorwiegend eine Folge der Hyperaktivierung extrasynaptischer NMDAR ist, gegen die Memantin eine stärkere Hemmwirkung zeigt.^{58,59} Zugelassen ist Memantin für die Behandlung mittelschwerer und schwerer AD. Sein symptomatischer Nutzen gilt als erwiesen.⁵⁹

Bisher sind von der **EUROPEAN MEDICINE AGENCY** (EMA) zur Therapie der AD insgesamt nur 4 Medikamente zugelassen. Alle haben lediglich Auswirkungen auf die durch die Erkrankung bedingte Symptomatik, nicht auf deren Progression.³⁹ Um das Fortschreiten der Krankheit aufzuhalten, werden vor allem die Akkumulation von β -Amyloidpeptiden und Aggregaten des Tau-Proteins untersucht.

1.2 Die Amyloid-Hypothese

Über 25 Jahre hat die β -Amyloid-Kaskaden-Hypothese, die $A\beta_{1-42}$ -Monomere, -Oligomere und Amyloid-Plaques an den Anfang und in das Zentrum der Pathogenese der AD stellte, die Forschung wesentlich bestimmt. Mit dem klinischen Misserfolg zahlreicher von ihr abgeleiteter

Wirkstoffe, neuer Erkenntnisse zur präklinischen Pathologie, zur komplexen Pathogenese und zur physiologischen Bedeutung des β -Amyloids wird sie aber inzwischen vielfach kritisiert.^{47,60–62} Die Prozesse sind dennoch von entscheidender Bedeutung zum Verständnis des Gesamtprozesses der Erkrankung und der derzeitigen Arzneistoff-Pipeline.⁶⁰

1.2.1 Bildung und physiologische Bedeutung

Extrazelluläre Amyloid-Plaques sind die bekanntesten pathologischen Zeichen von AD. Sie setzen sich primär aus in β -Faltblattstruktur aggregiertem $A\beta_{1-42}$ zusammen. Die physiologische Bedeutung des $A\beta_{1-42}$ ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Die ursprüngliche Hypothese aber, es habe keine physiologisch wichtige Funktion, gilt als widerlegt.⁶¹ Inzwischen ist eine immunologische Bedeutung als antimikrobielles Peptid (AMP), sowie eine die Synapsenaktivität regulierende Aktivität für das Polypeptid nachgewiesen.^{61,62} Es wird zusammen mit kurzkettigeren Amyloidpeptiden bei der enzymatischen Spaltung des membranständigen *Amyloid-Precursor-Proteins* (APP) gebildet.

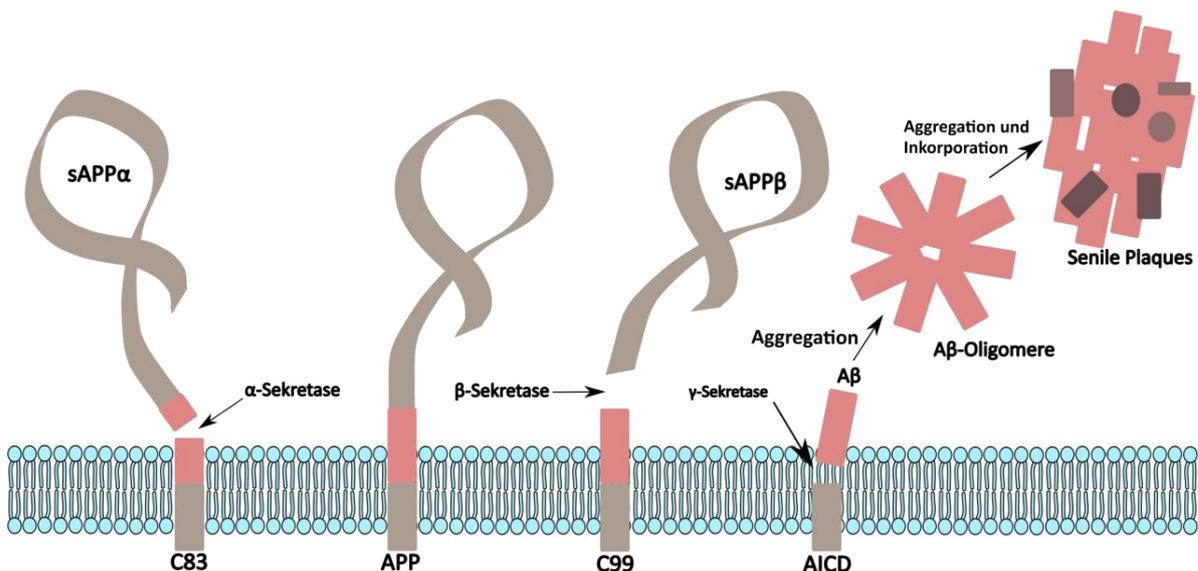


Abbildung 1: Physiologische und pathologische Spaltung von APP

Die α -Sekretase trennt das APP in C83 und sAPP α im nicht-amyloidogenen Weg. Die β -Sekretase spaltet APP in C99 und sAPP β am Beginn des amyloidogenen Weges. Dann trennt die γ -Sekretase C99 in A β -Peptide verschiedener Länge (37-43 AS). Diese aggregieren zunächst zu den toxischen Oligomeren, wobei sich die C-Termini der Monomere aneinanderlagern. Über mehrere Zwischenstufen und die Einlagerung weiterer Biomoleküle entstehen letztendlich die senilen Plaques.^{63–66}

Bei der Proteolyse des APPs wird zwischen zwei Wegen unterschieden. Im nicht-amyloidogenen Weg wird durch die Aktivität der α -Sekretase das APP innerhalb des A β -Fragments gespalten und das lösliche, neuroprotektive Peptid sAPP α entsteht. Bei dem mit der AD-Pathologie assoziierten amyloidogenen Weg wird das APP durch eine β -Sekretase gespalten. Dabei bleibt das A β -Fragment intakt und das lösliche, untoxische Peptid sAPP β entsteht. Die γ -Sekretase teilt das verbleibende, transmembranäre C99-Peptid in extrazellulär abgesonderte β -Amyloide mit einer Länge von 37-43 Aminosäuren und in die APP Intracellular Domain (AICD), die im Zytosol der Zelle abgebaut wird.^{63,64}

1.2.2 Aggregation und Pathologie

Bei gesunden Menschen entsteht bei diesem Prozess zu 90 Prozent das kürzere $A\beta_{1-40}$, das langsamer die leicht aggregierende β -Faltblatt-Struktur ausbildet und daher wenig zur Plaque-Bildung neigt. Dahingegen wird bei AD-Patienten vorwiegend das hydrophobere $A\beta_{1-42}$ produziert.^{60,65} $A\beta_{1-42}$ -Monomere an sich besitzen höchstwahrscheinlich keine neurotoxischen Eigenschaften. Auch die Aggregation zu unlöslichen Fibrillen und Plaques bzw. zu ihren Vorläufern, den Protofibrillen, die normalerweise dünner, kürzer und besser löslich sind, zeigte bei *in vivo*-Untersuchungen nicht die erwartete Neurotoxizität. Stattdessen werden lösliche $A\beta_{1-40}/A\beta_{1-42}$ -Oligomere inzwischen als eigentliche toxische Amyloid-Spezies angesehen. Strukturelle Untersuchungen zeigen, dass die C-Termini der in Oligomeren assoziierten zwei bis 20 $A\beta_{1-42}$ -Monomere hierbei den zentralen hydrophoben Kern derselben bilden.⁶⁶ Dadurch entstehen konformative Epitope, die einen Identifikationspunkt und ein interessantes Arzneistofftarget darstellen.^{61,65} Die nach außen stehenden N-terminalen β -Faltblattstrukturen sind wahrscheinlich für die Interaktion mit Zellmembranen und Rezeptoren verantwortlich. Ihr genauen Angriffspunkte sind noch unbekannt. Es konnte aber bereits die Beeinflussung zahlreicher Rezeptoren auf den Zelloberflächen verschiedenster zentralnervöser Zellen festgestellt werden.⁶⁵ Mit diesen assoziierte pathologische Prozesse sind eine vermehrte Glutamat-vermittelte Exzitoxizität und eine Unterdrückung der Langzeitpotenzierung im Hippocampus.^{65,66} Es wird diskutiert, ob die kompakter strukturierten $A\beta_{1-42}$ -Fibrillen, die den hydrophoben Kern der charakteristischen senilen β -Amyloid-Plaques ausmachen, durch Beeinträchtigung der zerebralen Integrität am toxikologischen Prozess beteiligt sind. Sie könnten aber auch nur ein Symptom der erhöhten Produktion und verringerten Clearance der Monomere sein.^{61,67} Dabei ist zu beachten, dass aggregierte und nicht-aggregierte Formen des $A\beta_{1-42}$ in einem dynamischen Gleichgewicht zueinander stehen und somit ein vermehrtes Vorkommen von Oligomeren und senilen Plaques einander bedingen.⁶⁸

1.2.3 Therapieansätze

In den letzten Jahrzehnten war die Wirkstoffentwicklung gegen AD dominiert von Arzneistoffkandidaten, die sich auf die Amyloid-Kaskaden-Hypothese stützten.⁶⁰ Im Wesentlichen versuchten alle die Bildung oder Aggregation von $A\beta_{1-42}$ zu verringern oder die Clearance seiner Aggregate und Plaques zu erhöhen. Wie in Abbildung 1 erkennbar, sind dafür Interventionen an verschiedenen Stellen des Bildungsprozesses möglich. Eine Hemmung der β -Sekretase *β -site APP cleaving Enzyme 1* (BACE1) sollte effektiv den amyloidogenen Weg der Umsetzung von APP frühzeitig hemmen und so den neuroprotektiven nicht amyloidogenen Weg begünstigen. Die BACE1-Inhibitoren Atabecestat (JANSSEN, SHIONOGI PHARMA) und Verubecestat (MERCK SHARP & DOHME, MSD) verringerten die Konzentration an $A\beta_{1-42}$ in Tier- und Humanstudien um bis zu 95 Prozent. Trotzdem erreichten beide Medikamente nicht die Endpunkte in ihren jeweiligen Phase III-Studien.^{69,70} Stattdessen wurden bei beiden Inhibitoren schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) beschrieben, darunter eine Erhöhung von Leberenzym-Werten. In

Einleitung

beiden Studien konnte bei Gabe von hohen Dosen sogar eine Verschlechterung der kognitiven Leistung der Probanden im Studienverlauf gegenüber Placebo gezeigt werden.^{71,72} Die Phase III Studie der BACE1-Inhibitoren Lanabecestat (ASTRA ZENECA, ELI LILLY), Umibecestat (AMGEN, NOVARTIS, BANNER ALZHEIMER'S INSTITUTE) und Elenbecestat (BIOGEN, EISAI) wurden vorzeitig abgebrochen. Bei den Studien war bereits vor Ende der klinischen Phase absehbar, dass sie keinen positiven Wirkungsnachweis erbringen bzw. ein zu hohes Nebenwirkungspotential aufweisen würden.⁷³⁻⁷⁵ Für das Scheitern all dieser Inhibitoren gibt es verschiedene Theorien. Erklärungsmuster, die postulieren, dass es sich um individuelle strukturabhängige Nebenwirkungen handle, werden aber zunehmend unwahrscheinlicher. ZHU *et al.* postulierten, dass BACE1-Inhibitoren die synaptische Plastizität senken würden, indem sie die Umsetzung eines weiteren BACE1-Substrats verhinderten, des *Seizure Protein 6*.⁷⁶ Eine andere mögliche Erklärung wäre, dass die oben beschriebenen physiologischen Effekte von $A\beta_{1-42}$ durch die starke Inhibition von dessen Synthese gestört werden.⁶¹

Ein Ansatz, die Bildung von $A\beta_{1-42}$ ebenfalls früh im Prozess zu unterbinden, stellt die Hemmung der γ -Sekretase dar. Dabei besteht das Ziel darin, effektiv die Freisetzung von $A\beta$ aus dem C99-Peptid zu reduzieren. Die hierzu klinisch getesteten Arzneistoffe Avagacestat (BRISTOL-MYERS) und Semagacestat (ELI LILLY) scheiterten jedoch in ihren klinischen Studien am zu erbringenden Wirkungsnachweis und einem ungünstigen Nebenwirkungsprofil.^{77,78} Zusätzlich konnte bei Avagacestat eine erhöhte Hirnatrophie als UAW beobachtet werden.⁷⁷ Im Zentrum der Erklärungen für das Scheitern der Arzneistoffe stehen eine verringerte Synthese der $A\beta_{1-42}$ -Monomere und die damit verbundene Verringerung ihrer benignen physiologischen Effekte und eine Störung des Notch-Signaltransduktionsweges.⁶¹ Das Notch-Transmembranprotein ist ebenfalls ein Substrat der γ -Sekretase. Seine Aktivierung steuert wichtige Prozesse der embryonalen Entwicklung, der Hämatopoese, der Zellkommunikation und -adhäsion, was eine Vielzahl der beobachteten UAW erklären würde.⁷⁸

Immunotherapeutische Ansätze, die direkt gegen $A\beta_{1-42}$ oder seine Aggregate gerichtet sind und nicht gegen dessen Synthese, sind schon lange Objekt der AD-Wirkstoffforschung. Auslöser war die Erkenntnis, dass periphere Immunglobulin G-Antikörper (IgG) in der Lage sind nach ihrem Übertritt ins ZNS Immunkomplexe mit $A\beta_{1-42}$ auszubilden. Diese können entweder über einen Abbau durch Mikroglia-Zellen oder über eine Ausschleusung aus dem ZNS über neonatale Fc Rezeptoren (FcRn) zur *Clearance* der Amyloide beitragen. Im Jahr 2000 wurden erste Möglichkeiten einer aktiven Immunisierung gegen $A\beta_{1-42}$ durch die Injektion des $A\beta_{1-42}$ -Komplexes AN1792 (JANSEN, PFIZER) und des Adjuvanz QS-21 untersucht. Trotz einer *postmortal* detektierten Verringerung seniler Plaques blieb eine kognitive Besserung aus. Zusätzlich wurde bei 6 Prozent der Patienten eine subakute Meningoenzephalitis diagnostiziert, die wahrscheinlich auf unspezifische T-Zellreaktionen zurückzuführen ist, die sich vor allem gegen vaskulär gebundenes β -Amyloid richtete (vorwiegend $A\beta_{1-40}$).⁷⁹ Spätere Impfstoffe konnten diese Kreuzreaktivität weitestgehend vermeiden z. B. durch den Einbau der immunogenen Peptide in virusartige

Einleitung

Partikel bei AMILOMOTIDE (NOVARTIS). Ein zur Zulassung ausreichender Wirkungsnachweis konnte bisher aber bei keinem Impfstoff festgestellt werden, trotz der häufig deutlichen Reduzierung der Plaque-Last bei den Probanden.^{60,80} Derzeit befinden sich nur noch ABvac40 (ARACLON BIOTECH), UB-311 (UNITED NEUROSCIENCE) und Lu AF20513 (LUNDBECK) in der AD-Pipeline.^{23,80,81}

Der Einsatz von monoklonalen Antikörpern gegen $A\beta_{1-42}$ und seine Agglomerate als Form der passiven Immunisierung wird ebenfalls untersucht. Die gewählten Zielstrukturen sind dabei das wesentliche Unterscheidungskriterium. Bapineuzumab (JANSSEN, PFIZER) und Crenezumab (AC IMMUNE SA, GENENTECH, HOFFMANN-LA ROCHE) richten sich gegen $A\beta_{1-42}$ -Monomere, -Oligomere und -Fibrillen.^{82,83} Aducanumab (BIOGEN, EISAI) und Gantenerumab (CHUGAI PHARMACEUTICAL, HOFFMANN-LA ROCHE) hingegen zeigen keine Wirkung auf die Monomere, sondern nur auf aggregierte Formen.^{84,85} BAN2401 (BIOGEN, EISAI) richtet sich nur gegen lösliche Protofibrillen, während Donanemab (ELI LILLY) nur mit unlöslichen Aggregaten koppelt.^{86,87} Solanezumab (ELI LILLY) reagiert nur mit den löslichen Monomeren.⁸⁸ Ein Großteil dieser Antikörper ist bereits gescheitert. Solanezumab, Gantenerumab und Crenezumab zeigten in ihren Phase III-Studien keine kognitive Verbesserung gegenüber Placebo.⁸⁸⁻⁹⁰ Das gleiche gilt für Bapineuzumab, das zusätzlich erhebliche UAW wie Amyloid assoziierte Bildgebungsabnormalitäten (*amyloid related imaging abnormalities* (ARIA)) aufwies.⁸³ Die Historie von Aducanumab ist kompliziert. In klinischen Phase I und II Studien konnte eine deutliche Reduktion der Plaque-Last der Patienten und eine geringfügige Stabilisierung einiger mentaler Testscores beobachtet werden.⁸⁴ Im März 2019 wurden jedoch die beiden Phase III Studien EMERGE und ENGAGE eingestellt.⁹¹ Es konnte in keiner der beiden Studien eine Stabilisierung oder Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten nachgewiesen werden. Im Oktober 2019 verkündete der Hersteller BIOGEN jedoch, dass die erneute Analyse der Studiendaten unter Berücksichtigung der Patienten, die nach offiziellem Ende der Studien ihr Therapieregime noch fortsetzen bzw. beenden konnten, nun doch auf eine Wirksamkeit von Aducanamb hindeuten würde.⁶⁰ So konnte in der Studie EMERGE eine 23 prozentige Verbesserung der mentalen Testscore *Clinical Dementia Rating–Sum of Boxes* (CDR–SB) gegenüber Placebo gezeigt werden. Die ENGAGE-Studie zeigte keine Verbesserung in diesem Bereich. Eine Subgruppenanalyse der Population dieser Studie konnte bei einer Auswahl der Patienten, die eine hohe Dosis Aducanumab (≥ 10 mg/kg Körpergewicht) erhielten, aber ebenfalls einen positiven Trend in der kognitiven Entwicklung feststellen. Eine Analyse mit hoher Dosis behandelter Patienten in beiden Studien im Vergleich zu den Placebo-Gruppen zeigte ebenfalls eine Verbesserung der CDR–SB-Testscores.^{92,93} Während BIOGEN auf Grund dieser Daten die Zulassung von Aducanumab plant, wird auch vielfach Kritik laut. Es wird bemängelt, dass die zur Analyse herangezogenen Subgruppen nur eine geringe statistische Aussagekraft aufweisen. Außerdem könnte die nachträgliche Aufspaltung der Studienpopulation, die auch Abbrecher der Therapie (40 Prozent der EMERGE Studienteilnehmer) nicht berücksichtigt, zu einer verzerrten, übertrieben positiven Darstellung der Ergebnisse führen.^{91,93} Außerdem müsse das Nebenwirkungsprofil beachtet werden. Bei über 35 Prozent der Hochdosisgruppe traten ARIAs auf. Dies führte

teilweise durch die Behandlung zu einer Auflösung der Verblindung.⁹³ Das Schicksal von Aducanumab bleibt vorerst daher ungewiss.

Enzymhemmung und Immunotherapie sind aber nicht die einzigen Ansätze, die die Amyloid-Hypothese hervorgebracht hat. Als weiteres Verfahren sei zum Beispiel das *Alzheimer Management By Albumin Replacement* (AMBAR) genannt. Hierbei werden in regelmäßigen Abständen Plasmaersatztransfusionen vorgenommen. Dem Patienten wird dabei Blutplasma entnommen, dieses verworfen und ein äquivalentes Volumen gesundes Plasma kombiniert mit intravenösen Immunglobulinen infundiert. Freies $A\beta_{1-42}$ liegt im Plasma zu über 90 Prozent an Albumin gebunden vor und es besteht ein Gleichgewicht zwischen $A\beta_{1-42}$ im ZNS und in der Peripherie. Daher soll dieser Austausch eine erhöhte Mobilisierung von $A\beta_{1-42}$ -Monomeren und Plaques bewirken. Erste Phase II-Studienergebnisse weisen auf eine messbare Verbesserung kognitiver Testscores hin.⁹⁴ Ob das Konzept auf lange Sicht trägt, bleibt aber abzuwarten. Letztlich ist zu sagen, dass amyloidgerichtete Wirkstoffe und Verfahren bisher weiterhin keine zugelassenen Therapieoptionen bieten.²³ Ob die Tau-Hypothese eher geeignet ist, um die AD-Pathologie zu erklären und verlaufmodifizierende Therapieoptionen zu entwickeln, wird im folgenden Abschnitt untersucht.

1.3 Die Tau-Hypothese

Die intrazellulären *Neurofibrillary Tangles* (NFT), die, wie bereits erwähnt, schon von Alzheimer beobachtet werden konnten, sind das zweite große pathophysiologische Zeichen der AD. Seit 1986 hyperphosphoryliertes Tau-Protein als Hauptbestandteil derselben identifiziert werden konnte, werden dessen physiologischen und pathologischen Eigenschaften erforscht.⁹⁵ Wesentliche Ergebnisse und Schlussfolgerungen aus mehr als 40 Jahren Forschung in diesem Bereich werden im Folgenden vorgestellt.

1.3.1 Aufbau und physiologische Bedeutung

Das Tau-Protein (benannt nach dem griechischen Buchstaben τ (tau)) wurde bereits 1975 als ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein (MAP) identifiziert. Es wird vor allem in Neuronaxonen und in geringem Umfang auch in Gliazellen exprimiert.⁹⁶ Somit gehört es zur Gruppe der Proteine, die durch Anlagerung an die α - und β -Tubulin-Untereinheiten der Mikrotubuli deren Aufbau und Struktur stabilisieren und organisieren. Das Protein ist daher von entscheidender Bedeutung für den Mikrotubuli-vermittelten Zusammenhalt und Aufbau des Zytoskeletts sowie für den Transport von Zellorganellen und anderen Zellbestandteilen wie Chromosomen während der Metaphase.⁹⁵ Doch sind dies, wie inzwischen festgestellt werden konnte, bei weitem nicht die einzigen Funktionen des Tau-Proteins. Zum einen wurde nachgewiesen, dass es mit der Tyrosinkinase Fyn wechselwirkt und damit entscheidenden Einfluss auf Zellfunktionen, wie die Integration von NMDAR in die Plasmamembran der Synapse, hat.^{97,98} Zum anderen konnte

Einleitung

gezeigt werden, dass das Protein im Zellkern über eine Bindung an Ribonukleinsäure (DNS und RNS) diese stabilisieren kann und eventuell auch epigenetische Kernprozesse moduliert.^{99–101}

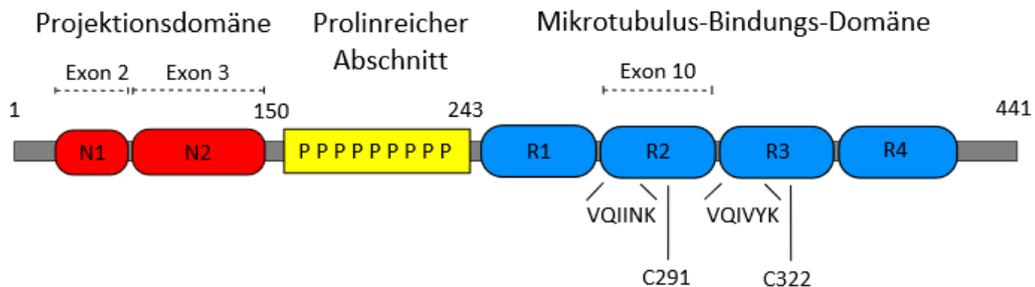


Abbildung 2: Schematische Abbildung des Tau-Proteins

Das für das Tau-Protein kodierende MAPT-Gen befindet sich auf dem q-Arm von Chromosom 17 des menschlichen Genoms.⁹⁵ Es beinhaltet 16 Exons und bildet über alternatives Spleißen der Exons 2, 3 und 10 verschiedene Isoformen aus.¹⁰² Die Exons 2 und 3 kodieren für sogenannte „Insert-Sequenzen“ am N-Terminus des Proteins. Je nachdem ob nach dem Spleißen kein Exon, nur Exon 2 oder Exon 2 und 3 vorhanden sind, werden die resultierenden Isoformen mit 0N, 1N oder 2N bezeichnet. Das Exon 10 kodiert zusammen mit Exon 9, 11 und 12 für die Mikrotubulus-Bindungs-Domäne (MBD), die sich in der Nähe des C-Terminus des Proteins befindet. Das vorhandene oder beim Spleißen entfernte Exon 10, bestimmt darüber ob die entstehende Tau-Isoform mit 3R oder 4R bezeichnet wird. Die Zahl steht hierbei für die Anzahl an Wiederholungen der hochkonservierten Region R, bestehend aus 31 bis 32 Aminosäuren (AS), die zusammen im Wesentlichen die MBD bilden. Aus diesen beiden Variationen resultieren letztendlich sechs Isoformen des Tau-Proteins: 2N/4R, 2N/3R, 1N/4R, 1N/3R, 0N/4R und 0N/3R.⁹⁵ Das Molekulargewicht des Tau-Proteins liegt zwischen 36,8 (0N/3R) und 45,9 Kilodalton (2N/4R) und es setzt sich aus 352 (0N/3R) bis 441 AS (2N/4R) zusammen.¹⁰³ Tau-Proteine zählen zu den intrinsisch ungeordneten Proteinen. Das bedeutet, dass sie fast keine Sekundärstruktur ausbilden und daher eine variable dreidimensionale Gestalt aufweisen. Untersuchungen lassen jedoch vermuten, dass das Tau-Protein eine eher langgestreckte Form annimmt, vergleichbar mit einer linksgedrehten Polyprolin-II-Helix.¹⁰⁴ Wie bereits angeklungen, unterscheidet man bei der Analyse des Tau-Proteins verschiedene Domänen. Am N-Terminus (AS 1-150, Nummerierung ist auf 2N/4R bezogen) befindet sich die Projektionsdomäne, die im Wesentlichen aus den bereits beschriebenen *Insert*-Sequenzen besteht.¹⁰² Diese weisen eine hohe Acidität auf und dienen wahrscheinlich dazu, den nötigen Abstand zwischen benachbarten axonalen Mikrotubuli zu gewährleisten und mittels Interaktionen mit Annexin-2 mit der Zellmembran zu wechselwirken.^{102,103} Außerdem sind sie essentiell für die Lokalisierung des Proteins im neuronalen Axon.¹⁰⁵ Von AS 151 bis 243 folgt der prolinreiche Abschnitt. Dieser Bereich ist verantwortlich für die Interaktion mit src-Kinasen wie Fyn und mit DNS und RNS.^{106,107} Als letzter Abschnitt folgt die bereits erwähnte MBD (AS 243-441), die durch einen hohen Anteil an Lysin einen eher basischen Charakter aufweist. Ihre Funktion besteht, wie der Name verrät, in der Bindung an den Unterein-

heiten der Mikrotubuli, aber auch an Aktin-Filamenten.^{108,109} Das 4R-Tau-Protein weist dabei eine höhere Affinität zu den *Targets* auf als das 3R-Tau-Protein.¹⁰³ Das Mengenverhältnis dieser Isoformen ändert sich im Verlauf des Lebens. Während im fetalen Nervensystem nur die Isoform ON/3R vorkommt, liegen 3R- und 4R-Isoformen im Erwachsenenalter etwa im Verhältnis 1:1 vor.^{95,103} Alle Formen zeigen nur sehr kurze Wechselwirkungen mit den Mikrotubuli. Nur etwa 40 Millisekunden bindet das Tau-Protein an jene, bevor es sich wieder löst.¹¹⁰ Dieser „*kiss and hop*“-Mechanismus ermöglicht es dem Tau-Protein, effektiv mit seinen zahlreichen Bindungspartnern zu interagieren, obwohl zu jedem Zeitpunkt gut 80 Prozent des gesamten Proteins am Mikrotubuli gebunden vorliegt.^{108,110} Zusätzlich ermöglicht es die Stabilisierung der Mikrotubuli ohne dabei den axonalen Transport entlang derselben zu behindern.¹⁰⁸

Acetylierung, Glycosylierung, Phosphorylierung, Ubiquitinierung und die proteolytische Spaltung durch Caspasen gehören zu den zahlreichen posttranslationalen Modifikationen, die das Tau-Protein in seiner Aktivität, Lokalisation, Eliminierung und Konformation beeinflussen können.⁹⁵ Die am besten untersuchte und am häufigsten auftretende Form stellt dabei die Phosphorylierung dar.¹¹¹ Insgesamt weist das Tau-Protein je nach Isoform bis zu 85 phosphorylierbaren Aminosäuren auf.^{95,111} Hierbei handelt es sich vorwiegend um Serin (Ser; S) und Threonin (Thr; T), aber zu geringem Teil auch um Tyrosin (Tyr; Y). Bei über 31 davon wurden bereits physiologische Phosphorylierungen identifiziert, während weitere 16 sowohl bei physiologischen als auch bei pathologischen Vorgängen beobachtet wurden.^{95,112} Verschiedene Kinasen sind an der Phosphorylierung beteiligt und ihre Aktivität steht im Gleichgewicht mit mehreren, die Abspaltung der Phosphatgruppen katalysierenden Phosphatasen.¹¹¹ Ein gewisser Grad an Phosphorylierung scheint für die normale Funktion des Tau-Proteins essentiell zu sein. So liegen durchschnittlich unter physiologischen Bedingungen zwei bis drei AS am Tau-Protein phosphoryliert vor.¹¹³ Diese Phosphorylierungen regulieren die Affinität zu den Mikrotubuli und beeinflussen die Lokalisation des Proteins im Neuron.⁹⁵ Unter pathophysiologischen Bedingungen sind jedoch drei- bis viermal mehr AS phosphoryliert.¹¹³ Dies bewirkt eine zunehmende Dissoziation vom Mikrotubulus und einen verringerten Abbau des Tau-Proteins durch das Ubiquitin-Proteasom.¹⁰² Beides führt zu einer Zunahme an zytosolischem Tau-Protein, was eine Aggregation begünstigt.^{114,115} Das Tau-Protein ist unter normalen Umständen ein sehr gut lösliches Protein. In Lösung nimmt es zumeist eine Konformation an, die auch als „*paper clip model*“ (dt. Büroklammer-Modell) bezeichnet wird. Hierbei faltet sich der C-Terminus nach innen in Richtung der MDB und fungiert als Abstandshalter zwischen dieser und dem ebenfalls in diese Richtung gefalteten N-Terminus.¹¹⁶ Jene Form neigt kaum zur Aggregation.^{115,116} Durch Phosphorylierung und ähnliche Modifikationen wird die Ausbildung dieser Konformation jedoch erschwert, was die Aggregationsneigung steigert.¹¹⁵

1.3.2 Aggregation und Pathologie

Die Aggregation von Tau-Protein kann als mehrschrittiger Prozess beschrieben werden, an dessen Anfang die Zusammenlagerung von zwei hyperphosphorylierten Tau-Protein-Monomeren (P-Tau)

Einleitung

zu löslichen Tau-Protein-Dimeren steht. Diese können von allen Isoformen gebildet werden. Die 4R-Formen zeigen dazu allerdings eine höhere Neigung. Das hat zwei Gründe. Zum einen ist die Verknüpfung der Monomere oft von der Bildung von Disulfidbrücken abhängig. Dafür steht bei den 3R-Isoformen mit Cys322 nur ein Cystein (Cys; C) zur Verfügung, während die 4R-Isoformen zusätzlich Cys291 beinhalten. Zum anderen ist das Vorhandensein von den in der MBD gelegenen Hexapeptiden VQIVYK und VQIINK von entscheidender Bedeutung. Diese beiden sind für die Zusammenlagerung von Tau-Proteinen, die Ausbildung einer β -Faltblattstruktur und die spätere Inkorporation weiterer Biomoleküle wichtig. Das VQIINK-Motiv ist, wie in Abbildung 2 erkennbar, nur in der Primärstruktur der 4R-Isoform enthalten.^{102,117}

An die Dimere können sich danach noch bis zu 7 weitere Monomere anlagern und bilden damit die löslichen Tau-Protein-Oligomere (TauOs).¹¹⁸ Ob die unlöslichen, granulären Oligomere (gTauOs, 36 P-Tau), durch weitere Anlagerung von Di- und Oligomeren von P-Tau an die bestehenden löslichen Oligomere entstehen oder ob sie direkt durch Akkumulation von P-Tau gebildet werden, ist noch nicht abschließend geklärt.¹¹⁹ Sie bilden aber höchstwahrscheinlich die Grundlage für die komplexeren aggregierten Formen. Zu diesen zählen die aus einer Fibrille bestehenden Filamente (*straight filaments*, SF), und die aus zwei Fibrillen zusammengesetzten, eine helikale Struktur ausbildenden Filamente (*paired helical filaments*, PHF).¹¹⁵ Die SF gehen mit der Zeit zunehmend in PHFs über, die wiederum zusammen mit weiteren Biomolekülen zu NFTs aggregieren.¹⁰²

Die großen unlöslichen NFTs stellen, ähnlich wie die Amyloid-Plaques, nicht die eigentlich toxische Tau-Protein-Spezies dar. Neuronen können Jahrzehnte lang mit intrazellulären NFTs überleben. Die zytotoxischen Wirkungen sind vor allem für die löslichen Tau-Formen beschrieben worden. So wurde für P-Tau und lösliche TauOs, insbesondere für Trimere, gezeigt, dass durch Behinderungen des intrazellulären Transports und Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration gravierende zytotoxische Effekte bestehen.^{115,120} Die fortschreitenden pathologischen Veränderungen, die im Zusammenhang mit diesen beobachtet werden, und das Entstehen von NFT-Läsionen sind wesentlich enger mit der Progression und der symptomatischen Entwicklung der AD verbunden als die Lokalisation und Ausprägung von β -APs.²⁶ BRAAK beschreibt für die Ausbreitung von NFTs im ZNS sechs Stadien. Die Tau-Pathogenese beginnt dabei mit dem Entstehen von TauOs und später auch NFTs in Neuronen des Stammhirns mit besonderer Konzentration im Locus caeruleus und setzt sich mit einer Ausbreitung in der gesamten transentorhinalen Region und in Teilbereichen des Hippocampus fort (Stadium I-II). In Stadium III und IV werden zusätzlich NFTs in der entorhinalen Region, dem gesamten Hippocampus und der Amygdala sowie im medialen und basalen Bereich der neokortikalen Temporallappen und des Frontallappen beobachtet. Schließlich sind dann in den Stadien V und VI fast alle Bereiche der Großhirnrinde betroffen.^{26,43,121} Erst in diesen späten Stadien erfolgt normalerweise die Diagnose von AD mit den bekannten Symptomen. Zu geringen kognitiven Beschwerden, wie sie bei der MCI beobachtet werden, kann es aber schon in Stadium III bis IV kommen.²⁶ Wurde anfänglich

vermutet, dass diese Verbreitung der NFTs nur mit der unterschiedlichen Anfälligkeit der jeweiligen Hirnbereiche zusammenhängt, konnte inzwischen festgestellt werden, dass aggregiertes P-Tau Zell-zu-Zell-Transportprozessen unterliegt. Ähnlich wie Prionen können diese ihre fehlerhafte Konformation und Aggregation auf Proteine der Zielzelle übertragen.¹⁰² Diese neuen Eigenschaften werfen neue Fragen bezüglich der Genese der AD auf, stellen aber auch ein neues, interessantes *Target* dar.

1.3.3 Therapieansätze

Während die letztgenannte Therapieoption eher eine Zukunftsvision ist, werden gegen Tau gerichtete Methoden der aktiven und passiven Immunisierung schon lange untersucht. Hier ist, wie bei den gegen β -Amyloid gerichteten Immunotherapien, die Wahl des Epitops von entscheidender Bedeutung. Als Beispiel für die aktive Immunisierung sei der gegen das DC8E8-Epitop (Tau-Protein-Sequenz AS 294-305) gerichtete Impfstoff AADvac1 (AXON NEUROSCIENCE SE) genannt, der seine klinische Phase II-Studie im Juni 2019 erfolgreich beendete.^{122,123} In dieser konnte er nicht nur ein günstiges Nebenwirkungsprofil und eine Immunisierungsrate von etwa 80 Prozent nachweisen, sondern auch in einer Subgruppenanalyse eine geringe Verbesserung von kognitiven Testscores gegenüber Placebo bei jüngeren Teilnehmern registriert werden.¹²³ Zagotenemab (ELI LILLY & CO) und Gosuranemab (BIOGEN, BRISTOL-MYERS SQUIBB) sind Beispiele für Antikörper für die passive Immunisierung. Zagotenemab ist ein gegen ein konformatives Epitop, dessen primäre AS-Sequenz sich im N-Terminus des Tau-Proteins befindet, gerichteter IgG4-Antikörper.¹²⁴ Derzeit wird seine Effektivität in einer Phase II-Studie überprüft.¹²⁵ Der IgG4-Antikörper Gosuranemab richtet sich gegen Tau-Protein-Fragmente, die ursprünglich aus pluripotenten Stammzellen von Patienten mit einer vererbaren Form von EOAD gewonnen worden waren.^{124,126} Trotz Misserfolgen bei anderen mit Tau-assoziierten Erkrankungen, wie der progressiven supranukleären Blickparese, wird seine Effektivität derzeit in einer Phase II-Studie ergründet, die voraussichtlich 2024 beendet wird.¹²⁷ Der bisher als einziger in klinischen Studien der Phase III untersuchte Wirkstoff hat einen gänzlich anderen Wirkmechanismus. LMTM (TAURX THERAPEUTICS LTD), dessen vollständiger chemische Bezeichnung Leuco-Methylthionium Bis(hydromethansulfonat) lautet, ist ein Methylenblau-Derivat.¹²⁸ Es soll Tau-Tau-Interaktionen unterbinden und kann dadurch, wie im Tiermodell nachgewiesen, nicht nur die Aggregation von P-Tau verhindern, sondern teilweise auch PHFs auflösen und damit deren Abbau durch Proteasome begünstigen.¹²⁹ Die bisherigen zwei Phase III-Studien erreichten zwar nicht ihre jeweiligen primären Endpunkte, jedoch konnte in Subgruppenanalysen positive Effekte für eine Monotherapie mit 100 Milligramm LMTM pro Tag und für eine Add-On Therapie mit 4 Milligramm LMTM pro Tag beobachtet werden.^{128,130} In einer neuen Studie soll das Potential der geringen täglichen Dosis nun näher untersucht werden.¹³¹ Bei der Betrachtung der Toxizität von P-Tau, muss aber vielleicht schon früher in die Pathologie eingegriffen werden.¹¹⁵ Effektiv wäre hier eine Hemmung der Phosphorylierung der entsprechend verantwortlichen Proteinkinasen.

1.4 Proteinkinasen

Die Funktion der Proteinkinasen liegt in der Katalyse der Übertragung von γ -Phosphorylgruppen von Adenin- oder in selteneren Fällen auch Guanosintriphosphat auf die nukleophile Gruppe einer AS eines Zielproteins. Das menschliche Genom kodiert für 518 verschiedene Kinasen, die somit einen Gesamtanteil am Erbgut von 1,7 Prozent aufweisen.¹³² Es ist daher nicht verwunderlich, dass einer so großen Superenzymfamilie eine entscheidende Bedeutung im menschlichen Stoffwechsel zukommt. Veränderungen der Proteinphosphorylierung betreffen fast 50 Prozent der Zellproteine und haben Auswirkung auf deren Konformation und Aktivität.¹³³ Dadurch werden wichtige Prozesse wie Zellwachstum, -differenzierung, -metabolismus und Apoptose beeinflusst.¹³² Störungen dieser Phosphorylierung sind daher mit der Pathogenese zahlreicher Erkrankungen wie Asthma, verschiedenen malignen Neoplasien, Autoimmunkrankheiten sowie kardiovaskulären Erkrankungen verknüpft.¹³⁴ Man geht daher davon aus, dass bis zu einem Drittel der derzeitigen Wirkstoffforschung die Beeinflussung von Proteinkinasen zum Ziel hat.¹³² Ihre Unterteilung kann nach der jeweiligen von ihnen phosphorylierten AS vorgenommen werden. So existieren 385 Serin/Threonin-Kinasen, die aliphatische Hydroxygruppen phosphorylieren, und 90 Tyrosinkinasen, die aromatische Hydroxygruppen derivatisieren. Zusätzlich wurden noch 43 Kinasen der uneinheitlichen Gruppe der *Tyrosin-kinase like enzymes* zugeordnet, die zwar eine Sequenzähnlichkeit mit den Tyrosinkinasen aufweisen, aber unter denen sowohl Kinasen mit Serin/Threonin-Spezifität als auch mit Tyrosin-Spezifität vorkommen.¹³⁵

Allen Proteinkinasen gemeinsam ist ein hoch konservierter Kern aus etwa 250 AS, der das aktive Zentrum umgibt und bildet.¹³⁶ Dieser wird aus einer kurzen N-terminalen und einer längeren C-terminalen Domäne gebildet. Die N-terminale Domäne weist vorwiegend eine β -Faltblattstruktur mit fünf antiparallel geordneten Abschnitten (β 1- β 5) auf. Zusätzlich befindet sich ein α C-helikaler Abschnitt an dessen Ende, der variable Konformationen annehmen kann, die die Aktivität des Enzyms entscheidend beeinflussen.^{134,136} Es sind mehrere Konformationen dieser Substruktur möglich, aber allgemein wird zwischen der aktivitätsbegünstigenden α C-Helix_{in}- und der desaktivierenden α C-Helix_{out}-Stellung unterschieden.^{132,134,137} Acht α -helikale Abschnitte (α D- α 1, α EF1, α EF2) sind prägend für einen Großteil der Sekundärstruktur der C-terminalen Domäne. Diese beinhaltet aber auch noch vier kurze β -Faltblattabschnitte (β 6- β 9).¹³⁴ Der Spalt zwischen den beiden Domänen bildet das eigentliche aktive Zentrum des Enzyms. In der aktiven Konformation wird hier das an der Reaktion beteiligte Adenosintriphosphat (ATP) gebunden. Der Adenin-Grundkörper wechselwirkt dabei mittels zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit der 46. und 48. AS der Scharnierregion (*hinge*), dem Segment, das die beiden Domänen miteinander verbindet.¹³⁸ Zusätzlich geht er wichtige hydrophobe Wechselwirkungen mit einer glycinreichen Schleife der N-terminalen Domäne ein.¹³⁴ Beide zusammen bilden die Adenin-Bindungsregion.¹³⁹ Weitere wichtige Elemente der Bindetasche bilden die katalytische Schleife und das DFG-Motiv. Letzteres ist als konservierte Wiederholungssequenz von Asparaginsäure (Asp, D), Phenylalanin

(Phe, F) und Glycin (Gly, G) und Teil des Aktivierungssegments definiert. Die Katalytische Schleife und das DFG-Motiv koordinieren jeweils ein in der Bindungstasche inkorporiertes Magnesium-Ion. Dieses positiv geladene Ion dient der Bindung der negativen Phosphat-Reste des ATPs (Phosphat-Bindungsregion).^{134,140} Ein wichtiger Bestandteil der Bindetasche sind auch polare Reste und das Rückgrat (*Backbone*) von AS der C-terminalen Domäne. Hier sind vor allem solche hervorzuheben die in der Zuckerbindungsregion mit der Ribose des ATPs interagieren (z. B. Prolin 27).¹³⁹ An der Bindung des ATPs nicht beteiligt und weniger stark konserviert sind die hydrophoben Taschen, die sich in verschiedenen Abschnitten des aktiven Zentrums befinden. Im vorderen Bereich, der sogenannten Lösungsmittel-exponierten-Region, befinden sich zwei sogenannte *front pockets* (FP-I und FP-II). FP-I liegt dabei zwischen dem DFG-Motiv und zur Enzymoberfläche ausgerichteten Abschnitten und FP-II wird als eine Kavität zwischen der glycinreichen Schleife und dem β 3-Abschnitt definiert.¹³⁸ Die Form und Ausprägung der hinteren hydrophoben Taschen (*back pockets*) variiert mit der Konformation des Enzyms.^{134,138} Vor allem konformative Änderungen des DFG-Motivs sind hierfür relevant.¹³⁸ Ähnlich wie bei der α C-Helix wird hierbei zwischen einer aktivierenden DFG_{in}- und einer desaktivierenden DFG_{out}-Konformation unterschieden.^{132,137,138} Ob die hydrophoben Taschen überhaupt für potentielle Inhibitoren zugänglich sind, hängt auch von dem sogenannten Türsteherrest (*gatekeeper residue*) ab. Diese AS befindet sich in der Primärstruktur angrenzend an die Hinge-Region im β 5-Abschnitt der N-terminalen Domäne. Je nachdem, ob es eine sterisch anspruchsvolle AS, wie Phenylalanin oder Leucin (Leu, L) ist, oder um eine AS mit einem wenig raumfordernden Rest, wie Glycin oder Threonin (Thr, T), sind die *back pockets* verschlossen oder zugänglich.¹⁴¹ Die Besetzung solcher gering konservierten *pockets* spielt eine entscheidende Rolle für die Entwicklung von Inhibitoren, die selektiv für einzelne für die jeweilige Pathologie relevante Kinasen sind.¹³⁸

1.4.1 Mit AD assoziierte Tau-Proteinkinasen

Wie bereits erwähnt, ist nicht eine Kinase allein für die physiologischen und pathologischen Phosphorylierungen des Tau-Proteins verantwortlich, sondern mehrere.¹⁴² Generell wird diese Vielzahl an Kinasen, die in der Lage sind das Tau-Protein zu phosphorylieren, in drei Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe sind die prolin-gerichteten Serin/Threonin-Proteinkinasen. Deren Kinasen phosphorylieren nur Serin und Threonin-Reste, denen ein Prolin (Pro, P) in der AS-Sequenz folgt. Zu ihnen zählen zum Beispiel die Subtypen der Cyclin-abhängigen Kinasen (*cycline dependent kinases*, CDK), der Glykogensynthase Kinase 3 (GSK3) und der Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPK). Nicht-prolin-gerichtete Serin/Threonin-Proteinkinasen stellen die zweite Gruppe der tau-phosphorylierenden Proteinkinasen dar. Die von diesen katalysierte Phosphorylierung ist unabhängig vom zuvor beschriebenen S/TP-Motiv. Beispiele für Vertreter dieser Gruppe sind die Subtypen der Tau-Tubulin-Kinasen (TTBK), der Proteinkinasen A (PKA) und der Casein-Kinasen (CK). Die dritte Gruppe wird von den Tyrosin-Proteinkinasen gebildet. Als Beispiele seien hier Vertreter der Src-Familie-Kinasen (SFK), wie die Fyn-Kinase und

c-Abl-Kinasen, aufgeführt.^{134,143} Bei einer solchen Vielzahl an Kinasen ist eine Stratifizierung der Bedeutung der jeweiligen Kinasen für die Tau-Pathogenese wichtig, um sinnvolle Arzneistoff-*Targets* zu deklarieren. Eine Studie von CAVALLINI *et al.*, die pathologische mit physiologischen Phosphorylierungen sowie die Gesamtzahl der Phosphorylierungen ins Verhältnis gesetzt hat, konnte einige Proteinkinasen als besonders signifikant für die Pathogenese ausmachen.¹⁴² Diese sowie einige weitere werden im Folgenden näher betrachtet.

1.4.1.1 Glycogensynthase-Kinase 3

Die erste Proteinkinase, die CAVALLINI *et al.* sowie auch viele weitere Untersuchungen als hochrelevant für die Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins einstufen, ist die Glycogensynthase-Kinase 3 (GSK3).^{142,144} Eine Phosphorylierung des Tau-Proteins durch diese ist an 42 Stellen nachgewiesen, darunter 29 Stellen, die bei AD-Erkrankten beobachtet werden konnten. Eine besonders pathologisch relevante Stelle ist zum Beispiel Ser262.¹⁴³ Die physiologische Bedeutung von GSK3 liegt aber weder nur in der Phosphorylierung von Tau, noch in der namensgebenden Phosphorylierung von Glycogensynthasen. Inzwischen konnten etwa 100 Substrate der GSK3 identifiziert werden und damit eine Beteiligung an zahlreichen physiologischen Prozessen.¹⁴⁵ Bei der Kontrolle des Zellzykluses, der embryonalen Entwicklung, des Immunsystems und der Gedächtnisbildung spielt die Aktivität von GSK3 eine essentielle Rolle.¹⁴³ Seine Dysregulation kann aber somit auch zur Pathogenese zahlreicher Erkrankungen beitragen. Dies wird nicht nur bei AD postuliert, sondern auch bei Epilepsie, Schizophrenie, der Parkinson-Krankheit und einigen Krebserkrankungen.^{144,146} Die Beteiligung an der Pathogenese von AD ist höchstwahrscheinlich komplexer als ursprünglich angenommen. Die Konzentration von GSK3 im ZNS von AD-Patienten ist, verglichen mit einer gleichaltrigen Kontrollgruppe, erhöht. Diese Erhöhung korreliert aber nicht nur mit einer wachsenden Anzahl an NFTs in den Hirnarealen der Betroffenen, sondern auch mit einer vermehrten Phosphorylierung von NMDARs.¹⁴⁷ Dabei wird die Reizschwelle dieser AD-relevanten Rezeptoren durch diese Modifikation gesenkt. Zusätzlich wurde auch eine Phosphorylierung von APP durch GSK3 nachgewiesen, was dessen Einbau in die Zellmembran und den Abbau durch Sekretasen fördert.¹⁴⁶ Das somit vermehrt entstehende A β -Peptid bewirkt wiederum eine vermehrte Aktivierung der GSK3.¹⁴⁸ Die Kinase ist somit sowohl mit der β -Amyloid- als auch mit der Tau-Pathologie verknüpft.

Das menschliche Genom kodiert für zwei unterschiedliche Isozyme der Proteinkinase, GSK3 α und GSK3 β . Auch wenn die Aminosäuresequenz der beiden Formen zu 85 Prozent homolog ist und in Bereichen des aktiven Zentrums sogar zu 98 Prozent übereinstimmt, unterscheiden sie sich in Funktion und Lokalisation voneinander.¹⁴⁷ Es konnte zum Beispiel demonstriert werden, dass transgene GSK3 β -Knockout-Mäuse nicht lebensfähig sind, während GSK3 α -Knockout-Mäuse, außer eine bei Männchen auftretende Unfruchtbarkeit, keine Auffälligkeiten zeigten.¹⁴⁹ Außerdem konnten im Substratspektrum der Isozyme Abweichungen voneinander festgestellt werden.¹⁴⁵ Was die Verteilung angeht, so kommen beide Isozyme ubiquitär im Körper vor, mit einer besonders hohen Konzentration im ZNS. Hierbei ist die Expression von GSK3 α vor allem im

Cerebellum, Hippocampus, Striatum und zerebralen Kortex ausgeprägt, während GSK3 β in fast allen Hirnbereichen exprimiert wird.¹⁵⁰ Auch wenn die Forschung sich lange auf eine führende Rolle der GSK3 β bezüglich der AD-Pathologie fokussierte, zeigen neuere Studien, dass beide Isozyme an dieser beteiligt sind.^{146,150} Von GSK3 β werden durch alternatives Spleißen des Exons 8A zusätzlich die Isoformen β 1 und β 2 gebildet. GSK3 β 2 ist dabei die um 13 AS kürzere und mit 15 Prozent Anteil am gesamten GSK3 β auch die seltenere Form. Sie wird ausschließlich im Soma von Neuronen exprimiert und ist weniger stark mit der Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins assoziiert.¹⁴³

Im Unterschied zu anderen Kinasen weist GSK3 auch in Zellen, die im Zellzyklus arretiert sind, eine konstitutive Aktivität auf. Im Gegenteil zu den meisten anderen Kinasen wird GSK3 bei Aktivierung verschiedener wichtiger Signalwege, wie dem Pi3K/Akt- und dem Wnt-Signalweg, gehemmt.¹⁴⁴ Diese Hemmung erfolgt durch eine Phosphorylierung von Ser21 im Falle von GSK3 α und Ser9 bei GSK3 β . Die so modifizierten AS befinden sich in einem kurzen relativ mobilen N-terminalen Abschnitt. Dieser besetzt in der Folge das aktive Zentrum der GSK3 und hemmt als Pseudosubstrat kompetitiv die Kinasefunktion.¹⁴⁵ Eine Aktivierung der GSK3 erfolgt hingegen durch verschiedene Tyrosinkinase, die Tyr279 bei GSK3 α und Tyr216 bei GSK3 β phosphorylieren.¹⁴⁷ Die GSK3 phosphoryliert in der Regel nur Substrate, die bereits zuvor durch andere Kinasen eine Phosphorylierung erfahren haben. Der Abstand zwischen bereits modifizierter AS und der Ziel-AS besteht dabei in der Regel aus drei beliebigen AS. Zusammen mit dem bereits beschriebenen S/TP-Motiv enthält das Zielprotein in der Regel also folgende Sequenz: S/T-X-X-X-S/T-P (X = Beliebige AS). In den wenigen Fällen, in denen die GSK3 mit nicht vorab phosphorylierte Substraten reagiert, enthalten diese oft ein ähnliches Motiv. Bei diesem ist dann aber das vorab zu phosphorylierende Ser oder Thr durch eine saure AS ersetzt, die die Phosphatgruppe nachahmt.¹⁴⁵

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die potentiellen Inhibitoren auf ihre Aktivität gegen GSK3 β überprüft. Von einer zusätzlichen Testung gegen GSK3 α wurde auf Grund der hohen Homologie des aktiven Zentrums, das durch die Inhibitoren besetzt werden soll, abgesehen.¹⁵⁰

1.4.1.2 Mitogen-aktivierte Proteinkinase

Die Gruppe dieser prolin-gerichteten Serin/Threonin-Proteinkinasen ist ebenfalls eng mit der AD-Pathogenese verknüpft.^{142,143} Sie teilen mit der GSK3 ein sehr komplexes Spektrum an Aufgaben. So sind sie an der Kontrolle von nahezu jeglicher Zellfunktion beteiligt, ob Zellmetabolismus, -proliferation, -differenzierung oder Apoptose. Gerade beim programmierten Zelltod sind sie von entscheidender Bedeutung, was sie auch zu einem interessanten *Target* in der Behandlung von malignen Tumoren macht.¹⁵¹ Auch an der Entstehung der Parkinson-Krankheit, Chorea Huntington und der amyotrophen Lateralsklerose sind Dysregulationen dieser Proteinkinasen beteiligt.^{152,153} Ihre Wirkung vermitteln die MAPK über die Phosphatübertragung auf zahlreiche Substrate wie Zytokine, Transkriptionsfaktoren und auch weitere Proteinkinasen

Einleitung

(MAPK-aktivierte Proteinkinasen).^{152,154} Im Gegenteil zu GSK3 sind die gemeinen MAPK aber nicht konstitutiv in ruhenden Zellen aktiv, sondern werden durch eine aus mindestens zwei weiteren Proteinkinasen zusammengesetzte Signalkaskade aktiviert. In der Regel setzt sich eine solche Kaskade wie folgt zusammen. Die MAPK wird von einer MAPK-Kinase (MAP2K) durch Phosphorylierung aktiviert, die wiederum selber zuvor von einer MAP2K Kinase aktiviert wurde.¹⁵² Die Phosphorylierung der MAPK erfolgt an einem konservierten Thr-X-Tyr-Motiv, innerhalb dessen beide spezifizierten AS phosphoryliert werden müssen, um die Proteinkinase zu aktivieren.¹⁵⁴

Bisher konnte von den MAPK für die Subgruppen der der C-Jun-N-terminalen Kinasen (JNK), *Extracellular signal-regulated kinases* (ERK) und der p38-MAPK (p38) signifikante Verbindungen zur Alzheimer-Pathologie unter Beweis gestellt werden.¹⁴³ Auf zwei von diesen, die bereits im Zusammenhang mit unseren Zielverbindungen untersucht worden sind, soll im Folgenden näher eingegangen werden.

c-Jun-N-terminale Kinase (JNK)

Die Dysregulation der JNK wird heute als Schlüsselement in der Pathogenese von AD angesehen. Die vor über 20 Jahren entdeckte Kinase, hat vor allem über ihre stressinduzierte Einleitung der Apoptose schon früh das Interesse der Forschung geweckt. Inzwischen wurden die Gensequenzen MAPK8, MAPK9 und MAPK10 identifiziert, die für die drei Subtypen JNK1, JNK2 und JNK3 kodieren. Durch alternatives Spleißen werden von diesen insgesamt zehn Isoformen gebildet.¹⁵⁵ JNK1 und 2 werden fast im gesamten menschlichen Körper exprimiert und sind besonders entscheidend bei der embryonalen Ausbildung des Nervensystems und der Kontrolle des Immunsystems. JNK3 hingegen wird vorwiegend in den Neuronen des ZNS exprimiert, wo es unter physiologischen Bedingungen vor allem wichtig für die neuronale Plastizität, das Neuritenwachstum und die Gedächtnisbildung über Langzeitpotenzierung ist.^{155–157}

Wie für MAPK üblich ist JNK Teil einer Signalkaskade, die dessen Aktivierung kontrolliert. Die Kinasen, die an dieser beteiligt sind, liegen hierbei an Gerüstproteine (*JNK interacting proteins*, JIPs) gebunden vor. Diese JIPs dienen als aktivierende Proteine zweiter Ordnung. Das heißt sie tragen durch Wechselwirkungen mit aktivierenden Proteinen erster Ordnung (MAP3K, MAP2K) zur zweifachen Phosphorylierung der JNK bei. Dieser Zusammenschluss wird insgesamt als JNK-Aktivierungs-Komplex bezeichnet.¹⁵⁵ Extrazelluläre Signale, die zum Beispiel über membranständige Rezeptoren erfasst werden, können durch diesen Komplex nun zur Aktivierung von JNK führen. Hierbei handelt es sich oft um stressbedingte Stimuli. So führen zum Beispiel DNS-Schäden, UV-Strahlung, Pathogene, reaktive Sauerstoffspezies, inflammatorische Zytokine oder niedrige Kaliumspiegel, aber auch A β -Peptide die Aktivierung der JNK einleiten.^{158,159} Ein erhöhter oxidativen Stress, erhöhte A β -Spiegel und Zellschädigungen sind für die AD-Pathogenese beschrieben.^{160,161} Die aktive JNK phosphoryliert in der Folge Transkriptionsfaktoren wie das namensgebende c-Jun und Proteine wie Bcl-2-like-protein 11 und

Einleitung

Bcl-2-modifying-factor, die für die Einleitung der Apoptose von entscheidender Bedeutung sind.¹⁵⁵ Außerdem sind im Kontext der AD-Pathogenese auch das APP und das Tau-Protein als relevante Substrate der JNK zu nennen.¹⁶² Die Phosphorylierung von APP, die vorwiegend an Thr668 beobachtet wird, geht dabei mit einer erhöhten Prozessierung des Vorläuferproteins durch BACE1 einher und führt damit zu einer erhöhten Bildung von A β .¹⁶³ Das Tau-Protein wird von JNK an zwölf Stellen phosphoryliert, die allesamt auch phosphoryliert im P-Tau von AD-Patienten nachgewiesen werden konnten.¹⁶⁴ Zusätzlich konnten bei Hirnautopsien von AD-Patienten erhöhte Aktivitäten von JNK nachgewiesen werden, vor allem in NFTs. Dort sammelt sich die JNK zusammen mit P-Tau an.^{155,162} Die Auswirkungen der JNK-Hyperaktivität scheinen daher von großer Bedeutung für die Ausbildung der AD-Pathologie zu sein. Daher wurden im Rahmen dieser Dissertation einige Verbindungen auf ihre inhibitorische Aktivität gegen JNK3 hin überprüft.

Extracellular signal-regulated kinase (ERK)

Wie der Name dieser Kinasegruppe bereits verrät wird ihre Aktivität über das Vorhandensein extrazellulärer Reize gesteuert, wie zum Beispiel Wachstumsfaktoren oder Stressfaktoren wie reaktive Sauerstoffspezies.¹⁶⁵ Vergleichbar mit JNK werden diese Signale zunächst über membranständige Rezeptoren, oft G-Protein gekoppelte Rezeptoren, registriert und über die Signalkaskade weitergeleitet. Diese wird hier von der Ras-aktivierten Kinase (Raf) als MAP3K und den MAPK/ERK-Kinasen 1 und 2 (MEK 1, MEK 2) als MAP2K vervollständigt.¹⁶⁶ Von ERK selbst unterscheidet man mehrere Isoformen, von denen ERK 1 und 2 die am besten untersuchten sind. Beide Isoformen kommen ubiquitär im menschlichen Körper vor. Ihre AS-Sequenz weist eine Gesamtübereinstimmung von 83 Prozent Prozent auf.^{143,165} ERK1 und 2 sind an der Umsetzung von etwa 200 Substraten und an nahezu allen bereits für die MAPK beschriebenen Zellprozesse beteiligt. Im Gegensatz zu p38 und JNK wurde einer ERK-Aktivierung lange Zeit eine das Zellüberleben fördernde Wirkung nachgesagt. Inzwischen weisen Studien aber darauf hin, dass auch eine ERK1/2-Aktivierung eine Einleitung der Apoptose bedingen kann.¹⁶⁵

Betreffend der Modifikation des Tau-Proteins, konnten 16 verschiedene durch ERK1/2 katalysierte Phosphorylierungen nachgewiesen werden, von denen 15 mit AD assoziiert sind.¹⁴³ Weiterhin korreliert die Konzentration beider Isozyme in den einzelnen Hirnarealen mit den Braak-Stadien der Tau-Pathogenese bzw. geht ihnen sogar ein Anstieg voraus.¹⁶⁷ Auch Zusammenhänge mit der β -Amyloid-Hypothese konnten festgestellt werden. Verschiedene *in vitro*-Untersuchungen an Neuroblastoma-Zellen konnten zeigen, dass eine erhöhte ERK-Aktivität partial für die A β -induzierte Neurotoxizität verantwortlich ist.^{168,169}

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden ausgewählte Verbindungen auf ihre inhibitorische Aktivität gegen ERK2 hin überprüft.

1.4.1.3 Cyclin-abhängige Kinase

Die Cyclin-abhängigen Kinasen (CDK) sind eine weitere besondere Gruppe von Serin/Threonin-Proteinkinasen, von der einige Subtypen eine Relevanz für die Ausbildung der AD aufweisen.¹⁴³ Insgesamt existieren 21 identifizierte CDK-Subtypen, die sich teilweise beträchtlich in Größe, Substratspektrum und Lokalisation unterscheiden.^{170,171} Charakteristisch und namensgebend für diese Kinasen ist die Interaktion mit Cyclinen. Diese Proteinfamilie, zu der etwa 30 Proteine mit vergleichsweise geringer Homologie gezählt werden, bindet als regulatorische Subgruppe an einen Großteil der CDKs. In den meisten Fällen sind sie eine zwingende Voraussetzung für die Aktivierung der Proteinkinase. Diese Bindung kommt über hydrophobe Wechselwirkungen zwischen *cyclin box foldes* (CBF), den aus fünf α -Helices zusammengesetzten, konservierten Bindungsmotiven der Cycline, und der Cyclin-Bindungs-Domänen (CBD) der CDKs zustande. Letztere ist gekennzeichnet durch eine große α -Helix, die von Teilen der N-terminalen Domäne gebildet und als α C-Helix bezeichnet wird.¹⁷² Im Regelfall führt die Interaktion mit dem Cyclin zur Freilegung des aktiven Zentrums und eines wichtigen Strukturelements, welches als T-Schleife (*T-loop*) bezeichnet wird. Sie ist Teil des Aktivierungssegments und enthält mit Thr160 (Nummerierung nach CDK2) eine für die Aktivierung essentielle Phosphorylierungsstelle.¹⁷³ Diese wird von einem aus CDK7, Cyclin H und dem *CAK-assembly-factor* MAT1 zusammengesetzten CDK-aktivierenden-Kinase-Komplex (CAK-Komplex) phosphoryliert, was die aktive Konformation des Enzyms stabilisiert.^{171,173} Wichtig ist, dass die CDKs nicht nur wie andere Proteinkinasen über regulatorische Phosphorylierungen, wie an Thr14 und Thr15 (Nummerierung nach CDK2) innerhalb der glycinreichen Schleife, sondern auch durch körpereigene Inhibitoren gehemmt werden können. Solche kleinen Proteine, wie die Inhibitoren der Cip/Kip-Familie oder INK4 (*INhibitors of CDK4*), wechselwirken mit den nicht an Cyclin gebundenen CDKs. Sie induzieren eine Konformationsänderung innerhalb des aktiven Zentrums der CDKs. Dadurch stabilisieren sie den inaktiven Zustand des Enzyms.^{173,174}

Der Großteil der CDK lässt sich anhand seiner jeweiligen Funktion einer von zwei Gruppen zuteilen. Auf der einen Seite steht hierbei die Untergruppe der den Zellzyklus kontrollierenden Proteinkinasen mit CDK1, 2, 4 und 6. Diese Subtypen regulieren den Eintritt der Zelle in die verschiedenen Phasen des Zellzykluses und können mit mehreren Cyclinen wechselwirken.^{171,173} Dysregulationen dieser Enzyme sind oft mit der Entstehung von malignen Neoplasien verbunden.¹⁷⁵ Auf der anderen Seite steht die Untergruppe der die Transkription beeinflussenden Proteinkinasen mit CDK7, 8, 9, 12 und 13, die nur mit einem Cyclin interagieren können.^{171,173} Durch Phosphorylierungen innerhalb sich wiederholender Heptadenmuster in der C-terminalen Domäne der RNS-Polymerase II modifizieren sie die Gentranskription.¹⁷⁶ CDK7 hat als Teil des CAK-Komplexes mit der Aktivierung anderer CDKs noch eine zweite wichtige Funktion.¹⁷³ Andere Subtypen haben speziellere Aufgaben. Wichtig für die Entstehung von AD ist in vor allem CDK5. Besonders an diesem Subtyp ist unter anderem, dass er nicht nur durch Zusammenlagerung mit Cyclinen (Cyclin I), sondern auch durch die Anlagerung der Proteine p35 und p39 aktiviert werden

kann.¹⁷⁷ Eine Spaltung dieser beiden Proteine durch Calpaine zu p25 bzw. p29, die noch stärker an CDK5 binden, kann eine Überaktivität der Proteinkinase bedingen. CDK5 wird in besonderem Maße in postmytotischen Nervenzellen des ZNS ausgebildet und beeinflusst dort verschiedene neuronale Prozesse wie Gedächtnisbildung, Lernen und Schmerzempfinden. Dies geschieht im Wesentlichen durch die Beeinflussung des Zytoskeletts der Neuronen, unter anderem durch die Phosphorylierung von Aktin-Filamenten und Tau-Proteinen.^{177,178} Bisher konnten elf verschiedene durch CDK5 katalysierte Phosphorylierungen des Tau-Proteins nachgewiesen werden. Davon wurden auch alle im P-Tau von AD-Erkrankten nachgewiesen. Einige davon begünstigen weitere Phosphorylierungen des Tau-Proteins durch GSK3 (siehe Abschnitt 1.4.1.1).¹⁴³ Im Tierversuch führte ein Ausschalten der CDK5-Expression teilweise zu einer Rückbildung der Hyperphosphorylierung von P-Tau und zu einer verringerten Zahl an NFTs im Hippocampus.¹⁷⁹ Ebenso wie JNK ist die CDK5 in der Lage Thr668 des APP zu phosphorylieren und somit die A β -Produktion zu erhöhen (siehe Abschnitt 1.4.1.2).¹⁷⁷ Weiterhin ist es in der Lage durch Phosphorylierungen von Presenilin I die Aktivität der γ -Sekretase zu erhöhen, was ebenfalls die Entstehung von A β fördert. Diese Peptide aktivieren wiederum Calpaine, die eine vermehrte Umsetzung von p35 und p39 zu p25 und p29 katalysieren, was zur Hyperaktivität von CDK5 führt.¹⁸⁰ Außerdem aktivieren sie die ebenfalls AD-relevante CDK2. Das hat die Phosphorylierung von Thr212 und Ser396 des Tau-Proteins zur Folge.¹⁸¹

Bei ausgereiften Neuronen handelt es sich in der Regel um im Zellzyklus G₀ arretierte Zellen. Das bedeutet, dass keine Mitose und damit verbundene Prozesse in diesen stattfinden. Bei AD werden jedoch bereits am Beginn der Pathogenese vermehrt Neuronen beobachtet, bei denen Merkmale fortgeschrittenerer Phasen des Zellzyklus als der G₀-Phase zu erkennen sind.^{180,182–184} So konnten alle Phasen bis hin zur G2-Phase in AD-Neuronen identifiziert werden. Darüber hinaus wurde aber kein Fortschreiten des Zellzyklus beobachtet, sondern stattdessen eine zunehmende Apoptose derart fortgeschrittener Zellen.^{182,185} Bei diesem Prozess konnte eine erhöhte Expression der Zellzyklus kontrollierenden CDKs beobachtet werden. Besonders CDK4 ist hier hervorzuheben, da es bei Lokalisation im Nucleus durch die Aktivierung des Retinoblastom-Proteins im Wesentlichen den Wiedereintritt der Zelle in den Zyklus der Mitose bedingt.¹⁸² So mindert eine Verringerung der Expression von CDK4 AD bedingte zytotoxische Effekte.¹⁸³ Die Überexpression und Relokalisierung von CDK4 in den Nucleus kann wiederum auf eine erhöhte Aktivierung von CDK5 zurückgeführt werden.^{180,182} Die Aktivierung und Überexpression von CDK1 im späteren Verlauf dieses abnormalen Zellzyklus ist mit einer erhöhten Apoptose-Rate assoziiert. Diese vermittelt die Proteinkinase über eine Phosphorylierung des proapoptotischen *Bcl-2-Antagonist of Cell Death* (BAD) und des Transkriptionsfaktors FOXO1. Dieser verstärkt zusätzlich die Expression des proapoptotischen Gens Bim.^{186,187} Eine Hemmung der in Folge von oxidativem Stress vermehrt gebildeten CDK1 hatte eine messbare Neuroprotektion zur Folge.¹⁸⁷ Als AD-relevante Kinasen lassen sich demzufolge CDK1, CDK2, CDK4, CDK5 und CDK6 ausmachen.

Für die Untersuchung der inhibitorischen Aktivität der innerhalb dieser Doktorarbeit entwickelten Verbindungen wurden die Proteinkinasen CDK1 und CDK2 ausgewählt.

1.4.1.4 Tyrosinkinase Fyn

Die Tyrosinkinase Fyn gehört zu den Src-Familie Kinasen (SFK), die sich vor allem durch das Vorhandensein von vier Src-Homologie-Domänen (SH-Domänen) auszeichnet. SH1 bildet dabei die Kinase-Domäne mit dem aktiven Zentrum aus und ist vergleichsweise hochkonserviert.¹⁸⁸ SH2 und SH3 interagieren mit verschiedensten Proteinen, was Konformität und Aktivität der Tyrosinkinase beeinflusst.^{189–191} SH3 zeigt dabei vor allem Affinität zu PXXP-Motiven, wie sie zum Beispiel in der prolinreichen Region des Tau-Proteins vorkommen.¹⁹¹ Die am N-terminalen Abschnitt gelegene SH4-Domäne ist wiederum für die Verankerung der Kinase an Zellmembranen notwendig. Gut 98 Prozent der intrazellulären Fyn sind dabei an die sterol- und sphingomyelindominierten Mikrodomänen gebunden, die als *lipid rafts* bezeichnet werden.¹⁹² Die Anlagerung an diese lipophilen Bereiche wird über die Veresterung der Sulfhydryl-Gruppen von C3 und C6 mit Palmitinsäure und die Myristoylierung von G2 ermöglicht.¹⁸⁹ Für die 59 Kilodalton schwere Proteinkinase kodiert das *FYN*-Gen auf Chromosom 6q21. Durch alternatives Spleißen des Exons 7 werden drei verschiedene Isoformen des Enzyms gebildet.¹⁹³ Fyn B ist die längste Isoform. Ihre Expression ist besonders im ZNS stark ausgeprägt und damit höchstwahrscheinlich am entscheidendsten für die AD-Pathogenese.^{193,194} Die zweitlängste Isoform, die sich vor allem im Verbindungssegment zwischen SH1 und SH2 von Fyn B unterscheidet und deren höchste Konzentration in T-Zellen zu finden ist, wird als Fyn T bezeichnet.¹⁹³ Zu guter Letzt ist noch die Fyn $\Delta 7$ zu nennen, die kürzeste Isoform, bei der das komplette Exon 7 postranskriptional entfernt wurde. Sie konnte bisher nur in einigen Blutzellen nachgewiesen werden.¹⁹⁵ Die physiologische Funktion der Tyrosinkinase Fyn liegt vor allem in der Beeinflussung des Immun- und des Nervensystems.¹⁹⁶ Durch ihre Beteiligung an der Stimulation und Signaltransduktion des T-Zell-Rezeptors ist sie für eine funktionierende adaptive Immunabwehr essentiell.¹⁹⁷ Im ZNS ist eine physiologische Fyn-Aktivität von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung des Neocortex durch die Stimulation der neuronalen Migration über den Reelin-Signalweg.¹⁸⁹ Wichtig ist Fyn auch für die Ausreifung von Oligodendrozyten und die damit verbundene Ausbildung von Myelinscheiden der Neuronaxone.^{189,196} Außerdem spielt die Kinase eine wichtige Rolle bei der neuronalen Plastizität durch Langzeitpotenzierung. Dafür wird zumindest zum Teil die Steigerung der glutamatergen Neurotransmission durch Phosphorylierungen der NMDA-Rezeptoruntereinheit NR2B verantwortlich gemacht.^{189,193,194} Zusätzlich werden GABA_A-Rezeptoren durch die Proteinkinase in ihrer Aktivität beeinflusst, deren Fehlen physiologische Hirnfunktionen beeinträchtigen kann.^{189,198}

Aktivierung und Desaktivierung der Tyrosinkinase erfolgt über gezielte Phosphorylierung. Die inaktive Konformation, bei der weder das aktive Zentrum noch die SH3-Domäne zugänglich sind, kann durch eine Phosphorylierung von Y531 (Nummerierung nach Fyn B) stabilisiert werden. Hingegen führt die Übertragung einer Phosphatgruppe auf Y420, das sich im Aktivierungs-

segment des Enzyms befindet, zu einer Aktivierung der Kinasefunktion und der Freilegung der SH3-Domäne.^{189,193,199}

Obwohl Fyn das Tau-Protein von fünf möglichen Tyrosin-Resten nur an Y18 (Nummerierung auf 2N/4R bezogen) phosphoryliert, ist die Tyrosinkinase trotzdem äußerst bedeutend für die AD-Pathologie.^{200,201} Zum einen interagiert Fyn zusätzlich mittels der SH3-Domäne mit einem PXXP-Motiv (P216-P219, Nummerierung bezogen auf Fyn B) des Tau-Proteins in der prolinreichen Region.¹⁹¹ Diese Wechselwirkung hat einen Transport der Kinase in die proteinreiche Region der Dendriten zur Folge, die als *Postsynaptic density* (PSD) bezeichnet wird.²⁰² Da hyperphosphoryliertes Tau leichter vom Mikrotubulus dissoziiert und vom axonalen in somatische und dendritische Bereiche diffundiert, könnte der typische Verlauf der Tau-Pathologie mit einer vermehrten Fyn-Relokalisation einhergehen.^{194,203} In der PSD dient Fyn als Vermittler der Neurotoxizität der extrazellulären A β -Oligomere.^{199,202} Diese binden hochspezifisch an das zelluläre Prionprotein (PrP^C).^{194,199} Das extrazellulär membranverankerte Glykoprotein aktiviert den G-Protein-gekoppelten, metabotropen Glutamt-Rezeptor 5 (mGluR5), der wiederum diese Aktivierung auf die intrazelluläre Fyn überträgt.^{194,204} Fyn ist dann in der Lage zusammen mit dem *Postsynaptic density protein 95* (PSD-95), wie bereits beschrieben, die Aktivität des NMDAR zu verstärken.^{189,194,205} Eine Hyperaktivität des Rezeptors führt aber nicht zur erwünschten Neuroplastizität sondern vermittelt die Exzitotoxizität (siehe Abschnitt 1.1.1).^{58,200} Außerdem konnten Li und GÖTZ zeigen, dass die A β -Oligomere auch noch eine weitere Signalkaskade aktivieren, die aus Fyn, ERK und dem ribosomalen Protein S6 zusammengesetzt ist.²⁰¹ In *in vitro*- und *in vivo*-Modellen führte die Aktivierung dieser Signalkaskade zu einer erhöhten lokalen Expression von Tau-Protein im somatodendritischen Kompartiment der Neuronen.²⁰¹ Die Tyrosinkinase Fyn bildet somit insgesamt ein wichtiges Bindeglied zwischen der Neurotoxizität der A β -Oligomere und der Tau-Pathologie.^{194,202} Angesichts dieser Erkenntnisse ist es nicht verwunderlich, dass eine erhöhte Expression der Kinase im hAPP-Mausmodell zu einer Zunahme der A β -vermittelten Neurotoxizität führte und damit zu verstärkten neuronalen Auffälligkeiten und zu verkürzten Lebenserwartungen.²⁰⁶ Eine Verminderung der Expression oder auch eine Hemmung der Tyrosinkinase hatte wiederum eine deutliche Verminderung der AD-bedingten Neurodegeneration im Tiermodell zur Folge. Teilweise konnte dadurch sogar das Erinnerungsvermögen partial wiederhergestellt werden.^{206,207}

Die Inhibition der Tyrosinkinase Fyn stellt daher einen interessanten Therapieansatz für die Bekämpfung der AD dar. Deshalb wurden die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Verbindungen auf ihre inhibitorische Aktivität gegen diese Kinase überprüft. Auf bereits bekannte Inhibitoren für die zuvor beschriebenen Proteinkinasen wird im folgenden Abschnitt eingegangen.

1.5 Inhibitoren von mit AD assoziierten Proteinkinasen

Die Hemmung von Proteinkinasen stellt bei ihrer vielfältigen Beteiligung an zahlreichen Stoffwechselprozessen in vielen Fällen eine sinnvolle Therapiestrategie dar. Aus diesem Grund

wird in den letzten Jahren die Entwicklung von Proteinkinaseinhibitoren zur Behandlung von zahlreichen Krankheitsbildern erprobt.¹³⁴ Die meisten der bisher entwickelten Inhibitoren, sind niedermolekular (Molekulargewicht < 600 Da) und werden daher auch als *Small-molecule kinase inhibitors* (SMKI) bezeichnet.^{134,208} Diese SMKIs werden in sieben verschiedene Klassen unterteilt.¹³⁷ Ein Großteil der SMKIs hemmt die jeweilige Proteinkinase über Interaktionen mit der ATP-Bindetasche. Diese große Gruppe wird noch einmal danach unterteilt, ob der jeweilige Inhibitor mit der aktiven Konformation (DFG_{in} und α C—Helix_{in}, Klasse I) oder der inaktiven Konformation (DFG_{out} und α C—Helix_{out}, Klasse II) der Proteinkinase wechselwirkt.^{137,208} Eine Verbindung der Kennzeichen der beiden vorherigen Klassen bildet die Klasse 1½, bei der der Inhibitor zwar an eine nicht aktive Kinase bindet, bei der aber schon einige Strukturelemente ihre aktive Konformation aufweisen (DFG_{in} und α C—Helix_{out}).^{137,141} Die stark konservierte Natur des aktiven Zentrums aller Proteinkinasen birgt sowohl Vorteile als auch Nachteile. Von Vorteil ist, dass Aufbau und Struktur des aktiven Zentrums gut bekannt und wichtige Bindungsmotive für Inhibitoren bereits identifiziert worden sind.^{138,209} So bilden fast alle bisher entwickelten, kompetitiven Inhibitoren, wie Adenin, Wasserstoffbrückenbindungen (WBB) mit den AS der Scharnierregion aus.¹³⁸ Nachteilig ist jedoch, dass aufgrund der hohen Ähnlichkeit der aktiven Zentren Spezifität für einzelne Familien von Proteinkinasen oft schwer zu erzielen ist. Dies hat oft negative Auswirkungen auf das Nebenwirkungsprofil des Wirkstoffs.^{134,208,210} Die Spezifität kann über das Besetzen der *front* und *back pockets* erhöht werden.¹³⁸ Die geringe Spezifität kann allerdings auch als Vorteil gesehen werden, da es so möglich ist, mehrere AD-relevante Kinasen gleichzeitig zu hemmen. Dass so eine Multispezifität realisierbar ist, zeigen die zur Behandlung von verschiedenen Karzinomen zugelassenen Multikinaseinhibitoren Sorafenib (BAYER AG), Cabozantinib (IPSEN PHARMA GMBH) und Sunitinib (PFIZER).^{211,212}

Bei Klasse III und IV handelt es sich um allosterische Inhibitoren der Proteinkinasen, die sich lediglich im Bereich, in dem sie außerhalb des aktiven Zentrums binden, unterscheiden.¹³⁷ Eine gezielte Hemmung einzelner Kinasesubtypen ist mithilfe der allosterischen Hemmung besser zu erreichen, da Regionen außerhalb des aktiven Zentrums eine geringere Homologie aufweisen.^{208,213} Die neu eingeführten Klassen V und VI sind von speziellerer Natur. Klasse V bezeichnet SMKIs, die mit zwei über einen synthetischen Linker verbundenen Pharmakophoren gleichzeitig im aktiven Zentrum und an einer allosterischen Region binden.²¹³ Zur Klasse VI werden Inhibitoren gezählt, die kovalente Bindungen mit der zu hemmenden Proteinkinase eingehen.¹³⁷

1.5.1 GSK3-Inhibitoren

Lithium ist der erste Inhibitor, der bei der Hemmung von GSK3 zu nennen ist und stellt auch gleich einen Sonderfall dar. Bei hohen Konzentrationen an Li⁺-Ionen kann zwar eine direkte Hemmung der Proteinkinase über die kompetitive Verdrängung von Magnesium aus dem aktiven Zentrum beobachtet werden (IC₅₀ = 2,5 mM), ein Großteil der Inhibition ist aber indirekter Natur.^{147,214} So wird GSK3 durch die lithiumbedingte Aktivierung der Akt-1 Serin/Threonin-Proteinkinase B (PKB), der Phosphoinositol-3-Kinase (PI3K) und durch die Auf-

lösung des β -Arrestin-Komplexes gehemmt, die eine Phosphorylierung der AS S9 und S21 zur Folge haben.^{215–218} Erste klinische Studien zum Einsatz von Lithiumchlorid gegen AD scheiterten aber daran, einen signifikanten Wirkungsnachweis für diese Medikation zu erbringen.²¹⁹ In einer doppelverblindeten klinischen Studie zur Behandlung von MCI konnten allerdings verringerte, zerebrale AD-spezifische Biomarker und eine geringere Rate bezüglich der Weiterentwicklung von MCI zu AD im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden.²²⁰ Eine weitere klinische Studie lässt einen klinischen Nutzen für AD-Patienten bei der Langzeitgabe von Mikrodosen (300 $\mu\text{g}/\text{Tag}$) Lithium vermuten.²²¹

Was die direkte Hemmung der GSK3 angeht, haben sich einige spezifische Leitstrukturen herauskristallisiert. Zu ihnen gehört zum Beispiel die Gruppe der Indirubine. Bei der Untersuchung des traditionellen, chinesischen Arzneimittels *Danggui Longhui Wan*, das unter anderem gegen Leukämie verordnet wird, konnten diese Verbindungen erstmals als potente Inhibitoren der GSK3 und Vertretern der CDK-Familie identifiziert werden.²²² Besonders die aus Bestandteilen von Extrakten verschiedener Purpurschnecken abgeleiteten 6-Bromindirubin-3-oxime (6-BIO) zeigten ausgezeichnete Hemmwirkung, gekoppelt mit guter Zellpermeabilität.²²³ Eine weitere Derivatisierung durch Einführung hydrophiler Gruppen konnte einerseits die Zytotoxizität der Verbindungen verringern und andererseits die Wasserlöslichkeit erhöhen.²²⁴ Für die so entstandenen Derivate, 6-Bromoindirubin-3-[O-(*N,N*-diethylcarbamyloxy)] (6-BIDECO) und 6-Bromoindirubin-3-[O-(2-morpholin-1-ylethyl)-oxim]hydrochlorid (6-BIMYEO) konnte bei *in vitro*-Versuchen bereits eine Verringerung von Tau-Phosphorylierung und Zellsterben beobachtet werden.²²⁵ Von der Gruppe der Oxindolchinazoline gelang es dem hochpotenten Klasse I-Inhibitor AZD1080 (ASTRA ZENECA, $K_i(\text{GSK3}\beta) = 31 \text{ nM}$) erfolgreich seine klinischen Phase I-Studien abzuschließen.^{226,227} Trotz fehlender Anzeichen für derartige schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen in Phase I der klinischen Testung musste die Phase II-Studie des Inhibitors aufgrund der Entwicklung von chronischer Cholecystitis im Tiermodell vorzeitig abgebrochen werden.²²⁷ Die Gruppe der Maleimide hat mit SB-216763 ($\text{IC}_{50}(\text{GSK3}\beta) = 34 \text{ nM}$), SB-415286 ($\text{IC}_{50}(\text{GSK3}\beta) = 78 \text{ nM}$) und AR-A014418 ($\text{IC}_{50}(\text{GSK3}\beta) = 104 \text{ nM}$) ebenfalls einige potente Inhibitoren zu bieten.¹⁴³ Diese zeigten in verschiedenen Zellmodellen ebenfalls durch eine verringerte GSK3-Aktivität neuroprotektive Effekte, welche aber nur teilweise bei *in vivo*-Modellen reproduziert werden konnten.^{228–231}

Bei den meisten ATP-kompetitiven GSK3-Inhibitoren besteht das wesentliche Problem beim Erreichen von Selektivität darin, eine gleichzeitige Inhibition von Enzymen der CDK-Familie auszuschließen.¹⁴³ So zeigt AZD1080 inhibitorische Aktivitäten im nano- bis mikromolaren Bereich für CDK1, 2 und 5. Diese fallen zwar um den Faktor 14 (CDK5) bis 64 (CDK1) geringer aus als die Aktivitäten gegen GSK3, eine Beeinflussung der CDKs ist so bei therapeutischen Spiegeln aber nicht auszuschließen.²²⁶ AR-A014418 ist da wesentlich selektiver. Hier ist die Inhibition gegenüber GSK3 fast um den Faktor 1000 stärker als gegenüber CDK5.¹⁴³ Zum Vergleich sei auch noch 6-BIDECO genannt, bei dem einer $\text{IC}_{50}(\text{GSK3}\beta) = 0,03 \text{ Mikromol}$ einer $\text{IC}_{50}(\text{CDK5}) = 10 \text{ Mikromol}$

Einleitung

gegenübersteht.²²⁵ Bei den beiden Letztgenannten kann schon im Gegensatz zu AZD1080 bei therapeutischen Wirkstoffkonzentrationen von einer GSK3-selektiven Inhibition gesprochen werden.

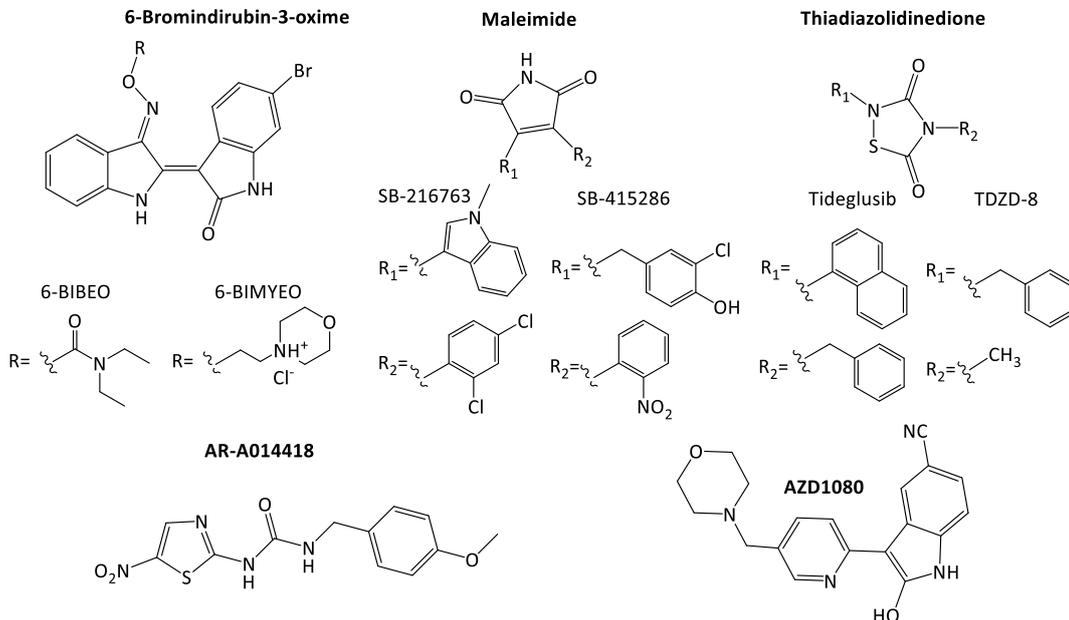


Abbildung 3: Auswahl an GSK3-Inhibitoren

Die Gruppe der Thiadiazolidindione (TDZD) weist weniger Probleme mit dem Erzielen von Selektivität auf.²³² Diese Verbindungen besitzen im Gegenteil zu den zuvor genannten Inhibitoren einen nicht-kompetitiven und irreversiblen Hemmmechanismus gegenüber GSK3.^{232,233} Hierbei ist noch nicht abschließend geklärt, ob für die Irreversibilität eine kovalente Bindung verantwortlich ist.²³³ Trotz positiver Effekte auf AD-Pathogenese-simulierende Tiermodelle konnte für das TDZD-Derivat Tideglusib (AMO PHARMA, $IC_{50} = 60$ nM) in einer Phase II-Studie keine statistisch signifikante Wirksamkeit bei AD festgestellt werden.²³³⁻²³⁵ Für TDZD-8 ($IC_{50} = 2$ μ M), einem weiteren Vertreter dieser Gruppe, konnte im Zebrafisch-Modell ebenfalls eine effektive Neuroprotektion nachgewiesen werden.^{232,236} Doch von der klinischen Untersuchung dieses Derivats wird derzeit noch abgesehen.²³

1.5.2 JNK-Inhibitoren

Auch wenn ein Großteil der Forschung bezüglich des Einsatzes von JNK-Inhibitoren sich auf andere Indikationen wie Karzinome, Morbus Parkinson, Endometriose, Lungenfibrose oder Lupus Erythematodes bezieht, konnten auch bei einigen neuroprotektive Wirkungen in AD-Modellen identifiziert werden.^{155,237,238} Ein zu nennender Inhibitor ist das Anthron-Derivat SP600125 ($IC_{50}(\text{JNK1/2}) = 40$ nM, $IC_{50}(\text{JNK3}) = 90$ nM).^{239,240} Der ATP-kompetitive Wirkstoff führte im Zellmodell und in Ratten zu einer Verringerung $A\beta_{1-42}$ -vermittelter Toxizität sowie zu verbesserten kognitiven Fähigkeiten, was an einer besseren Orientierung der Tiere im Morris-Wasserlabyrinth erkennbar war.^{241,242} Leider kann man bei diesem Wirkstoff nur begrenzt von einer JNK-Selektivität sprechen. So weist er zwar vergleichsweise geringe inhibitorische Aktivitäten

Einleitung

gegenüber anderen Vertretern der MAPK-Familie wie p38 auf, inhibiert dafür aber auch wirksam die CDK2, die Casein Kinase 1, die Ribosomales Protein S6-Kinase beta-1 und die *Dual specificity tyrosine phosphorylation-regulated Kinase*.^{239,243}

Der Inhibitor D-JNKi-1 besitzt eine höhere Spezifität. Dieses Polypeptid besteht im Wesentlichen aus zwei Abschnitten. Der erste Abschnitt setzt sich aus 20 AS zusammen und bildet die JNK Bindungs-Domäne (JBD) des körpereigenen Gerüstproteins *JNK-interacting-protein-1* nach.²⁴⁴ Über diese bindet der Inhibitor mit hoher Affinität an JNK und verdrängt kompetitiv die zu phosphorylierenden Zielproteine, wie zum Beispiel c-Jun.^{244,245} Der zweite Abschnitt besteht aus der zehn AS langen Transduktionsdomäne des *HIV-Trans-activator-of-transcription-protein* (TAT₄₈₋₅₇).²⁴⁴ Durch diese basische Sequenz ist es dem Peptid möglich die Lipidmembran der Zelle zu überwinden.²⁴⁶ Um einer raschen proteolytischen Zersetzung des Polypeptids entgegen zu wirken, werden die physiologischen L-AS durch D-AS ersetzt und in umgekehrter Reihenfolge miteinander verknüpft.²⁴⁴ Das so entstandene D-JNKi-1 weist zwar eine etwas geringere Affinität zur Zielstruktur auf, zeigt aber auch eine deutlich erhöhte Halbwertszeit.²⁴⁷ In TgCRND8-Mäusen konnten bei langfristiger Verabreichung dieses Inhibitors Verbesserungen der Kognition und des Erinnerungsvermögens festgestellt werden.²⁴⁸

1.5.3 ERK-Inhibitoren

Ähnlich wie bei den JNK-Inhibitoren ist ein Großteil der ERK-Inhibitorforschung nicht auf die Behandlung von AD ausgerichtet. Die derzeitigen Bemühungen konzentrieren sich auf die Behandlung von malignen Neoplasien.^{249,250} Auf eine diesbezügliche Wirkung wird der hochaffinen Klasse I ERK1/2-Inhibitor Ulixertinib (VERTEX PHARMACEUTICALS, IC₅₀(ERK1) = 15 nM, IC₅₀(ERK2) = 12 nM), in mehreren Phase I- und Phase II-Studien derzeit untersucht.²⁵¹⁻²⁵³

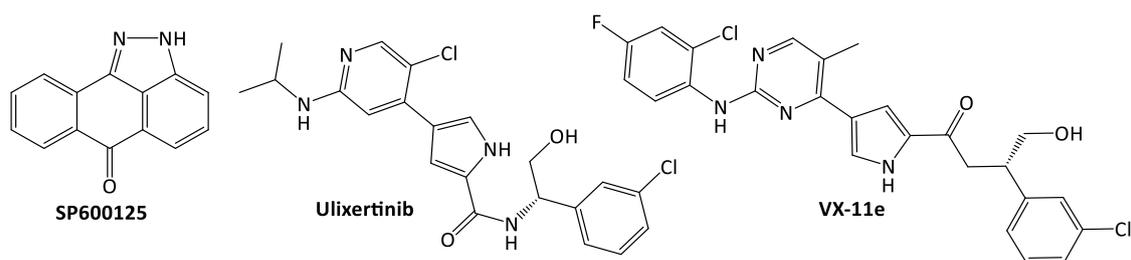


Abbildung 4: Auswahl an JNK-Inhibitoren (SP600125) und ERK-Inhibitoren (Ulixertinib, VX-11e)

Auch für den gleichsam potenten Klasse I ERK1/2-Inhibitor VX-11e (IC₅₀(ERK1) = 17 nM, IC₅₀(ERK2) = 15 nM) gibt es derzeit keine AD bezogenen Studienergebnisse.²⁵³ Dass die Inhibition der ERK-Signalkaskade aber eine positive Auswirkung auf die AD-Pathogenese zur Folge hat, kann an der Wirkung des Ras-Inhibitors S-trans,trans-Farnesylthiosalicylsäure auf AD-Mausmodelle erkannt werden. Die so bedingte Hemmung der gesamten Ras/Raf/MEK/ERK-Signalkaskade hat im Tiermodell einen protektiven Effekt vor A β ₁₋₄₂-vermittelter Neurotoxizität und schützte Lernfähigkeit und Gedächtnis der Mäuse.²⁵⁴

1.5.4 CDK-Inhibitoren

Bei den bisher entwickelten CDK-Inhibitoren handelt es sich fast ausschließlich um ATP-kompetitive Inhibitoren der Klasse I und II. Bei diesen Wirkstoffen ist es, wie für GSK3-Inhibitoren beschrieben (siehe Abschnitt 1.5.1), schwierig Spezifität zu erzielen.¹⁴³ Neben dem Problem das CDK-Inhibitoren meist auch eine Affinität zu GSK3 zeigen, ist es oft noch problematischer die gezielte Hemmung eines einzelnen Subtyps der CDK-Familie zu erreichen.^{255,256} So zeigt zum Beispiel der in der Literatur als CDK1-, sowie auch als CDK5-Hemmer bezeichnete Wirkstoff (*R*)-Roscovitin vergleichbare inhibitorische Potenzen für mehrere CDK-Subtypen ($IC_{50}(\text{CDK1}) = 330 \text{ nM}$, $IC_{50}(\text{CDK2}) = 220 \text{ nM}$, $IC_{50}(\text{CDK5}) = 270 \text{ nM}$, $IC_{50}(\text{CDK9}) = 230 \text{ nM}$).^{187,257–260} Eine spezifische Hemmung ist bei der Betrachtung dieser Parameter nicht ersichtlich. Der Einsatz dieser Klasse I Pan-CDK-Inhibitors demonstrierte in verschiedenen Zell- und Tierversuchen neuroprotektive Eigenschaften.^{170,187,261} In einem Mausmodell der Tauopathie Morbus Niemann-Pick Typ C konnte sogar nach der Verabreichung von Roscovitin eine verringerte Tau-Hyperphosphorylierung und eine verringerte Neurodegeneration nachgewiesen werden.²⁶²

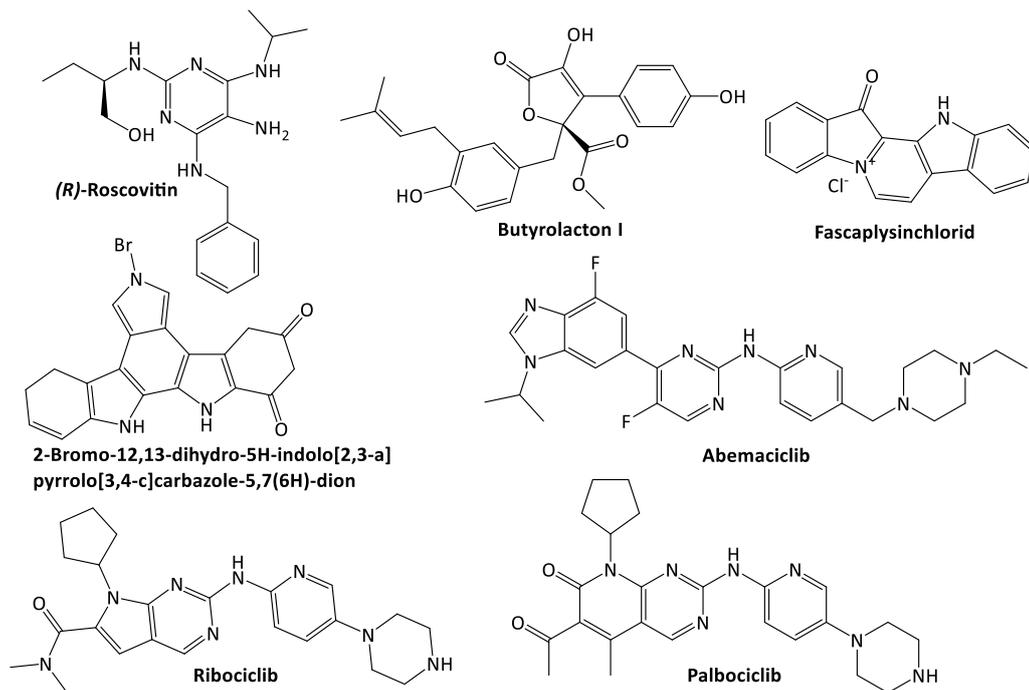


Abbildung 5: Auswahl an CDK-Inhibitoren

In Zellkulturen jedoch, die die AD-Pathologie simulierten, erhöhte die Gabe des Inhibitors die BACE1-Konzentration um das zwei- bis dreifache statt sie wie erwartet zu verringern.²⁵⁸ Dies kann über den vermehrten Umsatz des APPs erhöhte $A\beta_{1-42}$ -Konzentrationen bedingen und die Progression der Erkrankung beschleunigen.^{258,263} Das steht im Gegensatz zu den Ergebnissen des weniger aktiven CDK-Inhibitors Butyrolacton I ($IC_{50}(\text{CDK1}) = 1,5 \mu\text{M}$), der in Hippocampus-Zellkulturen $A\beta_{1-42}$ -induzierte Apoptoseprozesse wirkungsvoll verhindern konnte.^{264–266} Neuroprotektive Effekte in Morbus Alzheimer *in vitro*-Modellen konnten auch von

SANPHUI *et al.* für die CDK4-Inhibitoren 2-Bromo-12,13-dihydro-5-indolo[2,3-a]-pyrrolo[3,4-c]carbazol-5,7(6H)-dion ($IC_{50}(CDK4) = 76 \text{ nM}$, $IC_{50}(CDK2) = 520 \text{ nM}$) und Fascaplysinchlorid ($IC_{50}(CDK4) = 350 \text{ nM}$, $IC_{50}(CDK6) = 3,5 \text{ }\mu\text{M}$) nachgewiesen werden.^{183,267,268} Diese blockten verschiedene AD-bedingte proapoptotische Stimuli, wie die Induktion von Bim und die Aktivierung der Caspase 3, und schützten damit die Zellen vor der mit AD verbundenen Neurodegeneration.¹⁸³

Ob sich diese Ergebnisse auf die neu entwickelten, hochpotenten und selektiven CDK4/6 Inhibitoren Palbociclib (PFIZER, $IC_{50}(CDK4) = 9\text{-}11 \text{ nM}$, $IC_{50}(CDK6) = 15 \text{ nM}$), Ribociclib (ELI LILLY, $IC_{50}(CDK4) = 10 \text{ nM}$, $IC_{50}(CDK6) = 39 \text{ nM}$) und Abemaciclib (NOVARTIS, $IC_{50}(CDK4) = 2 \text{ nM}$, $IC_{50}(CDK6) = 5 \text{ nM}$) übertragen lassen, die in den letzten Jahren zur Behandlung von Hormonrezeptor-positiven, *Human Epidermal Growth factor 2*-negativen Mammakarzinomen zugelassen worden sind, ist bisher nicht untersucht worden.^{260,269} Wie bereits bei den zuvor betrachteten MAPK konzentriert sich die Forschung in diesem Bereich vor allem auf die Behandlung maligner Neoplasien.^{143,175}

1.5.5 Tyrosinkinase Fyn-Inhibitoren

Mit Saracitinib (ASTRAZENECA, $IC_{50}(Fyn) = 10 \text{ nM}$) und Masitinib (AB SCIENCE, $IC_{50}(Fyn) = 240 \text{ nM}$) haben es gleich zwei Vertreter mit inhibitorischer Aktivität gegen die Tyrosinkinase Fyn bis in die klinischen Testungen geschafft.^{270,271} In einer im Zeitraum von 2006 bis 2009 durchgeführten Phase II-Studie konnte für Masitinib als *Add-On*-Therapie zusätzlich zu einem AChE-Inhibitor oder Memantin eine geringere Verschlechterung kognitiver Testscores gegenüber Placebo bei Patienten mit leichter bis mittelschwerer AD nachgewiesen werden.²⁷² Eine 2012 begonnene Phase III-Studie sollte den Wirkungsnachweis erbringen. Bisher wurden zwar keine abschließenden Ergebnisse, die für das vierte Quartal 2019 angekündigt waren, veröffentlicht, jedoch wies eine Zwischenanalyse aus dem Juni 2019 auf einen positiven Behandlungseffekt für eine der eingesetzten Dosen Masitinib hin.²⁷³ Eine Phase Ib-Studie zur Behandlung von leichter bis mittelschwerer AD mittels Gabe von Saracitinib konnte zwar ein akzeptables Sicherheitsprofil der Klasse I-Inhibitors, aber keine signifikanten Verbesserungen von Kognition oder Alltagskompetenz nachweisen.²⁷⁴ Trotzdem startete 2014 eine Phase IIa-Studie für die gleiche Indikation, die bis auf einige positive, nicht signifikante Trends bezüglich der Hirnentwicklung der *Verum*-Gruppe leider keinerlei verlaufsmodifizierende Effekte auf die Progression der Krankheit zeigen konnte.²⁷⁰ Weder Masitinib noch Saracitinib sind Fyn-spezifische Inhibitoren. Masitinib zeigt zusätzlich signifikante Hemmaktivitäten gegenüber dem *Macrophage colony-stimulating factor 1 receptor* ($IC_{50} = 90 \text{ nM}$), dem *Platelet-derived growth factor* ($IC_{50} = 540 \text{ nM}$), sowie gegen andere Tyrosinkinasen wie c-Kit ($IC_{50} = 200 \text{ nM}$) und Lyn ($IC_{50} = 500 \text{ nM}$).^{275–277} Inwieweit die Hemmung der Proteinkinasen oder die antiinflammatorische Beeinflussung von Mastzellen für die neuroprotektive Wirkung verantwortlich sind, konnte noch nicht abschließend geklärt werden.²⁷¹ Zudem ist noch nicht sicher, in welchem Umfang Masitinib in der Lage ist, die Bluthirnschranke zu überwinden und inwieweit in der Peripherie vermittelte Effekte Einfluss auf das zentralnervöse

Einleitung

Krankheitsgeschehen haben.²⁷² Für Saracitinib konnte eine Passage der Bluthirnschranke nachgewiesen werden.²⁷⁴ Der Wirkstoff hemmt jedoch auch die Tyrosinkinasen c-Src ($IC_{50} = 2,7 \text{ nM}$), c-Yes ($IC_{50} = 4 \text{ nM}$) und Lck ($IC_{50} < 4 \text{ nM}$) mit sogar höherer Potenz.²⁷⁸ Auch hier ist eine multifaktorielle Wirkung demzufolge nicht auszuschließen.

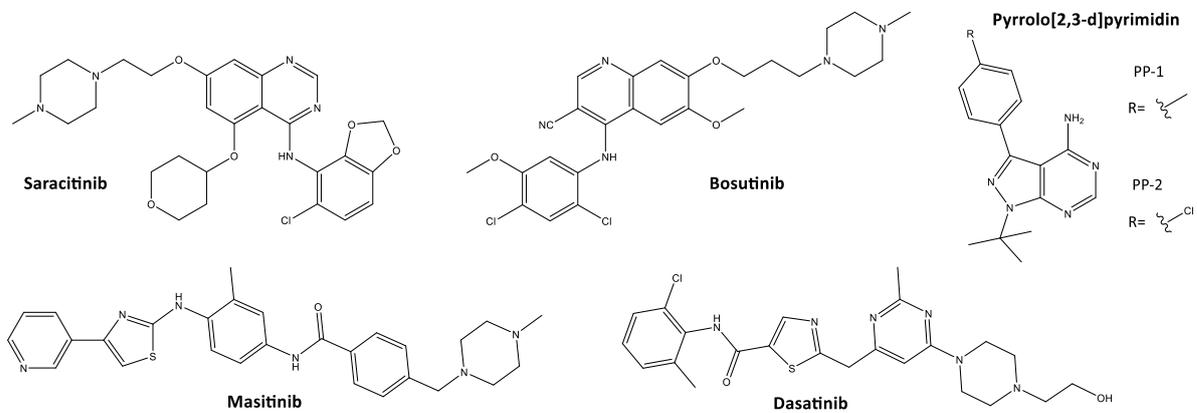


Abbildung 6: Auswahl an Fyn-Inhibitoren

Etwas spezifischere Hemmstoffe findet man zum Beispiel mit PP1 ($IC_{50}(\text{Fyn}) = 6 \text{ nM}$) und PP2 ($IC_{50}(\text{Fyn}) = 5 \text{ nM}$), die eine wesentlich geringere Hemmung gegenüber c-Src zeigen.²⁷⁹ Da die beiden Hemmstoffe jedoch von Pfizer entwickelt worden sind, ist eine Testung für die Indikation AD seit dem Rückzug des Konzerns aus diesem Forschungsgebiet, unwahrscheinlich geworden.²⁰ Ob die bereits zur Behandlung von Chronisch myeloischer Leukämie zugelassenen, ebenfalls Fyn hemmenden Multi-Tyrosinkinase-Inhibitoren Dasatinib (BRISTOL-MYERS SQUIBB, $IC_{50}(\text{Fyn}) = 0,2 \text{ nM}$) und Bosutinib (PFIZER, $IC_{50}(\text{Fyn}) = 410 \text{ nM}$) auch als Krankheitsverlauf-modifizierende Alzheimer-Therapeutika in Frage kommen, bleibt abzuwarten.^{280–282} Die Verabreichung von Bosutinib konnte in einem EOAD-Mausmodell eine Verringerung löslicher und unlöslicher β -Amyloid-Aggregate bedingen.²⁸³ Die Gabe von Dasatinib bewirkte in einem ähnlichen Mausmodell eine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten der Versuchstiere im Vergleich zur Kontrollgruppe.²⁸⁴ Eine Untersuchung des APP/PS1-Mausmodells zeigte außerdem, dass proinflammatorische, seneszente Oligodendrozyten-Vorläuferzellen assoziiert mit β -Amyloid-Plaques auftreten und diese Zellseneszenz, der Verlust der Teilungsfähigkeit, durch aggregierende $A\beta$ -Fragmente ausgelöst werden kann.²⁸⁵ Eine kombinierte Gabe von Dasatinib und Quercetin konnte durch Abtöten dieser seneszenten Zellen die Hippokampal-vermittelte Lernfähigkeit und Gedächtnisschwäche verbessern.^{285,286} Inwieweit diese senolytische Wirkung auch bei anderen Fyn-Inhibitoren auftritt und zur Behandlung von AD genutzt werden kann, ist aber noch ungewiss.^{286,287}

1.5.6 Schlussfolgerungen

Das therapeutische Potential der Hemmung von Proteinkinasen ist nicht von der Hand zu weisen. Doch wie man deutlich erkennen kann, wird ihre Entwicklung in vielen Bereichen nur mit wenig Engagement vorangetrieben. Auch zeigt sich recht deutlich, dass eine hohe Spezifität nicht nur

schwer zu erreichen, sondern auch nicht zwangsläufig mit einer Steigerung der angestrebten Wirksamkeit verbunden ist.^{170,288} Es stellt sich auch die Frage, ob eine übermäßige Inhibition einzelner vermehrt exprimierter Proteinkinasen durch eine Absenkung unter ihre physiologisch notwendige Aktivität nicht möglicherweise mehr negative Konsequenzen zur Folge hat.^{146,289} Ist es folglich dann nicht zielführender mehrere, der in ihrer Funktion und Aktivität oft eng miteinander verknüpften Proteinkinasen spezifisch in moderatem Umfang zu hemmen? Der Schritt von PAUL EHRLICHs hochgelobter, spezifischen „*Magic Bullet*“ zur multispezifischen „*Magic Shotgun*“ erscheint gerade für die AD-Pathogenese mit ihren zahlreichen Faktoren sehr attraktiv und wird bereits vielfach untersucht.^{143,290–295} Die positiven Studienergebnisse von Masitinib stellen hierbei zur Diskussion, inwieweit eine Überwindung der Bluthirnschranke für die therapeutischen Effekte notwendig ist oder die Passage eventuell durch Neuroinflammation und andere pathologische Effekte erleichtert ist.^{271,272} Dennoch sollte auch weiterhin die Zentralgängigkeit der Wirkstoffe im Auge behalten werden, die nur bei einem kleinen Teil der Wirkstoffkandidaten als gegeben gilt.²⁹⁶ Der folgende Abschnitt beschäftigt sich mit den bisherigen Erkenntnissen bei der Entwicklung von 1-Aza-9-oxafluorenen sowie deren Inhibition verschiedener AD-relevanter Proteinkinasen.

1.6 1-Aza-9-oxafluoren-Derivate als Inhibitoren mit AD assoziierter Proteinkinasen

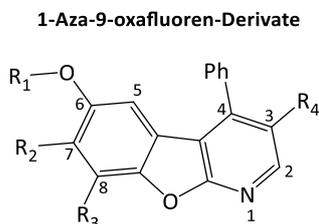
Ursprünglich stand bei der Entwicklung der ersten 1-Aza-9-oxafluorene in der Arbeitsgruppe von ANDREAS HILGEROTH nicht die Behandlung neurologischer Erkrankungen im Fokus. Zuerst wurde die zytostatische Potenz dieser Stoffgruppe überprüft, da man aufgrund ihrer polyzyklischen planaren Ringstruktur von einer DNS-Interkalation der Verbindungen ausging. Erste Untersuchungen der entwickelten 1-Aza-9-oxafluoren-Derivate wiesen dann auch bei einigen Verbindungen zytostatische Effekte nach.²⁹⁷ Die vermutete DNS-Interkalation konnte aber nach Durchführung eines kompetitiven Verdrängungsassays mit Ethidiumbromid ausgeschlossen werden.²⁹⁸ Stattdessen wurde für die zytostatisch aktiven Derivate eine Hemmung von verschiedenen CDKs, mit einem Schwerpunkt auf CDK1 und CDK5, nachgewiesen.^{298,299} In der Folge wurden Strukturvariationen am Grundgerüst durchgeführte mit dem Ziel diese Aktivität zu erhöhen. Derivate mit 3-Hydroxy- oder kurzen 3-Alkoxy-Gruppen konnten hierbei erstmals als potente Inhibitoren von CDK1, CDK5 und GSK3 identifiziert werden und zeigten damit Potential als mögliche AD-Therapeutika.³⁰⁰

Man erkannte bei der weiteren Modifizierung, dass vor allem der 6-Hydroxyfunktion eine wichtige Bedeutung bei der Hemmung zukam, ebenso dem Phenyl-Rest an Position 4.³⁰¹ Mit Ausnahme von 3-Chlor-Substituenten führten alle anderen untersuchten Methoxy- und Chlor-Substituenten an diesem Ring fast ausnahmslos zu einem Aktivitätsverlust der entsprechenden Derivate an der GSK3 β und den CDKs.^{301,302} Modifikationen an Position 3 des Grundgerüsts hatten mit den stärksten Einfluss auf die Selektivität und Spezifität der

Einleitung

entwickelten Inhibitoren. 3-Halogen-Verbindungen zeigten je nach Halogen sehr unterschiedliche Aktivitäten.

Tabelle 1: Substitutionsmuster bereits synthetisierter wichtiger Azoxafluorene



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
la	H	H	H	C(=O)OC ₂ H ₅	le	H	H	H	OBn
lb	H	H	H	C(=O)NH ₂	lf		-CH=CH-CH=CH-		OBn
lc	H	H	H	C(=O)N(CH ₃) ₂	lg	CH ₃	H	H	OBn
ld	H	H	H	OH	lh	H	H	H	F

Während 3-Chlor-Verbindungen vollkommen inaktiv waren, erwiesen sich 3-Brom-Derivate als CDK2/4-selektive Inhibitoren.³⁰⁰ Die 3-Fluor-Verbindungen wiederum bildeten eine Gruppe, die neben guten Aktivitäten gegen CDK1 auch teilweise hochpotente GSK3 β -Inhibitoren mit sub-mikromolaren Aktivitäten darstellten.³⁰³ Die Einführung eines Amids oder eines Methanamids in Position 3 resultierte in fast ausschließlich gegen GSK3 β aktiven Verbindungen.³⁰⁴ Eine 3-Ethylester-Funktion führte zu Derivaten mit guten Aktivitäten gegen GSK3 β und JNK3. Derivate mit einer 3-Benzyloxy-Gruppe zeigten Hemmwerte im niederen mikromolaren Bereich für CDK1 und 2 sowie GSK3 β und etablierten sich langsam als neue Leitstruktur, da sie sich gegenüber den 3-Ethylester-Derivaten als überlegen erwiesen.^{298,301} Methyl- oder Methoxy-Substituierungen an Position 7 oder 8 der Grundstruktur führten dazu, dass auch CDK5 von diesen wieder gehemmt wurde. Die Affinität zu CDK1, CDK5 sowie zu JNK3, ERK2 und p38- γ konnte durch eine Erweiterung des Ringsystems mit einem an Position 7 und 8 anellierten Benzyl-Ring weiter gesteigert werden.³⁰¹ Durchaus widersprüchliche Effekte hatte eine Methylierung der wichtigen 6-Hydroxygruppe. In den meisten Fällen führte das zu einem starken Verlust an inhibitorischer Aktivität, vor allem gegenüber den CDKs.^{301,305} Bei 3-Benzyloxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol aber bewirkte die Methylierung hingegen eine Steigerung der inhibitorischen Aktivität gegen GSK3 β , JNK3 und p38- γ auf nanomolare Werte (K_i (GSK3 β) = 20 nM, K_i (JNK3) = 50 nM, K_i (p38- γ) = 50 nM).³⁰¹

Die enzymkinetische Untersuchungen von VOIGT bestätigten den bereits vermuteten kompetitiven Inhibitionsmechanismus der 1-Aza-9-oxafluorene.³⁰⁰ Im Anschluss durchgeführte Docking-Studien der Verbindungen an 14 verschiedenen Kristallstrukturen der aktiven Konformation der GSK3 β legen nahe, dass die untersuchten Derivate als Klasse I-Inhibitoren an die Kinase binden.³⁰⁴ Hierbei wechselwirken sie mit dem Rückgrat (*Backbone*) der Scharnier-

Einleitung

region. Der Pyridin-Stickstoff stellt den Wasserstoffbrückenakzeptor in Wechselwirkung mit Valin (Val135) dar.

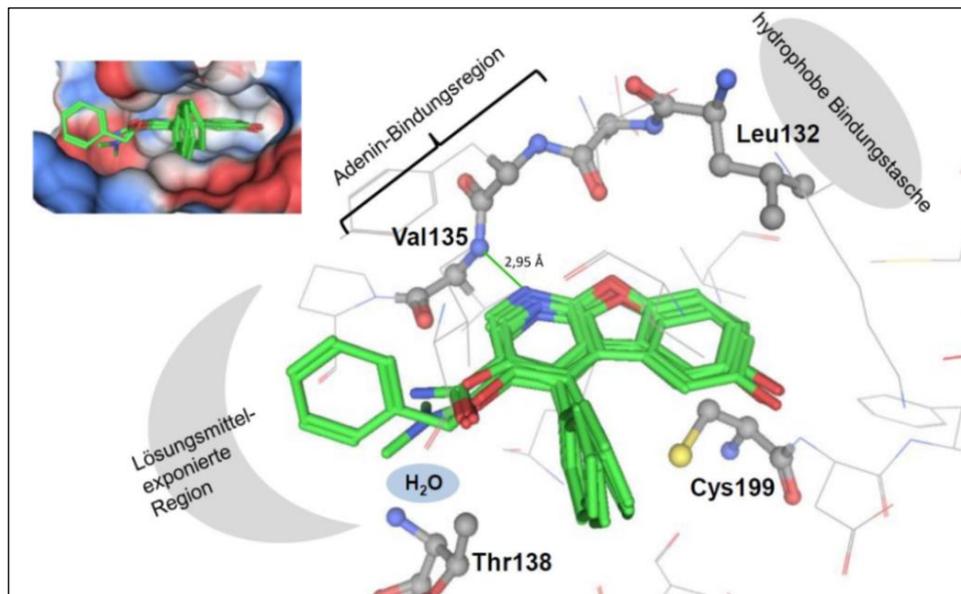


Abbildung 7: Darstellung der Docking-Ergebnisse von **Ib**, **Ic**, **Id** und **Ie** an einer aktiven Konformation von GSK3 β . Die 1-Aza-9-oxafluorene (grün) bilden zwei wesentliche WBB aus. Eine Zwischen 1-*N* und dem *Backbone-NH* von Val135 (Abstand 2,95 Å) und eine zwischen 6-OH und Cys199. Die Amid-Derivate **Ib** und **Ic** bilden zusätzlich eine weitere WBB mit Thr138 über das inkorporierte Wassermolekül aus. Die kleine Abbildung oben links stellt eine Aufsicht auf die Adenin-Bindungsregion der Kinase mit gebundenen Inhibitoren dar.³⁰¹

Eine weitere WBB bildet der 6-Hydroxy-Rest mit der Amino-Gruppe von Cys199 aus. Der planare Grundkörper wird mittels in Abbildung 7 nicht dargestellten hydrophober Wechselwirkungen mit Val118 und Leu188 in der Bindetasche stabilisiert.³⁰¹ Der 4-Phenyl-Ring steht nahezu senkrecht zur Ebene des Grundgerüsts und interagiert nur geringfügig mit der Bindetasche.³⁰¹ Da der Zugang zu den hydrophoben *back pockets* durch die *gatekeeper residue* Leucin 132 (Leu132) sterisch behindert ist, richten sich voluminöse Reste, wie die Benzyloxy-Gruppe von Verbindung **If** (38) in Richtung der hydrophoben Lösungsmittel-exponierten Region aus. Die Ausbildung einer weiteren WBB zwischen der Amid-Gruppe und Thr138 über ein inkorporiertes Wasseratom erklärt die größere Affinität von Verbindung **Ic** und **Id**.³⁰⁴ Für die Untersuchung der Bindungsmodi an vier verschiedenen aktiven Konformationen der CDK5 erhielt man vergleichbare Ergebnisse. Relevante Unterschiede bestanden darin, dass die getesteten 3-Amid-Derivate mit einer anderen AS des Rückgrats der Scharnierregion eine WBB ausbildeten (Cys83) und die sterisch anspruchsvollere CDK5-*gatekeeper residue* Phenylalanin 80 (Phe80) die Bindungstasche noch weiter verkleinert. Dadurch binden die 1-Aza-9-Oxafluoren-Derivate in diesem Fall weniger tief in der Bindungstasche.³⁰¹

Im Rahmen seiner Dissertation führte TELL weitere Docking-Untersuchungen an CDK1, CDK5 und GSK3 β mit benzoanellierten und mit 6-methoxylierten Verbindungen durch. Für die benzoanellierte Verbindung **If** (Verbindung **39**) ließ sich dabei an den CDKs eine andere Ausrichtung in der Bindungstasche beobachten. Bei dieser lag der Inhibitor um 180° gedreht in der Bindungstasche vor um eine Achse, die durch den 4-Phenylring und das Pyridin-*N* gezogen werden kann.

Einleitung

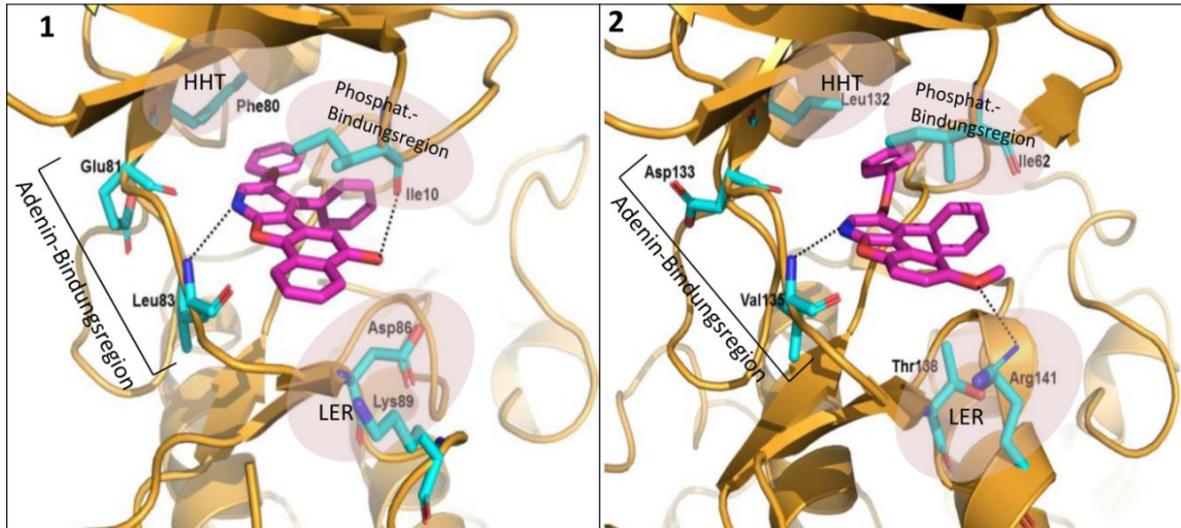


Abbildung 8: Darstellung der Docking-Ergebnisse von **If** an einer aktiven CDK1 (**1**) und von **Ig** an einer aktiven GSK3 β (**2**). **1**: Verbindung **If** bildet WBB zwischen 5-OH und Ile10 sowie 10-N und Leu 83 aus (gestrichelt dargestellt). **2**: Verbindung **Ig** bildet WBB zwischen 1-N und Val136 und 6-OCH₃ und Arg 41 aus (gestrichelt dargestellt). HHT: hintere hydrophobe Bindetasche LER: Lösungsmittel-exponierte Region. Inhibitoren sind violett dargestellt, Protein-Rückgrate orange und wesentliche an der Interaktion mit dem Inhibitor beteiligte AS türkis.

Trotz der Inversion bleibt die WBB zu Cys83 erhalten. Die zweite WBB geht der gedrehte Inhibitor hingegen mit der CO-Gruppe von Isoleucin 10 (Ile10) der Phosphat-Bindungsregion ein. Hydrophobe Wechselwirkungen mit dieser Domäne geht auch der 7-Phenyl-Ring ein. Die 8-Benzoyloxy-Gruppe, der Verbindung ist nun in Richtung der *gatekeeper residue* Phe80 ausgerichtet und interagiert mit ihr über Van-der-Waals- oder π - π -Wechselwirkungen. Der anellierte Benzolring befindet sich in der Nähe der Lösungsmittel-exponierten Region wechselwirkt ebenfalls über solche schwachen Bindungskräfte mit Asparaginsäure 86 (Asp86). Ein vergleichbarer um die Bindung an Val135 gedrehter Bindungsmodus wird auch für die Inhibition von GSK3 β durch **Ig** angenommen.³⁰¹

Für die erwähnten 6-methoxylierten Derivate geht man ebenfalls von einem invertierten Bindungsmodus aus. Die WBB zu Val135 wird hier ebenfalls als Fixpunkt angenommen. Die Hydroxy-Funktion kann auf Grund der Alkylierung jedoch keine WBB mehr mit Ile10 eingehen. Dies zeigt sich auch in deutlichen Affinitätsverlusten zu Kinasen der CDK-Familie. In der Bindungstasche von GSK3 β bildet die Methoxy-Funktion jedoch mit der Seitenkette von Arginin 141 (Arg141) eine WBB aus. Das erklärt den gleichzeitigen Anstieg der Affinität des Inhibitors zu dieser Kinase. Bei dem entsprechend benzoanellierten Derivat zeigt sich hingegen keine Aktivität gegen GSK3 β , was hier durch die sterisch anspruchsvollere Struktur erklärt werden kann. Dadurch ist dieses nicht in der Lage sich flexibel genug in der Bindetasche auszurichten um die notwendige Nähe zu Arg141 herzustellen.³⁰¹

2 Zielstellung der Arbeit

Der Fokus dieser Arbeit lag auf der Entwicklung neuartiger 1-Aza-9-oxafluorene und deren Derivate mit multispezifischer, inhibitorischer Tau-Proteinkinase-Aktivität. Die verwendete Synthesestrategie fußte auf einer erstmals von HILGEROTH *et al.* beschriebenen Cycloadditionsreaktion. Bei dieser entstehen durch den Umsatz von 3,4,5-substituierten Dihydropyridin-Derivaten mit *p*-Benzochinon 3,4-substituierte 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluorene.³⁰⁶

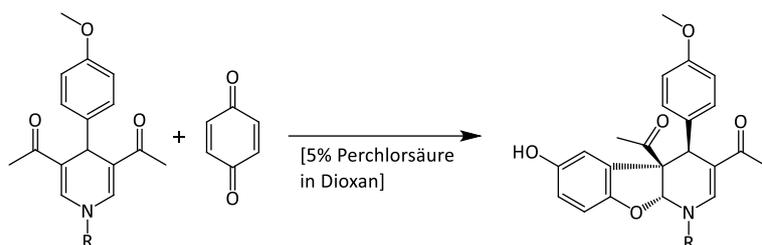


Abbildung 9: 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren-Synthese nach HILGEROTH *et al.*³⁰⁶

Durch den Umsatz von 3,4-disubstituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen mit einem Überschuss *p*-Benzochinon gelang VOIGT die Erweiterung dieser Cycloadditionsreaktion zu einer Eintopfreaktion, die 1-Aza-9-oxafluorene als Produkt hervorbrachten.³⁰⁰

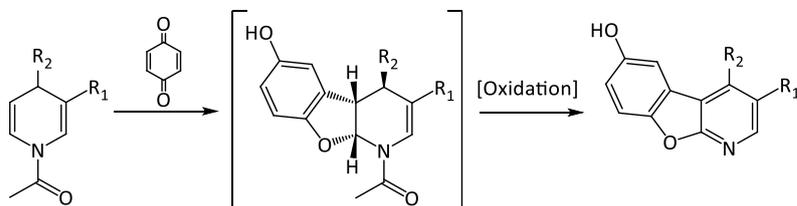
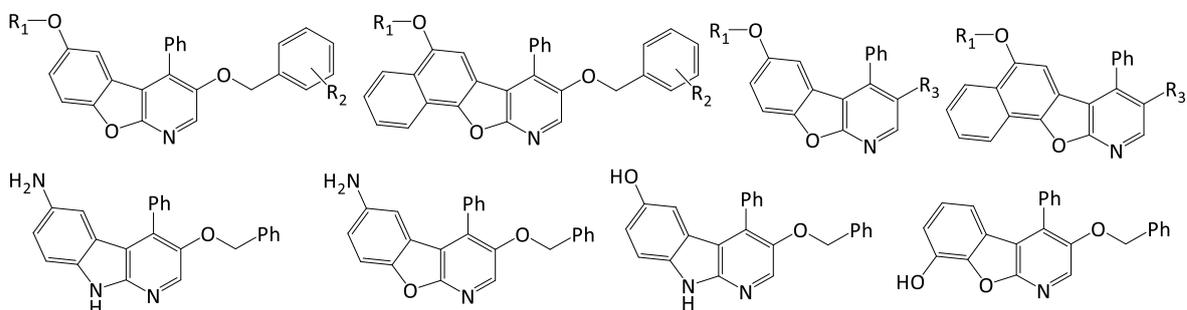


Abbildung 10: Eintopfreaktion nach VOIGT zur Synthese von 3,4-disubstituierten 1-Aza-9-Oxafluorenen³⁰⁰

Das erste Ziel dieser Arbeit bestand daher in der Synthese von verschiedenen substituierten 3-Benzyloxy-Verbindungen. Dabei sollten in der Eintopfreaktion nicht nur *p*-Benzochinon, sondern auch andere Chinonvarianten wie *p*-Naphthochinon Verwendung finden. Die Einführung von Chlor- oder Methoxy-Gruppen in Position 2,3 und 4 des aromatischen Restes der Benzyloxy-Gruppe sollte die Möglichkeit weiterer Wechselwirkungen mit der lösungsmittel-exponierten Region bzw. bei inversem Bindungsmodus der *Gatekeeper*-Region überprüfen. Da 3-Benzyloxy-6-methoxy-4-phenylbenzo[4,5]-furo[2,3-*b*]pyridin sich als nanomolarer Inhibitor von GSK3 β , JNK3 und p38- γ herausgestellt hatte, sollte auch die weitere Modifikation der 6-Hydroxyfunktion mit Alkyl-Gruppen untersucht werden.³⁰¹ Hierzu waren Methylierungen, Ethylierungen, Propylierungen und Isopropylierungen an Position 6 geplant. Hydroxyethylierungen und Aminoethylierungen an der gleichen Position sollten die Möglichkeit weiterer polarer Interaktionen mit den *Backbones* und hydrophilen Resten der Bindetasche ausloten. Für 3-Brom- und 3-Iod-Derivate war die Untersuchung dieser Modifizierungen ebenfalls

Zielstellung der Arbeit

geplant. Die Synthese von 3-Iod-Derivaten könnte zusätzlich durch einen katalytischen Austausch des Iods z. B. durch eine Amino-Gruppe neue Syntheserouten eröffnen.³⁰⁷ Des Weiteren war es ein Ziel der Arbeit die bereits von VOIGT und KRUG synthetisierten 3-Alkyloxy-Verbindungen, die ebenfalls gute Hemmwerte an CDK1 und CDK5 sowie GSK3 β aufwiesen, weiter zu untersuchen.^{300,302,303} Insbesondere die Synthese von tetrazyklischen 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorenen durch Verwendung von *p*-Naphthochinon stand dabei im Fokus. Die Ergänzung von weiteren Stickstoffen als Wasserstoffbrückenakzeptor und –Donor an Position 6 und 9 wurden ebenfalls angestrebt. Gerade Position 9 könnte entsprechend substituiert als α -Carbolin möglicherweise neue Interaktionen mit der Adenin-Bindungsregion eingehen. Dies sollte durch den Einsatz von *p*-Chinoniminen an Stelle der *p*-Benzochinone erreicht werden. Mit *o*-Benzochinon sollte überprüft werden, ob sich der oben beschriebene Ringschluss auch auf nicht *para*-substituierte Chinone anwenden lässt. 1-Aza-9-oxafluorene dieses neuen Typus könnten eventuell über ihre 8-Hydroxy-Gruppe eine weitere WBB mit der Adenin-Bindungsregion eingehen, die die Entfallende zwischen 6-OH und Cys199 (bezogen auf GSK3 β) ersetzt. Die exzellenten Hemmwerte für 3,6-Dihydroxy-Derivate bzw. 5,8-Dihydroxy-Derivate bei benzoanellierten Verbindungen führte zu dem Ziel, deren Synthese durch die Verwendung von anderen Schutzgruppen an Position 3 bzw. Position 8 zu erleichtern. Die bisher benutzte Benzyloxy-Gruppe musste in einer Reduktion mit Wasserstoff entfernt werden, während Acetyl- und Tosyl-Schutzgruppen wesentlich leichter zu entfernen wären.



$R_1 = \text{H} / \text{CH}_3 / \text{CH}_2\text{CH}_3 / \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 / \text{CH}(\text{CH}_3)_2 / \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} / \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ $R_2 = \text{H} / \text{Cl} / \text{OCH}_3$

$R_3 = \text{Cl} / \text{Br} / \text{I} / \text{OH} / \text{C}(\text{=O})\text{CH}_3 / \text{OCH}_2\text{CH}_3 / \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 / \text{OCH}(\text{CH}_3)_2 / \text{OS}(\text{O}_2)\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$

Abbildung 11: Übersicht der angestrebten Zielverbindungen

Es war geplant die hergestellten Derivate in Kooperation mit der PROQINASE GmbH und dem Arbeitskreis um VLADIMIR KRYS TOF (*Institute of Experimental Botany AS CR, Palacký University Olomouc*, Tschechische Republik) auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber verschiedenen AD-relevanten Kinasen zu testen. Hierbei wäre es das primäre Ziel eine gleichzeitige Hemmung von CDK, GSK3 und Fyn zu erreichen. Gerade Fyn stellt hierbei als einziger Vertreter aus der Proteinfamilie der Tyrosinkinase, dessen Hemmung angestrebt wird, eine besondere Herausforderung dar. Generell war es auch Teil der Bemühungen die einzelnen Teilschritte der Synthese in Hinsicht auf Ausbeute, Aufwand und Gefährdungsrisiko zu optimieren. *Docking*-Untersuchungen von positiv zu bewertenden Verbindungen sollten in Zusammenarbeit

Zielstellung der Arbeit

mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. WOLFGANG SIPPL (Institut für Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) einen weiteren Aufschluss über den Bindungsmodus der einzelnen Derivate geben und weitere Synthesebemühungen unterstützen.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese und Analytik

Die gewählte Synthesestrategie führt von 3-Hydroxypyridin bzw. den 3-Halogenpyridinen in zwei bis vier Reaktionsschritten zu den gewünschten Azoxafluorenen. Schritt **1** stellt hierbei eine WILLIAMSON-Ethersynthese bzw. in einem Fall eine WILLIAMSON-Estersynthese dar (siehe Abbildung 12). Dabei fanden die entsprechenden Halogenalkane je nach Reaktion als Chlor- oder Iod-Alkane Anwendung. In Schritt **2** folgten die N-Acetylierung der 3-substituierten Pyridine mit Acetylchlorid und eine regioselektive GRIGNARD-Addition eines Phenyl-Restes in Position 4 mit Hilfe von Phenylmagnesiumchlorid unter Kupfer-I-Katalyse. Die so entstehenden 4-Phenyl-N-Acetyl-1,4-dihydropyridine wurden in Schritt **3** mit dem jeweiligen *p*-Chinon in der Eintopfreaktion nach VOIGT zu 1-Aza-9-oxafluorenen bzw. 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorenen umgesetzt. Die Nummerierung dieser beiden Grundgerüste wurde nach den von der IUPAC festgelegten Regeln durchgeführt. Daher erfolgt diese bei 1-Aza-9-oxafluorenen vom Stickstoff aus gegen den Uhrzeigersinn. Im Gegensatz dazu wird bei 10-Aza-11-oxabenz[o]fluore-Derivaten vom anellierten Benzol-Ring im Uhrzeigersinn gezählt (siehe Abbildung 12).

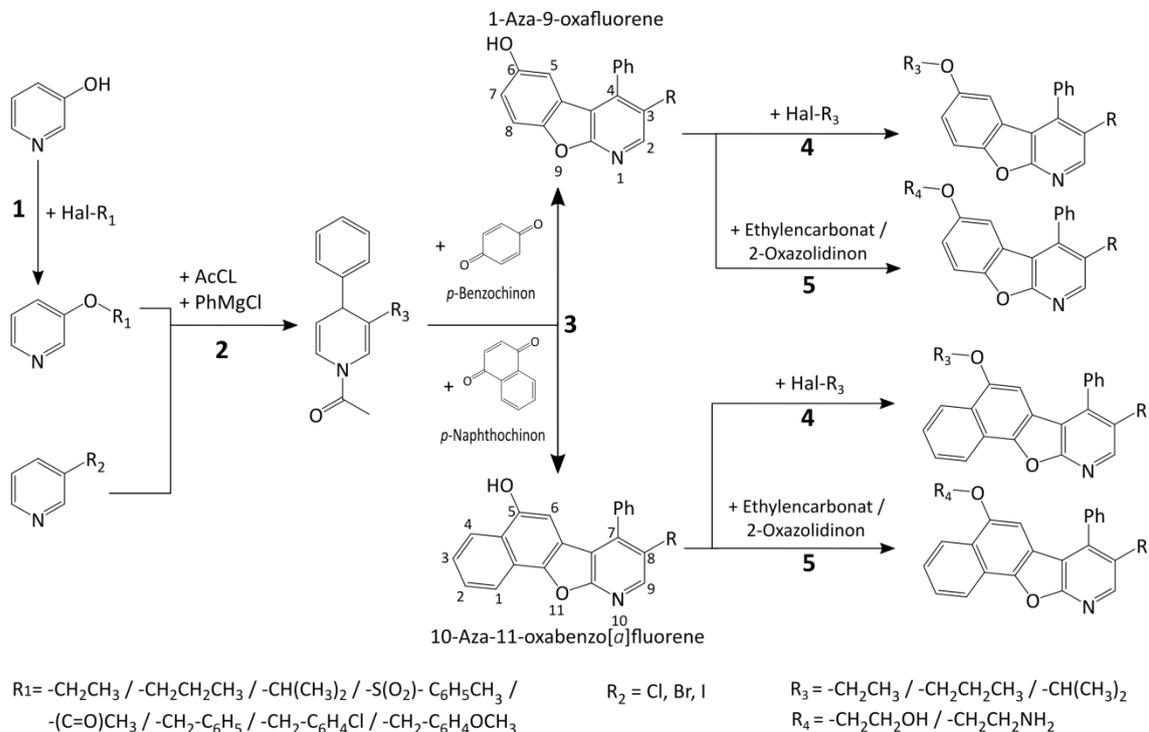


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Synthesestrategie für die Verwendung von *p*-Chinon-Derivaten

Zur Synthese weiterer Zielverbindungen wurden die in Schritt **3** erhaltenen Derivate an Position 6 bzw. 5 substituiert. Dazu wurden in Schritt **4** die bereits im ersten Reaktionsschritt verwendeten kurzkettigen Halogenalkane wiederum in einer WILLIAMSON-Ethersynthese zur Synthese der

Derivate herangezogen. Für die Hydroxyalkylierung und Aminoethylierung wurden die Verbindungen in Schritt 5 im basischen Milieu versuchsweise mit Ethylencarbonat oder 2-Oxazolidinon umgesetzt. Die Optimierung der Reaktionsschritte der Synthese zielte vor allem darauf ab den Gebrauch toxischer Chemikalien, die Nebenproduktentstehung und die Reaktionszeit zu minimieren sowie die Ausbeute an Produkt zu maximieren. Hierzu wurde beispielsweise bei den WILLIAMSON-Ethersynthesen mit verschiedensten Basen, Nucleophilen und Lösungsmitteln experimentiert. In Schritt 2 der Synthese wurden vor allem Temperaturveränderungen im Reaktionsverlauf und das Mengenverhältnis der einzelnen Edukte untersucht. Bei Schritt 3 wurden erstmals Variationen von Art und Menge der zugesetzten Säurekomponente auf ihren Einfluss auf das Reaktionsgeschehen untersucht. Die experimentelle Umsetzung mit *o*-Benzochinon, *p*-Benzochinonimin und *p*-Benzochinondiimin wurde in einer Eintopfreaktion nach VOIGT mit 3-Benzoyloxy-4-phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridin (Verbindung 19) erprobt.

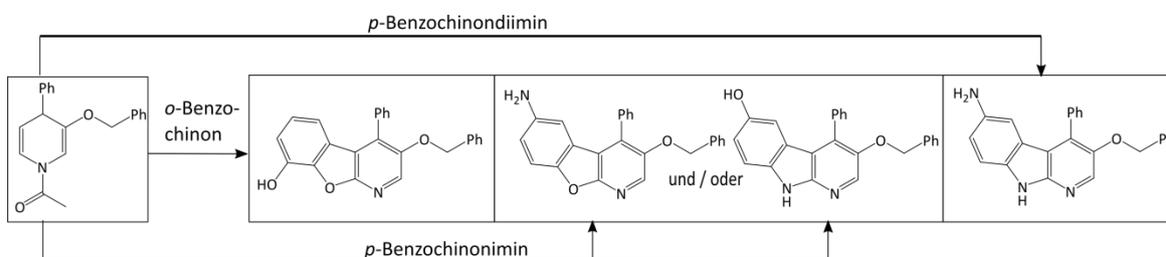


Abbildung 13: Theoretische Produkte der Umsetzung von Verbindung 19 mit Chinonvariationen

Bei der Synthese von 4-Phenylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-3,6-diol und 7-Phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5,8-diol durch den Einsatz alternativer Schutzgruppen wurden Acetylchlorid und *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in Schritt 1 verwendet. Die Reaktionssequenz wurde dann mit den entstehenden Derivaten fortgesetzt. Der Austausch der 3-Iod- bzw. 8-Iod-Gruppe der Iodoxafluorene wurde mittels eines Kupfer(I)-Katalysator-Komplexes mit Ascorbinsäure als Liganden und unter Zusatz von Ammoniak erprobt.

3.1.1 Synthese kommerziell nicht verfügbarer oder instabiler Edukte

3.1.1.1 Chinone

Die alternativen Chinonvarianten (siehe Abbildung 13) waren, vor allem auf Grund ihrer geringen Stabilität, nicht kommerziell erhältlich und mussten daher jeweils vor ihrer Verwendung synthetisiert werden. Die Synthese von *o*-Benzochinon erfolgte nach der von ADLER und MAGNUSSON entwickelten Methode der Oxidation von 2-Methoxyphenol (Guajacol) mit Natriumperodat.³⁰⁸ Hierbei wurde Guajacol in Wasser gelöst und zu diesem Ansatz in einem Zug eine auf Null Grad Celsius herabgekühlte, wässrige Natriumperodat-Lösung gegeben. Die resultierende rotgefärbte Lösung konnte direkt im Anschluss mit Dichlormethan extrahiert werden. Nach der Einengung der organischen Phase am Rotationsvakuumverdampfer auf unter

zwanzig Milliliter konnte das *o*-Chinon aus derselben durch Zugabe von *n*-Hexan ausgefällt werden. Nach einer kurzen Filtration konnte das Produkt in guter Ausbeute (63 Prozent) gewonnen werden.³⁰⁸ Der Vorteil dieser Reaktion gegenüber anderen Oxidationen, wie der von Brenzcatechin mit Silber(I)oxid, Cer(IV)-Salzen oder Mangandioxid, ist neben dem geringeren Kostenpunkt vor allem eine sehr kurze Reaktionszeit und ein sehr geringer technischer Aufwand.^{309–311} Das erleichterte die kurzfristige Synthese dieses Reaktanten direkt vor seiner Umsetzung mit Verbindung **19** (siehe Abschnitt 3.1.9).

Bei der Synthese der Benzochinonimine wurde auf die Methode von WILLSTÄTTER und PFANNENSTIEL zurückgegriffen bei der 4-Aminophenol bzw. 1,4-Phenylendiamin unter Einsatz von Silber(I)oxid in trockenem Diethylether oxidiert wurde.³¹² Das Silberoxid wurde hierfür im Vorhinein frisch durch Alkalisierung einer Silbercarbonat-Lösung gefällt und im Trockenschrank bei 200 Grad Celsius für eine Stunde getrocknet. Außerdem wurde dem Ansatz trockenes Natriumsulfat zum Wasserentzug hinzugefügt. Bereits kurz nach der Zugabe des Oxids konnte eine Farbverdunklung des Ansatzes beobachtet werden und nach einer Dreiviertelstunde Dispergieren bei Raumtemperatur (RT) ließ sich dünn-schichtchromatographisch kein phenolisches Edukt mehr nachweisen. Während das *p*-Benzochinondiimin nach Filtration und Einengen am Rotationsvakuumverdampfer als gelbbrauner Feststoff gewonnen werden konnte, gelang dies beim *p*-Benzochinonimin nicht. Dieses zersetzte sich, wie bereits in anderen Veröffentlichungen zu beobachten war, beim Entfernen des Ethers.^{313,314} Daher wurde in der folgenden Umsetzung mit Verbindung **19** die mit maximal 18,3 Millimol pro Liter schwach konzentrierte Lösung in Ether verwendet (siehe Abschnitt 3.1.9).

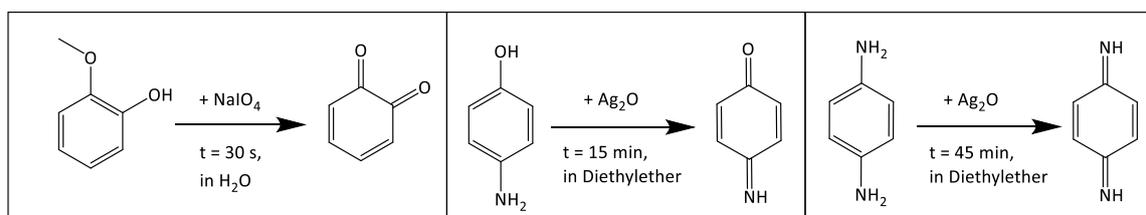


Abbildung 14: Synthesen der Chinonvariationen

Beide Chinonimine zeigten bei längerer Lagerung, selbst bei Kühlung und Lagerung unter Argon-Schutzgas, Zersetzungserscheinungen. Besonders ausgeprägt war diese Instabilität bei der Lösung von *p*-Benzochinonimin.

3.1.1.2 Iodalkane

Im Verlauf der Dissertation wurden verschiedene Halogenalkane in den durchgeführten WILLIAMSON-Ethersynthesen erprobt. Dabei erwies sich der Einsatz von Iodalkanen gegenüber Bromalkanen als überlegen in Hinsicht auf Ausbeute, Reaktionszeit und Reinheit der Produkte. Daher wurden die zunächst verwendeten Bromalkane (1-Brompropan, 2-Brompropan) durch nukleophile Substitution zu den korrespondierenden Iodalkanen umgesetzt. Dies gelang mit geringem Aufwand selbst beim sekundären 2-Brompropan durch eine einfache

FINKELSTEIN-Reaktion mit Natriumiodid in Aceton.^{315,316} Die so gewonnenen flüssigen, stechend riechenden Iodalkane wurden direkt im Anschluss in den jeweiligen Folgereaktionen eingesetzt. Die Instabilität dieser Derivate stellte auf Grund fehlender Lagerung kein Problem dar.

3.1.1.3 Benzylchloride

Für die Synthese von 2- und 4-Methoxybenzylchlorid standen die entsprechenden Benzylchloride für Reaktionsschritt **1** nicht kommerziell zur Verfügung. Ihre Synthese gelang jedoch aus ihren entsprechenden Benzalkoholderivaten. Hierzu wurde eine von POPOFF *et al.* beschriebene Methode mit Thionylchlorid als Chlorierungsagens in leicht abgewandelter Form eingesetzt.³¹⁷

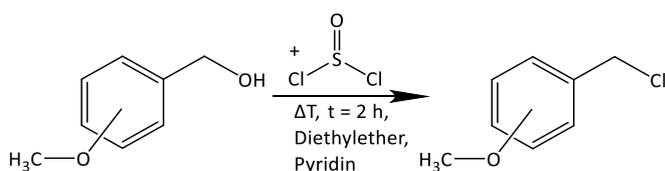


Abbildung 15: Synthese der Methoxybenzylchloride

Hierzu wurden die entsprechenden Benzalkohole in Diethylether gelöst und zusammen mit 1,92 Äquivalenten Thionylchlorid und mit einem geringem Zusatz Pyridin (0,06 Äquivalente) für zwei Stunden zum Rückfluss erhitzt. Nach einem wässrigen Aufschluss wurden die Produkte mit organischen Lösungsmitteln extrahiert und nach Entfernen derselben am Rotationsvakuumverdampfer als weiße bis hellgelbe Flüssigkeiten gewonnen.

3.1.2 Synthese der an Position 3 substituierten Pyridine

Bei der ersten Synthese der 3-Alkoxyppyridine kam eine im Arbeitskreis bereits erprobte Methode zur Anwendung.³⁰² Hierbei wird das 3-Hydroxypyridin in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und gepulvertes Natriumhydroxid hinzugefügt. Nachdem der Ansatz eine Stunde bei RT gerührt wurde, gab man 1,2 Äquivalente Iodethan, 1-Brompropan oder 2-Brompropan hinzu. Das entstehende Gemisch wurde weitere 24 Stunden bei gleicher Temperatur dispergiert und die Reaktion anschließend durch Zugabe von zehn prozentiger, wässriger Natronlauge abgebrochen. Nach einer Extraktion mit Diethylether wurden die vereinigten organischen Phasen soweit möglich am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Die resultierenden öligen Produkte enthielten noch größere Mengen des hochsiedenden DMSO und zeigten keine zufriedenstellende Reinheit. Zudem war die Ausbeute mit 30-60 Prozent optimierbar. Daher wurde im weiteren Verlauf der Dissertation nach anderen Methoden für diesen Reaktionsschritt gesucht.

Die ersten Darstellungen für die 3-Benzoyloxyppyridine erfolgten nach der bereits von VOIGT in unserer Arbeitsgruppe etablierten Methode. In dieser wird das 3-Hydroxypyridin in trockenem Tetrahydrofuran (THF) gelöst und mit gepulvertem Kaliumhydroxid im Überschuss versetzt. In der ursprünglichen Methode wird dem Ansatz eine katalytische Menge Tetrabutylammoniumbromid zugegeben.³⁰⁰ Nachdem der Ansatz 12 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt worden war, wurde dem Ansatz nach Abkühlen auf RT destilliertes Wasser zugegeben. Der Ansatz wurde daraufhin

zweimal mit wässriger Salzsäure-Lösung extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden anschließend mit Natronlauge alkalisiert und dreimal mit Chloroform extrahiert. Nach der Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsvakuumverdampfer wurden die öligen bis wachsartigen Rohprodukte säulenchromatographisch aufgetrennt. TELL'S Hypothese, dass das Tetrabutylammoniumchlorid die Reaktionsgeschwindigkeit durch eine Substitutionsreaktion nach FINKELSTEIN erhöht, konnte experimentell nicht bestätigt werden. Der Verzicht auf dieses Salz zeigte keine messbare Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit. Als problematisch bei dieser Reaktion erwies sich vor allem die Phasentrennung von THF und saurer wässriger Lösung im ersten Extraktionsschritt. Diese trat oft erst nach langer Wartezeit und unvollständig auf. Dies machte den Prozess impraktikabel und ineffizient. Des Weiteren erschwerte eine Vielzahl von Nebenprodukten eine effiziente Aufreinigung. Daher wurden auch für diese Reaktion alternative Methoden erprobt.

Am erfolgreichsten erwies sich eine Vorgehensweise, die zuvor für Reaktionsschritt **4** etabliert worden war (siehe Abschnitt 3.1.6.2). Bei dieser wurde das 3-Hydroxypyridin in Dimethylformamid (DMF) aufgelöst und im Eisbad herabgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 1,3 Äquivalente Kalium-*tert*-butanolat als Base hinzugegeben. Nach einer Wartezeit von 15 Minuten wurde das jeweilige Elektrophil im Überschuss zugefügt. Im Anschluss wurde der Ansatz 15 Minuten bei null Grad Celsius und bis zum vollständigen Umsatz bei RT zwischen vier und sieben Stunden lang gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch überprüft.

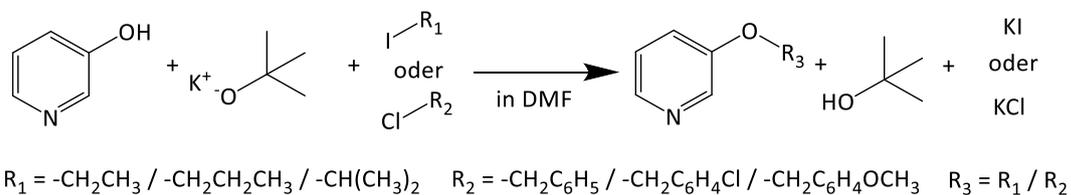


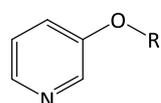
Abbildung 16: Synthese der 3-Alkoxy- und 3-Benzyloxy-Pyridin-Derivate

Die Reaktion wurde letztlich durch die Zugabe von Eiswasser abgebrochen, wobei sich die überschüssige Base unter Wärmeabgabe zersetzte. Bei der folgenden Extraktion mit zehn prozentiger wässriger Salzsäurelösung wurde das substituierte Derivat sowie überschüssiges 3-Hydroxypyridin durch Protonierung am Pyridin-Stickstoff in die polarere Wasser-Phase überführt. Im Anschluss wurden die vereinten wässrigen Phasen mittels Natronlauge auf einen pH-Wert ≥ 12 eingestellt. Dadurch lagen die 3-substituierten Derivate ungeladen vor, während das noch vorhandene 3-Hydroxypyridin an seiner Phenol-Gruppe deprotoniert wurde. Bei der folgenden Extraktion mit Dichlormethan verblieben die neutralen 3-substituierten Derivate daher in der unpolaren Phase, während die Phenolat-Ionen mit der wässrigen Phase entfernt werden konnten. Die organischen Lösungsmittel wurden hiernach am Rotationsvakuumverdampfer entfernt. Reste des verwendeten DMFs erwiesen sich dabei auf Grund ihres hohen Siedepunkts (153 Grad Celsius) als besonderes Problem.³¹⁸ Die Zugabe von *n*-Heptan zum Ansatz, das mit DMF

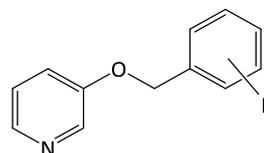
Ergebnisse und Diskussion

in einem mol-Verhältnis von 0,915 (mol (DMF) /mol (n-Heptan)) ein azeotropes Gemisch bei 97,05 Grad Celsius unter Normaldruck ausbildet, erbrachte bei anschließender Anwendung des Rotationsvakuumverdampfers die gewünschte Abtrennung des DMFs.³¹⁹ Die resultierenden öligen Rohprodukte wurden, sofern notwendig, säulenchromatographisch aufgereinigt. Bei der Synthese von Derivaten mit kurz-kettigen Alkanresten erwiesen sich für die Wahl des Elektrophils Iodalkane als vorteilhaft für Ausbeute, Reinheit und Reaktionszeit. Der als Nebenprodukt vermehrt auftretende jeweilige *tert*-Butanol-Ether entstand nur in geringem Maße und konnte am Rotationsvakuumverdampfer problemlos entfernt werden. Bei den 3-Benzyloxy-Derivaten war die Verwendung von Benzylchloriden vorteilhafter. Ausbeute und Reaktionsgeschwindigkeit waren zwar im Vergleich zur Verwendung von Benzyljodiden als Elektrophile geringer, die Aufreinigung war jedoch besser möglich. Der entsprechende *tert*-Butanol-Ether entstand bei der Verwendung von Benzylchlorid nur in sehr geringen Mengen. Das erleichterte eine säulenchromatographische Abtrennung desselben. Auf Grund der Herausforderungen beim Entfernen des DMFs wurden auch weitere Lösungsmittel erprobt. Weder in polaren, aprotischen Lösungsmitteln wie THF, Ethylacetat oder Dioxan noch in lipophileren Lösungsmitteln wie Dichlormethan, Cyclohexan oder Chloroform, noch in Gemischen dieser erreichte man eine ähnliche Ausbeute wie in DMF. Vergleichbare Umsätze ließen sich lediglich in DMSO und in *N*-Methyl-2-pyrrolidon erzielen, die beide jedoch noch schwerer zu entfernen waren.

Tabelle 2: Ausbeuten der Synthese der 3-Alkoxy- und 3-Benzyloxy-pyridine



Verbindung 1-3



Verbindung 6-12

Verbindung	R	Ausbeute [%]	Verbindung	R	Ausbeute [%]
1	CH ₂ CH ₃	87,6	8	3-Cl	70,0
2	CH ₂ CH ₂ CH ₃	80,9	9	4-Cl	71,4
3	CH(CH ₃) ₂	69,4	10	2-O-CH ₃	57,3
6	H	72,6	11	3-O-CH ₃	62,7
7	2-Cl	74,9	12	4-O-CH ₃	49,8

Mit dieser Methode ließen sich letztlich gute bis sehr gute Ausbeuten für alle 3-Alkoxy- und 3-Benzyloxy-Derivate erreichen (siehe Tabelle 2). Die Ausbeute nahm bei den 3-Alkoxy-Derivaten mit zunehmender Kettenlänge und mit zunehmender sterischer Komplexität des Elektrophils ab. Bei den Chlorbenzyloxy-Verbindungen zeichnete sich eine leichte Tendenz ab, dass ein Chlor-Substituent in *ortho*-Position die Reaktion stärker begünstigt als ein *meta*- oder *para*-Substituent. Bei den Methoxybenzyloxy-Derivaten war dieser Trend nicht erkennbar. So war die Ausbeute der *ortho*- und *para*-substituierten Verbindungen deutlich geringer als die des *meta*-substituierten Derivates. Der Grund dafür liegt jedoch wahrscheinlich darin, dass 2-Methoxybenzylchlorid und 4-Methoxybenzylchlorid wie unter 3.1.1.3 beschrieben synthetisiert

worden sind, während 3-Methoxybenzylchlorid kommerziell erworben wurde. Dies weist darauf hin, dass die so gewonnenen Benzylchloride den nächsten Reaktionsschritt störende Verunreinigungen beinhalten. Denkbar wären zum Beispiel ein erhöhter Wassergehalt oder Reste an Thionylchlorid.

Die Ester-Schutzgruppen für die 3-Hydroxy-Funktion des Pyridins ließen sich durch einfache Esterbildung mit Hilfe der jeweiligen Säurechloride an Position 3 anfügen. 3-Hydroxypyridin wurde zur Synthese des 3-Essigsäureesters mit einem geringen Überschuss Acetylchlorid in trockenem THF umgesetzt. Diese Methode erreichte schon nach 20 Min einen vollständigen Umsatz der Edukte. Das 3-Acetoxypyridin konnte in einer Ausbeute von 95 Prozent nach wässriger Extraktion gewonnen werden. Da diese Methode mit zusätzlicher Kühlung identisch mit der *N*-Acetylierung bei der Synthese der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine ist, ließen sich diese beiden Schritte zu einem Reaktionsschritt kombinieren (siehe Abschnitt 3.1.3.2). Die Herstellung eines *p*-Toluolsulfonsäureesters verlief nach einem ähnlichen Reaktionsschema. Auf Grund der geringeren Reaktivität des *p*-Toluolsulfonsäurechlorid wurde die Reaktion jedoch in einem anderen Lösungsmittel unter Wärmeeintrag durchgeführt. Nach sechs Stunden Erhitzen des Reaktionsansatzes von 3-Hydroxypyridin mit einem 1,27-fachen Überschuss an *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in trockenem Pyridin war die Reaktion abgeschlossen. Die im Anschluss durchgeführte Extraktion mit Dichlormethan lieferte das gewünschte Produkt mit einer sehr guten Ausbeute (81,6 Prozent) ohne die Notwendigkeit für weitere Aufreinigungsschritte.

3-(2-Hydroxyethoxy)pyridin wurde nach der gleichen Methode, die für die Synthese der 6-(2-Hydroxyethoxy)-1-aza-9-oxafluoren-Derivate erfolgreich identifiziert werden konnte, synthetisiert (siehe Abschnitt 3.1.7.1).³²⁰ Dabei wurde das 3-Hydroxypyridin in DMF gelöst und mit Kaliumcarbonat und Ethylencarbonat versetzt. Der Ansatz wurde im Silikonöl-Bad drei Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Der Aufschluss erfolgte, im Gegenteil zu den anderen Hydroxyethylierungen, identisch zum Aufschluss der 3-Alkoxy- und 3-Benzoyloxy-pyridine. Die Ausbeute der Reaktion betrug 67,3 Prozent. Ausbeutenlimitierungen bestanden in der auch bei der Hydroxyethylierung der Azoxafluorene beobachteten Mehrfachhydroxyethylierung an der aliphatischen Alkanol-Gruppe sowie einem dazu im Kontrast stehenden unvollständigem Umsatz (siehe Abschnitt 3.1.7.2).

3.1.3 Synthese und Analyse der 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridine

In den Dissertationen von VOIGT, TELL und KRUG konnte mittels biologischer Testung evaluiert werden, dass die Einführung einer Phenyl-Gruppe in Position 4 des Pyridins die inhibitorische Aktivität der resultierenden Endprodukte positiv beeinflusst. VOIGT etablierte deshalb in seiner Arbeit eine Methode, die die Einführung derselben mit der essentiellen *N*-Acetylierung und Reduktion des Pyridin-Ringes kombiniert. Diese Vorgehensweise wurde auch mit einigen Modifikationen zur Synthese der 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridine in dieser Arbeit angewandt.

3.1.3.1 Grundlagen der Reaktion

Den ersten Teilschritt der Synthese stellt die Acylierung des Pyridinstickstoffs dar. Durch sie verstärkt sich unter anderem die positive Partiaalladung an Position 2, 4 und 6 des Heteroaromaten. Dadurch wird die Reaktivität dieser Positionen gegenüber nukleophilen Agenzien erhöht. Dies ist notwendig, da die normale positive Partiaalladung des sechsgliedrigen elektronenarmen Heterocyclus an diesen Positionen nicht ausreicht, um eine Reaktion mit Nucleophilen wie den Metallorganen in größerem Umfang zu ermöglichen.^{321,322} Durch Interaktion des freien Elektronenpaares des Stickstoffs mit dem partial positiven Carbonyl-Kohlenstoff des Säurechlorids bildet sich nach Abspaltung des Halogens eine Amid-Struktur aus. Die positive Ladung ist bei dem daraus resultierenden Pyridinium-Kation, wie an den Grenzstrukturen in Abbildung 17 erkennbar, im Ringsystem delokalisiert. Dies stabilisiert die Verbindung und bewirkt die bereits erwähnte Reaktivitätssteigerung gegenüber nukleophil angreifenden Agenzien auch durch eine verstärkte Aktivierung des π -Elektronensystems.³²³ Zu diesen Nucleophilen zählen metallorganische Verbindungen, wie die im Folgenden verwendeten GRIGNARD-Reagenzien.

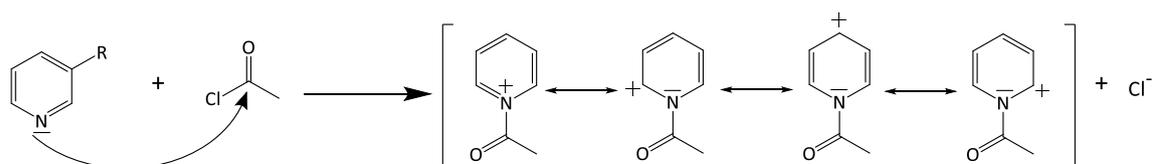


Abbildung 17: Darstellung der *N*-Acetylierung der Pyridin-Derivate und der Grenzstrukturen des resultierenden Pyridinium-Kations

Dass diese mit Pyridinium-Ionen unter Ausbildung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen koppeln, konnte bereits 1970 von FRAENKEL *et al.* beobachtet werden. Er setzte zuvor mit Ethylchlorformiat acylierte Pyridine mit kurzkettigen Erdalkalimetallorganen wie Methylmagnesiumchlorid um und erhielt entsprechende, vorwiegend in Position 2 und 6 substituierte Dihydropyridine.³²⁴ Spätere Versuche zeigten, dass es mit diesen nahezu ausschließlich zu einer Addition am Ring und nicht am Carbonyl-Kohlenstoff kam.³²³ Zusätzlich ließen sich Aussagen zur Regioselektivität verschiedener metallorganischer Verbindungen treffen. Einerseits war der sterische Anspruch der verwendeten Acyl-Gruppe, des Nucleophils und weiterer am Pyridin-Ring befindlicher Substituenten relevant.^{325,326} So sorgten anspruchsvolle sterische Acyl-Gruppen und Nucleophile für eine vermehrte Addition in Position 4 gegenüber den *ortho*-Positionen.^{323,326} Andererseits ließen sich regiospezifische Präferenzen von Nucleophilen durch das Konzept der „harten und weichen Säuren und Basen“ („*Hard and soft acids and basis*“-concept) prognostizieren.^{327,328} Es konnte festgestellt werden, dass harte Nucleophile mit einer hohen Ladungsdichte wie GRIGNARD-Verbindungen oder lithiumorganische Verbindungen bevorzugt an Position 2 und 6 binden.^{327,329} Dahingegen bilden weiche Nucleophile mit geringer Ladungsdichte und hoher Polarisierbarkeit wie zink-, zinn- oder kupferorganische Verbindungen vorwiegend 1,4-substituierte Dihydropyridine aus.^{323,330} Diesen Schlüssen folgend gelang PIERS

und SOUCY eine Position 4-regioselektive Addition von metallorganischen GILMAN-Cupraten $((\text{CH}_3)_2\text{CuLi} / (\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CuLi})$.³³¹ COMINS und ABDULLAH entwickelten das Reaktionsprinzip weiter, indem sie die benötigten Cuprate erst im Reaktionsansatz selbst herstellten. Das gelang ihnen dadurch, dass die entsprechenden GRIGNARD-Verbindungen zusammen mit einem katalytischen Zusatz von fünf Prozent Kupfer(I)iodid (CuI) zum Ansatz gegeben wurden. Diese beiden Reagenzien bildeten *in situ* miteinander magnesiumhaltige NORMANT-Cuprate $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{CuMgI} / (\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CuMgI})$ aus, welche selektiv in *para*-Stellung angriffen.³²⁹ Für diese Methodik entschied sich auch VOIGT bei der Synthese der von ihm hergestellten 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridine. Zur Verbesserung der Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, wie dem verwendeten THF, setzte VOIGT zunächst das auch von COMINS *et al.* verwendete $\text{Cu}^\circ\text{SMe}_2$ ein. Er konnte mit der Verwendung von Lithiumchlorid als alternativem Liganden jedoch eine besser handhabbare und weniger gesundheitsschädliche Alternative zum zuvor benutzten Dimethylsulfid finden.^{300,332,333} Der resultierende $\text{Cu}^\circ\cdot 2 \text{LiCl}$ -Komplex war ebenfalls gut löslich in THF und wies eine vergleichbare Katalysatoraktivität auf. Im folgenden Abschnitt wird näher auf die in dieser Dissertation verwendete Vorgehensweise bei dieser Synthese eingegangen und erläutert welchen Einfluss die Veränderung einzelner Parameter auf diese hatte.

3.1.3.2 Experimentelle Durchführung

Am Anfang der Synthesevorbereitung stand eine Minimierung des Wassereintrags. Aufgrund der hohen Hydrolyseneigung von Acetylchlorid, Phenylmagnesiumchlorid und der im Reaktionsprozess entstehenden Cuprate war dies essentielle Voraussetzung für eine erfolgreiche Umsetzung. Daher wurde der für die Reaktion verwendete Mehrhalskolben vor der Reaktion ausgeglüht, das hygroskopische Lithiumchlorid in der Trockenpistole getrocknet und das verwendete THF mit Natrium absolutiert. Außerdem wurde das verwendete 3-substituierte Pyridin vor der Reaktion im Exsikkator aufbewahrt und das verwendete Acetylchlorid vor Beginn der Reaktion frisch destilliert.

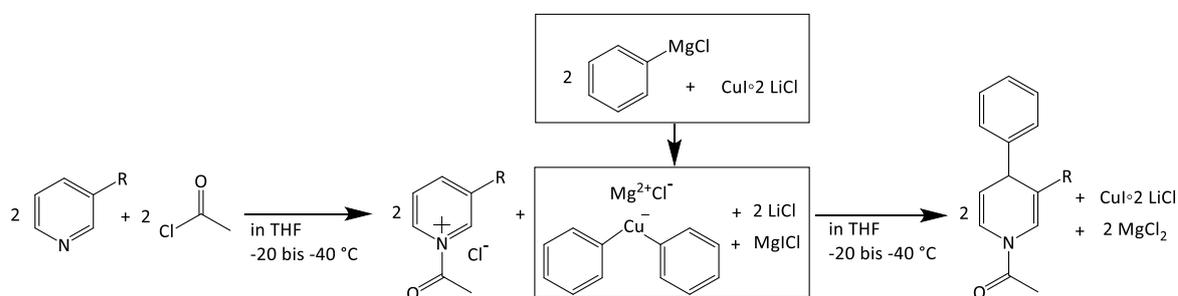


Abbildung 18: Reaktionsschema der 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridin-Synthese. In den umrahmten Feldern ist die Bildung des NORMANT-Cuprats dargestellt.

Nach Abschluss dieser Arbeitsschritte wurden 1,0 Äquivalente des jeweiligen 3-substituierten Pyridins, 0,1 Äquivalente Kupferiodid und 0,2 Äquivalente trockenes Lithiumchlorid im vorbereiteten THF gelöst. Der Katalysator wurde dem Ansatz bereits vor der Acetylierung zugegeben, da

eine ausreichende Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit für diesen nur bei RT gegeben war. Seiner Oxidationsneigung, gerade gegenüber dem Luftsauerstoff wurde mit dem Einleiten von Argon als Schutzgas in den Mehrhalskolben vorgebeugt. Wie bereits von SCHADE beschrieben zeigte sich bei Zugabe von Lithiumchlorid zum Ansatz eine Farbverstärkung, wenn dieser bereits Kupferiodid enthielt.³³⁴ Diese Beobachtung lässt sich als Effekt der vermehrten Löslichkeit des Schwermetalls durch die beschriebene Komplexbildung interpretieren. Nähere Untersuchungen zeigten aber, dass diese Farbvertiefung vor allem in Ansätzen von 3-Benzoyloxy-pyridin-Derivaten auftrat und nur wenn dieses bereits im Ansatz gelöst war. Die Lösung von Kupferiodid und Lithiumchlorid in THF ohne diese Pyridine zeigte diesen Effekt nicht. Daher ist davon auszugehen, dass für diese Farbveränderung eine vermehrte Interaktion des Schwermetallkomplexes mit verschiedenen Pyridin-Derivaten relevant ist. Im Anschluss wurde der Ansatz mit Hilfe von Trockeneis in einem Kältebad aus gleichen Teilen Methanol und Isopropanol auf -40 Grad Celsius herabgekühlt. Die niedrige Reaktionstemperatur diente, neben einer Verringerung der Oxidationsanfälligkeit von Edukten und Produkten, dazu, das Entstehen von Nebenprodukten mit weiteren reaktiven Gruppen zu minimieren. Aus Kostengründen wurde bei diesen Reaktionen in der späteren Phase der Dissertation die Methode der Kühlung geändert. Es wurde auf die Verwendung von Trockeneis verzichtet und stattdessen eine Mischung von Natriumchlorid und Eis im Verhältnis eins zu drei benutzt. Dieses Gemisch kühlte auf Grund der der Umgebung entzogenen Schmelzenthalpie und der Gefrierpunktniedrigung auf -18 bis -21 Grad Celsius ab. VOIGT belegte bereits in seiner Arbeit, dass die Reaktion auch bei diesen höheren Temperaturen erfolgreich abläuft.³⁰⁰ Auswirkungen auf Produktausbeuten und den Anteil an Nebenprodukten werden unter 3.1.3.3 und 3.1.3.4 näher betrachtet. Nachdem der Ansatz mit Hilfe der jeweiligen Kühlmethode auf die entsprechende Temperatur eingestellt worden war, wurde er mit 1,1 Äquivalenten Acetylchlorid versetzt. Bei allen Reaktionsansätzen außer jenen, die 3-Halogenpyridine als Edukt beinhalteten, konnte hiernach eine intensive Rotfärbung des Ansatzes beobachtet werden. Diese könnte auf die Bildung des Pyridinium-Salzes hindeuten. Auch bei anderen Substituenten 3-Carbamid-Gruppen konnte eine solche Rotfärbung beobachtet werden, so dass diese nicht an einen 3-Oxy-Substituenten gekoppelt zu sein scheint.³³⁴ Der Ansatz wurde für 15 min bei konstanter Temperatur mittels eines Magnetrührers gleichmäßig durchmischt, wobei die Färbung, soweit vorhanden, bestehen blieb. Bei der höheren Temperatur von -20 Grad Celsius erwies sich eine kürzere Wartezeit von zehn min als vorteilhafter für die Ausbeute an Produkt. Eine Besonderheit stellten die Synthesen der Verbindungen **17** und **18** dar, die jeweils mit 2,2 Äquivalenten Acetylchlorid umgesetzt wurden. Bei diesen beiden wurde neben dem Pyridin-Stickstoff noch eine Alkohol-Gruppe verestert. Im Falle von Verbindung **17** war es die aromatische OH-Gruppe von 3-Hydroxypyridin und bei Verbindung **18** die aliphatische OH-Gruppe der Hydroxyethoxy-Gruppe an Position 3. Bei beiden Reaktionen lief die Veresterung nahezu vollständig ab ohne, dass eine Verlängerung der für die *N*-Acetylierung vorgesehenen Wartezeit notwendig gewesen wäre.

Im Anschluss wurden dem Reaktionsgemisch langsam 1,2 Äquivalente Phenylmagnesiumchlorid zutropft. Hierbei verschwand die Rotfärbung langsam im Verlauf der Zugabe. Nach einer Wartezeit von 15 Minuten bei den Ansätzen bei -40 Grad Celsius bzw. zehn Minuten bei -20 Grad Celsius wurde der Ansatz der Kühlung entnommen. Weitere 30 Minuten lang wurde der Ansatz daraufhin bei RT bis zum Abschluss der Reaktion gerührt. Dabei wurde beobachtet, dass die weniger stark gekühlten Ansätze innerhalb der 30 Minuten Oxidation der Produkte und kaum weiteren Umsatz zu denselben zeigten. Daher wurde bei ihnen diese Zeit auf zehn min reduziert. Der Ansatz wurde zum Abbruch der Reaktion mit 100 Milliliter 20 prozentiger Ammoniumchlorid-Lösung versetzt und mit Chloroform extrahiert. Der Schwermetallkatalysator, der die Oxidation des Produkts begünstigt, wurde anschließend durch mehrfache Extraktion der organischen Phase mit einem Gemisch aus konzentrierter wässriger Ammoniaklösung und 20 prozentiger Ammoniumchlorid-Lösung im Verhältnis eins zu eins entfernt. Die Kupfer-Ionen gingen hierbei gut wasserlösliche, farbige Komplexe mit Ammoniak ein. Im Anschluss wurde die Lösung zur Entfernung der überschüssigen Base mit zehn prozentiger Salzsäurelösung extrahiert. Zur Abtrennung von in der organischen Phase enthaltenem Wasser wurde diese danach noch gegen gesättigte Natriumchlorid-Lösung (*Brine*) extrahiert. Nach einer Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsvakuumverdampfer wurde so ein ölig viskoses bis mattes, amorphes Rohprodukt erhalten. Aus diesem konnte schließlich säulenchromatographisch das entsprechende 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridin gewonnen werden.

3.1.3.3 Nebenprodukte und Modifikationen der Reaktion

Im Verlauf des Reaktionsgeschehens fielen verschiedene Nebenprodukte an, die im Verlauf der säulenchromatographischen Auftrennung isoliert und charakterisiert werden konnten. Im Folgenden wird auf ihre Entstehung eingegangen sowie auf Bemühungen diese zu minimieren.

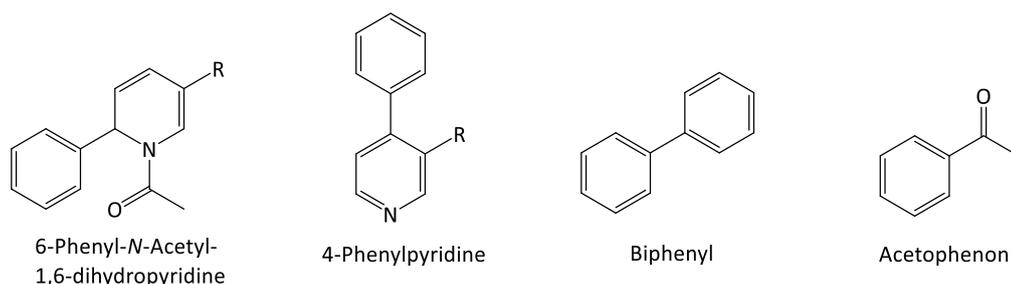


Abbildung 19: Bei der Synthese der 4-Phenyl-*N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine entstehende, charakterisierte Nebenprodukte

Bereits COMINS und VOIGT stellten fest, dass für die Reaktion keine vollständige Regioselektivität gewährleistet werden konnte. In geringem Maße entstanden auch bei diesen Reaktionen 1,2-Dihydropyridine durch einen Angriff des GRIGNARD-Reagenz in *ortho*-Position.^{300,329} Hierbei wurde auf Grund sterischer Hinderung durch Substituenten an Position 1 und 3 des Rings lediglich das Entstehen von 6-Phenyl-*N*-acetyl-1,6-dihydropyridinen beobachtet. Die Ausbeute dieses Nebenprodukts lag hierbei zwischen 1 und 7 Prozent und war vor allem durch voluminöse raumfordernde Reste in Position 3 begünstigt, die einen Angriff an Position 4 erschwerten. So

erhielt man für (*EZ,RS*)-*N*-Acetyl-3-isopropoxy-6-phenyl-1,6-dihydropyridin, das exemplarisch isoliert und analysiert wurde, mit 5,9 Prozent eine nahezu doppelt so hohe Ausbeute wie für das weniger sterisch anspruchsvolle 3-Propoxy-Derivat (siehe Abschnitt 6.2.13). Die Reaktionstemperatur zeigte hierbei wenn überhaupt nur einen geringen Einfluss auf die Regioselektivität. So konnte bei keiner Reaktion, die bei beiden Temperaturen durchgeführt wurde, ein signifikanter Unterschied in der Regioselektivität der Addition beobachtet werden.

Ein weiteres Nebenprodukt stellt das durch die Oxidation des Dihydropyridins entstehende 3,4-substituierte Pyridin dar. Für das Ausmaß der Oxidation konnten drei Faktoren identifiziert werden. Zum einen hatten der in Position 3 befindliche Substituent sowie die Acyl-Gruppe am Stickstoff des Ringsystems entscheidenden Einfluss auf die Stabilität des entstehenden Dihydropyridins. Verbindungen mit 3-Benzoyloxy-Resten wiesen eine besonders hohe Instabilität auf.³⁰¹ Die Acetyl-Gruppe als Acyl-Komponente stellte einen weiteren Schwachpunkt der Struktur dar. Schon VOIGT unternahm den Versuch die Stabilität der resultierenden Dihydropyridine sowie die Ausbeute der Reaktion zu erhöhen. Dabei verwendete er nach dem Vorbild COMINS Phenylchloroformiat statt Acetylchlorid als Säurechlorid-Komponente.^{300,329} Dies gelang zwar, doch da diese Verbindungen nicht mehr den nächsten Reaktionsschritt, die gewünschte Zykoadditionsreaktion mit den Benzochinonen, eingingen, musste in der Folge wieder auf *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine zurückgegriffen werden.³⁰⁰ Die Temperatur während der Reaktion und Aufreinigung stellte letztlich den entscheidendsten Faktor für das Ausmaß und die Geschwindigkeit der Oxidation dar. Die erhöhte Reaktionstemperatur durch die neue Methode der Kühlung bewirkte eine erhöhte Oxidationsneigung der 1,4-Dihydropyridine, was sich negativ auf die Gesamtausbeute auswirkte (siehe Abschnitt 3.1.3.4). In den Sommermonaten waren diese Prozesse in den zum Großteil unklimatisierten Laboren deutlich verstärkt. Teilweise konnte keine säulenchromatographische Aufreinigung der Rohprodukte in diesen Zeiträumen durchgeführt werden, da während diesem mehrere Stunden in Anspruch nehmenden Prozess trotz versuchter Kühlung ein Großteil des Produkts oxidierte. Daher wurde teilweise das unaufgereinigte Rohprodukt für die Verwendung im nächsten Reaktionsschritt herangezogen. Dies verringerte die Ausbeute dieses Schrittes durch geringeren Umsatz und Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung deutlich. Da die die Substitution betreffenden Faktoren sich als nicht bis schlecht modifizierbar erwiesen hatten, wurde vor allem die Temperatur kontrolliert. So wurde, wie unter 3.1.3.2 beschrieben, die Länge einiger Wartezeiten bei erhöhter Reaktionstemperatur angepasst und das isolierte Reaktionsprodukt unter Argon Atmosphäre bei -18 Grad Celsius gelagert. Unter diesen Bedingungen erwiesen sich die Derivate als stabil für mehrere Monate.

Durch die Reaktion von Phenylmagnesiumchlorid mit überschüssigem bzw. nicht umgesetzttem Acetylchlorid entstand nach nukleophilem Angriff des GRIGNARD-Reagenz am Carbonyl-Kohlenstoff Acetophenon. Seine Synthese stand in Abhängigkeit zur Anzahl der zugeetzten Äquivalente an Acetylchlorid sowie der Menge und Zutropfgeschwindigkeit an GRIGNARD-Reagenz mit einer Ausbeute von zwei bis elf Prozent. Durch eine Reduzierung der Acetylchlorid

Äquivalente von anfangs 1,3 auf 1,1 konnte die Menge an entstehendem Acetophenon minimiert werden, bei gleichzeitiger Beibehaltung einer möglichst vollständigen *N*-Acetylierung der eingesetzten Pyridine. Mit bis zu 40 Prozent Ausbeute das am häufigsten auftretende Nebenprodukt stellt aber das Biphenyl dar. Seine Entstehung ist wahrscheinlich als Begleitprodukt des Cuprat-katalysierten Reaktionszyklus sowie des Überschusses an zugegebenem Phenylmagnesiumchlorid zu verstehen. Bei einer geringeren Reaktionstemperatur entstand das Nebenprodukt in geringerem Umfang und eine Reduzierung der zugegebenen Äquivalente Phenylmagnesiumchlorid auf 1,2 konnte ebenfalls zu einer Minimierung des Entstehens von Biphenyl beitragen. Es bestehen verschiedene Möglichkeiten, über die die entstehenden Aryl-Cuprate zum Biphenyl reagieren könnten. Die Anfälligkeit dieser Metallorganyle gegenüber Sauerstoff wird vielfach beschrieben.^{335–337} Diese temperaturabhängig ablaufende Oxidation von Organocupraten kann zur Zersetzung derselben führen, was zur Bildung von Kupfer(II)-Salzen und Biphenyl führt.^{336,337} Wenn im hier durchgeführten Reaktionsprozess auch durch die Verwendung von Schutzgas der Sauerstoffeintrag minimiert werden soll, ist dieser Prozess trotzdem nicht vollständig auszuschließen. Bereits seit 1919 ist bekannt, dass Kupfer(II)-Verbindungen durch ihre eigene Reduktion zu Kupfer(I)-Salzen wiederum die oxidative Kopplung von zwei Molekülen Phenylmagnesiumchlorid zu Biphenyl bedingen.³³⁸ Eine weitere Hypothese stellt die Reaktion mit Kupfer-Ionen unter Reduktion derselben an. Dies ist bisher nur für Kupfer(II)-Verbindungen beschrieben, die aber auch *in situ* entstehen können, durch die soeben beschriebene Oxidationsanfälligkeit.³³⁹ Bei diesem Reaktionsschema wird dem Ansatz zusätzlich noch ein Oxidationsmittel zugesetzt, wie zum Beispiel verschiedene Benzochinon-Derivate. Dies ermöglicht eine Regeneration des Kupfer(II)-Salzes und damit eine vollständige Umsetzung bei nur geringen stöchiometrischen Anteilen an Metallsalz.^{340,341} Die beiden letztgenannten Theorien würden sich wie in Abbildung 20 Schritt (1) und (2) dargestellt ergänzen.

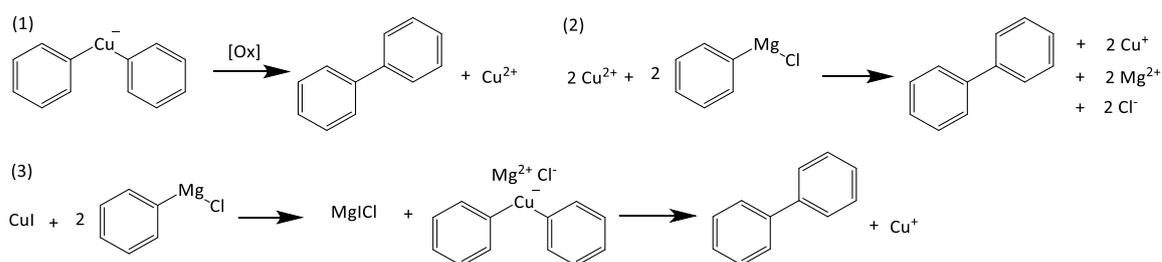


Abbildung 20: Postulierte Reaktionswege für die Bildung von Biphenyl. (1) Theoretische Oxidation des Cuprats durch den Eintrag von Luftsauerstoff. (2) Oxidative Kopplung der GRIGNARD-Verbindungen unter Reduktion der Kupfer(II)-Ionen. (3) Katalysierte Kopplung des Phenylmagnesiumchlorids mit angenommener Cuprat-Zwischenstufe.

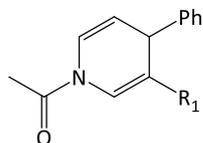
Dem entgegen steht eine von Li *et al.* beschriebene Reaktion. Sie untersuchten, welche Verbindungen als Katalysatoren für die Kopplung von Phenylmagnesiumchlorid zum entsprechenden Biaryl dienen könnten. Sie stellten fest, dass Kupferiodid diese Funktion erfüllen kann ohne Zusatz eines Oxidationsmittels.³⁴² Der Mechanismus ist hier also höchstwahrscheinlich ein anderer als bei der oben beschriebenen oxidativen Kopplung. Es wird vereinzelt ein radikalischer Mechanismus postuliert, wie er auch für ähnliche nickelkatalysierte Reaktionen vermutet

wird.^{343,344} Experimentell konnte dies bisher jedoch nicht belegt werden.³⁴⁴ Die teilweise hohe Ausbeute an Biphenyl sowie die konsequente Verwendung von Schutzgas deuten mehr auf die zuletzt dargelegte Katalysator-Theorie hin, auch wenn ihr Mechanismus noch nicht vollends geklärt ist.

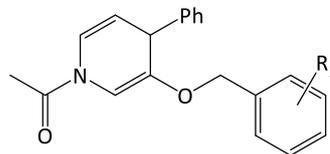
3.1.3.4 Ausbeuten der Reaktion

Die Reaktion wies eine hohe Diversität bei den beobachteten Ausbeuten auf. Diese lagen zwischen 40,6 und 87,6 Prozent. Eine erhöhte Reaktionstemperatur führte in der Regel zu einer Ausbeutenverringerng um 5 bis 10 Prozent. Die 3-Halogenderivate stellten hierbei eine Ausnahme dar. Sie wiesen trotz der ausschließlichen Durchführung der Reaktion bei -20 Grad Celsius die höchsten Ausbeuten mit durchgehend über 75 Prozent auf. Die Ausbeute nimmt hierbei mit der Ordnungszahl und damit auch mit der Elektronegativität des entsprechenden Halogens ab (Cl > Br > I). Die Halogenderivate zeigten eine im Vergleich zu den anderen 1,4-Dihydropyridinen deutlich geringere Oxidationsneigung. So fiel bei ihrer Synthese kaum das korrespondierende 4-Phenyl-3-Halogenpyridin an. Einen Anteil am hohen Umsatz könnte hier der -I-Effekt und +M-Effekt der Halogene haben, der das Pyridinium-Kation und auch das 1,4-Dihydropyridin zusätzlich stabilisiert, sowie der geringe sterische Anspruch, der eine Bindung des Phenyl-Rings an Position 4 nur wenig behindert.

Tabelle 3: Ausbeuten der Synthesen der 4-Phenyl-*N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine. n.d. = nicht durchgeführt, * = angegebene Ausbeute bezieht sich auf die mit 3-Acetoxy-pyridin als Edukt durchgeführte Synthese.



Verbindung 14-18, 26-29



Verbindung 19-25

Verbindung	14	15	16	17	18	27	28	29
Rest R	OCH ₂ CH ₃	OCH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH (CH ₃) ₂	O(C=O) CH ₃	O(CH ₂) ₂ O (C=O)CH ₃	Cl	Br	I
Ausbeute -20 °C [%]	62,1	58,3	51,1	47,9*	48,0	87,6	80,2	75,0
Verbindung	19	20	21	22	23	24	25	26
Rest R	H	2-Cl	3-Cl	4-Cl	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	OSO ₂ C ₆ H ₄ CH ₃
Ausbeute -40 °C [%]	49,9	53,4	51,6	55,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ausbeute -20 °C [%]	40,6	44,9	44,7	47,3	41,3	42,4	46,5	47,4

Bei den 3-Alkoxy-Derivaten ließ sich deutlich erkennen, dass der sterische Anspruch des Restes in Position 3 einen Einfluss auf den Ablauf der Reaktion hat. Die Ausbeute des raumfordernden Isopropoxy-Restes war um über sieben Prozent geringer als die des n-Propoxy-Derivats. Diese Verringerung ließ sich fast ausschließlich auf eine Abnahme der Regioselektivität der Additions-

reaktion des Phenyl-Restes bei höherem sterischem Anspruch des Restes in Position 3 zurückführen. Das zeigte das vermehrte Entstehen des entsprechenden 6-Phenyl-*N*-acetyl-1,6-dihydropyridins beim 3-Isopropoxy-Derivat (siehe Abschnitt 3.1.3.3). Der sterische Einfluss schien also in diesen Fällen vergleichsweise geringen Einfluss auf die Reaktivität des Pyridins zu haben und stattdessen vor allem die Regioselektivität des nukleophilen Angriffs zu beeinflussen.

Die geringsten Ausbeuten mit bei -20 Grad Celsius Reaktionstemperatur durchgehend unter 50 Prozent zeigten die 3-Benzoyloxyderivate. Als limitierender Faktor für die Ausbeute dieser Verbindungen erwies sich in erster Linie, wie auch bei den 3-Alkoxy-Verbindungen, die Oxidation der Produkte und nicht die Reaktivität der Edukte. Dies ließ sich einerseits daran erkennen, dass die Summe der Ausbeuten der Dihydropyridine und des Oxidationsprodukts, den 3,4-disubstituierten Pyridinen, bei beiden Reaktionstemperaturen weitgehend identisch war. Andererseits zeigten sie mit einer Summe von circa 80 Prozent ohne Berücksichtigung der ebenfalls noch entstehenden 6-Phenyl-*N*-acetyl-1,6-dihydropyridine einen ähnlichen Umsatz wie die 3-Halogenderivate. Eine bessere Stabilisierung der Reaktionsprodukte bzw. ein wirksamer Oxidationsschutz, wäre die beste Maßnahme die entsprechenden Ausbeuten zu erhöhen. Zu vermuten wäre, dass die besondere Instabilität der 3-Benzoyloxy-Derivate im Vergleich zu den 3-Halogen- oder den von VOIGT synthetisierten 3-Carboxylverbindungen vom größeren das π -Elektronensystem erweiternden +M-Effekten herrührt.³⁰¹ Diese These wird durch die höhere thermische Stabilität gebräuchlicher Dihydropyridin-Calciumkanalblocker gestützt, die mit Carboxyestern in Position 3 und 5 über zwei Substituenten mit starkem -M-Effekt verfügen.³⁴⁵ Außerdem schien auch der sterische Anspruch des Restes in Position 3 Einfluss auf die Stabilität des Dihydropyridins zu haben. So korrelierten große raumfordernde Reste weitestgehend mit größerer Oxidationsanfälligkeit. Der Mangel an +M-Effekt und der höhere sterische Anspruch der Methoxybenzyloxy-Derivate könnte eventuell verantwortlich für deren schlechte Ausbeuten sein. Die sich abzeichnende Tendenz, dass *para*-substituierte 3-Benzoyloxy-Verbindungen höhere Gesamtausbeuten zeigten könnte mit deren höherer Kristallisationsneigung zusammenhängen. Diese erleichterte einerseits deren Isolierung und andererseits erwiesen sich die Kristalle der Verbindungen als wesentlich oxidationsstabiler als die flüssigen oder amorphen Produkte.

3.1.3.5 Betrachtungen und Theorien zum Reaktionsverlauf

Der Mechanismus dieser Additionsreaktion ist bisher nicht ausreichend untersucht worden, um verbindliche Aussagen über diesen treffen zu können. Anhand der besser untersuchten Addition von GILMANN-Organylcupraten an α,β -ungesättigten Carbonyl-Derivaten, die ebenfalls Selektivität für die Position 4 aufweist, postulierte SCHADE jedoch einen denkbaren Reaktionsmechanismus, in dessen Zentrum die Bildung und Regeneration des Diphenylcuprats stand.³³⁴ Verschiedene genauere mechanistische Untersuchungen erlauben die Formulierung zweier hypothetischer Übergangszustände zwischen der Bildung des Cuprats und der Addition des Phenyls in Position 4 in diesem Schema.³⁴⁶⁻³⁴⁹

Zunächst sei die Bildung eines π -Komplexes zwischen Cuprat und der π -Elektronenwolke der delokalisierten Doppelbindungen des Ringsystems des Pyridinium-Kations genannt. Diese wird zusätzlich stabilisiert durch die Wechselwirkungen des als Lewis-Säure zu betrachtenden Magnesium-Ions mit den freien Elektronenpaaren des Stickstoffs und des Carbonyl-Sauerstoffs.³⁴⁶ Von BARTHOLOMEW *et al* und GÄRTNER *et al*. gewonnene Erkenntnisse lassen die Existenz eines zweiten extrem instabilen und kurzlebigen Intermediats vermuten, bei dem das Kupfer-Ion kurzzeitig die theoretische Oxidationszahl +III annimmt.^{348,349} Dieser Kupfer(III)-Komplex reagiert durch Umlagerung zum entsprechenden 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridin.³⁴⁹ Unter Anlagerung eines weiteren Moleküls Phenylmagnesiumchlorid an das so freiwerdende Phenylcuprat entsteht erneut das NORMANT-Cuprat und der Zyklus befindet sich wieder am Ausgangspunkt.³⁴⁷

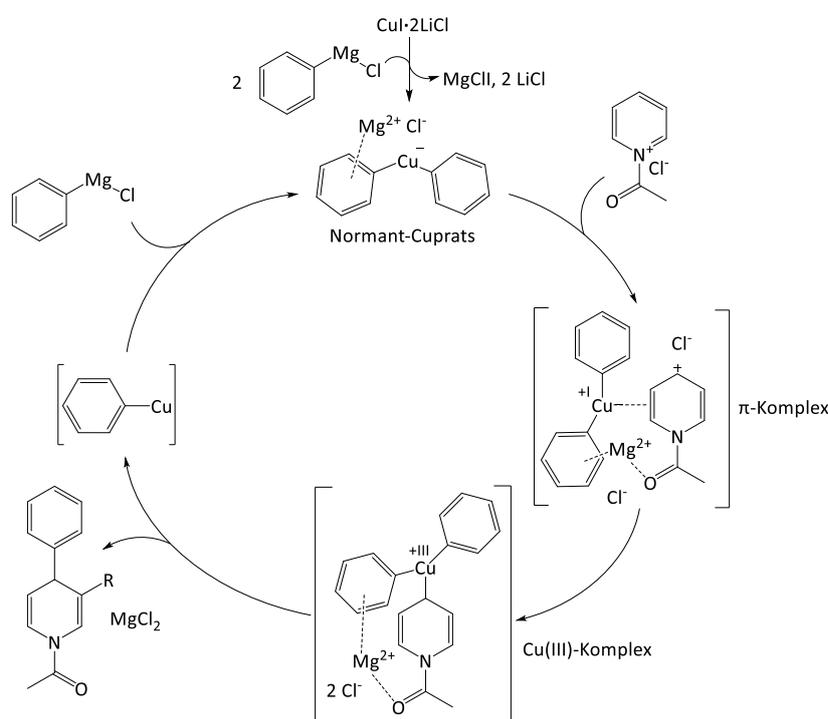


Abbildung 21: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Synthese der 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridine. Anfang des Zyklus steht die Bildung des NORMANT-Cuprats, das über die Intermediate eines π -Komplexes und des Kupfer(III)-Komplexes zur Bildung der Dihydropyridine führt. Das NORMANT-Cuprat wird durch Reaktion des Phenylcuprats mit Phenylmagnesiumchlorid regeneriert (Inspiriert von SCHADE und WELKER *et al.*^{334,347})

3.1.3.6 Strukturelle Charakterisierung der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine

Die 4-Phenyl-*N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine zeigen einige strukturelle Auffälligkeiten, die bei ihrer Analyse eine besondere Rolle spielen. So sei erwähnt, dass es sich bei den Produkten der Reaktion auf Grund der nicht stereoselektiv ablaufenden Addition um ein Razemat handelt. Auf eine nähere Charakterisierung der *R*- und *S*-Enantiomere wurde jedoch verzichtet. Grund dafür ist die im folgenden Schritt auftretende Rearomatisierung des Ringsystems, die die Auflösung dieses Stereozentrums bedingt, so dass die Trennung oder sonstige Analyse der Stereoisomere keinen Vorteil bietet. Von größerer analytischer Relevanz ist, dass die *N*-Acetyl-Gruppe als Carbamid einen partialen Doppelbindungscharakter aufweist. Dies schränkt die freie Drehbarkeit

dieser C-N-Bindung ein, was zur Ausbildung zweier energetisch begünstigter Rotationsisomere führt. *In silico*-Untersuchungen von Frau DR. DINA ROOBA lassen eine planare Struktur des Ringsystems und der Acetyl-Gruppe vermuten, bei der sich eine *cis*- und eine *trans*-Form unterscheiden lassen.³³⁴ Aus den Stereoisomeren und diesen beiden Rotationsisomeren resultieren insgesamt vier mögliche Isoformen pro Verbindung. Diese sind beispielhaft für Verbindung **27** in Abbildung 22 dargestellt.

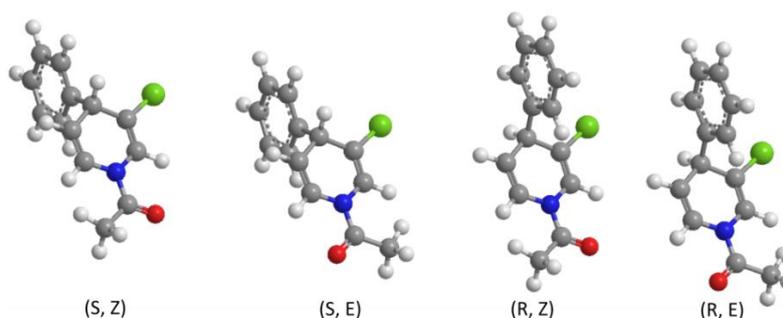


Abbildung 22: Darstellung der möglichen Isoformen von Verbindung **27**. Unter den jeweiligen Isoformen ist die Nomenklatur für die Konfiguration von C-4 sowie die Stellung der Acetyl-Gruppe angegeben.

Die unterschiedlichen Ausrichtungen der Acetyl-Gruppe haben Einfluss auf die in der NMR-Spektroskopie vorgenommenen Messungen. Die Carbonyl-Gruppe des Amids bildet hierbei im angelegten äußeren Magnetfeld B_0 auf Grund der Zirkulation von π -Elektronen ein diesem entgegen gerichtetes Magnetfeld aus. Dieser magnetische Anisotropieeffekt kann durch einen

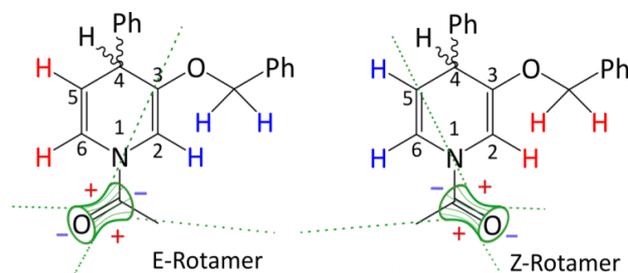


Abbildung 23: Darstellung des bei der NMR Spektroskopie gebildeten Anisotropiekegels entlang der Carbonylgruppe von Verbindung **19**. Das Minus und die blaue Farbe stellen entschirmende Effekte dar. Das Plus und die rote Farbe stellen abschirmende Effekte dar. Grün ist der Anisotropiekegel dargestellt. Mit gestrichelten Linien wird die räumliche Erweiterung von diesem gekennzeichnet, innerhalb dessen H-Atome von der abschirmenden Wirkung betroffen sind.

entlang der C-O-Doppelbindung ausgerichteten Doppelkegel beschrieben werden (siehe Abbildung 23). Dies bewirkt, dass Protonen je nach ihrer Position in Bezug zu diesem Anisotropiekegel eine verstärkte oder eine verringerte Abschirmung erfahren. Systematisch betrachtet werden Wasserstoffatome, die sich innerhalb der gedachten Erweiterung der Doppelkegelstruktur befinden, gegenüber dem äußeren Magnetfeld

verstärkt entschirmt (siehe Abbildung 23). Dies bewirkt eine Verschiebung ihrer korrespondierenden Signale im ^1H -NMR-Spektrum in Richtung Tieffeld. Wasserstoffatome, die sich hingegen außerhalb des räumlich erweiterten Anisotropiekegels befinden, erfahren eine verstärkte Abschirmung gegenüber dem angelegten Magnetfeld B_0 (siehe Abbildung 23). Daher sind ihre Signale weiter in Richtung Hochfeld verschoben. Letztlich hat dies eine Aufspaltung der Signale der von diesem Anisotropieeffekt betroffenen Wasserstoffkerne im ^1H -NMR-Spektrum zur Folge. In Abbildung 24 ist dies exemplarisch für Verbindung **19** dargestellt. Hier lässt sich ebenfalls erkennen, dass die Signalaufspaltung nicht im Verhältnis eins zu eins stattfindet. Bei diesem NMR-Spektrum, ebenso wie bei allen weiteren Spektren von Derivaten, die eine

Ergebnisse und Diskussion

3-Alkoxy- oder eine 3-Benzoyloxy-Gruppe aufweisen, zeigt sich eine höhere Stärke für die das E-Rotamer repräsentierenden Signale. Das beobachtete Verhältnis zwischen E- und Z-Rotamer betrug in diesen Fällen für das jeweilige Spektrum einheitliche Werte zwischen 2,24 zu eins und 3,5 zu eins (siehe Tabelle 4).

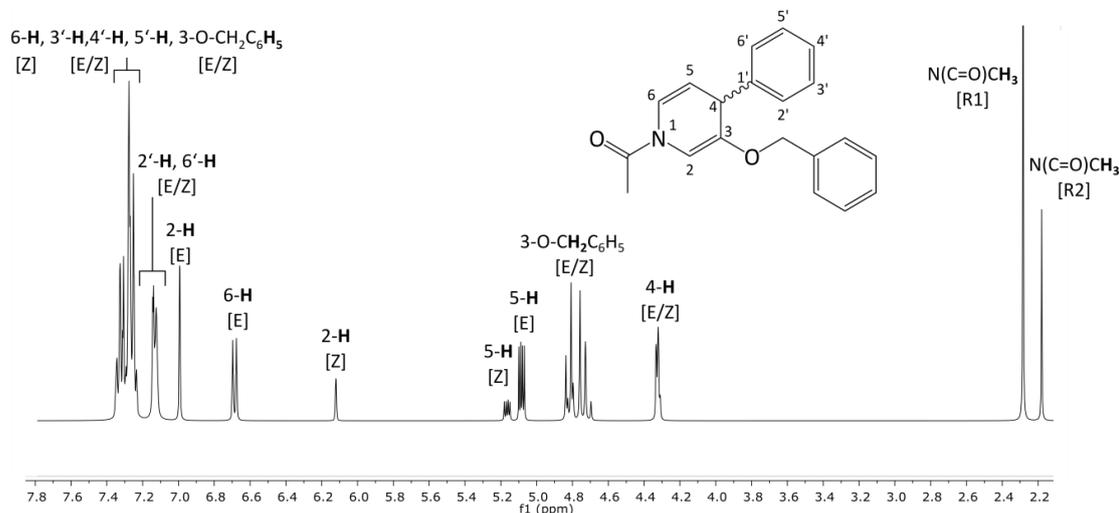


Abbildung 24: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **19** in deuteriertem Chloroform bei 400 Megahertz. Erkennbar sind die aufgespaltenen Signale von 2-H, 5-H, und $\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_3$. Das Signal des Z-Rotamers von 6-H ist nicht einzeln zu erkennen, da es von den Signalen der Phenylringe überlagert wird. Die Lösungsmittelsignale wurden zur Verbesserung der Übersichtlichkeit entfernt.

Dieser Effekt konnte sowohl in apolaren Lösungsmitteln wie deuteriertem Chloroform sowie in polaren deuteriertem Lösungsmitteln wie *d*6-Dimethylsulfoxid oder *d*6-Aceton beobachtet werden. Für die 3-Halogen-Derivate war ein solcher ungleicher Aufspaltungseffekt fast nicht zu beobachten. In Tabelle 4 werden die durchschnittlichen Verhältnisse der aufgespaltenen Signale der ringständigen Protonen 2-H und 4-H miteinander verglichen. Die Signale des 6-H wurden hierbei außen vorgelassen, da wie in Abbildung 24 erkennbar, das Signal des Z-Rotamers dieses Wasserstoffatoms in den meisten Fällen von denen des 4-Phenylrings überlagert werden.

Tabelle 4: Auflistung der Verhältnisse der Integrale der E- und Z-Rotamere von 2-H und 4-H der synthetisierten 4-Phenyl-*N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine. k.A. = keine erkennbare Aufspaltung des NCOCH_3 -Signale

Verbindung	14	15	16	17	18	19	20	21
Verhältnis der Integrale von E- und Z-Rotamer	2,49	2,79	2,38	1,64	2,24	3,24	3,5	2,72
Verhältnis der Integrale der zwei NCOCH_3 -Signale	2,56	3,0	2,45	1,21	2,12	3,25	3,1	2,49
Lösungsmittel	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	CDCl_3	DMSO	DMSO
Verbindung	22	23	24	25	26	27	28	29
Verhältnis der Integrale von E- und Z-Rotamer	2,64	3,23	2,58	3,03	2,09	1,16	1,19	1,27
Verhältnis der Integrale der zwei NCOCH_3 -Signale	k.A.	3,19	k. A.	2,54	1,84	1,32	1,21	1,08
Lösungsmittel (deutert)	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO

Erkennbar scheint bei diesen Verhältnissen zu sein, dass 3-Benzoyloxy-Derivate und längere, unverzweigte 3-Alkoxy-Derivate die höchsten Werte für das Verhältnis der Integrale von E- und – Rotamer aufweisen. Dies könnte daraufhin deuten, dass diese lipophilen Gruppen eher in der Lage sind, hydrophobe Wechselwirkungen mit den Methyl-Wasserstoffatomen der Acetyl-Gruppe einzugehen und damit die Ausbildung der E-Konformation energetisch zu begünstigen. Die höchste Begünstigung des E-Rotamers tritt demzufolge bei den *ortho*-substituierten 3-Benzoyloxy-Verbindung auf, die höchstwahrscheinlich ebenfalls mit diesen Wasserstoffatomen der Acetyl-Gruppe wechselwirken können. Diese Theorie wird gestützt von der Auswertung der Aufspaltungen bei den 3-Halogen-Derivaten, die auf Grund der räumlichen Entfernung nicht mit der Acetyl-Gruppe interagieren können. Die Aufspaltung der Signale der Methyl-Wasserstoffatome des Acetyls kann jedoch nicht durch eine E/Z-Rotationsisomerie erklärt werden. In beiden Fällen läge die Methyl-Gruppe im gleichen räumlichen Verhältnis zur Carbonyl-Gruppe vor und die freie Drehbarkeit der C-C-Einfachbindung würde die Unterschiede, die durch Eintritt der Wasserstoffatome in den Anisotropiekegel entstehen würden, egalisieren. Für eine Aufspaltung der Signale müsste also die freie Drehbarkeit der Einfachbindung eingeschränkt sein. Eine mögliche, wenn auch unwahrscheinliche Erklärung könnten die oben beschriebenen hydrophoben Wechselwirkungen mit dieser bieten. In diesem Fall müsste die Aufspaltung der Methylwasserstoff-Signale mit der Aufspaltung der Dihydropyridin-Ring-Wasserstoffatom-Signale korrelieren. Wie in Tabelle 4 ersichtlich wird, lässt sich dies auch in fast allen Fällen beobachten. Die aufgespaltenen Signale der Wasserstoffatome der Acetyl-Gruppe werden daher in dieser Dissertation mit R1 und R2 betitelt, um sie als hypothetisch angenommene Rotationsisomere zu kennzeichnen.

3.1.4 Synthese und Analyse der Azoxafluorene

Die Darstellung von 1-Aza-9-oxafluorenen und 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorenen fußt, wie bereits in Abschnitt 2 ausgeführt, auf der ursprünglich von HILGEROTH *et al.* beobachteten Cycloaddition von *p*-Benzochinonen mit 3,5-disubstituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen. VOIGT gelang hier durch den Einsatz von unsymmetrisch substituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen und einem Überschuss des jeweiligen *p*-Chinons die Entwicklung eines Eintopfverfahrens, das die gewünschten Azoxafluorene lieferte.

3.1.4.1 Grundlagen der Reaktion und postulierter Reaktionsmechanismus

Der exakte Mechanismus für diesen Schritt der Synthese ist bisher unzureichend erforscht. Unstrittig ist, dass die Reaktion sich insgesamt aus zwei Teilprozessen zusammensetzt. Am Anfang der Reaktion steht eine [3+2]-Cycloaddition der Chinonkomponente am jeweiligen *N*-Acetyl-1,4-Dihydropyridin. Diese führt zur Bildung der bereits von HILGEROTH *et al.* identifizierten 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluorene bzw. 6b,7,10,10a-Tetrahydro-10-aza-11-oxabenz[o]fluorenen, welche im Folgeschritt eine Aromatisierung durch Oxidation

erfahren und so die entsprechenden 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivate liefern. Die Cycloaddition stellt hierbei die *Black Box* des Reaktionsmechanismus dar.

Bisherige Erkenntnisse und der Vergleich mit ähnlichen Reaktionen lassen jedoch einige gut begründete Vermutungen zu. Aufschlussreich sind die Versuche von ENGLER *et al.* zur Synthese von Pterocarpanen durch die Reaktion von 2*H*-Chromenen mit 2-Alkoxy-1,4-benzochinonen.³⁵⁰

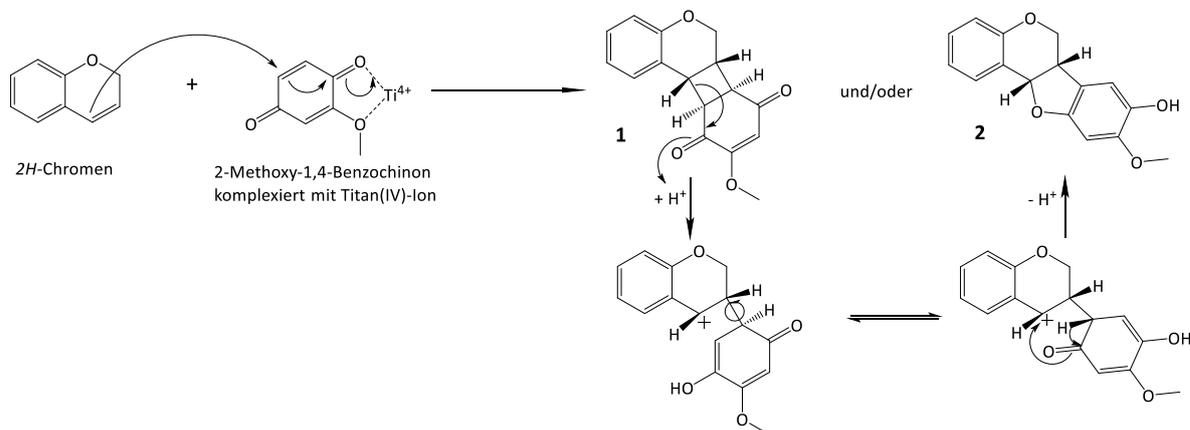


Abbildung 25: Pterocarpan-Synthese nach ENGLER *et al.* am Beispiel der Reaktion von 2*H*-Chromen mit 2-Methoxy-1,4-benzochinon. Produkt **1** entsteht nahezu ausschließlich bei sehr niedrigen Reaktionstemperaturen (-73 Grad Celsius) und hoher Äquivalentenzahl des Titan-Katalysators ($n > 2$). Bei höherer Reaktionstemperatur und niedrigerer Anzahl an Katalysator-Äquivalenten wird fast nur das Pterocarpan **2** gebildet. Im sauren Milieu bei RT zersetzt sich **1** in kurzer Zeit zu **2**.³⁵⁰

Diese Titan(IV)-katalysierte Reaktion führt je nach Reaktionstemperatur zur [2+2]- oder [3+2]-Cycloaddition. In saurem Milieu wird zusätzlich eine Zersetzung der durch [2+2]-Cycloaddition gebildeten Cyclobutan-Derivaten zu den entsprechenden Pterocarpanen beobachtet. Grundlage für die Reaktion bildet eine postulierte, verstärkte positive Partialladung an Position 5 des 2-Alkoxy-1,4-Benzochinons durch Koordinierung der 1-Sauerstoffs und des 2-Alkoxy-Sauerstoffs mit dem Titan(IV)-Ion. Sie erleichtert den Angriff des Elektronenpaares des 2*H*-Chromens an dieser und leitet so die Cycloaddition ein.^{350,351} Diese erfolgt wie bei der Bildung von Tetrahydroazoxafluorenen nach HILGEROTH suprafacial.^{306,350}

Andere Schlüsse lässt die mit unseren Reaktionen näher assoziierte Scandium(III)-katalysierte [3+2]-Cycloaddition nach FUKUZUMI *et al.* zu. Die Reaktion weist hier einen Elektronentransfer vom 1-Benzyl-4-*tert*-butyl-1,4-dihydronicotinamid zum 1,4-Benzochinon als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt auf. Das so gebildete Radikalanion des Benzochinons wird durch Komplexierung mit Scandium im Verhältnis zwei zu eins stabilisiert und die radikalische Addition der Ringsysteme aneinander erleichtert. Über weitere Umlagerungen bildet sich dann ein entsprechendes 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren-Derivat. Die Verwendung von schwächeren Lewis-Säuren als Katalysatoren führte zu einer deutlichen Begünstigung des Hydridtransfers (Weg **2** und **3**) an Stelle der Cycloaddition.³⁵² Inwieweit sich dieser Mechanismus auf die säurekatalysierte Synthese der in dieser Arbeit hergestellten Derivate übertragen lässt, ist strittig. Da die Komplexbildung durch Säurekomponenten wahrscheinlich nicht gewährleistet

werden kann, ist eine ausreichende Stabilisierung von Radikalanionen fraglich. Klarheit könnten entstehende Nebenprodukte bringen. Sollten Produkte von Weg 2 isoliert werden können, was

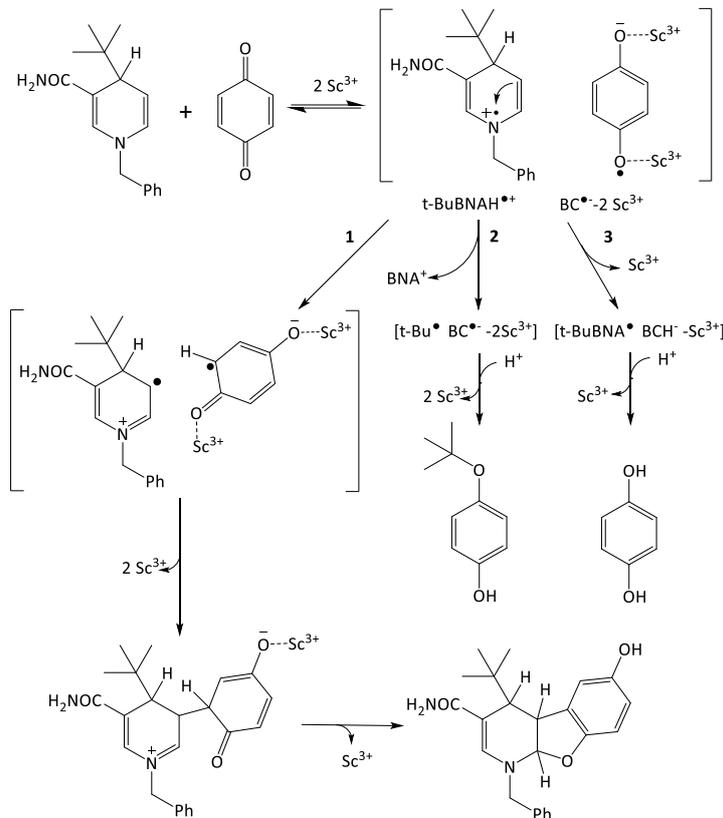


Abbildung 26: Scandium(III)-katalysierte 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren-Synthese nach Fukuzumi et al. Nach einem einfachen Elektronentransfer bildet Weg 1 über radikalische >Zusammenlagerung und anschließenden Nukleophilen Angriff die gewünschte Zielverbindung (umrahmt). Weg 2 stellt nach Abspaltung des 1-Benzylpyridinium-3-carboxamid (BNA^{•+}) 4-tert-Butoxyphenol dar. Weg 3 bildet den zweiten Hydridtransfer-Weg, bei dem ein Wasserstoff auf das BC übertragen wird und auf diese Weise Hydrochinon entsteht.³⁴⁸

im Falle der 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridine 4-Phenoxyphenol wäre, würde das ein starkes Indiz für einen vergleichbaren radikalischen Mechanismus darstellen. Da dies aber bisher nicht gelungen ist, wird weiterhin ein Reaktionsmechanismus ohne vorherigen Protonentransfer angenommen (in Abbildung 27 dargestellt). Im Zentrum der Reaktion steht der nukleophile Angriff eines Elektronenpaares des *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridins am höchstwahrscheinlich protoniert vorliegenden Chinon. Diese Protonierung bedingt eine in den Grenzstrukturen erkennbare positive Ladungsdichte in Position 1 und 3. Das Dihydropyridin weist durch die Enamin-Imin-Tautomerie eine

formulierbare Grenzstruktur mit einem freien Elektronenpaar an Position 5 auf. Nukleophil greift dieses die Position 3 des Chinons nach Art eines MICHAEL-Donators an. Das so entstehende addierte Chinon lagert sich unter Transfer eines Protons zum aromatischen Hydrochinon um und greift über den nicht protonierten Sauerstoff den Tetrahydropyridin-Ring an Position 6 an. Das so entstehende trizyklische System ist zwar sehr instabil, konnte von VOIGT jedoch teilweise als Zwischenprodukt gewonnen werden.³⁰⁰

Durch den Überschuss an 1,4-Benzochinon und das starke Oxidationsmittel Perchlorsäure oxidiert das entstandene 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren unter Abspaltung der Acetyl-Gruppe und Aromatisierung des gesamten Trizyklus zu den korrespondierenden 1-Aza-9-oxafluorenen. Durch vorzeitige Oxidation der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridin-Derivate entsteht das jeweilige 4-Phenylpyridin als eigentliches Hauptprodukt der Reaktion mit Ausbeuten um die 50 Prozent. Auf eine Charakterisierung dieser Oxidationsprodukte wurde in den meisten Fällen verzichtet, da sie bereits in vorherigen Dissertationen detailliert analysiert worden sind.^{300,301} SCHADE gelang es mit den 5-(2,5-Dihydroxyphenyl)-4-phenylpyridinen, ein weiteres

Nebenprodukt zu identifizieren.³³⁴ Dessen Entstehung lässt sich theoretisch durch eine Wiederherstellung des Dihydropyridincharakters im Übergangszustand vor dem Angriff des Benzochinon-Sauerstoffs in Position 6 erklären bzw. über das Arbeiten im sauren Medium.

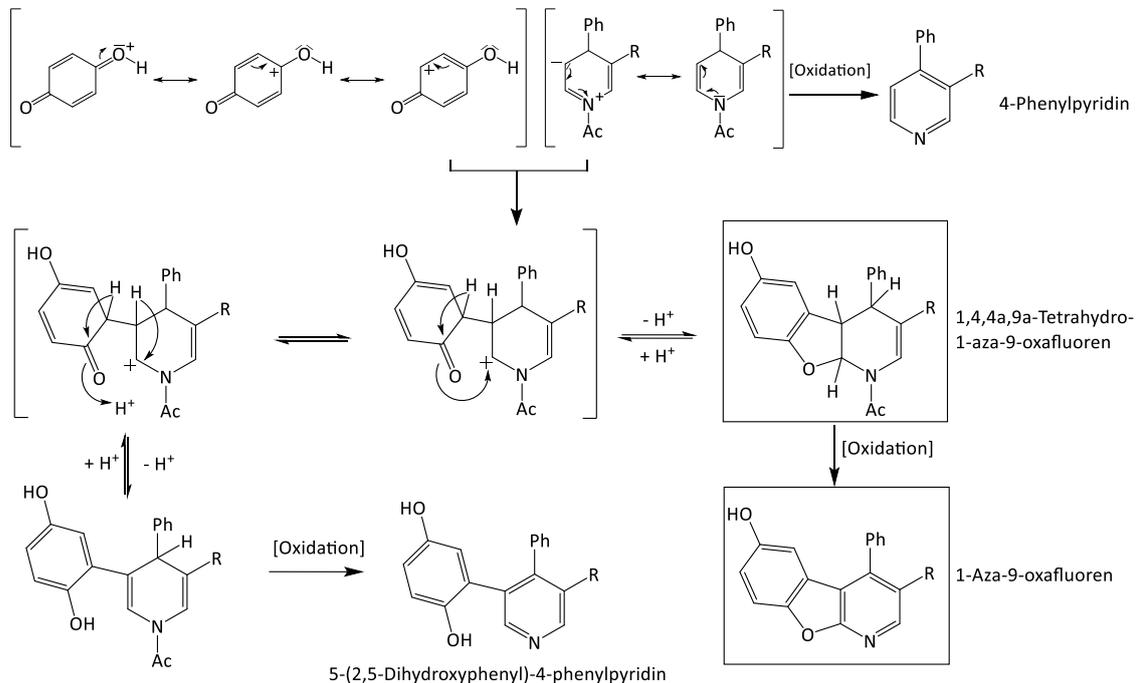


Abbildung 27: Darstellung des vermuteten Mechanismus für die Reaktion eines 3-substituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen mit einem *p*-Chinon (hier beispielhaft *p*-Benzochinon verwendet)

Weitere Nebenprodukte der Reaktion bilden Polymerisationsprodukte der Chinone wie z. B. Dibenzo[*d,d'*]benzo[1,2-*b*;4,5-*b'*]difuran-2,8-diol, bei Verwendung von *p*-Benzochinon.³⁰⁰ Diese Nebenprodukte sind jedoch insbesondere bei der Polymerisation von *p*-Naphthochinon auf Grund ihrer Vielzahl sowie ihrer ähnlichen chemischen Eigenschaften sehr schwer zu isolieren und identifizieren. Demzufolge wurde lediglich ihr relativer Anteil am isolierten Rohprodukt bei der säulenchromatographischen Auftrennung desselben registriert und auf eine exakte Analyse verzichtet.

3.1.4.2 Anfängliche experimentelle Durchführung

Zu Beginn dieses Verfahrens wurde in einem zuvor ausgeglühten Zweihalskolben ein Äquivalent des jeweiligen *N*-Acetyl-1,4-Dihydropyridins und 1,2 Äquivalente des jeweiligen 1,4-Chinons in einem möglichst geringen Volumen von getrocknetem Dioxan gelöst. Um eine vorzeitige Oxidation des instabilen Dihydropyridins zu verhindern, wurde dieser Reaktionsschritt unter stetiger Einleitung von Argon in den Zweihalskolben durchgeführt. Dem Ansatz wurde dann über einen längeren Zeitraum von mindestens zwanzig Minuten ein Gemisch aus Perchlorsäure (70 volumenprozentige Lösung in Wasser) und Dioxan über einen Tropftrichter zugefügt. Die resultierende Konzentration an Perchlorsäure im Ansatz betrug dabei etwa fünf Volumenprozent. Hierbei wurde bereits nach kurzer Zeit eine Verfärbung des Ansatzes beobachtet. Bei der Verwendung von 1,4-Benzochinon nahm der Ansatz eine tiefrote Farbe an, während

1,4-Naphthochinon eine braunrote Färbung des Ansatzes bedingte. Diese Färbung erklärt sich höchstwahrscheinlich über die Bildung von *Charge-Transfer*-Komplexen des jeweiligen Benzochinons mit seinem korrespondierenden Hydrochinon, das im Reaktionsverlauf durch die Reduzierung des Chinons entsteht.^{353,354} Der Ansatz wurde bis zur dünnschichtchromatographisch erkennbaren vollständigen Umsetzung des Dihydropyridins bei RT mit einem Magnetrührer durchmischt. Dies dauerte bei den 3-Alkoxy- und 3-Benzoyloxy-Derivaten ein bis zwei Tage, während es bei den 3-Halogen-Derivaten bis zu zwei Wochen in Anspruch nahm. Die Instabilität des jeweiligen Chinons durch Reduktion und Polymerisation sorgte teilweise dafür, dass im Reaktionsverlauf weiteres Chinon ergänzt werden musste. Das war vor allem bei einem langen Reaktionsverlauf notwendig und wurde täglich dünnschichtchromatographisch mehrmals überprüft. Hierbei war von Vorteil, dass die 1-Aza-9-oxafluorene und 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene auf Grund ihrer planaren aromatisierten Ringsysteme eine hellblaue bis blaue Fluoreszenz unter UV-Licht der Wellenlänge 254 Nanometer und 365 Nanometer aufwiesen. Die Reaktion wurde letztlich durch Zugabe von destilliertem Wasser zum Ansatz abgebrochen und dieser mit Chloroform extrahiert. Nach dem Waschen mit *Brine* und dem Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das braune bis schwarze Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt. Die gewonnenen Produktfraktionen wurden oft als hellrote bis hellbraune Öle oder amorphe Feststoffe isoliert. Durch Umkristallisation aus Diethylether oder in Einzelfällen aus Ethylacetat oder Methanol wurde dann der jeweilige kristalline Feststoff gewonnen. Eine zufriedenstellende Reinheit konnte durch Waschen dieses Präzipitats mit Methanol gewährleistet werden. Die Ausbeute dieser Synthesen lag schlussendlich zwischen 1,4 und 17,2 Prozent.

3.1.4.3 Optimierungen der experimentellen Vorgehensweise

Da der hier beschriebene Reaktionsschritt den wesentlichen limitierenden Faktor für die Gesamtausbeute der Synthese der Azoxafluorene darstellt, wurde die Veränderung mehrerer Faktoren der Reaktion auf einen möglichen positiven Effekt hin untersucht. Im besonderen Fokus standen hierbei Reaktionstemperatur, Säurekomponente, Benzochinonabkömmlinge und Lösungsmittel.

Bei der Modifikation des Lösungsmittels zeigten polare, etherische Lösungsmittel wie THF, Diethylether, Diisopropylether und *tert*-Butylmethylether mit Dioxan vergleichbare Ausbeuten an Produkt und Nebenprodukten. Dioxan war diesen jedoch auf Grund geringerer Flüchtigkeit bei den teilweise langen Reaktionszeiten überlegen. Apolare Lösungsmittel wie Chloroform und Dichlormethan zeigten hingegen enttäuschende Ergebnisse, bei denen lediglich eine Bildung des 4-Phenylpyridins als Oxidationsprodukt beobachtet werden konnte. Eine mögliche Erklärung ist die geringere Löslichkeit der Säurekomponente in Letzteren.

Erste Untersuchungen von Veränderungen im Bereich der Säurekomponente ergaben, dass eine Verringerung der Säurekonzentration auf 2,5 Volumenprozent Perchlorsäure im Ansatz die

Reaktionsgeschwindigkeit sowohl der Oxidation des *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridins zum entsprechenden Pyridin als auch der Reaktion zum 1-Aza-9-oxafluoren bzw. 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren mehr als halbierten. Die Menge und Konzentration der Nebenprodukte durch die Polymerisation von Chinonen fiel wesentlich geringer aus. Jedoch war auch die Ausbeute der gewünschten 1-Aza-9-oxafluorene um gut 30 Prozent verringert. Perchlorsäurekonzentrationen bis acht Volumenprozent steigerten die Ausbeute an Produkt marginal bei gleichzeitiger vermehrter Bildung von Chinon-Polymerisationsprodukten. Erhöhungen der Konzentration an Perchlorsäure darüber hinaus bedingten eine große Zunahme des Entstehens von Polymerisationsprodukten und dem jeweiligen 4-Phenylpyridin. Bezogen auf das gewünschte Produkt ließ sich jedoch kaum noch eine Verbesserung der Ausbeute erkennen. Vor allem die Chinon-Polymerisationsprodukte erschwerten die säulenchromatographische Aufreinigung in diesen Fällen. Ein Wechsel der Säurekomponente erwies sich als vorteilhafter. Die Verwendung von konzentrierter Schwefelsäure in einer Konzentration von 3,75 Volumenprozent im Reaktionsansatz führte zu einer deutlichen Steigerung der Ausbeute an Produkt bei gleichzeitiger Verringerung an 4-Phenylpyridin und Polymerisationsprodukten. Die Steigerung an Produktausbeute war vor allem bei Synthesen zu beobachten, die bei der Verwendung von Perchlorsäure sehr geringe Ausbeuten aufwiesen, wie die Gruppe der 8-Alkoxy-10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivate (siehe Abschnitt 3.1.4.4). Der positive Effekt des Einsatzes hochkonzentrierter Schwefelsäure wurde zunächst mit der Minimierung des Wassereintrags begründet. Die Verwendung von rauchender Schwefelsäure zur weiteren Verringerung des Wasseranteils führte durch die starke oxidative Wirkung von Schwefeltrioxid selbst in geringeren Anteilen zur starken Begünstigung der Oxidation der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine. Die These des Wassereintrags überprüfend wurden mit frisch destillierter Essigsäure und Trifluoressigsäure zwei organische, wasserfreie Brönstedt-Säuren auf ihre Eignung als Säurekomponente hin untersucht. Weder bei der wasserfreien Essigsäure in einem Anteil von bis zu 20 Volumenprozent noch bei Trifluoressigsäure in Konzentrationen bis zu zehn Volumenprozent konnte ein Umsatz zu Azoxafluorenen beobachtet werden. Lediglich die Entstehung von 4-Phenylpyridin und Polymerisationsprodukten war zu beobachten.

Die Verwendung von Lewis-Säuren wurde mithilfe von Aluminiumchlorid erprobt, das eine mäßige Löslichkeit in Dioxan aufweist. Bei der maximalen löslichen Menge an wasserfreiem Aluminiumchlorid in 75 Milliliter Dioxan von 0,98 Gramm konnte bei einer molaren Konzentration von 36,1 Mikromol pro Liter kein Ringschluss zu Azoxafluorenen festgestellt werden. Die in 3.1.4.1 betrachteten Reaktionsmechanismen deuten aber darauf hin, dass andere Komponenten wie Scandium(III)trifluoromethansulfonat eventuell als Katalysatoren die Umsetzung zumindest zu Tetrahydroazoxafluorenen begünstigen könnten. Eine solche Übergangsmetallkatalyse wurde bisher jedoch nicht erprobt. Aus den durchgeführten Experimenten kann aber folgende Arbeitshypothese zur Säurekomponente aufgestellt werden. Der Ablauf der Reaktion wird durch den Zusatz einer möglichst wasserfreien starken Brönstedt-Säure begünstigt, die gleichzeitig ein starkes Oxidationsmittel darstellt. Für letzteres spricht der Vergleich der Ergebnisse des Zusatzes

von Trifluoressigsäure und Schwefelsäure. Eventuell hat die Säure zusätzlich zu dem Überschuss an *p*-Chinon entscheidenden Einfluss auf die Oxidation der Tetrahydroazoxafluorene.

Eine Kühlung des Reaktionsansatzes auf 0 Grad Celsius hatte zwar eine geringere Oxidation der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine zur Folge, senkte die Reaktionsgeschwindigkeit aber auch stark herab. So wurde für die vollständige Umsetzung von (E*Z*,R*S*)-1-Acetyl-3-(2-chlorbenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin mit *p*-Benzochinon statt 24 Stunden neun Tage benötigt. Im Weiteren wurde daher auf eine Kühlung der Ansätze verzichtet und die Reaktion weiter bei RT durchgeführt. Bei Labortemperaturen von über 30 Grad Celsius, wie sie im Sommer 2019 im damals noch unklimatisierten Labor auftraten, konnte jedoch eine deutliche Zunahme der Oxidation der Dihydropyridinkomponente beobachtet werden. Das reduzierte die Ausbeute an Azoxafluorenen. In diesen Fällen erwies sich eine Kühlung der Reaktionsansätze als vorteilhaft. Veränderungen der Äquivalentzahl an *p*-Chinon konnten nur innerhalb eines sehr engen Rahmens vorgenommen werden. Schon VOIGT hatte beobachtet, dass bei Zugabe von zwei oder mehr Äquivalenten von *p*-Benzochinon Dibenzo[*d,d'*]benzo[1,2-*b*;4,5-*b'*]difuran-2,8-diol als neues Hauptprodukt der Reaktion entstand.³⁰⁰ SCHADE und TELL hatten bisher ein Verhältnis von 1,2 bzw. 1,23 zu 1 von Chinon zu Dihydropyridin bei ihren Reaktionen verwendet.^{301,334} Gerade bei Reaktionen mit einer Reaktionszeit von circa 24 Stunden erwies sich eine etwas höhere Anzahl an Äquivalenten von *p*-Chinon als vorteilhaft für die Ausbeute. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit 1,3 Äquivalente Chinon in den Reaktionsansätzen verwendet.

3.1.4.4 Ausbeuten und Reaktionszeit

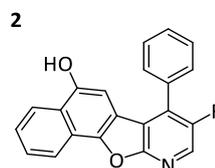
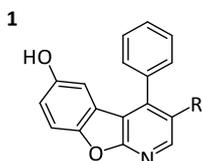
In Tabelle 5 sind Ausbeuten und Reaktionszeiten für die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten 1-Aza-9-oxafluoren- und 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivate dargestellt. Die größte Auffälligkeit in der Betrachtung dieser Daten ist die wesentlich höhere Ausbeute von Derivaten mit Halogen-Resten an Position 3 oder 8 im Vergleich zu den anderen Resten, die durch eine Oxy-Gruppe gekennzeichnet sind. Diese Ausbeutendifferenz lässt sich eventuell darüber erklären, dass von allen synthetisierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen die 3-Halogen-Derivate die höchste Oxidationsstabilität aufwiesen. Da die Oxidation dieser Dihydropyridine die eigentliche Hauptreaktion im Ansatz darstellte, ist zu vermuten, dass Einschränkungen dieser den größten Einfluss auf andere Reaktion wie die erwünschte Cycloaddition hatten.

Allgemein ließ sich auch beobachten, dass die Ausbeute bei Derivaten bei gleichen Substituenten an Position 3 bzw. 8 im geringen Ausbeutenbereich (< 10 Prozent) bei den benzoanellierten Azoxafluorenen etwas höher war. Dies ist experimentell vor allem durch den erleichterten Kristallisationsprozess zu erklären. 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene ließen sich in der Regel leichter aus- bzw. umkristallisieren und wiesen daher bei geringen Ausbeuten Vorteile gegenüber den 1-Aza-9-oxafluorenen auf. Bei Derivaten mit höherer Ausbeute war dieser Effekt nicht mehr als relevant erkennbar und die Reaktionsausbeute der 1-Aza-9-oxafluorene war denen der benzoanellierten Derivaten überlegen.

Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 5: Ausbeuten und Reaktionszeiten der Synthesen der 1-Aza-9-oxafluorene und 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene. Mit PC gekennzeichnete Ausbeuten und Reaktionszeiten gelten für Reaktionsansätze die mit fünf Volumenprozent Perchlorsäure durchgeführt wurden. S gilt im gleichen Kontext für Reaktionsansätze die mit 3,5 Volumenprozent Schwefelsäure durchgeführt wurden. n.d. = nicht durchgeführt.

Grundstrukturen:



Produkt	Rest R	Grundstruktur	Ausbeute PC [%]	Ausbeute S [%]	Reaktionszeit PC	Reaktionszeit S
30	Ethoxy	2	> 0,5	7,5	24 h	18 h
31	Propoxy	2	> 0,5	6,2	24 h	24 h
32	Isopropoxy	1	> 0,5	4,9	24 h	24 h
33	Isopropoxy	2	> 0,5	5,8	24 h	24 h
34	2-Acetoxyethoxy	1	0	0,5	48 h	42 h
36	2-Acetoxyethoxy	2	0	0,6	48 h	24 h
38	Benzyloxy	1	4,9	8,0	24 h	24 h
39	Benzyloxy	2	6,0	9,5	42 h	35 h
40	2-Chlorbenzyloxy	1	5,6	9,1	24 h	24 h
41	2-Chlorbenzyloxy	2	6,2	9,0	48 h	38 h
42	3-Chlorbenzyloxy	1	5,2	7,9	24 h	24 h
43	3-Chlorbenzyloxy	2	5,6	8,9	48 h	35 h
44	4-Chlorbenzyloxy	1	4,9	8,7	24 h	24 h
45	4-Chlorbenzyloxy	2	6,4	n.d.	45 h	n.d.
	2-Methoxybenzyloxy	1	0	0	10 h	6 h
	2-Methoxybenzyloxy	2	0	0	12 h	6 h
46	3-Methoxybenzyloxy	1	0,2	n.d.	10 h	n.d.
47	3-Methoxybenzyloxy	2	0,3	n.d.	8 h	n.d.
	4-Methoxybenzyloxy	1	0	0	12 h	8 h
	4-Methoxybenzyloxy	2	0	0	14 h	9 h
48	Chlor	1	17,2	19,8	12 d	10 d
49	Chlor	2	16,4	18,6	10 d	9 d
50	Brom	1	15,9	n.d.	14 d	n.d.
51	Brom	2	15,1	n.d.	12 d	n.d.
52	Wasserstoff	1	n.d.	14,4	n.d.	10 d
53	Wasserstoff	2	n.d.	10,1	n.d.	11 d
	Acetoxy	1	0	0	24 h	24 h
	Acetoxy	2	0	0	24 h	24 h
54	Methylbenzensulfonat	1	n.d.	1,1	n.d.	5 d

Eine mögliche Erklärung hierfür stellte die höhere sterische Hinderung des *p*-Naphthochinons bei der Bildung des Cycloaddukts dar. Einfluss könnte aber auch die geringere Oxidationsstärke des *p*-Naphthochinons ($E_0 = 0,576$ V) im Vergleich mit *p*-Benzochinon ($E_0 = 0,711$ V) haben.^{301,355} Dies könnte eine unzureichende oder verlangsamte Oxidation der Tetrahydroazoxafluorene durch den

p-Chinon-Überschuss bedingen, was Nebenreaktionen, wie die Polymerisation der Chinonkomponente, begünstigen könnte. Derivate mit einem Alkoxy-Rest in Position 3 bzw. 8 waren, wie schon in Abschnitt 3.1.4.3 ausgeführt, am anfälligsten in Bezug auf die Wahl der Säurekomponente. Bei der Synthese mit Perchlorsäure waren die entsprechenden Derivate zwar dünnschichtchromatographisch detektierbar, konnten aber auf Grund der geringen Konzentration nicht isoliert werden. Die Ausbeute dieser Reaktion wurde daher lediglich als Schätzung angegeben. Ein höherer sterischer Anspruch des Alkoxy-Restes schien die Ausbeute ebenfalls negativ zu beeinflussen. Die 2-Acetoxyethoxy-Derivate waren unter Verwendung von Perchlorsäure nicht detektierbar und wurden auch bei Verwendung von Schwefelsäure nur in sehr geringen Mengen erhalten. Durch eine Vielzahl an entstehenden Nebenprodukten erwies sich ihre Aufreinigung als zusätzlich schwierig. Daher konnten für diese auch nur eingeschränkte experimentelle Daten gewonnen werden. Im geringen Maße ließen sich in den Reaktionsansätzen dieser Derivate teilweise auch die desacetylierten 2-Hydroxyethoxy-Derivate nachweisen. Die Gewinnung derselben in größerem Umfang durch gezielte alkalische Esterspaltung des zuvor isolierten 2-Acetoxy-Derivates konnte auf Grund der geringen erhaltenen Mengen nicht durchgeführt werden.

Schwierig gestaltete sich auch die Synthese der Methoxybenzylazoxafluorene. Bereits KRUG versuchte im Rahmen seiner Dissertation diese Derivate herzustellen. Er beobachtete, dass die entsprechenden Umsetzungen in diesen Fällen bereits nach sehr kurzer Zeit abgeschlossen waren. Die dünnschichtchromatographische Analyse der Ansätze wies jedoch Besonderheiten auf. Statt bei UV-Licht ($\lambda = 254$ Nanometer) einem einzelnen blau (1-Aza-9-oxafluorene) bis hellblau (10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene) fluoreszierenden Spot bei den zu erwartenden R_f -Werten detektierte KRUG in diesen Bereichen einige fluoreszenzlöschende und viele blau fluoreszierende Spots von geringer Intensität.³⁰² Das gleiche Ergebnis lieferten erste Untersuchungen im Rahmen dieser Dissertation. Im Aufschluss gelang eine Trennung und Aufreinigung dieser einzelnen Fraktionen nur in wenigen Fällen in wägbaren Mengen. Die mit Hilfe von Massenspektrometrie untersuchten Proben konnten nur in Fraktionen des Ansatzes der 3-(3-Methoxybenzyl)-Derivate die entsprechende Massenzahl derselben nachweisen. In mehreren Ansätzen konnten diese dann mit den in Tabelle 5 angegebenen, sehr geringen Ausbeuten gewonnen werden. Für die 3-(2-Methoxybenzyl)- und 3-(4-Methoxybenzyl)-Derivate führte auch die Verwendung von Schwefelsäure nicht zu einer erfolgreichen Synthese. Ähnlich war es bei dem Versuch Derivate mit einem Acetoxy-Rest in Position 3 bzw. 8 zu synthetisieren. Bei der Durchführung dieser Reaktion konnte kein Entstehen von fluoreszierenden Spots detektiert werden. Der anschließende Aufschluss des Ansatzes lieferte nach säulenchromatographischer Auftrennung des Rohprodukts und nach massenspektrometrischer Untersuchung der einzelnen Fraktionen keine Hinweise auf die Bildung von Azoxafluorenen. Es ist unklar, ob die Instabilität des *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridins oder ein Effekt der Ester-Gruppe hierfür verantwortlich war. Der zweite Ester an Position R, das Methylbenzensulfonat-Derivat, zeigte einen erfolgreichen Ringschluss, konnte aber nur mit einer geringen Ausbeute gewonnen

werden. Da diese so niedrig ausfiel, wurde eine nachfolgende Spaltung des Esters zur Gewinnung des 4-Phenylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-3,6-diol als obsolet betrachtet.

Die Umsetzung des (E,Z,RS)-1-Acetyl-3-iod-4-phenyl-1,4-dihydropyridins lieferte nicht wie erwartet die entsprechenden 3-Iod-1-aza-9-oxafluorene bzw. 8-Iod-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene. Stattdessen konnten 4-Phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol (Verbindung **52**) bzw. 7-Phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5-ol (Verbindung **53**) aus den jeweiligen Reaktionsansätzen isoliert werden. Es ist also anzunehmen, dass es im Verlauf der Reaktion zu einer Deiodierung des Dihydropyridins oder der Azoxafluorene gekommen sein musste. Die Beobachtung, dass nicht 4-Phenylpyridin aber das 3-Iod-4-phenylpyridin aus den Ansätzen isoliert werden konnte, spricht dafür, dass die Deiodierung erst nach oder während des Ringschlusses auftritt. Hier ist relevant, dass 7-Phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5-ol auch bei der Synthese von 8-Brom-7-phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5-ol (Verbindung **51**) 51 als Nebenprodukt auftrat. Dies zeigt, dass eine Dehalogenierung des 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorens in geringem Maße auch beim Brom-Derivat festgestellt werden konnte. Bei der dünnschichtchromatographischen Kontrolle des Reaktionsverlaufs der Cycloaddition dieser Verbindung konnte auch beobachtet werden, dass der Spot des dehalogenierten Produkts erst zeitlich nach dem des 3-Bromderivats entstand. Das deutet darauf hin, dass die Dehalogenierung erst nach dem Ringschluss stattfindet. Auch wenn die Iodierung von Aromaten als reversibel gilt, muss beachtet werden, dass sie in diesem Fall vollständig und mit vergleichsweise hoher Reaktionsgeschwindigkeit abläuft.³⁵⁶ Dass der Prozess selbst bei der Verwendung von Brom-Derivaten stattfindet, deren Bindung an Aromaten als deutlich weniger reversibel gilt, deutet auf eine Reaktion hin, deren Gleichgewicht stark in Richtung der Bildung der 3-H-Derivate verschoben ist.^{357,358} Die Entstehung von photokatalytisch wirkenden Verbindungen durch die Polymerisierung von Chinonen kann zwar nicht vollständig ausgeschlossen werden, ist aber unwahrscheinlich.^{359,360} Dass die Reaktion auch unter weitestgehendem Lichtausschluss quantitativ abläuft, unterstützt diese Feststellung.

In Abbildung 28 ist ein Entwurf für einen möglichen Reaktionsmechanismus der Deiodierung am Beispiel des 3-Iod-1-aza-9-oxafluorens dargestellt. Hierbei wird eine elektrophile Substitution am Aromaten angenommen bzw. ihre Rückreaktion. Die hohe Stabilisierung des σ -Komplexes durch sechs formulierbare Grenzformeln könnte erklären, warum der Prozess nach dem Ringschluss und der anschließenden Oxidation stattfindet. Ein analoger Mechanismus kann für das 8-Iod-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren und die Debromierung entsprechenden Brom-Derivate formuliert werden. Bei der Abspaltung von Brom muss eine deutlich zu Gunsten der Edukte verschobene Lage des Gleichgewichts angenommen werden.³⁵⁸

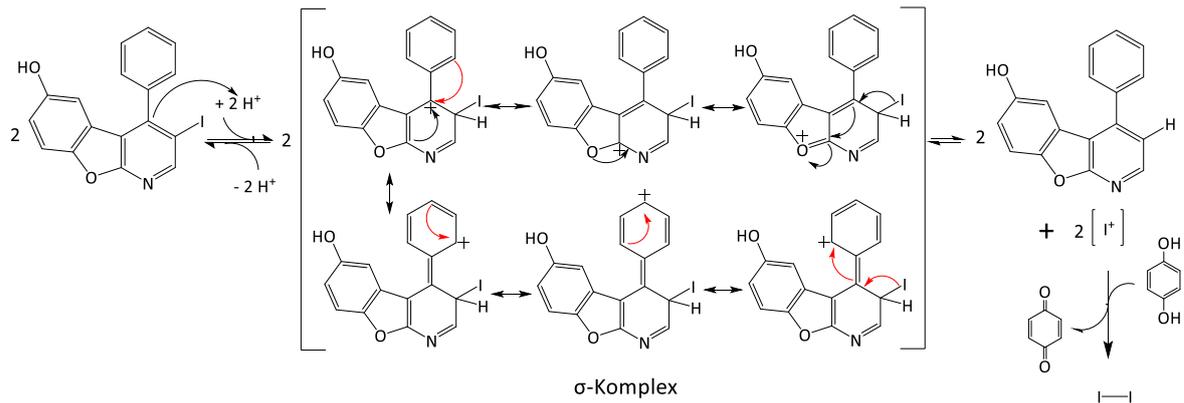


Abbildung 28: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Deiodierung von 3-Iod-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol.

Damit die Reaktion vollständig abläuft, muss das theoretisch formulierte kurzlebige Iod-Kation oder im Falle der Debromierung das Brom-Kation abreagieren und dem Gleichgewicht entzogen werden. Den wahrscheinlichsten Weg hierfür stellt eine Reduktion zum elementaren Iod oder Brom bzw. zu deren Anionen dar. Hierfür könnte, wie in Abbildung 28 dargestellt, das im Reaktionsverlauf aus reduziertem *p*-Benzochinon gebildete *p*-Hydrochinon verantwortlich sein. Eine Alternative stellt bei der Verwendung von Schwefelsäure das durch Reduktion von Sulfat gebildete Sulfit-Anion dar. Das Ion kann als Reduktionsmittel die gleiche Funktion wie Hydrochinon erfüllen und die elementaren Halogene sogar zu Iodid bzw. Bromid reduzieren.³⁵⁸

3.1.4.5 Strukturelle Analyse der Verbindungen

Der folgende Abschnitt erläutert vorwiegend die Auswertung der zur Strukturanalyse der Azoxafluorene durchgeführten NMR-Spektren. Hierbei kam vor allem die Verwendung der ¹H-NMR-Spektroskopie zum Einsatz. In mehreren Fällen wurde auf die Verwendung von ¹H-¹H-COSY-, NOESY-, ¹³C- und HSQC-Spektroskopie zurückgegriffen, um eine vollständige strukturelle Aufklärung zu ermöglichen. Als Lösungsmittel wurde bei diesen Methoden vorwiegend deuteriertes DMSO verwendet, da es neben guten Lösungsmiteigenschaften keine störenden Signale im Bereich der höheren Signalverschiebung des ¹H-Spektrums aufweist. Dadurch behindert dieses Lösungsmittel die Auswertung der teilweise komplexen Signale der aromatischen Wasserstoff-Atome nicht. Um die Analyse der Spektren der 1-Aza-9-oxafluorene zu erklären soll im Folgenden exemplarisch das ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung **40** ausgewertet werden.

Besonders weit entschirmt ist neben dem Proton der 6-Hydroxy-Gruppe ($\delta = 9,36$ ppm) das Wasserstoff an Position 2 ($\delta = 8,36$ ppm). Dies erklärt sich leicht über seine vicinale Lage zum Stickstoff des Pyridin-Rings. Auffällig ist auch, dass das Signal des 5-H für ein aromatisches Wasserstoffatom sehr weit ins Hochfeld verschoben erscheint. Hierfür ist nicht allein der +M-Effekt der benachbarten Hydroxy-Gruppe verantwortlich. Das bestätigt die auch vorhandene aber geringere Tieffeldverschiebung des 7-H-Atoms. Der Effekt kommt, wie schon bei der Auswertung der ¹H-Spektren der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine beobachtet werden konnte, durch

die Ausbildung eines dem angelegten Magnetfeld entgegengerichtetem Magnetfeld innerhalb des Moleküls zu Stande.

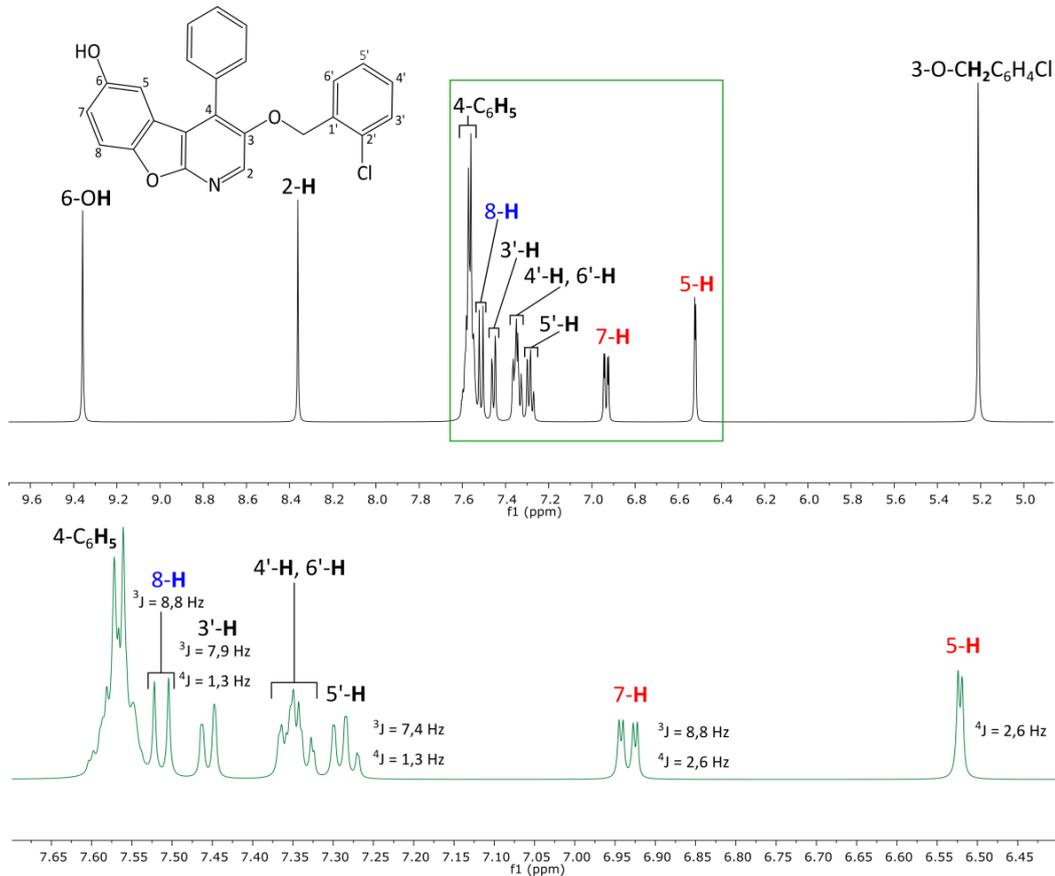


Abbildung 29: ^1H NMR-Spektrum von Verbindung **40** in deuteriertem DMSO bei 400 Megahertz. Oben: Abbildung aller Protonensignale. Unten: Vergrößerung des Abschnittes von 6,4 bis 7,7 ppm. Mit Rot sind Signale gekennzeichnet, die auf Grund des Ringstromeffekts des 4-Phenylrings in Richtung Hochfeld verschoben sind. In Blau sind Signale dargestellt, die durch diesen Effekt ins Tieffeld verschoben worden sind. Die Lösungsmittelsignale wurden zur Verbesserung der Übersichtlichkeit entfernt.

In diesem Fall ist die Ausbildung eines Ringstroms der π -Elektronen des 4-Phenyl-Ringes der Ursprung des Magnetfeldes.³⁶¹ Dadurch erfahren Protonen, die sich oberhalb oder unterhalb der

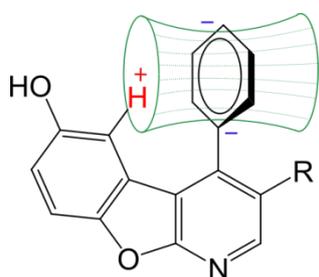


Abbildung 30: Darstellung des Ringstrom-induzierten Magnetfeldes am Beispiel eines 1-Aza-9-oxafluorens²⁹⁹

Ringebene befinden, eine zusätzliche Abschirmung. Protonen auf der Ringebene hingegen werden weiter entschirmt.³⁶² Wenn das 5-H abgeschirmt vorliegt, muss demzufolge der Ring während der Messung vorwiegend annähernd axial zur trizyklischen Ringebene vorgelegen haben. Die Erstellung von energieminierten Modellen der 1-Aza-9-oxafluorene innerhalb der Dissertationen von Voigt, Tell und Schade unterstützen diese Annahme. Für verschiedene 1-Aza-9-oxafluorene konnten Torsionswinkeln entlang der Achse 4-C - 1'-C zwischen 69 Grad und 109 Grad berechnet werden.^{300,301,334}

Das Signal des 5-H ist durch eine 4J -Kopplung mit 7-H in ein Dublett aufgespalten. Das 7-H wiederum stellt sich durch eine zusätzliche 3J -Kopplung mit 8-H als Dublett vom Dublett dar. Die Signale des Chlorbenzol-Rings sind nicht vollständig aufgelöst, doch lassen sie sich identifizieren.

Ergebnisse und Diskussion

Das Signal des 3'-H-Atom ist durch seine Nähe zum Chloratom am weitesten ins Tieffeld verschoben ($\delta = 7,46$ ppm) und ist durch eine 3J -Kopplung mit 4'-H und eine sehr schwache 4J -Kopplung zum 5'-H (siehe Abbildung 29) in ein Dublett vom Dublett aufgespalten. Diese schwache 4J -Kopplung ist bei einer Frequenz von 400 Megahertz nur nach softwaregestützter Auswertung und auch nicht in allen Fällen erkennbar. Bei höheren Frequenzen lässt sich die Kopplung jedoch eindeutig zuordnen. Die Signale des 4'-H und 6'-H liegen überlagert vor und können nicht eindeutig zugewiesen werden. 5'-H bildet durch die 3J -Kopplungen zu 4'-H und 6'-H und die Wechselwirkung mit 3'-H ein Triplet vom Dublett aus.

Die Strukturabsicherung anhand des ^1H -NMR-Spektrums soll für die 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene beispielhaft an Verbindung **45** erläutert werden. Leicht wiedererkennbar sind die Signale der Protonen vicinal zum Pyridinstickstoff (9-H) und der Hydroxy-Gruppe. Auffällig ist bei beiden, dass sie weiter Tieffeld-verschoben erscheinen als die entsprechenden Signale der 1-Aza-9-oxafluorene (Verbindung **45**: $\delta(5\text{-OH}) = 10,06$ ppm, $\delta(9\text{-H}) = 8,34$ ppm).

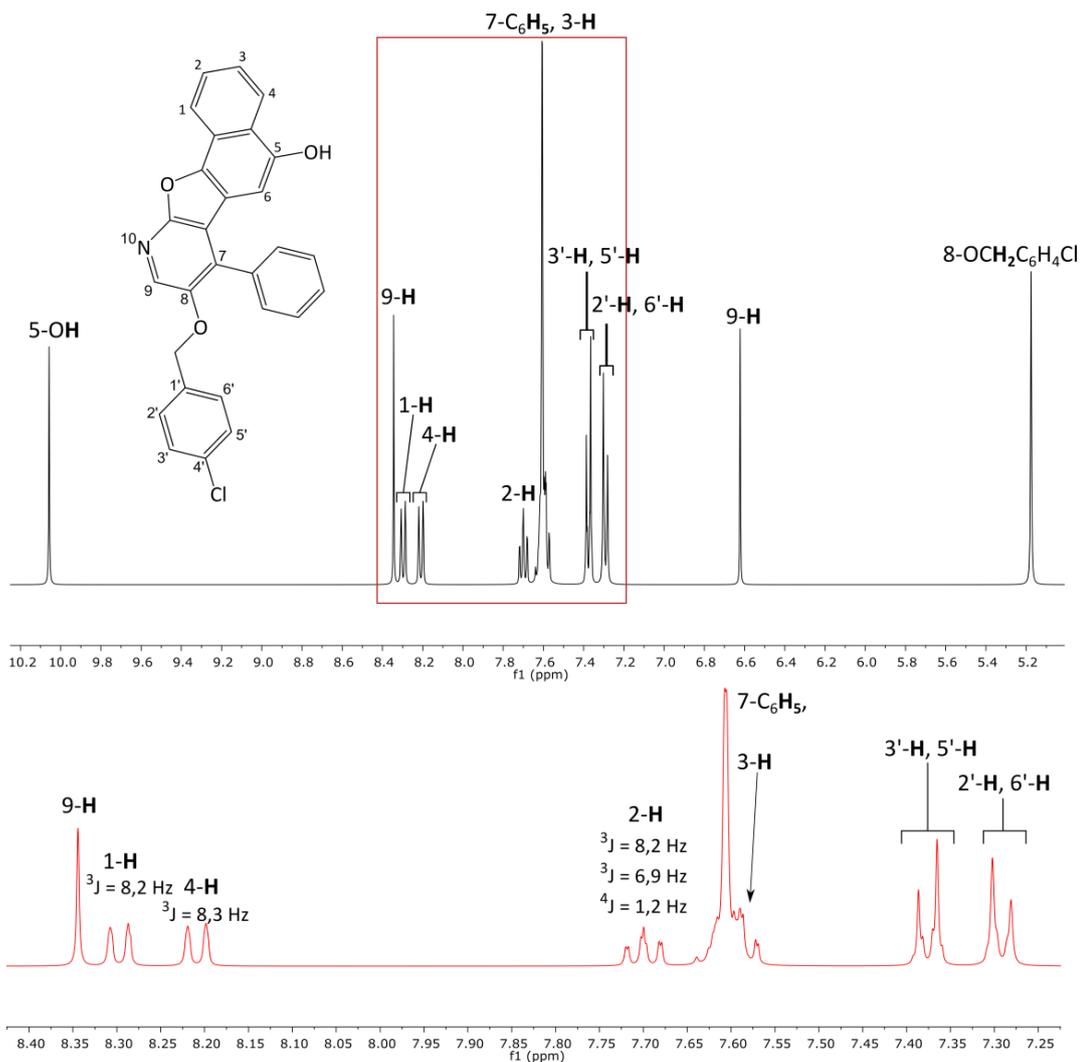


Abbildung 31: ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **45** in deuteriertem DMSO bei 400 Megahertz. Oben: Abbildung aller Protonensignale. Unten: Vergrößerung des Abschnittes von 7,2 bis 8,4 ppm. Die Lösungsmittelsignale wurden zur Verbesserung der Übersichtlichkeit entfernt.

Dafür ist ein stärkeres Ringstrom-induziertes Magnetfeld innerhalb der tetrazyklischen Derivaten im Vergleich zu den trizyklischen Derivaten verantwortlich. Dieses bewirkt auf der Ringebene eine stärkere Entschirmung der entsprechenden Wasserstoffatome.³⁶² Die Signale des 1-H und 4-H sind in der Theorie durch Interaktion mit 2-H und 3-H in ein Dublett vom Dublett aufgespalten. Auf Grund der schwachen 4J -Kopplungen lässt sich praktisch bei 400 Megahertz jedoch nur ein verbreitertes Dublett detektieren. Da die entsprechenden Kopplungskonstanten nicht identifiziert werden konnten, wird das Aufspaltungsmuster im experimentellen Teil für diese Protonen vereinfachend als Dublett angegeben. Ihre jeweilige Zuordnung erfolgte nach dem bereits von SCHADE angewendeten, durch Auswertung von ^1H - ^1H -COSY-, HSQC- und HMBC-Spektren gewonnenen Schema.³³⁴

In diesem Fall als Dreifachdublett zu erkennen ist das Signal von 2-H. Es weist Kopplungen mit 1-H, 3-H und 4-H auf (siehe Abbildung 31). In den Spektren einiger Derivate ist dieses Signal schlecht aufgelöst und stellt sich als Pseudotriplett dar (vgl. Verbindung **67** und **73**). Das Dreifachdublett des 3-H wird vom Signal der Protonen des 7-Phenylrings überdeckt, lässt sich aber noch teilweise identifizieren. Die Protonen des *para*-substituierten Chlorbenzyl-Ringes bilden ein klar erkennbares AA'BB'-System aus. Die Signale von 3'-H und 5'-H sind hierbei auf Grund des benachbarten Chlor-Atoms weiter Tieffeld-verschoben. Die verbleibenden Signale sind nahezu identisch zu den Spektren der 1-Aza-9-oxafluorene.

Der Austausch von Iod durch Wasserstoff beim Syntheseversuch von Iodazoxafluorenen, wie in Abschnitt 3.1.4.4 beschrieben, konnte durch die Auswertung der Spektren von 4-Phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol und 7-Phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5-ol bestätigt werden. In Abbildung 32 ist erkennbar, dass das Signal des vicinal zum Pyridin-Stickstoff gelegenen Wasserstoffkerns für Verbindung **52** und **53** in ein Dublett aufgespalten ist.

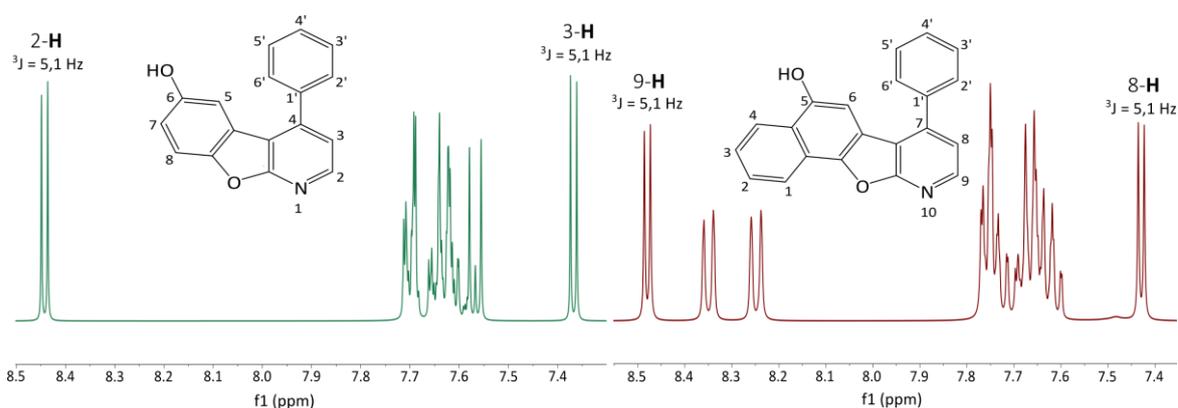


Abbildung 32: Ausschnitte der ^1H -NMR-Spektren von Verbindung **52** (links) und **53** (rechts) in deuteriertem DMSO bei 400 MHz. Dargestellt sind die Bereiche von 7,3 bis 8,5 ppm des Spektrums von Verbindung **52** für die Signale von 2-H und 3-H und 7,35 bis 8,55 ppm des Spektrums von Verbindung **53** für die Signale von 8-H und 9-H.

Ein weiteres Dublett mit gleicher Kopplungskonstante ist in beiden Spektren bei einer chemischen Verschiebung von ungefähr 7,4 *parts per million* zu finden, das in den bisher betrachteten Spektren der 3-bzw. 8-substituierten Azoxafluorenen nicht beobachtet werden konnte. Um dieses starke Indiz für einen Wasserstoffkern an diesen Stellen zu bestätigen, wurde

auf ^1H - ^1H -COSY-Spektroskopie zurückgegriffen. Diese Form der 2D-Korrelationsspektrometrie ermöglicht es skalare Kopplungen zwischen gleichartigen Kernen darzustellen. Im Ausschnitt des Spektrums von Verbindung **53** in Abbildung 33 lassen sich zwei Kreuzsignale der Protonen an Position 8 und 9 erkennen. Dieses belegt ihre vicinale Lage.

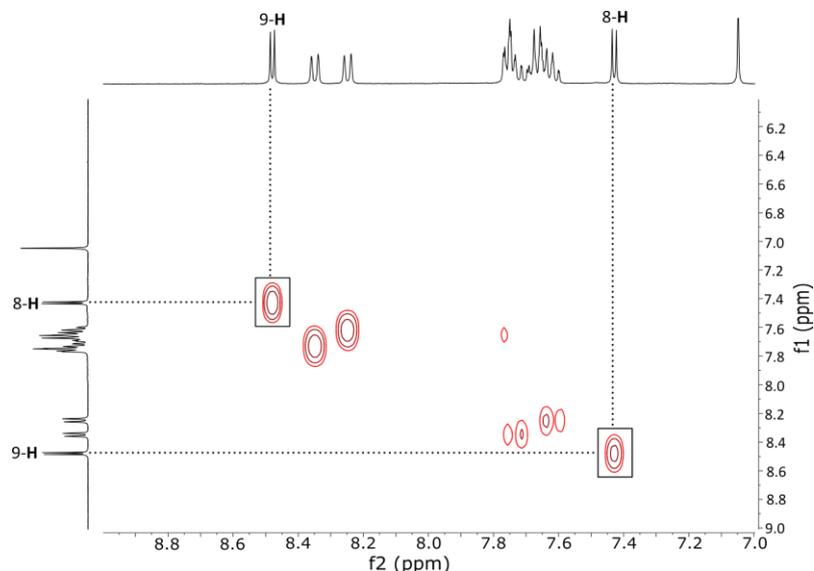


Abbildung 33: Ausschnitt des ^1H - ^1H -COSY-Spektrums von Verbindung **53** bei 400 MHz von 7,0 bis 9,0 ppm. Die Diagonalsignale wurden zur Verbesserung der Übersichtlichkeit mittels Konvolution entfernt. Gekennzeichnet sind die Kreuzsignale von 8-H und 9-H.

3.1.5 Synthese und Analyse der Methoxyazoxafluorene

Im Rahmen dieser Dissertation wurden verschiedene Alkylierungen der Phenol-Gruppe untersucht. Zu diesen zählte auch die Methylierung derselben, die bereits für einige Derivate von TELL erreicht werden konnte.³⁰¹ Da manche der erhaltenen Verbindungen potente Inhibitoren der GSK3 β und JNK-3 darstellten, wurde ihre Synthese im Rahmen dieser Dissertation fortgesetzt.^{301,305}

3.1.5.1 Experimentelle Durchführung

Die Methylierungen wurden mit Hilfe einer bereits von TELL etablierten und nur in wenigen Punkten modifizierten WILLIAMSON-Ethersynthese durchgeführt.³⁰¹ Hierzu wurde zunächst 34 Milligramm bis 116 Milligramm des entsprechenden 1-Aza-9-oxafluorens bzw. 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorens in drei bis fünf Milliliter zuvor getrocknetem THF gelöst. Dabei wurde Argon als Schutzgas in den Ansatz eingeleitet, um Oxidationsreaktionen der einzelnen Komponenten, wie der empfindlichen Basenkomponente Natriumhydrid, zu vermeiden. Von dieser wurde, nachdem der Ansatz mittels eines Eisbades auf 0 Grad Celsius gekühlt worden war, ein siebenfacher Überschuss zugegeben. TELL verwendete hierbei eine 60 prozentige Mineralöl-Dispersion, die er dem Ansatz direkt zufügte.³⁰¹ Da eine genaue Dosierung sich dabei jedoch als schwierig erwies, wurde im Rahmen dieser Arbeit das Natriumhydrid zuvor vom Mineralöl getrennt. Dazu wurde die Dispersion unter Schutzatmosphäre filtriert und das weiße Retentat durch mehrfaches Waschen mit absolutem THF von anhaftendem Mineralöl befreit. Das

so gewonnene reine Natriumhydrid wurde eingewogen und in den Ansatz überführt. Die auf diese Weise durchgeführten Synthesen zeigten insgesamt eine bessere Reproduzierbarkeit und eine geringere Reaktionszeit als bei der Verwendung der Dispersion. Nach Zufügen des Natriumhydrids wurde der Ansatz 15 min unter Kühlung und 15 min bei RT mittels eines Magnetrührers dispergiert, um eine möglichst vollständige Bildung des Phenolat-Ions zu gewährleisten. Im Anschluss wurde als Elektrophil Iodmethan in dreifachem Überschuss dem Ansatz hinzugefügt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt.

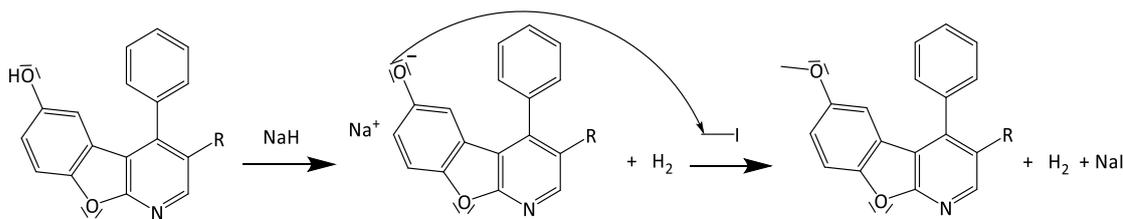


Abbildung 34: Darstellung der Synthese der 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene. Die Reaktion lässt sich analog für die Synthese der 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene formulieren.

Nach vier bis sechs Stunden war die Umsetzung abgeschlossen. Der Ansatz wurde mit Eiswasser versetzt um das überschüssige Natriumhydrid zu entfernen. Danach wurde der Ansatz mit Chloroform extrahiert. Aus den vereinigten organischen Phasen wurde durch Waschen mit *Brine* verbleibendes Wasser entfernt. Durch die anschließende Abtrennung der organischen Lösungsmittel konnte das wachsartige bis amorphe Rohprodukt gewonnen werden. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung und der Kristallisation wurden die 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene bzw. 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene als vorwiegend weiße, vereinzelt aber auch gelbe bis gelbbraune Feststoffe gewonnen.

3.1.5.2 Ausbeuten

Die Reaktion lieferte die gewünschten Methoxyderivate in sehr guten Ausbeuten. Diese lagen zwischen 82,3 Prozent und 91,4 Prozent. Erkennbar ist eine in fast allen Fällen beobachtbare geringere Ausbeute der 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene.

Tabelle 6: Ausbeuten der Synthesen der 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene bzw. 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene. BA steht für benzoanelliert und ein x in der Spalte kennzeichnet Verbindungen bei denen es sich um 5-Methoxy-10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene handelt.

Verbindung	Rest R	BA	Ausbeute	Verbindung	Rest	BA	Ausbeute
55	H		86,8 %	61	4-Chlorbenzyloxy	x	87,8 %
56	H	x	85,1 %	62	Chlor		83,1 %
57	2-Chlorbenzyloxy		90,2 %	63	Chlor	x	82,3 %
58	2-Chlorbenzyloxy	x	88,5 %	64	Brom		85,7 %
59	3-Chlorbenzyloxy		87,1 %	65	Brom	x	86,7 %
60	4-Chlorbenzyloxy		91,4 %				

Die entsprechende Differenz war nur gering, könnte aber durch den höheren sterischen Anspruch der benzoanellierten Derivate erklärt werden. Dieser zeigte sich auch in der längeren

Dauer der Umsetzung für 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene. Im Durchschnitt war diese mehr als eine Stunde länger als die der 1-Aza-9-oxafluorene. Dem entgegen stand, wie bereits bei der vorangehenden Cycloadditionsreaktion, eine wesentlich höhere Kristallisationsneigung der benzoanellierten Derivate, die die Gewinnung und Aufreinigung dieser Produkte erleichterte.

3.1.5.3 Eigenschaften und Strukturelle Analyse der Verbindungen

Die Verbindungen unterscheiden sich in ihren ^1H -Spektren kaum von ihren Azoxafluoren-Edukten. Lediglich das Signal des Hydroxy-Wasserstoffs ist in diesen nicht vorhanden. Stattdessen kann das Singulett-Signal der drei Methyl-Protonen zwischen 3,56 und 3,67 *parts per million* detektiert werden. Diese wurden bereits ausführlich in der Dissertation von Tell beschrieben, weswegen auf eine tiefergehende Betrachtung der Spektren an dieser Stelle verzichtet wird.³⁰¹ Die physikalischen Eigenschaften betreffend ist auffällig, dass die 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene im Vergleich zu den 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluorenen eine wesentlich verringerte Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln wie Ethylacetat oder DMSO aufweisen.

3.1.6 Synthese und Analyse der längerkettigen Alkoxyazoxafluorene

3.1.6.1 Entwicklung der Synthese

Der Versuch, mit der in Abschnitt 3.1.5.1 beschriebenen Methode längerkettige Alkoxy-Derivate von den entsprechenden 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorenen und 1-Aza-9-oxafluorenen zu synthetisieren, gelang nicht. Der entsprechende Versuch der Ethylierung der 5- bzw. 6-Hydroxy-Gruppe mit Iodethan und Natriumhydrid ergab eine Ausbeute an Produkt von unter zehn Prozent. Auf Grund dieses Misserfolgs wurden Veränderungen der Reaktionsbedingungen und der Edukte untersucht. Das Synthesekonzept der WILLIAMSON-Ethersynthese sollte auf Grund ihrer Funktionalität und Simplizität beibehalten werden und zunächst am Beispiel der 5- bzw. 6-Ethoxylierung optimiert werden. Die Verwendung von Kaliumhydroxid als Base in THF unter Zugabe von Tetrabutylammoniumbromid, wie sie von VOIGT zur Synthese des 3-Ethoxypyridins verwendet wurde, ergab ebenfalls nur eine sehr geringe Ausbeute.³⁰⁰ Nicht erfolgreich verlief auch die Umsetzung der Azoxafluorene mit Natriumethanolat, das durch Umsetzung von wasserfreiem Ethanol mit elementarem Natrium hergestellt worden war. Bei dieser Umsetzung konnte dünnschichtchromatographisch fast kein Umsatz festgestellt werden. Unter Verwendung von Silber(I)oxid und Iodethan in Kombination mit absolutem THF und Erhitzen zum Rückfluss für circa fünf Stunden, konnten die ersten brauchbaren Ergebnisse generiert werden. Mit etwa vierzig Prozent Ausbeute konnte 3-(2-Chlorbenzyloxy)-6-ethoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin gewonnen werden. Als kostengünstiger und effektiver erwies sich aber eine Methode, die in ähnlicher Form von FISCHER zur Synthese von substituierten 4-(Benzyloxy)anilinen genutzt worden war.³⁶³ Hierbei kam als Base Kalium-*tert*-butanolat, als Elektrophil Iodethan und als Lösungsmittel DMF zum Einsatz.

3.1.6.2 Experimentelle Durchführung

Nach Lösen des entsprechenden 1-Aza-9-oxafluorens bzw. 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorens in fünf bis zehn Milliliter DMF wurde der Ansatz im Eisbad auf 0 Grad Celsius herabgekühlt. Im Anschluss wurde ein 1,4-facher Überschuss an Kalium-*tert*-butanolat zugegeben, der eine Deprotonierung der aromatischen Hydroxy-Gruppe zum Phenolat bedingen sollte. Dafür wurde der Ansatz 15 Minuten unter weiterer Kühlung dispergiert. Dann wurde Iodethan in anderthalbfachem Überschuss zugegeben. Die Kühlung des Ansatzes wurde beendet. Nach kurzer Zeit nahm der Ansatz eine rote bis dunkelbraune Färbung an. Nach drei bis fünf Stunden gleichmäßiger Durchmischung war die dünnschichtchromatographisch verfolgte Umsetzung abgeschlossen. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser zum erneut auf 0 Grad Celsius gekühlten Ansatz abgebrochen. Im Folgenden wurde der Ansatz dreimal mit Chloroform extrahiert und die vereinten organischen Phasen nach Waschen mit *Brine* am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Hierbei wurde dem Gemisch mehrmals *n*-Heptan zugeführt, um das verbleibende DMF wie unter 3.1.2 beschrieben zu entfernen. Auf die unter 3.1.2 beschriebene Extraktion nach Phasentransfer wurde in diesem Fall verzichtet, da die Ansätze vergleichsweise klein und die erhaltenen Produkte wesentlich lipophiler waren. Das resultierende feste, amorphe bis kristallines Rohprodukt war teilweise schon als das entsprechende Endprodukt mit einer Reinheit von über 80 Prozent zu identifizieren.

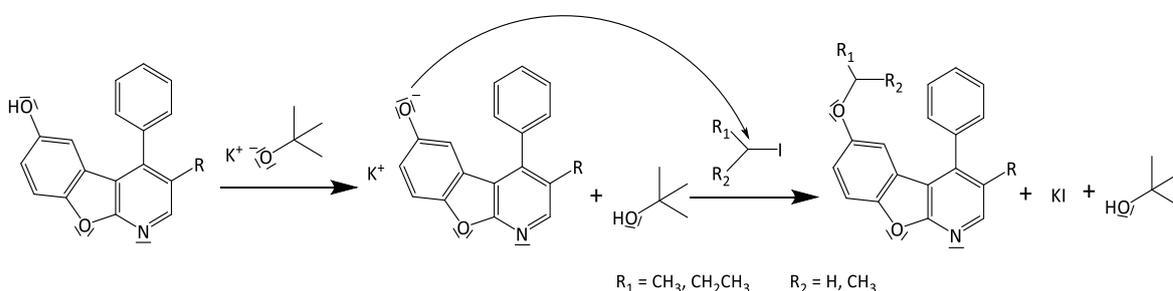


Abbildung 35: Darstellung der Synthese der 6-Ethoxy, 6-Propoxy und 6-Isopropoxy-1-aza-9-oxafluorene. Die Reaktion lässt sich analog für die Synthese der entsprechenden 5-Alkoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene formulieren.

In allen Fällen wurde eine Säulenchromatographie zur Aufreinigung angeschlossen. Hierbei erwies sich vor allem die Verwendung von Gemischen aus Cyclohexan und Ethylacetat als vorteilhaft. Zum einen besaßen Produkt und Edukt stark unterschiedliche Retentionsfaktor-Werte in diesen Laufmitteln, zum anderen erwies sich das Gemisch als vorteilhaft bei der Kristallisation der Endprodukte. Durch den niedrigeren Siedepunkt des Ethylacetats wurde es beim Einengen entsprechender Produktfraktionen mit diesem Laufmittel zum größten Teil zuerst abgetrennt. Zurück blieb das Endprodukt im sehr lipophilen Cyclohexan, in dem die Produkte nur eine geringe Löslichkeit aufwiesen und dessen Volumen sich ebenfalls schrittweise verringerte. Dies ergab selbst bei Temperaturen von 50 Grad Celsius gute Kristallisationsbedingungen für die hergestellten Endprodukte und führte zu feinen gleichmäßigen Kristallstrukturen. Diese kristallinen Produkte konnten durch Umkristallisation oder Waschen mit Methanol oder Diethylether in sehr hoher Reinheit gewonnen werden.

Die Anwendung dieser experimentellen Methodik auf die Synthese längerkettiger Alkoxy-Derivate zeigte einige Probleme auf. So war bei der Darstellung der 6-Propoxy-1-aza-9-oxafluorene und 5-Propoxy-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorene nach dieser Vorgehensweise die Ausbeute durch einen unvollständigen Umsatz verringert und die Reaktionszeit erhöht. Zu erklären ist dies über den höheren sterischen Anspruch des verwendeten Elektrophils. Die Problematik konnte teilweise durch Zugabe eines größeren Überschusses an 1-Iodpropan von zwei Äquivalenten zum Reaktionsansatz ausgeglichen werden. Dies erwies sich nur noch als unzureichend wirksam bei der Synthese der 5- bzw. 6-Isopropoxyderivate. Die Verwendung eines vierfachen Überschusses an 2-Iodpropan führte lediglich zu einem Umsatz von circa 50 Prozent des Azoxafluoren-Edukts. Eine weitere Erhöhung der Konzentration des Elektrophils zeigte keinen sichtbaren positiven Effekt auf den Reaktionsverlauf. Eine Erhöhung der Konzentration an Kalium-*tert*-butanolat sowie der Reaktionstemperatur begünstigte den Umsatz nicht. Wechsel zu anderen Lösungsmitteln wie THF, 1,4-Dioxan und Chloroform, sowie Zusätze derselben zum verwendeten DMF bewirkten starke Verringerungen der erzielten Umsätze. Der Zusatz von DMSO zum Ansatz verbesserte den insgesamten Umsatz. Die schlussendliche Entfernung desselben stellte jedoch ein größeres Problem dar und erschwerte die mit Chloroform vorgenommene Extraktion des Ansatzes.

Als Lösung erwies sich schließlich, dass der Reaktionsansatz nach vier Stunden erneut herabgekühlt wurde und mit einem Äquivalent Kalium-*tert*-butanolat versetzt wurde. Nach der oben beschriebenen Wartezeit von 30 min wurde dem Ansatz 1,2 Äquivalente 2-Iodpropan zugefügt. Bei der Verwendung dieses Verfahrens ließ sich dünnschichtchromatographisch ein nahezu vollständiger Umsatz der Azoxafluoren-Edukte erkennen. Der bei der Synthese der Ethoxy-Derivate beschriebene Effekt der Kristallisation des Produkts aus Cyclohexan und Ethylacetat beim Einengen des Laufmittelgemisches am Rotationsvakuumverdampfer konnte auch bei der Synthese der Propoxy- und Isopropoxy-Derivate beobachtet werden. Teilweise trat er bereits beim Auffangen der Produktfraktionen in Reagenzgläsern auf.

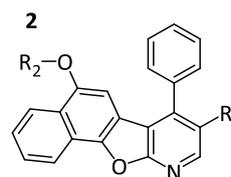
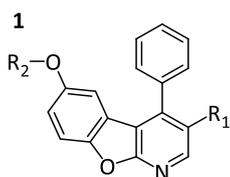
3.1.6.3 Ausbeuten

Bei der Betrachtung der Ausbeuten war auffällig, dass diese mit dem sterischen Anspruch des verwendeten Elektrophils abnahm. Vor allem bei der Darstellung der Isopropoxy-Derivate war dieser Effekt sehr deutlich zu erkennen. Des Weiteren war wie bereits bei den durchgeführten Methylierungen ersichtlich, dass die Synthese der jeweiligen 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivate geringere Ausbeuten aufwies als die Synthese der entsprechenden trizyklischen Produkte. Auf Grund der Ergebnisse der durchgeführten Kinaseassays (siehe Abschnitt 3.2.2.2) und der schlechten Lösungseigenschaften (siehe 3.1.6.4), wurden die Synthesereihen der Propoxy- und Isopropoxy-Derivate nicht fortgesetzt.

Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 7: Ausbeuten der 6-Alkoxy-1-aza-9-oxafluoren-Derivate bzw. 5-Alkoxy-10-aza-11-oxabenzofluoren-Derivate.

Grundstrukturen:



Rest R ₁	Grundstruktur	Verb.	Ausbeute R ₂ Ethoxylierung [%]	Verb.	Ausbeute R ₂ Propoxylierung [%]	Verb.	Ausbeute R ₂ Isopropoxylierung [%]
Benzyloxy	1	66	91,1	78	88,2	89	77,3
Benzyloxy	2	67	86,6	79	84,3	90	75,4
2-Chlorbenzyloxy	1	68	89,7	80	84,3	91	79,7
2-Chlorbenzyloxy	2	69	86,6	81	82,5	92	74,8
3-Chlorbenzyloxy	1	70	88,2	82	81,6	93	77,9
3-Chlorbenzyloxy	2	71	85,9	83	81,3	94	74,2
4-Chlorbenzyloxy	1	72	89,6	84	82,2	95	78,6
4-Chlorbenzyloxy	2	73	86,3	85	79,8		n.d.
Chlor	1	74	92,5	86	87,2	96	82,2
Chlor	2	75	88,5	87	83,4	97	76,7
Brom	1	76	95,8		n.d.		n.d.
Brom	2	77	88,4	88	84,7		n.d.

3.1.6.4 Eigenschaften und strukturelle Analyse der Verbindungen

Die aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren zeichnen sich wie schon die unter 3.1.5.3 betrachteten Methoxy-Derivate vor allem durch das fehlende Signal der 5- bzw. 6-Hydroxy-Gruppe aus. Des Weiteren sind die Signale der Wasserstoffatome der Alkyl-Gruppen im Bereich von 0,8 bis 4,24 *parts per million* zu erkennen. Die Ethoxy-Derivate sind dabei durch zwei Signale zu identifizieren. Zum einen kennzeichnet sie ein zum Quartett aufgespaltenes Signal der Protonen des am Sauerstoffatom gebundenen C1 im Bereich von 3,8 *parts per million* und zum anderen ein Triplet, das die Protonen an C2 repräsentiert, im Bereich von 1,3 *parts per million*. Die Tieffeldverschiebung der Protonen an C1 ist auch bei den anderen Alkoxy-Derivaten zu erkennen. Sie erklärt sich sowohl über den negativen induktiven Effekt des benachbarten Sauerstoffatoms, als auch über den Ringstrom-Effekt. Dieser bewirkt, wie schon unter 3.1.4.5 beschrieben, bei Protonen, die sich im ungefähren Bereich der erweiterten Ringebene des zyklischen, aromatischen Systems befinden, eine Entschirmung.³⁶¹ Die Signale der Propoxy-Wasserstoffatome sind den letztbeschriebenen ähnlich. Im Bereich von 3,80 bis 3,68 *parts per million* befindet sich das zum Triplet aufgesplattene Signal der an C1 gebundenen Protonen. Das Signal der Protonen an C2 im Bereich von 1,88 bis 1,60 *parts per million* ist durch Kopplung mit den zwei Protonen von C1 und den Protonen an C3 in ein Quartett vom Triplet aufgespalten. Dieses ist in der Regel durch den nur geringen

Unterschied in den Kopplungskonstanten kaum erkennbar. Bei Messungen bei 400 Megahertz und der Verwendung von DMSO- d_6 kann in der Regel nur ein Pseudoheptett erkannt werden. Im deuterierten Chloroform aufgenommene Spektrum der Verbindung **81** kann das Quartett vom Tripletts jedoch klar identifiziert werden. Das weit ins Hochfeld verschobene Signal der Protonen an C3 stellt sich als Tripletts dar und ist bei chemischen Verschiebungen von 0,80 bis 1,09 *parts per million* detektierbar.

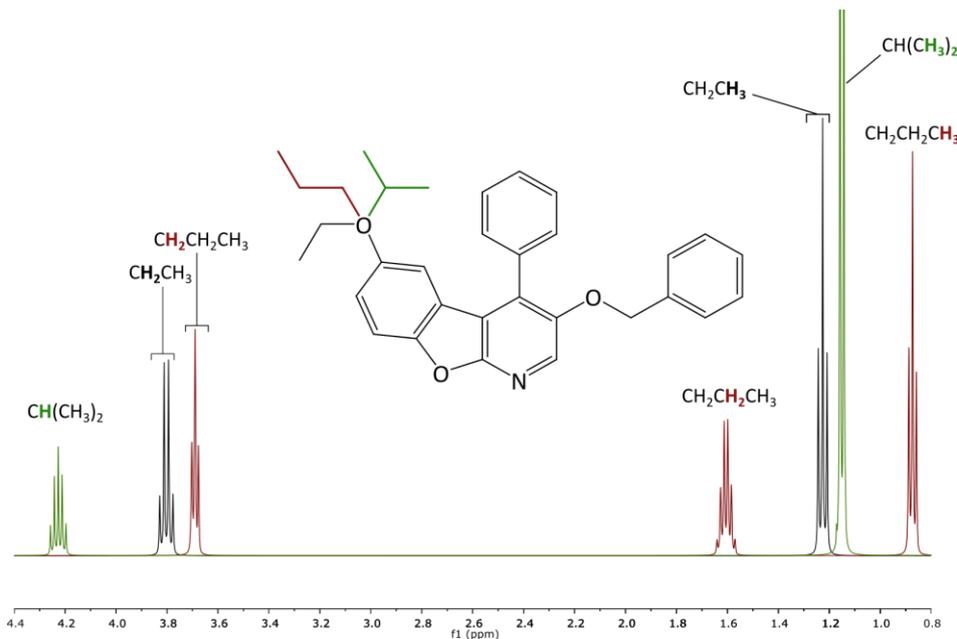


Abbildung 36: Darstellung der überlagerten ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **66**, **78** und **89** im Bereich von 0,8 bis 4,4 ppm. Die Zugehörigkeit der Signale zur entsprechenden Verbindung ist farblich dargestellt. Schwarz: Verbindung **66**, Spektrenfrequenz 400 Megahertz. Rot: Verbindung **78**, Spektrenfrequenz 500 Megahertz. Grün: Verbindung **89**, Spektrenfrequenz 400 Megahertz. Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit wurden die Lösungsmittelsignale entfernt.

Die Protonen der beiden Methyl-Gruppen der Isopropoxy-Funktion sind als Dublett bei 1,15 bis 1,28 *parts per million* zu erkennen. Das Heptett-Signal des an C1 befindlichen Protons der Funktion weist eine auffällig höhere chemische Verschiebung als die entsprechenden Protonen der Propoxy- und Ethoxy-Gruppe auf, trotz der eigentlich abschirmenden positiven induktiven Effekte der beiden benachbarten Methyl-Gruppen. Die chemische Verschiebung liegt für die meisten Verbindungen bei 4,23 *parts per million*. Dieser recht konstante Wert könnte eine einheitliche Ursache vermuten lassen. Eine mögliche Erklärung wären zum Beispiel in den Konformationen der 6-Isopropoxy-1-aza-9-oxafluorene und 5-Isopropoxy-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorene zu finden. Dabei ist zu beobachten, dass zwei Ringstromeffekte Auswirkungen auf die chemische Verschiebung dieser Protonen haben können: Der Ringstrom des tri- bzw. tetrazyklischen Systems und der des annähernd axial zu diesem System ausgerichteten Phenylrings. Eine mögliche Theorie wäre, dass Konformationen, die eine Annäherung der Isopropoxy-Gruppen an den Phenyl-Ring darstellen, durch den sterischen Anspruch der Isopropoxy-Gruppe energetisch ungünstiger sind als vergleichbare Konformationen der unverzweigten Alkoxy-Reste. Dadurch würden diese Isopropoxy-Verbindungen eher Konformationen annehmen, in denen der Ringstromeffekt des Phenyl-Rings nur eine geringere

abschirmende Wirkung zeigt. Eine andere Erklärung läge in der geringen Interaktion mit dem sehr polaren Lösungsmittel DMSO-*d*₆. Die Löslichkeit der Verbindungen in polaren Lösungsmitteln nimmt mit zunehmender Größe und sterischer Komplexität des Alkoxy-Restes stark ab. Einige der 5-Isopropoxy-10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene wiesen aber sogar geringe Löslichkeiten in apolaren Lösungsmitteln wie Chloroform auf. Das erschwerte die Aufnahme von ¹³C-NMR-Spektren stark.

3.1.7 Synthese und Analytik der (2-Hydroxyethoxy)-substituierten Azoxafluorene

Die Darstellung der 6-(2-Hydroxyethoxy)-1-aza-9-oxafluorene bzw. 5-(2-Hydroxyethoxy)-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorene wurde zunächst mit der für die entsprechenden Alkoxy-Derivate etablierten Williamson-Ethersynthese (siehe Abschnitt 3.1.6.2) erprobt. Hierbei wurde 2-Iodethanol als Elektrophil verwendet. Dünnschichtchromatographisch ließ sich bei diesem Versuchsansatz jedoch nur ein Umsatz von unter zehn Prozent detektieren. Daher wurde ein neuer Syntheseweg gesucht. Die entsprechende Vorgehensweise wurde in der erstmals von CARLSON und CRETCHER beschriebenen Umsetzung von 1,3-Dioxolan-2-on, das im folgenden bei seinem geläufigeren Namen Ethylencarbonat genannt wird, mit Phenolkomponenten gefunden.³⁶⁴

3.1.7.1 Experimentelle Durchführung

Die beschriebene Vorgehensweise entspricht mit einigen Modifikationen im Wesentlichen der von FUMAGALLI *et al.* beschriebenen Methode zur Synthese von 2-(2-Trifluoromethylphenoxy)ethanol.³²⁰ Bei dieser Methode wurde das jeweilige Azoxafluoren zunächst zusammen mit 1,2 Äquivalenten Ethylencarbonat als Elektrophil in drei bis fünf Milliliter DMF gelöst. Im Ansatz wurde außerdem ein Äquivalent Kaliumcarbonat als basische Komponente suspendiert. Das resultierende Gemisch wurde im Ölbad für zwei Stunden auf 153 Grad Celsius zum Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde nach dem Abkühlen auf RT zum Abbruch der Reaktion mit Wasser versetzt. Es folgte eine Extraktion mit Ethylacetat im Scheidetrichter, nach der die vereinigten organischen Phasen gegen Natriumhydroxidlösung ausgeschüttelt wurden. Das diente dazu, überschüssiges Ethylencarbonat in Kohlensäure und Ethylenglykol zu spalten, die sich nahezu ausschließlich in der wässrigen Phase anreicherten, und möglicherweise noch vorhandene Kohlensäureester der (2-Hydroxyethoxy)-azoxafluorene zu spalten. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit Natriumsulfat engte man diese im Anschluss am Rotationsvakuumverdampfer ein. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt, wobei sich Gemische aus Cyclohexan und Ethylacetat im Verhältnis 1:4 und 1:1 bewährt haben. Das isolierte Produkt konnte durch Umkristallisation aus Methanol oder Ethylacetat weiter aufgereinigt werden und wurde final als weißer bis beiger, kristalliner Feststoff in Ausbeuten von 83,4 bis 89,3 Prozent gewonnen. Hierbei wiesen 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivate, wahrscheinlich auf Grund der größeren sterischen

Behinderung der freien Hydroxy-Gruppe, eine etwas geringere Ausbeute als die nicht benzoanellierten Derivate auf.

3.1.7.2 Betrachtungen zur Durchführung und zum Reaktionsmechanismus

Wie die bereits in 3.1.5 und 3.1.6 erläuterte WILLIAMSON-Ethersynthesen, ist auch dieser Hydroxyethylierungsmechanismus durch einen nukleophilen Angriff eines Sauerstoff-Nukleophils gekennzeichnet. Den ersten Schritt dieser Reaktion stellt daher nach ZIOSI *et al.* die Deprotonierung der Phenolkomponente dar.³⁶⁵ Dies kann durch den Zusatz einer Base wie Lithiumhydrid oder Kaliumcarbonat erreicht werden.^{320,366} In neueren Veröffentlichungen werden auch quartäre Ammoniumsalze wie Tetrabutylammoniumfluorid als Katalysatoren eingesetzt.³⁶⁵ Als mögliche Erklärung für die funktionelle Effektivität dieser Verbindungen ohne basischen Charakter, ist die Stabilisierung des Phenolats in organischen Lösungsmitteln durch die Ausbildung eines lipophilen Ionenpaares denkbar. YOSHINOBO *et al.* gingen hingegen von der *in situ*-Bildung von Ethylenoxid über das Mediat eines β -Haloethoxidions durch den Zusatz dieser Tetraalkylammoniumhalogenide aus.³⁶⁷

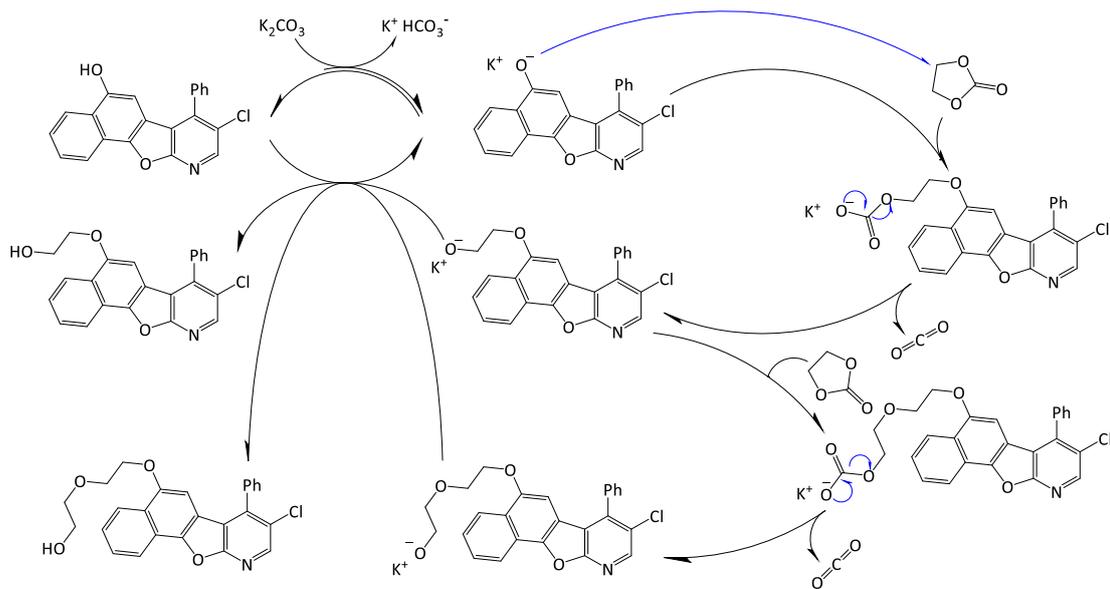


Abbildung 37: Schematische Darstellung des Reaktionsmechanismus der Synthese der 5-(2-Hydroxyethoxy)-10-aza-11-oxabenzofluorene am Beispiel von Verbindung **101** und des Nebenproduktes der 5-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)-10-aza-11-oxabenzofluorene am Beispiel von Verbindung **110**. Darstellung inspiriert von ZIOSI *et al.*³⁶⁸

Das Phenolat greift nach seiner Entstehung den cyclischen Kohlensäureester Ethylencarbonat an den Kohlenstoff-Atomen der Alkohol-Komponente an. Dadurch wird der zweifache cyclische Ester an einer Stelle geöffnet. Aus dem so gebildeten langgestreckten, einfachen Kohlensäureester spaltet sich in der Folge Kohlenstoffdioxid ab. So entsteht theoretisch ein äußerst kurzlebiges Alkoholat, das daraufhin ein weiteres Phenolmolekül deprotoniert und damit einen Reaktionskreislauf beginnt.³⁶⁵ Theoretisch kann das Alkoholat natürlich auch mit einem weiteren Molekül Ethylencarbonat reagieren. Dies würde zur Ausbildung von Hydroxyethoxy-Ketten vergleichbar mit einer kurzgekettigen PEGylierung führen.³⁶⁹

Dies ist in Abbildung 37 beispielhaft durch die Darstellung des Nebenprodukts Verbindung **110** (8-Chlor-5-(2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy)-7-phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin) gezeigt. Die Darstellung des 5-(2-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)ethoxy)-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorens ist der übersichtlicher nicht abgebildet. Es könnte aber analog zu Verbindung **110** durch nukleophilen Angriff des Alkoholats auf ein weiteres Molekül Ethylencarbonat gebildet werden. Bei der Umsetzung von Phenol mit Ethylencarbonat wird diese Reaktion jedoch nur in sehr geringem Umfang (unter 2 Prozent Ausbeute) und nur bei einem mehrfachen Überschuss an Ethylencarbonat beobachtet.³⁶⁸ Im Gegenteil dazu war die Ausbeute an mehrfach an einer Position hydroxyethoxylierten Produkten bei der Umsetzung der Azoxafluorenen wesentlich höher. Vor allem beim Einsatz von 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorenen wurde zunächst unter Einsatz von zwei Äquivalenten Ethylencarbonat das 5-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)-Derivat als Hauptprodukt isoliert. Eine wesentliche Anpassung zur von FUMAGALLI *et al.* verwendeten Methodik bestand daher in der Reduktion der zugegebenen Menge an Ethylencarbonat. Die bei diesen Umsetzungen eingesetzten Äquivalente mussten auf 1,2 verringert werden, um zu gewährleisten, dass vor allem das einfach hydroxyethylierte Derivat entstand. Diese Reduktion hatte aber auch erhöhte Reaktionszeiten und einen verringerten Umsatz zur Folge. Zu erklären ist die größere Tendenz zur mehrfachen Hydroxyethylierung in diesem Fall durch den hohen sterischen Anspruch des Azoxafluorenphenolats. Vor allem bei den benzoanellierten Azoxafluorenen ist der nukleophile Sauerstoff wesentlich schlechter zugänglich als bei einem einfachen Phenol. Daher ist die Deprotonierung der Phenol-Gruppe durch das kurzlebige Alkoholat im Vergleich zum nukleophilen Angriff desselben auf das gut zugängliche Ethylencarbonat benachteiligt. Ein größerer Überschuss an Ethylencarbonat verstärkt diesen Effekt zusätzlich. Bei der Wahl der basischen Komponente bzw. des Katalysators konnte bisher keine Verbesserung erreicht werden. Der Einsatz einer stärkeren Base in Form von bis zu einem Äquivalent Natriumhydrid in zuvor mittels Phosphorpentoxid getrocknetem DMF erwies sich als aufwendig und ohne nennenswerten Vorteil bei der Ausbeute an gewünschtem Endprodukt. Die Verwendung von 0,1 Äquivalenten Tetrabutylammoniumbromid als Katalysatoren führte nur zu einem geringen Umsatz von etwa dreißig Prozent.

Erheblichen Einfluss auf die Reaktion hatte die Wahl des Lösungsmittels. Praktisch wurden Toluol und DMF erprobt, die auch in der Veröffentlichung von FUMAGALLI *et al.* Anwendung fanden.³²⁰ Bei der versuchsweise variierten Synthese von Verbindung **101** zeigte der Ansatz mit DMF zusätzlich einen fast doppelt so hohen Umsatz nach drei Stunden Reaktionszeit, wie der Ansatz mit derselben Menge Toluol. Die Edukte mit Ausnahme des Kaliumcarbonats lagen in beiden Ansätzen vollständig gelöst vor. Ein Unterschied, der die unterschiedliche Eignung der Lösungsmittel erklären würde liegt, vielmehr in der Instabilität des DMF. Vor allem bei erhöhter Temperatur und basischen Zusätzen wird diese besonders relevant, denn DMF zersetzt sich unter Bildung von Dimethylamin und Formaldehyd.^{370,371} Da es sich bei Dimethylamin selbst um eine Base handelt, könnte sie zur Deprotonierung des Phenols beitragen. Dahingehende Versuche von KAO *et al.* konnten zeigen, dass die Hydroxyethylierungsreaktion in DMF auch ohne basischen Zusatz oder

Tetraalkylammoniumhalogenid-Zusatz ablaufen, wenn auch mit stark verringerter Reaktionsgeschwindigkeit.³⁶⁵

3.1.7.3 Eigenschaften und Strukturelle Analyse der Verbindungen

Die synthetisierten (2-Hydroxyethoxy)-Derivate wiesen in den untersuchten organischen Lösungsmitteln eine deutlich höhere Löslichkeit als die jeweiligen nicht substituierten 1-Aza-9-oxafluorene auf. Ihre Kristallisationsneigung war jedoch geringer und oft mit erheblichen Wartezeiten verbunden. Teilweise nahm die Bildung der Kristallisationskeime in der jeweiligen übersättigten Lösung mehrere Wochen Lagerung bei 2-8 Grad Celsius in Anspruch. Die zur Strukturanalyse aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren waren weitestgehend vergleichbar mit denen der Alkoxyazoxafluorene, die in Abschnitt 3.1.6.4 beschrieben worden sind. Die Signale des (2-Hydroxyethoxy)-Restes unterscheiden sich von Spektrum zu Spektrum jedoch teilweise. So konnte, wie im Ausschnitt des ¹H-Spektrums von Verbindung **98** in Abbildung 38 erkennbar, das Signal des Protons des aliphatischen Alkohols einerseits als verbreitertes Singulett detektiert werden. Dies entstand durch den schnellen Austausch der Protonen der Hydroxy-Gruppen der Moleküle untereinander oder mit denen des in der Lösung enthaltenen Wasser.^{372–374} In einigen Fällen, wie im Spektrum von Verbindung **100** (siehe Abbildung 38), war jedoch andererseits eine Aufspaltung dieses Protonensignals in ein Triplett zu erkennen. Dafür ausschlaggebend war der geringere Wassergehalt in diesen Spektren. Einen Hinweis auf diesen lieferte in den entsprechenden Spektren ein wesentlich kleineres HDO-Signals. Da DMSO noch weitaus weniger azid als Wasser ist, neigt es im Gegensatz zu diesem kaum zum Protonenaustausch.³⁷⁵

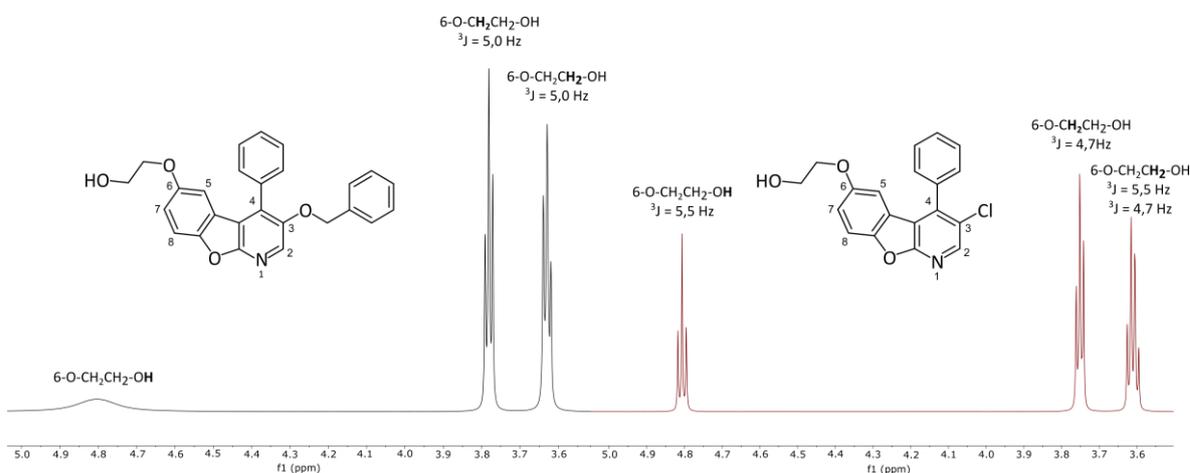


Abbildung 38: Ausschnitt von 5,05-3,5 ppm aus den ¹H-Spektren von Verbindung **98** (links, schwarz) und Verbindung **100** (rechts, rot) in deuteriertem DMSO bei 500 MHz.

Zusätzlich bildet es, ähnlich wie Aceton, starke Wasserstoffbrückenbindungen mit der Hydroxy-Gruppe aus und verlangsamt damit den Austausch zusätzlich.³⁷⁶ So wird die ³J-Kopplung zwischen den beiden Protonen des benachbarten C-Atoms mit der Hydroxy-Gruppe detektierbar. Aus diesem Grund liegen auch die Signale der Protonen an diesem benachbarten Kohlenstoff nicht wie im Spektrum von Verbindung **98** als Triplett sondern in diesem Fall als Triplett vom Dublett vor. Die Signale der Protonen der Ethylen-Gruppe sind, nicht in jedem Fall so klar

aufgelöst. Bei den Spektren von Verbindung **99**, **101** und **102** überlagerten sich die Signale aller vier Ethylen-Protonen zu einem einzigen Multipllett.

3.1.8 Syntheseversuch der 2-aminoethoxy-substituierten Azoxafluorene

Auf Grund der erfolgreichen Synthese der 6-(2-Hydroxyethoxy)-1-aza-9-oxafluorene bzw. 5-(2-Hydroxyethoxy)-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorene, wurde ein ähnliches Konzept zur Synthese von 6-(2-Aminoethoxy)-1-aza-9-oxafluorenen bzw. 5-(2-Aminoethoxy)-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorenen erprobt. Die Vorgehensweise orientierte sich dabei an den Erfahrungen von MCDUGALL *et al.*³⁷⁷ Dabei wurde an Stelle von Ethylencarbonat 2-Oxazolidinon als Elektrophil verwendet. Auf Grund der größeren Stabilität der Amid-Bindung im Vergleich zur Ester-Bindung wurden Kalium-*tert*-butanolat und Kaliumhydroxid, die eine höhere Basizität als das zuvor verwendete Kaliumcarbonat aufweisen, als Basen erprobt. DMF, Dioxan und 1-Hexanol wurden auf ihre Eignung als Lösungsmittel hin untersucht. Als Ausgangsstoffe für die Reaktion wurden die Chlorazoxafluorenen Verbindung **42** und **43** verwendet. Sie wurden in einer möglichst geringen Menge des entsprechenden Lösungsmittels bei RT gelöst und mit Zusatz von 1,6 Äquivalenten an 2-Oxazolidinon und 0,3 bis 1,0 Äquivalenten der entsprechenden Base versetzt. Der Ansatz wurde daraufhin im Ölbad zum Rückfluss erhitzt, bis ein vollständiger Umsatz erkennbar war. Da selbst nach zehn Stunden jedoch in keinem der Ansätze ein nennenswerter Umsatz dünnschichtchromatographisch detektiert werden konnte, wurde die Reaktion mittels Zugabe von Wasser nach Abkühlen des Ansatzes auf RT abgebrochen. Das nach Extraktion mit Chloroform und Entfernung desselben gewonnene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgetrennt und analysiert. Die entsprechenden Ausgangsstoffe ließen sich zum Großteil unverändert rückgewinnen.

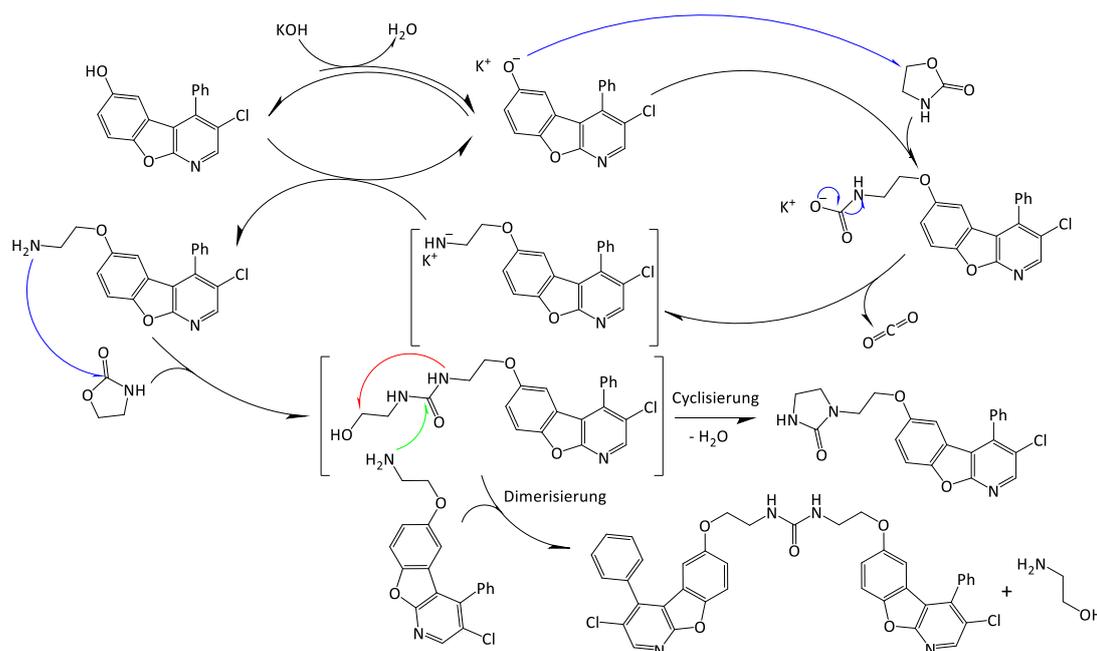


Abbildung 39: Postulierter Reaktionsmechanismus der erprobten Aminoethylierungsstrategie am Beispiel von Verbindung **42** als Ausgangsstoff. Dargestellt sind auch wahrscheinliche Nebenprodukte der Reaktion und ihre Entstehung nach den Erkenntnissen von MCDUGALL *et al.*³⁷⁷

Die gesuchten (2-Aminoethoxy)-Derivate oder andere Produkte, die sich über den postulierten Reaktionsmechanismus in Abbildung 39 erklären ließen, konnten nicht isoliert werden. 2-Oxazolidinon ließ sich im Rohprodukt bereits nicht mehr nachweisen. Da eine Deprotonierung der Phenol-Gruppe der Azoxafluorene bereits für schwächere Basen belegt zu sein scheint, ist es wahrscheinlich, dass das Problem auf eine mangelnde Interaktion des Phenolats mit dem 2-Oxazolidinon zurückzuführen ist.

Experimente, bei denen 3-Hydroxypyridin anstelle eines Azoxafluorens als Ausgangsstoffe verwendet wurden, konnten massenspektrometrisch Spuren des gewünschten 2-(Pyridin-3-yl(oxy))ethan-1-amin nachgewiesen werden, jedoch keine wägbaren Mengen isoliert werden. Der sterische Anspruch des Nucleophils ist demzufolge ebenfalls nicht allein ausschlaggebend für den Fehlschlag der Reaktion. Sinnvoll wäre das Überprüfen der Reaktion an einem noch simpleren Grundkörper wie Phenol und eventuell die Verwendung weiterer Basen wie Natrium- oder Lithiumhydrid. Im Rahmen dieser Dissertation konnten diese Untersuchungen nicht mehr durchgeführt werden.

3.1.9 Syntheseversuch von 1-Aza-9-oxafluorenen und α -Carbolenen mit *ortho*-Chinonen und stickstoffhaltigen *para*-Chinonen

Die Chinon-Variationen *o*-Benzochinon, *p*-Benzochinonimin und *p*-Benzochinondiimin wurden wie geplant nach der unter 3.1.4 beschriebenen Vorgehensweise versuchsweise mit 3-Benzyloxy-4-phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridin (Verbindung **19**) umgesetzt. Hierbei wurde jeweils sowohl die Wirksamkeit von Perchlorsäure, als auch von konzentrierter Schwefelsäure als Säurekomponente überprüft. In keinem Fall konnten die gewünschten Produkte isoliert werden.

Bei der Umsetzung von Verbindung **19** mit 1,3 bis 1,7 Äquivalenten *o*-Benzochinon wurde zu Beginn der Reaktion etwa 15 min nach Zufügen der Säurekomponente eine starke Verfärbung des Ansatzes nach dunkelrot bis schwarz beobachtet. Innerhalb der ersten vier Stunden des Reaktionsverlaufes konnte dünn-schichtchromatographisch vor allem eine Oxidation des *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridins zum entsprechenden 4-Phenylpyridin beobachtet werden. Unter Verwendung von Schwefelsäure war auf dem entsprechenden Dünnschichtchromatogram nach circa fünf Stunden das Entstehen eines sehr schwachen fluoreszierenden Spots zu beobachten mit einem R_f -Wert von 0,62 in LM 3 (siehe Abschnitt 5.1.2.2). Dieser war nur für etwa eine Stunde detektierbar und verschwand im weiteren Reaktionsverlauf. Bei wiederholter Durchführung konnte beim Abbruch der Reaktion nach 5 Stunden, ein Verschwinden des entsprechenden Spots bei der Überführung des Ansatzes ins alkalisch, wässrige Milieu beobachtet werden. In den nach einer Reaktionszeit von fünf, zehn und 30 Stunden abgebrochenen und aufgereinigten Reaktionsansätzen konnte lediglich das entsprechende 3-Benzyloxy-4-phenylpyridin nachgewiesen werden. Gründe für das Scheitern der Reaktion könnten das geringere Oxidationspotential des *o*-Benzochinons oder die geringere Wahrscheinlichkeit für die Ausbildung

des Übergangszustandes sein. Die Instabilität des möglicherweise gebildeten 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluorens könnte ebenfalls ausschlaggebend sein.

Der Einsatz des nur in absolutem Diethylether stabilen *p*-Benzochinonimins im Reaktionsansatz war selbst unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen schwer möglich. Die Lösung war im neutralen in einer maximalen Konzentration von etwa 0,02 mol pro Liter stabil (vgl. LERNER).³¹⁴ Auch unter Zugabe von den entsprechend geringeren Mengen Verbindung **19** blieb der Ansatz stabil. Die Zugabe von selbst minimalen Mengen an 70 prozentiger Perchlorsäure zum Ansatz führte zur sofortigen Zersetzung des Chinonimins. Die sehr hohe Instabilität des *p*-Benzochinonimins verhinderte damit eine effektive Umsetzung dieses Edukts. Der Ansatz wurde nicht weiterverfolgt.

Die Umsetzung von *p*-Benzochinondiimin gelang unter nahezu normalen Reaktionsbedingungen. Unter der Verwendung von Schwefelsäure wurde die angestrebte Endkonzentration der Säure im Ansatz auf 0,4 mol pro Liter verringert, um die auch hier ablaufende Zersetzungsreaktion des Chinondiimins zu verlangsamen. Alle zwei Stunden wurde dem Ansatz daher 0,3 Äquivalente *p*-Benzochinondiimin zugefügt. Dünnschichtchromatographisch konnte das Entstehen mehrerer sehr schwach fluoreszierender Spots mit R_f -Werten in LM 3 zwischen 0,3 und 0,7 beobachtet werden. Den Hauptspot stellte das 3-Benzoyloxy-4-phenylpyridin dar. Nach 18 Stunden wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser abgebrochen. Die säulenchromatographische Aufreinigung des im Anschluss gewonnen Rohprodukts erwies sich auf Grund einer großen Anzahl entstandener Nebenprodukte als sehr schwierig. Innerhalb der isolierten Fraktionen konnte das entsprechende α -Carbolin nicht nachgewiesen werden. Auf Grund der Instabilität des *p*-Benzochinondiimins stellt die Ringschlussreaktion, sollte sie ablaufen, eine weit untergeordnete Reaktion gegenüber den ablaufenden Oxidationsreaktionen der Edukte dar. Die Ermittlung eines nicht sauren, weniger oxidativen Katalysators für die Ringschlussreaktion, könnte in diesem Fall eventuell einen erfolgreichen Umsatz zum 1,4,4a,9a-Tetrahydro-1,9-diazafluoren ermöglichen. Dieses könnte dann womöglich in einem Folgeschritt zum 1,9-Diazafluoren oxidiert werden.

3.1.10 Syntheseversuch der 3-Amino-1-aza-9-oxafluorene bzw. 8-Amino-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene

Für die erstmalige Synthese der Aminoazoxafluorene, war ursprünglich eine Aminierung des jeweiligen Iodazoxafluorens geplant. Die Synthese der Iodazoxafluorene misslang aber aus unter 3.1.4.4 näher beschriebenen Gründen. Daher wurden im Folgenden das 3-Brom-1-aza-9-oxafluoren bzw. das 8-Brom-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren als Edukt für die erprobte Aminierungsreaktion herangezogen. Die Herstellung von Anilin-Derivaten durch Aminierung von Halogenaromaten mit Ammoniak als Nukleophil gelingt entweder unter hohem Druck und hoher Temperatur oder unter Verwendung eines Katalysators.³⁷⁸ Als Katalysatoren bekannt sind in diesem Fall Komplexe von Nickel-, Palladium- und Kupfer-Ionen mit mehreren

ein- oder zweizähligen Liganden.^{378,379} Auf Grund der höheren Kosten und Toxizität der benötigten Palladiumverbindungen sowie dem Risiko des Entstehens von Diazoxafluorenanilinen als unerwünschte Nebenprodukte wurde im Rahmen dieser Dissertation nicht auf diese zurückgegriffen.^{378,380} Stattdessen wurden Komplexe von Kupfer(I)iodid verwendet, das bereits durch die Verwendung bei der Synthese der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine zur Verfügung stand. Als chelatierender Ligand wurde zunächst nach Vorbild von Ji *et al.* Ascorbinsäure verwendet.³⁸⁰ Zusätzlich wurde eine schwache Base zum Gemisch hinzugefügt, die die ausreichende Deprotonierung der Ascorbinsäure gewährleisten sollte. Für die deprotonierte Säure wird die Ausbildung einer sechsgliedrigen, reaktiven Ringstruktur postuliert.

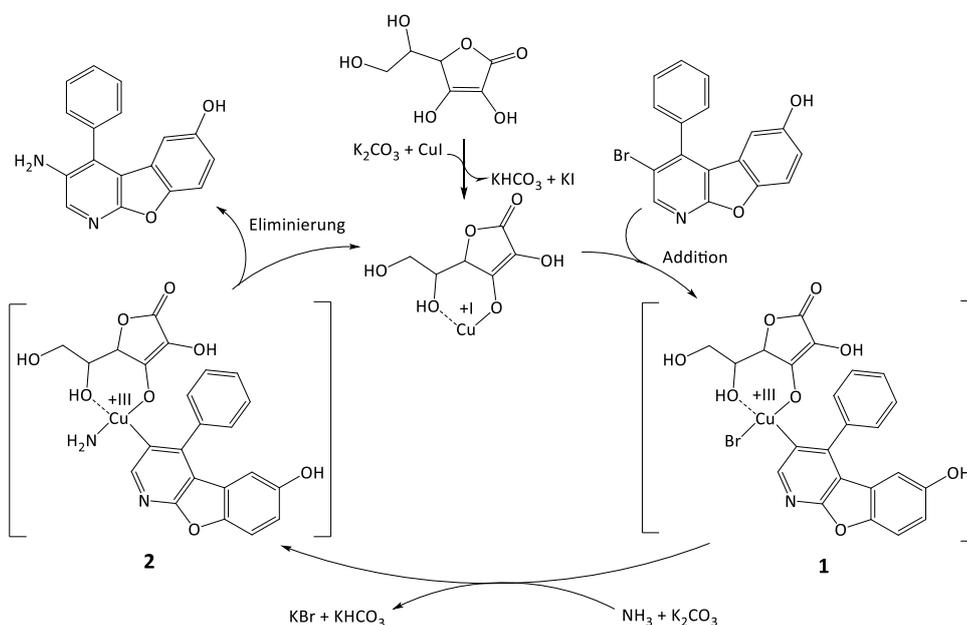


Abbildung 40: Angenommener Reaktionsmechanismus für die Aminierung von 3-Brom-1-aza-9-oxafluorenen dargestellt am Beispiel von Verbindung **50**. Inspiriert von ZENG, HUANG *et al.* und WELKER *et al.*^{347,378}

Diese bildet mit dem Bromzaoxafluoren durch oxidative Addition das in Abbildung 40 dargestellte Intermediat **1** aus.³⁷⁸ Für dieses ist ähnlich wie bereits für den unter 3.1.3.5 betrachteten Kupfer-Katalysatorkomplex eine theoretische Oxidationszahl von +III anzunehmen.³⁴⁷ In der Folge findet ein Austausch von Brom durch eine Amino-Gruppe innerhalb des Intermediats statt.³⁷⁸ In diesem Fall wurde konzentrierte wässrige Ammoniaklösung als Quelle der Stickstoffspezies verwendet. Die folgende reduktive Eliminierung bedingt nach Abspaltung des Aminozaoxafluorens die Regeneration des Katalysatorkomplexes.

Bei der ersten Erprobung der Methode wurden 35 mg 3-Brom-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol in 2 Milliliter DMSO gelöst. Zur Katalyse wurden 0,4 Äquivalente Kupferiodid und ein Äquivalente Ascorbinsäure zugegeben. Zusätzlich wurden dem Ansatz zwei Äquivalente Kaliumcarbonat als schwache Base und ein Überschuss an 4 Äquivalenten wässriger Ammoniaklösung zugefügt. Das Gemisch wurde unter Argon-Atmosphäre für insgesamt 34 Stunden auf 130 Grad Celsius erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt. Der zunächst gelbbraune Ansatz nahm dabei bereits

nach 20 min eine dunkelrote bis schwarze Färbung an. Dünnschichtchromatographisch ließ sich nach 10 Stunden neben einem nach wie vor deutlichen Edukt-Spot die Bildung eines neuen Produkts mit einem R_f -Wert von 0,25 in LM^3 ohne erkennbare Fluoreszenz bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 254 nm und 365 nm detektieren. Seine Intensität stieg im Reaktionsverlauf weiter an bis er nach 17 Stunden die gleiche Intensität wie der 1-Aza-9-oxafluoren-Eduktspot aufwies. Hiernach veränderten sich die Mengenverhältnisse auch nach Zugabe weiterer zwei Äquivalente Ammoniak nicht mehr wesentlich. Nach 32 Stunden wurde die Reaktion nach Abkühlen auf RT durch Zugabe von Eiswasser zum Ansatz abgebrochen. Im Anschluss wurde der gekühlte Ansatz dreimal mit einem Gemisch aus zu gleichen Teilen Ethylacetat und Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit *Brine* gewaschen. Durch Zugabe von Natriumsulfat und anschließende Filtration wurde danach noch vorhandenes Wasser größtenteils entfernt. Die organischen Lösungsmittel wurden durch Einsatz des Rotationsvakuumverdampfers abgetrennt und so 27 Milligramm eines rötlich braunen Rohprodukts gewonnen. Bei der anschließenden säulenchromatographische Aufreinigung desselben konnte das Edukt Verbindung **50** zum Teil wiedergewonnen werden. Das gewünschte 3-Amino-1-Aza-9-oxafluoren konnte jedoch nicht detektiert werden. Für den oben beschriebenen Spot konnte mittels ESI-Massenspektrometrie eine Addukt-Ion mit $m/z = 156,28$ detektiert werden. Diese Versuchsdurchführung wurde mehrfach modifiziert angewendet. So wurde die Äquivalentzahl der Liganden auf bis zu drei erhöht. Dies änderte den beobachteten Reaktionsverlauf nicht wesentlich.

Gründe für den Fehlschlag der Synthese sind vor allem in der Instabilität des Katalysatorkomplexes zu vermuten. Gerade in Anwesenheit von Wasser ist der Austausch katalytisch aktiver Liganden durch katalytisch inaktive Ammoniak-Moleküle begünstigt.³⁸⁰ Die Verwendung stärker komplexierender Liganden, wie Picolinsäure-*N*-oxid, könnte diese Problematik verringern.³⁷⁸ Auch die Verwendung von in Dioxan gelöstem Ammoniak könnte hier von Vorteil sein. Sollte auch dies nicht genügen, würde die Verwendung von maskiertem Ammoniak zum Beispiel in Form von Zinktrimethylsilylamid eine Möglichkeit darstellen.³⁸¹

3.2 Ergebnisse der Proteinkinaseinhibitionsassays

Im Rahmen der Dissertation wurde als erste Überprüfung der Eignung der synthetisierten Derivate als Wirkstoffe die inhibitorische Aktivität derselben gegen ausgewählte Proteinkinasen ermittelt. Die ersten Verbindungen wurden hierbei in Zusammenarbeit mit der PROQINASE GmbH (Freiburg) auf ihre Aktivität gegen CDK1 im Komplex mit Cyclin B (CDK1/B), GSK3 β , JNK3 und die Tyrosinkinase Fyn Wild Typ (Fyn wt) hin untersucht. Alle weiteren Testungen von Verbindungen mit inhibitorischem Potential wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von V. KRÝSTOF an der Palacký Universität Olomouc (Tschechische Republik) durchgeführt. Hierbei standen CDK1/B, CDK2 im Komplex mit Cyclin E (CDK2/E), GSK3 β und Fyn wt als Targets zur Verfügung.

Am Anfang der Aufnahme eines jeden Assays stand die Erstellung einer Verdünnungsreihe für die entsprechende Substanz. Die Aktivitätsbestimmung der Kinasen erfolgte in beiden Testlaboratorien nach einem vergleichbaren radiometrischen Prinzip. Dabei wurde das im Kinaseassay verwendete ATP mit einem definierten Anteil radioaktivem [γ - ^{33}P]-ATP versetzt. Die radioaktive Strahlung, die in Folge der Kinaseaktivität auf das Zielsubstrat übertragene ^{33}P -Phosphat-Gruppe ($^{33}\text{P}_i$), konnte nach anschließender Isolierung des Substrates quantitativ ausgewertet werden. So wurden für die einzelnen durch die Verdünnungsreihen gewonnenen Konzentrationen an Substanz die jeweiligen prozentualen Restaktivitäten nach Gleichung 1 bestimmt.

$$\text{prozentuale Restaktivität} = \frac{\text{Messwert} - \text{Negativkontrollwert}}{\text{Positivkontrollwert} - \text{Negativkontrollwert}} \times 100$$

Gleichung 1: Berechnung der prozentualen Restaktivität

Den dafür notwendigen Negativkontrollwert erhielt man durch die Vermessung des Ansatzes ohne Zugabe der Kinase oder der zu testenden Substanz. Die Positivkontrolle erfolgte analog nach Beifügen der jeweiligen Kinase. Die so erhaltenen prozentualen Restaktivitäten der Verdünnungsreihen konnten dann zur *Software*-assistierten Generierung inhibitorischer Kenngrößen der entsprechend wirksamen Substanzen verwendet werden. Die mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) war dabei der entscheidende Parameter. Sie wird definiert als Konzentration eines Inhibitors, bei der eine halbmaximale Hemmung des jeweiligen Enzyms ermittelt werden kann.³⁸² Im Rahmen der Testung durch die PROQINASE GmbH wurden bei allen Verdünnungsreihen IC_{50} -Werte bis maximal 100 Mikromol pro Liter für die Testsubstanzen bestimmt. Bei den im Arbeitskreis von V. KRSTOF durchgeführten Messungen wurden bei CDK1/B bis 20 Mikromol pro Liter und bei CDK2/E IC_{50} -Werte bis zu 100 Mikromol pro Liter bestimmt. Im Falle der Messungen an Fyn wt und GSK-3 β wurden IC_{50} -Werte lediglich für Testsubstanzen bestimmt, die bei einer Konzentration von zehn Mikromol pro Liter Substanz und ein Mikromol ATP pro Liter eine prozentuale Restaktivität von unter 58 Prozent aufwiesen. Im Falle von höheren Restaktivitäten als 58 Prozent wurde der IC_{50} -Wert bei den Verbindungen als >10 Mikromol pro Liter definiert. In Einzelfällen wurden aber IC_{50} -Werte bis 20 Mikromol pro Liter bestimmt, wenn vorherige Untersuchungen auf eine Aktivität hindeuteten. Da die an CDK1/B und CDK2/E getesteten Verbindungen trotz der sehr hohen Homologie der Proteinkinasen teilweise Unterschiede in ihren Aktivitäten zeigten, wurden weitere Testkapazitäten zur Dreifach- bis Fünffach-Bestimmung der entsprechenden IC_{50} -Werte an diesen Kinasen genutzt.

Die ermittelten IC_{50} -Werte stellen keine unabhängigen enzymkinetischen Kenngrößen dar. Sie können in Abhängigkeit zu den Versuchsbedingungen des jeweiligen Assays variieren. Besonders ausschlaggebend sind hierbei Faktoren wie Substratkonzentration, Kinasenkonzentration und –aktivität, sowie die Herstellungsbedingungen der Kinase.^{383,384} Da innerhalb der einzelnen

$$K_i = \frac{IC_{50} - 0,5[E]}{\frac{[S]}{K_m} + 1}$$

Gleichung 2: Modifizierte Cheng-Prusoff-Gleichung für kompetitiv bindende Inhibitoren.³⁸¹

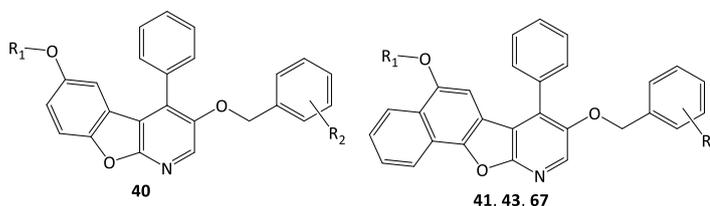
Test-Assays unterschiedliche ATP-Konzentrationen von 0,3 bis 15 Mikromol pro Liter eingesetzt wurden, benötigte man, um die Vergleichbarkeit der Werte zu gewährleisten, eine von dieser unabhängigen enzymkinetischen Kenngröße. Daher wurde aus den bisher ermittelten IC₅₀-Werten mittels Gleichung 2 die entsprechenden Affinitätskonstanten (K_i-Werte) berechnet.³⁸⁵⁻³⁸⁷ Als Voraussetzung für die

Anwendbarkeit der Gleichung gilt ein kompetitiver Bindungsmodus, der von VOIGT für 3-Benzyloxy-substituierte 1-Aza-9-oxafluorene belegt werden konnte.³⁰⁰ Die angegebenen K_i-Werte wurden aus den Mittelwerten der bestimmten IC₅₀-Werte errechnet.

3.2.1 Auswahl der Testsubstanzen und ermittelte K_i-Werte

Tabelle 8: Strukturübersicht für die durch die PROQINASE GmbH getesteten Verbindungen.

Verbindung	Rest R ₁	Rest R ₂
40	H	2-Cl
41	H	2-Cl
43	H	3-Cl
67	CH ₂ CH ₃	H



Die Testung der Substanzen durch die PROQINASE GmbH orientierte sich am damaligen experimentellen Fortschritt und sollte erste Hinweise für die Ausrichtung der weiteren Syntheseroute geben. Die auf ihre inhibitorische Aktivität hin getesteten Verbindungen sind in Tabelle 8 dargestellt. Die für sie ermittelten K_i-Werte sind Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Durchschnittliche K_i-Werte für die durch die PROQINASE GmbH getesteten Verbindungen. V. = Verbindung

V.	K _i [μM]					V.	K _i [μM]				
	CDK1/B	ERK2	Fyn wt	GSK3β	JNK3		CDK1/B	ERK2	Fyn wt	GSK3β	JNK3
40	-	-	58,8	60,8	18,9	43	29,5	57,7	-	-	-
41	-	-	3,8	-	-	67	-	-	2,1	-	-

Eine möglichst vollständige und einheitliche Testung wurde am Ende der synthetischen Arbeiten durchgeführt. Hierbei wurden einige Substanzen auf Grund nicht zu erwartender Testaktivität zunächst von der Testung ausgeschlossen. Es wurde so zum Beispiel vorerst auf die biologische Testung der 3-Chlor-1-aza-9-oxafluoren- bzw. 8-Chlor-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivate verzichtet. Die Untersuchungen im Rahmen der Dissertation von VOIGT und TELL legten den Schluss nahe, dass diese höchstwahrscheinlich keine Aktivität an CDK1 oder 2 oder GSK3β aufweisen würden.^{300,301} Ihre primäre Funktion im Rahmen dieser Arbeit lag in der Synthesenoptimierung. Durch ihre sehr gute synthetische Zugänglichkeit ermöglichten sie eine schnelle praktische Erprobung verschiedener Methoden zur Verbesserung des Ringschlusses und der Substituierungen an der freien Phenol-Gruppe. In Folge geringer Testkapazitäten wurden zunächst lediglich einzelne Vertreter der 6-Propoxy- und 6-Isopropoxy-1-aza-9-oxafluorene bzw

8-Propoxy- und 8-Isopropoxy-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorene getestet. Auf Grund der Testergebnisse wurden in der Folge einige weitere Vertreter dieser Verbindungsklassen auf ihre inhibitorische Aktivität überprüft. Außerdem wurden weitere Derivate mit einem Brom-Rest in Position 3 bzw. 8 nachträglich getestet. Auch die beiden Chlorazoxafluorene mit (2-Hydroxyethoxy)-Rest wurden auf Grund der interessanten Ergebnisse anderer Derivate mit gleichem Rest entsprechend geprüft. Eine tabellarische Übersicht für die Strukturen der insgesamt 47 Substanzen beider Testläufe ist im Abschnitt 7.2.1 in Tabelle 18 zu finden. In Tabelle 10 sind die K_i -Werte von 10 Verbindungen dargestellt, für die unter den beschriebenen Voraussetzungen IC_{50} -Werte ermittelt werden konnten.

Tabelle 10: Errechnete durchschnittliche K_i -Werte für die durch den Arbeitskreis von V. KRYSSTOF getesteten Verbindungen. V. = Verbindungen. - = nicht bestimmt.

V.	K_i [μM]				V	K_i [μM]			
	CDK1/B	CDK2/E	Fyn wt	GSK3 β		CDK1/B	CDK2/E	Fyn wt	GSK3 β
30	1,03	-	-	-	53	0,35	0,66	-	1,75
32	0,08	0,08	-	2,82	55	0,31	1,08	-	1,41
46	0,7	-	-	3,02	68	-	-	4,16	-
47			14,11		70			12,84	
51	-	12,3	-	-	98	0,31	-	-	-
52	0,96	0,52	-	-					

Eine getrennte Aufzählung mit den entsprechenden ermittelten Restaktivitäten (RA) der Proteinkinasen bei einer Substanzkonzentration von 10 Mikromol pro Liter und IC_{50} -Werten findet sich ebenfalls in Abschnitt 7.2.1 des Anhangs.

3.2.2 Auswertung und Interpretation der Testergebnisse

3.2.2.1 Testergebnisse der PROQINASE GmbH

Ein Großteil der früheren Kinaseinhibitionsassays von strukturähnlichen Azoxafluorenen ist in Kooperation mit der PROQINASE GmbH nach derselben Methodik durchgeführt worden. Daher gilt eine Vergleichbarkeit der so ermittelten K_i -Werte als gegeben.

Tabelle 11: K_i -Werte der verschieden am Benzylring substituierten 3-Benzylxy-1-aza-9-oxafluoren-Derivate. * = Daten aus der Dissertation von TELL.³⁰¹ ** = Daten entstammen der Dissertation von KRUG.³⁰²

Rest am Benzylring	H (Verbindung 38)	2-Cl (Verbindung 40)	3-Cl (Verbindung 42)	4-Cl (Verbindung 44)
K_i CDK1/B [μM]	2,3*	>100	3,19**	3,75**
K_i GSK3 β [μM]	5,8*	60,8	>100**	>100**

Verbindung **40** zeigt keine Hemmung von CDK1/B und geringe Affinität zu GSK3 β . Aus weiteren Veröffentlichungen lassen sich die für die selben Kinasen K_i -Werte des am Benzylring unsubstituierten Derivats sowie der entsprechenden *meta*- und *para*-Chlor-substituierten Derivate zusammentragen (siehe Tabelle 11).^{302,303} Der direkte Vergleich der K_i -Werte, die in

Tabelle 11 dargestellt sind, zeigt, dass ein Chlor-Substituent am Benzyloxy-Ring in Position 3 oder 4 im Gegenteil zur *ortho*-Position die Inhibition weniger stark verringert. Stattdessen lässt sich gegenüber dem unsubstituierten Derivat nur ein geringfügiger Anstieg der K_i -Werte beobachten.

Die Inaktivität der *ortho*-Chlor-substituierten Verbindung lässt sich nicht allein auf eine Einschränkung der Ausrichtung des Aromaten der Benzyloxy-Gruppe zur hydrophoben lösungsmittel-exponierten Region erklären. Wahrscheinlicher ist, dass der sterische Anspruch des Chlor-Restes vielleicht sogar eine Inversion des theoretischen Bindungsmodus bedingt, wie sie bei den 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorenen postuliert wurde (siehe Abbildung 8, Seite 35). An der GSK3 β scheint ein Chlor-Substituent am Benzyl-Ring generell nachteilig für die Affinität zur Bindetasche zu sein. An Position 2 wird der Substituent besser toleriert als in *meta*- oder *para*-Position. Auch hier gilt eine ähnliche Vermutung, wie sie schon bei der Hemmung von CDK1/B aufgestellt wurde: Ein höherer sterischer Anspruch des Benzyloxy-Rings ohne weitere Wasserstoffbrückenakzeptor oder -donor verhindert eine effektive Interaktion des Derivats mit dem aktiven Zentrum von GSK3 β .

Verbindung **40** stellt das einzige dieser Derivate dar, dass auf seine inhibitorische Aktivität gegen JNK3 und Fyn wt getestet worden ist. Die K_i -Werte weisen mit 18,9 Mikromol pro Liter bei JNK3 und 58,8 Mikromol pro Liter bei Fyn wt höhere Hemmaktivitäten als bei den anderen Proteinkinasen auf. Unter Berücksichtigung der Strukturanalysen von SCHADE an Fyn kann zumindest angenommen werden, dass auch bei dieser Verbindung eine WBB zwischen dem Pyridin-Stickstoff und Methionin 85 (Met85) der *Hinge*-Region entscheidend für die Interaktion der Verbindung mit dieser Proteinkinase ist.³³⁴ Die Ähnlichkeit von Verbindung **40** zum von ROBAA bereits an Fyn gedockten 6-Hydroxy-*N*,4-diphenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-3-carboxamid lässt eine Ausrichtung des Benzyloxy-Ringes in Richtung der *Gatekeeper*-AS vermuten.³³⁴

Tabelle 12: K_i -Werte der verschieden am Benzylring und an Position 5 substituierten 8-Benzyloxy-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivate

Verbindungsnummer	39	41	43	67
Rest am Benzylring	H	2-Cl	3-Cl	H
Rest an Position 5	OH	OH	OH	OCH ₂ CH ₃
K_i CDK1/B [μ M]	0,088	>100	29,5	>100
K_i ERK2 [μ M]	1,5	>100	57,7	>100
K_i GSK3 β [μ M]	1,6	>100	>100	>100
K_i Fyn wt [μ M]	n.d.	3,8	>100	2,06
K_i JNK3 [μ M]	0,67	>100	>100	>100

Im Falle der 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene können die Ergebnisse mit den aus der Dissertation von TELL gewonnenen Testergebnissen für das am Benzyloxy-Ring unsubstituierte Derivat verglichen werden (siehe Tabelle 12).³⁰¹ Klar erkennbar ist, dass sich auch bei den benzoanellierten Derivaten eine *ortho*- oder *meta*-Chlor-Substituierung des Benzyloxy-Ringes

nachteilig auf die Hemmaktivität an GSK3 β auswirkt. Zusätzlich wird dieser Effekt an der JNK3 beobachtet. An der CDK1/B wird wiederum der Chlor-Rest in Position 3 besser toleriert, bedingt aber eine starke Abnahme der Affinität im Vergleich zum unsubstituierten Derivat. Eine sterische Behinderung der Ausrichtung des Benzyloxy-Rings könnte hier entscheidend sein, da bei der Bindung des an diesem Rest unsubstituierten Derivat Verbindung **39** an CDK1/B hydrophobe Interaktionen des Benzyloxy-Rings mit dem Aromaten der *Gatekeeper*-AS Phe80 angenommen wird.³⁰¹

Auffällig ist auch, dass die 2-Chlorbenzyl-substituierte Verbindung **41** mit einem K_i -Wert von 3,8 Mikromol pro Liter im Gegenteil zur *meta*-substituierten Variante Hemmaktivitäten gegen Fyn aufweist. Ebenso erweist sich die an Position 5 ethoxylierte Verbindung **67** als Inhibitor der Proteinkinase Fyn. Die bisher durchgeführten *Docking*-Untersuchungen lassen eine Ausrichtung dieser Derivate mit dem anellierten Phenyl-Ring in Richtung der *Gatekeeper*-AS und mit der 8-Benzyloxy-Gruppe in Richtung lösungsmittlexponierter Region vermuten. Neben der bereits erwähnten WBB zu Met85 bildeten von SCHADE überprüfte 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene in diesem Fall, im Gegenteil zum Bindungsmodus an CDK1/B oder GSK3 β , keine weitere über die Phenol-Gruppe vermittelte WBB aus.³³⁴ Daher scheint eine Erweiterung des lipophilen Systems durch eine Ethoxy-Gruppe für die Bindung an Fyn vorteilhaft, wodurch jedoch gleichzeitig die Aktivität an CDK1/B und GSK3 β verloren geht. Zur weiteren Untersuchung dieser Aktivität an Fyn wurde trotz der zu erwartenden Inaktivität der Derivate an CDK1/B und GSK3 β , weitere 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene mit 2-Chlorbenzyloxy-Resten und 5-Alkoxy-Gruppen überprüft.

Als neuer Inhibitor, der sowohl an den Serin/Threonin-Proteinkinasen GSK3 β und JNK3 als auch an der Tyrosin-Proteinkinase Fyn Aktivitäten aufwies, konnte in dieser Testreihe nur Verbindung **40** identifiziert werden. Die K_i -Werte zwischen 18,9 und 60,8 Mikromol pro Liter weisen aber nur eine sehr geringe Affinität des Inhibitors zu den Kinasen nach.

3.2.2.2 Testergebnisse des Arbeitskreises von V. KRSTOF

Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit bei der höheren Zahl der getesteten Verbindungen werden die Ergebnisse der Hemmung der verschiedenen Kinasen zunächst isoliert betrachtet. Hierbei sind die Ergebnisse von CDK1/B und CDK2/E auf Grund der hohen Homologie ihrer aktiven Zentren und der daraus resultierenden sehr ähnlichen Ergebnisse in einem Abschnitt zusammengefasst. Nicht bei allen Verbindungen standen IC_{50} -Werte bzw. daraus resultierenden K_i -Werten zur Verfügung, da sie nur unter den in Abschnitt 3.2. definierten Bedingungen exakt quantifiziert worden waren. Daher wird im folgenden Abschnitt als zusätzliche Vergleichsgröße auf die prozentuale Restaktivität (RA) der Proteinkinasen bei einer Inhibitorkonzentration von 10 Mikromol pro Liter zurückgegriffen. Sie ist weit weniger aussagekräftig als ermittelte K_i -Werte.

Auswertung der Inhibition von CDK1/B und CDK2/E durch die Zielverbindungen

In vorherigen Publikationen waren Hemmaktivitäten an CDK1/B und CDK5/p25 für 3-Methoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol ($K_i(\text{CDK1/B}) = 5,3 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK5/p25}) = 24,0 \mu\text{M}$) und 3-Ethoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,17 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK5/p25}) = 0,46 \mu\text{M}$) bestimmt worden.^{303,304} Mit der Testung von Verbindung **32** konnte gezeigt werden, dass eine weitere Vergrößerung des Alkoxy-Restes in Position 3, wie dessen Isopropoxy-Rest, die guten Hemmeigenschaften an CDK1/B weiter verbessert ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,08 \mu\text{M}$). Eine hohe inhibitorische Aktivität konnte auch an CDK2/E nachgewiesen werden ($K_i(\text{CDK2/E}) = 0,08 \mu\text{M}$). Das korrespondierende benzoanellierte Derivat Verbindung **33** ist hingegen als weitaus inaktiver einzustufen. Mit 64,9 Prozent Restaktivität von CDK1/B zeigt es noch marginale inhibitorische Effekte. Die Ergebnisse für die anderen 8-Alkoxy-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluorene zeigen ebenfalls eine Verschlechterung zu den bisher ermittelten Hemmaktivitäten ihrer 1-Aza-9-oxafluoren-Analoga. Hierbei erweist sich vor allem das 8-Propoxy-Derivat als inaktiv gegenüber CDK1 und CDK2, während das Isopropoxy-Derivat und vor allem das Ethoxy-Derivat noch Aktivitäten an beiden aufweisen (**30**: $K_i(\text{CDK1/B}) = 1,03 \mu\text{M}$; $\text{RA}(\text{CDK2/E}) = 66,5 \%$; **33**: $\text{RA}(\text{CDK1/B}) = 64,9 \%$; $\text{RA}(\text{CDK2/E}) = 76,6 \%$). Warum genau der langgestreckte Alkylrest besonders inaktivierend wirkt, ist unklar. Den Vorteil von wenig raumfordernden Resten an Position 8 der 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene bestätigt aber auch die Testung der sterisch weniger anspruchsvollen Verbindung **53**. Das an Position 8 unsubstituierte Derivat weist an beiden untersuchten CDKs submikromolare K_i -Werte auf ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,35 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 0,66 \mu\text{M}$). Der Bindungsmodus all dieser 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene gleicht wahrscheinlich dem in Abbildung 8 auf Seite 35 dargestellten invertierten Bindungsmodus für Verbindung **39**. Aus den Aktivitäten lässt sich schlussfolgern, dass für Hemmkonstanten im unteren nanomolaren Bereich, wie sie bei dem zuvor synthetisierten 7-Phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5,8-diol ermittelt werden konnten, ein Wasserstoffbrückendonator an Position 8 erforderlich ist. Ein an dieser Position unsubstituiertes Derivat zeigt ohne die von dieser Gruppe ausgebildete WBB eine verringerte aber akzeptable inhibitorische Aktivität. Bei kurzen oder kleinen, verzweigten Alkoxy-Resten ist ein ähnlicher Bindungsmodus möglich, aber mit noch geringerer Affinität zum aktiven Zentrum verbunden. Beim *n*-Propoxy-Rest scheint der Bindungsmodus sterisch eingeschränkt zu sein und die Affinität nimmt sehr stark ab. Das zu Verbindung **53** analoge unsubstituierte 1-Aza-9-oxafluoren Verbindung **52** zeigt ebenfalls gute Aktivitäten an den untersuchten CDKs ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,96 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 0,52 \mu\text{M}$). Auch hier werden jedoch Hemmwerte im unteren nanomolaren Bereich nicht erreicht, wofür erneut das Fehlen eines Wasserstoffbrückendonors, hier in Position 3, verantwortlich gemacht werden kann. Für das 3-Brom-1-aza-9-oxafluoren Verbindung **50** wurde von VOIGT eine duale Hemmung der CDK2/A und CDK4/Cyclin D nachgewiesen ($\text{IC}_{50}(\text{CDK2/A}) = 3,2 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50}(\text{CDK4/D}) = 28,7 \mu\text{M}$).³⁰⁰ Das 8-Brom-10-aza-11-oxabenz[*a*]fluoren Verbindung **51** zeigte gegenüber der Kinase CDK2/E noch eine geringfügige Hemmung und war gegenüber CDK1/B inaktiv ($\text{RA}(\text{CDK1/B}) = 85,3 \%$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 12,3 \mu\text{M}$). Im Vergleich wies das

entsprechende 8-Fluor-Derivat bei der Testung durch TELL einen niedrigen mikromolaren K_i -Wert gegenüber CDK1/B auf ($K_i(\text{CDK1/B}) = 1,1 \mu\text{M}$).³⁰¹ Es besteht die Möglichkeit, dass die geringere Aktivität von Verbindung **51** durch die wesentlich geringere Elektronegativität oder einen höheren sterischen Anspruch des Halogen-Restes zustande kommt.

Für Verbindung **46** zeigen die Messergebnisse ein inhibitorisches Potential gegenüber CDK1/B ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,7 \mu\text{M}$; $\text{RA}(\text{CDK2/E}) = 53,1 \%$). Als Erklärung dafür kann auf die in Abschnitt 3.2.2.1 gemachte Aussage zum 3-Chlorbenzyl-1-aza-9-oxafluoren verwiesen werden. Bei Substituierungen am 8-Benzylring der 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene bewirken Chlor- und Methoxy-Substituenten bei sonst unveretherten Derivaten eine starke Abnahme der Hemmung von CDK1/B und einer etwas geringeren Abnahme der Hemmung von CDK2/E (vgl. RA bei **41**, **43** und **45**) Hierbei wird ein Rest in *meta*-Position besser toleriert.

Bei der Betrachtung der Modifikationen konnte außerdem gezeigt werden, dass eine Veretherung der 1-Aza-9-oxafluorene an Position 6 bzw. der 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene an Position 5 größtenteils zum Aktivitätsverlust der Verbindung an CDK1 und CDK2 führt, die sich in einer sehr hohen Restaktivität zeigt. So weisen die Verbindungen **56** bis **90** Restaktivitäten von CDK2/E zwischen 75,6 und 104,0 Prozent auf. Bei den 1-Aza-9-oxafluorenen erklärt sich die Affinitätsabnahme darüber, dass die Alkoxy-Derivate nicht mehr in der Lage sind eine WBB zwischen der 6-Hydroxy-Gruppe und Alanin 143 (Ala143) auszubilden. Bei den 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorenen ist durch die Veretherung eine WBB mit Ile10 der Phosphat-Bindungsregion nicht mehr möglich. Diese scheint für die Stabilisierung des für die 10-Aza-11-oxabenz[o]fluorene angenommenen, im Vergleich zu den 1-Aza-9-oxafluorenen invertierten, Bindungsmodus essentiell zu sein. Eine Ausnahme von dieser Regel bildet das 6-Methoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin (Verbindung **55**). Dieses Derivat weist gute Hemmaktivitäten an CDK1/B und CDK2/E auf ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,31 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 1,08 \mu\text{M}$). Die Hemmwirkung von Verbindung **55** lässt sich durch die hohe Flexibilität des Moleküls bezüglich seiner Ausrichtung in der Bindungstasche gegenüber Verbindungen mit größerem Rest in Position 3 erklären. Dadurch wäre es dem Molekül möglich eine Position in der Bindetasche einzunehmen, in der neben der essentiellen WBB zwischen dem Pyridin-Stickstoff und Leucin 83 (Leu83) die Oxy-Gruppe in Position 6 als Akzeptor für eine weitere WBB dienen könnte. Ein solcher Bindungsmodus ist bereits für die Hemmung von GSK3 β durch 3-Benzyl-6-methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin beschrieben worden (vgl. Abbildung 8 Seite 35).³⁰¹

Eine weitere Ausnahme bildet das 6-(2-Hydroxyethoxy)-1-aza-9-oxafluoren Verbindung **98**. Im Gegenteil zu seinem benzoanellierten Analogon weist diese Hemmaktivitäten an den untersuchten CDKs auf ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,38 \mu\text{M}$; $\text{RA}(\text{CDK2/E}) = 51,3 \%$). Eine Erklärung hierfür würde die Ausbildung derselben oder einer anderen WBB durch die neue Hydroxy-Gruppe liefern. Auch die untersuchten hydroxyethoxylierten 3-Chlor-1-aza-9-oxafluorene Verbindung **100** bewirkte vergleichsweise geringe Restaktivitäten der untersuchten CDKs ($\text{RA}(\text{CDK1/B}) = 58,7 \%$,

RA(CDK2/E) = 54,2 %). Für die Verbindung **98** wurden zur Aufklärung dieses Sachverhalts Docking-Untersuchungen an CDK1/B durchgeführt (siehe Abschnitt 3.3).

Auswertung der Inhibition von Fyn wt durch die Zielverbindungen

Nur wenige der untersuchten Verbindungen wiesen relevante inhibitorische Aktivitäten an Fyn wt auf. Die K_i -Werte unter fünf Mikromol pro Liter, die im Rahmen der Testung durch die PROQINASE GMBH für Verbindung **41** und **67** ermittelt wurden, konnten durch diese neue Testreihe nicht bestätigt werden. Verbindung **67** zeigte mit einer RA von 60,7 Prozent aber zumindest einen den vorherigen Ergebnissen nahekommenden Wert. Das 3-Benzoyloxy-6-ethoxy-1-aza-9-oxafluoren wies mit einer Restaktivität von 71,1 Prozent eine wesentlich geringere Hemmwirkung in diesem zweiten Assay auf. Als möglicherweise ausschlaggebender Grund für die abweichenden Ergebnisse kann die unterschiedliche Konzentration an DMSO in den jeweiligen Assays in Betracht gezogen werden. Diese war im ³³PANQINASE-Assay der PROQINASE GMBH mit einem Volumenprozent um mindestens den Faktor 50 größer als im Assay des Arbeitskreises von V. KRYSOF. Bei lipophilen Substanzen wie Verbindung **67** kann dies die Löslichkeit und damit die effektive Inhibition der Kinase beeinflussen.³⁸⁸ Der einzige gefundene Inhibitor mit freier Phenol-Gruppe in diesem Assay war Verbindung **47** ($K_i(\text{Fyn wt}) = 14,11 \mu\text{M}$). Seine, wenn auch geringe, Aktivität steht im Widerspruch zu der Inaktivität des entsprechenden 3-Chlorbenzyloxy-Derivats Verbindung **43**. Hydrophile Wechselwirkungen des Sauerstoffatoms oder hydrophobe Wechselwirkungen der Methoxy-Gruppe würden hierfür eine Erklärung liefern. Als weitere Verbindung mit relevanter inhibitorischer Aktivität an der Tyrosinkinase konnte 3-(2-Chlorbenzyloxy)-6-ethoxy-4-phenylbenz[3,4]furo[2,4-*b*]pyridin (Verbindung **68**) identifiziert werden ($K_i(\text{Fyn wt}) = 4,16 \mu\text{M}$). Auch das analog ethylierte 3-(3-Chlorbenzyloxy)-Derivat Verbindung **70** zeigte noch eine geringe hemmende Wirkung ($K_i(\text{Fyn wt}) = 12,84 \mu\text{M}$). Die entsprechend substituierten 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren Verbindung **69** und Verbindung **71** zeigten hingegen keine Hemmung von Fyn wt. Bei der Auswertung aller Restaktivitäten konnte kein genereller Vorteil der Ethoxylierung bezüglich der Hemmaktivität der Verbindungen festgestellt werden. Auch die Benzoanellierung stellte keinen spezifischen Vor- oder Nachteil für die Aktivitäten dar. Eine Begünstigung ließ sich für die Chlor-Substituierung eines Benzyl-Ringes in Position 2 feststellen.

Das Propoxylieren und Isopropoxylieren der Phenol-Gruppe hatte unterschiedliche Effekte für die 1-Aza-9-oxafluorene und die 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene. Bei ersteren führte die Vergrößerung des angefügten Alkoxy-Restes eher zu einer Verringerung der RA (siehe z.B. Verbindung **68**, **78** und **89**). Bei letzteren hingegen erzeugte eine Propoxylierung Derivate mit ähnlichen Hemmaktivitäten wie eine Ethoxylierung. Eine Isopropoxylierung führte jedoch zum Wirkungsverlust der jeweiligen Derivate (vgl. Verbindung **67**, **79** und **90**). Das könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Isopropoxy-Gruppe bei den tetrazyklischen 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluoren-Derivaten in ihrer Ausrichtung durch den anellierten Benzol-Ring

eingeschränkter ist als die unverzweigten Alkan-Reste. Dies könnte sich unvorteilhaft auf den Bindungsmodus auswirken.

Zu niedrige Restaktivitäten wiesen die 2-Hydroxyethoxy-Derivate Verbindung **98** und **102** auf (**98**: RA = 63,0 %; **102**: RA = 64,1 %). Die Hoffnung durch diese im Vergleich zu Ethyl-, Propyl- oder Isopropyl-Gruppen hydrophilere Substitution eine potente duale Inhibition von CDK1 und der Tyrosinkinase Fyn zu erreichen, erfüllte sich jedoch nicht.

Auswertung der Inhibition von GSK3 β durch die Zielverbindungen

Wie bereits in der Auswertung der Restaktivitäten von CDK1/B und CDK2/E erwähnt, führte eine Veretherung der freien Phenol-Gruppe auch bei der Testung an GSK3 β zur Inaktivität der entsprechenden Verbindungen. Ausschlaggebend ist in diesem Fall wiederum, dass durch diese Derivatisierung eine WBB zwischen der Phenol-Gruppe und in diesem Fall Cys199 bei den 1-Aza-9-oxafluorenen oder Ile62 bei den 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-*b*]pyridinen nicht mehr möglich ist.³⁰¹ Hierbei stellen auch die 3-Benzoyloxy-6-methoxy-1-aza-9-oxafluoren-Derivate keine Ausnahme dar, auch wenn für 3-Benzoyloxy-6-methoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin von TELL nanomolare Aktivitäten an GSK3 β nachgewiesen werden konnten ($K_i(\text{GSK3}\beta) = 0,02 \mu\text{M}$).³⁰¹ Es ist daher zu vermuten, dass weitere raumfordernde Reste die Ausrichtung des 3-Benzoyloxy-Restes in Richtung der *Gatekeeper*-AS sterisch hindern und der im Vergleich zu nicht-methoxylierten Derivaten invertierte Bindungsmodus daher nicht mehr möglich ist (vgl. Abbildung 8, Seite 35). Dabei wird eine Substitution mit Chlor in *para*-Stellung besser toleriert als die *ortho*- oder *meta*-Position (**61**: RA = 65,4 %; **60**: RA = 99,0 %; **59**: RA = 99,2 %). Als methoxyliertes Derivat mit relevanter Hemmaktivität ist Verbindung **55** zu nennen ($K_i(\text{GSK3}\beta) = 1,41 \mu\text{M}$). Bei dieser ist durch den geringen räumlichen Anspruch höchstwahrscheinlich eine Ausrichtung zur Ausbildung der für 3-Benzoyloxy-6-methoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin beschriebenen WBB mit Val135 und Arg141 noch möglich. Die geringere inhibitorische Potenz von Verbindung **55** ist dann vor allem durch das Fehlen hydrophober Wechselwirkungen des Benzoyloxy-Restes mit der *Gatekeeper*-AS zu erklären.

Nicht an der Phenol-Gruppe alkoxylierte 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-*b*]fluoren-Derivate waren in den meisten Fällen ebenfalls inaktiv. So konnte für Derivate mit Brom- und Alkoxy-Resten sowie Chlor- oder Methoxy-substituiertem Benzoyloxy-Resten in Position 8 keine signifikante Hemmung der Proteinkinase beobachtet werden. Während Verbindung **39** noch eine relevante Hemmung an GSK3 β aufwies, verringerten Substituenten am Benzoyloxy-Ring, wie bei den 3-Benzoyloxy-6-methoxy-1-aza-9-oxafluorenen beschrieben, die Bindungsaffinität zur ATP-Bindetasche stark.³⁰¹ Die Inaktivität der weniger raumfordernden Alkoxy- und Brom-Derivate und der Vergleich mit 7-Phenylnapthto[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5,8-diol ($K_i(\text{GSK3}\beta) = 0,02 \mu\text{M}$) deutet darauf hin, dass an Position 8 bestenfalls ein Wasserstoffbrückendonator mit geringem sterischen Anspruch notwendig ist. Die Hemmung der Kinase bei der Testung von Verbindung **53** ($K_i(\text{GSK3}\beta) = 1,75 \mu\text{M}$) zeigt aber, dass das Fehlen von größeren Resten als einem

Wasserstoffatom ebenfalls eine Interaktion mit der Bindungstasche ermöglicht. Das nicht benzoanellierte Analogon Verbindung **52** zeigte hingegen keine Inhibition (RA = 81,1 %). Das lässt die Schlussfolgerung zu, dass im Bindungsmodus mit Ausrichtung der Phenol-Gruppe in Richtung *Gatekeeper*-AS hingegen zusätzliche Substituenten an Position 3 für hydrophobe oder hydrophile Wechselwirkungen zur Verfügung stehen müssen. Als die einzigen neuen 1-Aza-9-oxafluoren mit relevanten Aktivitäten an GSK3 β konnten Verbindung **32** ($K_i(\text{GSK3}\beta) = 2,82 \mu\text{M}$) und Verbindung **46** ($K_i(\text{GSK3}\beta) = 3,02 \mu\text{M}$) identifiziert werden. Der ähnliche räumliche Anspruch der Methoxy-Gruppe im Vergleich zu einem Chlor-Rest und die Inaktivität des entsprechenden Chlor-substituierten Derivats (siehe Abschnitt 3.2.2.1) lassen vermuten, dass im Fall von Verbindung **46** Interaktionen des Restes mit den AS der Bindungstasche gegenüber der sterischen Hemmung des Bindungsmodus überwiegen. Hierbei kann es sich in diesem Fall um hydrophobe Wechselwirkungen des Methyl-Restes oder polare Interaktionen des Sauerstoff-Atoms handeln. Die inhibitorische Aktivität des 3-Isopropoxy-Derivats Verbindung **32** ist vergleichbar mit dem bereits von VOIGT untersuchten 3-Ethoxy-Derivat.³⁰⁰ Dies spricht für einen vergleichbaren Bindungsmodus an GSK3 β , wie er bereits in Abschnitt 1.6 ausführlich beschrieben wurde.

3.3 Docking-Untersuchungen

Um ein besseres Verständnis für die Wechselwirkungen der Inhibitoren mit dem aktiven Zentrum der jeweiligen Proteinkinase zu gewinnen, wurden die Bindungsmodi einiger Testsubstanzen mittels molekularem *Docking* untersucht. Diese *in silico*-Versuche wurden von Frau Dr. DINA ROBAA aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wolfgang Sippl (Institut für Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) vorgenommen. Hierbei beschränkte sich die Auswahl der Verbindungen auf solche, bei denen man sich vom Aufschluss des Bindungsmodus neue Erkenntnisse erhoffte. Daher wurden Verbindung **32** als aktivster Inhibitor und Verbindung **98** als neuartiger, vergleichsweise hydrophiler Inhibitor für das *Docking* an CDK1/B ausgewählt. Hierbei kam eine Ko-Kristallstruktur von humaner CDK1/CyclinB/Cks2 im Komplex mit dem Purin-Derivat-Inhibitor CGP74514A zum Einsatz (PDB ID: 6GU4). Zusätzlich wurde mit Verbindung **67** der aktivste ermittelte Inhibitor an der bisher weniger untersuchten Tyrosinkinase Fyn getestet. Bei dessen *Docking* wurde als Kristallstruktur ein Komplex aus der humanen Tyrosinkinase Fyn mit Staurosporin verwendet (PDB ID: 2DQ7).

Docking an CDK1/B

Als besondere Auffälligkeit im Vergleich zu den zuvor verwendeten Modellen von CDK1 ist in dieser Kristallstruktur ein in der Bindungstasche inkooperiertes Wassermolekül (HOH417) zu nennen. Dieser kleine Unterschied hat einen entscheidenden Einfluss auf den ermittelten Bindungsmodus der überprüften Testsubstanzen.

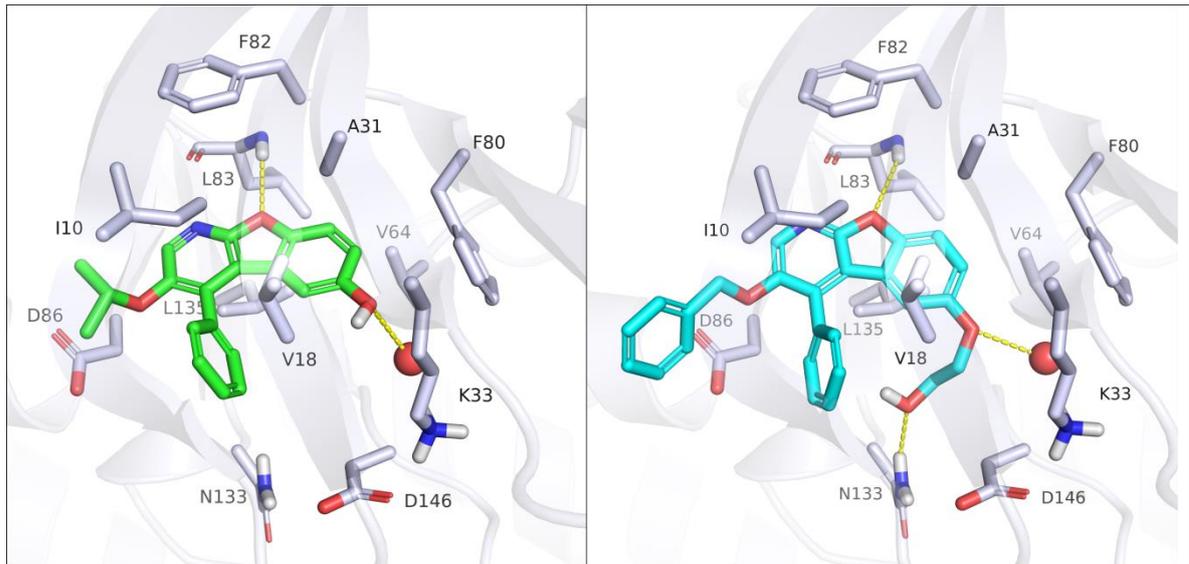


Abbildung 41: Ermittelte Bindungsmodi von Verbindung **32** (links, Inhibitor grün dargestellt) und Verbindung **98** (rechts, Inhibitor türkis dargestellt) an CDK1/B. Aminosäuren der Proteinkinase sind nur dargestellt soweit sie zum Aufbau der umgebenden Bindetasche beitragen. Ausgebildete Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte gelbe Linien abgebildet. Das inkorporierte Wassermolekül ist als rote Kugel dargestellt.

Zunächst lässt sich feststellen, dass der Bindungsmodus bei beiden Verbindungen sehr ähnlich ist. Beide sind in der bereits für 1-Aza-9-oxafluorene ermittelten Art und Weise in der Bindetasche orientiert.³⁰⁰ Dabei ist der Rest an Position 3 in Richtung der lösungsmittlexponierten Region ausgerichtet, während der anellierte Benzolring in Richtung der *Gatekeeper*-Aminosäure zeigt. Im Unterschied zu den bisher vorgenommenen *Docking*-Studien bildet jedoch nicht der Pyridin-Stickstoff des Grundgerüsts eine WBB mit der Amino-Gruppe von Leucin (Leu, L) 83 aus sondern der Sauerstoff des Furan-Rings. Daher ist das gesamte Molekül etwas weiter in Richtung der lösungsmittlexponierten Region verschoben. Statt mit dem Amin von Lysin (Lys, K) 33 wird die zweite Wasserstoffbrücke von der Oxy-Gruppe an Position 6 mit dem inkorporierten Wasser-Molekül ausgebildet. Zusätzlich bildet Verbindung **98** mit seiner freien Hydroxy-Gruppe eine Wasserstoffbrückenbindung zur Amino-Gruppe von Asparagin (Asn, N) 133 aus. Lipophile Wechselwirkungen des aromatischen Trizyklus sind bei beiden Verbindungen vor allem mit L135, I10 und Valin (Val, V) 18 denkbar. Die lipophilen Reste in Position 3 haben in beiden Fällen keinen klaren Interaktionspartner. Für den Isopropoxy-Rest von Verbindung **32** wären Wechselwirkungen mit Isoleucin (Ile, I) 10 am wahrscheinlichsten.

Insgesamt lässt sich für Verbindung **32** aus dem *Modelling* jedoch keine andere neue Erkenntnis ziehen, die die guten Aktivitäten näher erklärt. Die Ausbildung einer zusätzlichen WBB im Falle von Verbindung **98** liefert hingegen eine sehr gute Erklärung für die wesentlich höhere Aktivität der Verbindung im Vergleich zu den lipophilen 6-Alkoxy-Derivaten. Eine Erprobung inwieweit eine vergleichbare Verbindung mit freier Phenol bzw. Phenylamin-Gruppe oder einem weiteren flexiblen (2-Hydroxyethoxy)-Rest in Position 3 weitere WBB z.B. mit Asparaginsäure (Asp, D) 86 ausbilden könnte, wäre interessant.

Docking an der Tyrosinkinase Fyn

Verbindung **67** zeigt bis auf die WBB zu Methionin (Met, M) 85 keine weiteren starken hydrophilen Wechselwirkungen mit der Bindetasche auf. Der generelle Bindungsmodus ist, wie bereits für andere 10-Aza-11-oxabenz[*a*]fluorene im Vergleich zu den trizyklischen Derivaten invertiert. Hierbei ist die 8-Benzyloxy-Rest zur *Gatekeeper*-AS ausgerichtet, während der anellierte Benzol-Ring in Richtung der lösungsmittlexponierten Region weist.

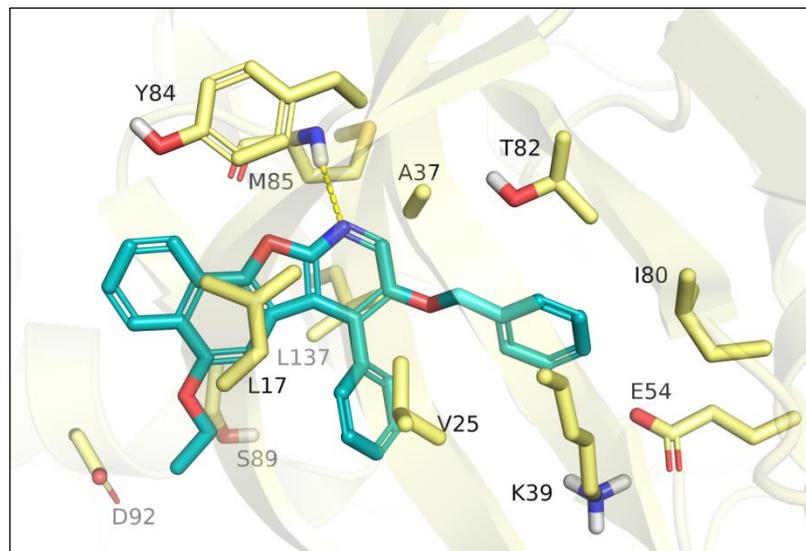


Abbildung 42: Ermittelte Bindungsmodus von Verbindung **67** an der Tyrosinkinase Fyn. Der Inhibitor ist türkis dargestellt. Aminosäuren der Proteinkinase sind nur dargestellt, soweit sie zum Aufbau der umgebenden Bindetasche beitragen. Ausgebildete Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte gelbe Linien abgebildet.

Der tetrazyklische Grundkörper der Verbindung wechselwirkt vor allem lipophil mit den hydrophoben Resten der Aminosäuren L17, L137 und Alanin (Ala, A) 37. V25 interagiert hingegen wohl mit dem Phenyl-Ring in Position 7. Der 5-Ethoxy-Gruppe kann kein eindeutiger Interaktionspartner zugeordnet werden. Zur möglichen Verbesserung der Affinität scheinen sich zwei Teilbereiche des Inhibitors besonders zu eignen. So könnte die hydrophile Substitution des Benzyloxy-Restes in *ortho*- oder *meta*-Stellung eventuell eine WBB zu Threonin (Thr, T) 82 ermöglichen. Erste Hinweise, dass dies die Affinität erhöht, liefert die Inhibition von Fyn wt durch das 8-(3-Methoxybenzyl)oxy-Derivats Verbindung **47**. Eine ebenfalls sinnvolle Überlegung stellt die Einführung eines hydrophilen Wasserstoffbrückenakzeptors in Position 1 oder 2 dar. Dies könnte Interaktionen mit der Phenol-Gruppe von Tyrosin (Tyr, Y) 84 bedingen. Als wichtiger Faktor erweist sich aber auch die Verringerung der Lipophilie des Inhibitors. Ein möglicher Ansatzpunkt hierfür wäre der 7-Phenyl-Ring, der eventuell durch eine kleinere polarere Struktur ersetzt werden kann. Ebenfalls erscheinen hydrophile, flexible Reste an Position 8, die eventuell eine WBB zu T82 ausbilden könnten. Zusätzlich sollte das Phenol in Position 5 möglichst unverethert bleiben, um eine Aktivität gegenüber den CDKs und GSK3 β zu bewahren.

4 Zusammenfassung und Ausblick

4.1 Zusammenfassung

Die Alzheimer-Demenz (AD) ist mit ihrer wachsenden Inzidenz mit höherer Lebenserwartung eine Erkrankung, die wie kaum eine andere die Zukunft unseres Gesundheitssystems beeinflussen wird. Trotz jahrzehntelanger Forschung und verschiedensten Ansätzen ist auch heute noch nicht mehr als eine symptomatische Behandlung der Krankheit ohne Auswirkung auf deren Progression möglich. Therapieansätze, deren Wirkprinzip sich auf die β -Amyloid-Kaskaden-Hypothese beziehen, haben die bisherigen Forschungsbestrebungen dominiert. Bei dieser Hypothese steht die Überproduktion und Agglomeration von β -Amyloid im Zentrum der Krankheitsentstehung. Mit dem weitestgehenden Scheitern dieser Wirkstoffe rücken neue Ansätze und Strategien in den Fokus. Die Tau-Hypothese stellt die Agglomeration von hyperphosphoryliertem Tau-Protein im Zellinneren der Neuronen von AD-Patienten an den Anfang der Pathogenese. Neuere Untersuchungen weisen eine starke Korrelation der Ausbreitung der so entstehenden NFTs und kleinerer Agglomerate des Tau-Proteins mit der Progression der Erkrankung nach. Die Hyperphosphorylierung von Tau ist auf einer Proteinkinase-Hyperaktivität und einer Phosphatasen-Hypoaktivität begründet. Daraus resultiert als Therapiekonzept der Einsatz von Proteinkinase-Inhibitoren.

Hierbei wurde bei bisherigen Untersuchungen die Serin/Threonin-Proteinkinasen GSK3 β sowie verschiedene Kinasen der CDK-Familie als Ziele ausgemacht. Neuere Untersuchungen zeigen auch für JNK, ERK, p38 und die Tyrosin-Proteinkinase Fyn Beteiligungen an der Hyperphosphorylierung. Für die meisten dieser Kinasen konnten auch AD-begünstigende Effekte abseits der Tau-Hypothese, wie zum Beispiel eine Sensibilisierung von NMDAR durch GSK3 β , nachgewiesen werden. Von der großen Zahl der bisher entwickelten und getesteten Kinaseinhibitoren konnten in der klinischen Überprüfung jedoch bisher kein therapeutisch wirksamer Kandidat identifiziert werden. Die Monoselektivität des Großteils der überprüften Kandidaten stellt einen Kontrast zu der Erkenntnis dar, dass eine Vielzahl an Kinasen an der Pathologie beteiligt ist. Daher besteht ein neues Konzept darin Inhibitoren mit multispezifischem Wirkprofil zu entwickeln.

Die im Rahmen dieser Dissertation dafür herangezogene Leitstruktur stellten die 1-Aza-9-oxafluorene und 11-Aza-10-oxabenz[o]fluorene dar. Bisher synthetisierte Vertreter dieser neuen Klasse an Inhibitoren wiesen in der biologischen Testung nano- bis mikromolare Aktivitäten an GSK3 β , CDK1, 2, 4 und 5 sowie an JNK3 und p38 auf. In weiteren Untersuchungen konnte eine Zytotoxizität dieser Derivate ausgeschlossen und ein kompetitiver Bindungsmodus bestätigt werden. Diese Dissertation sollte vor allem die bisher erprobte Reihe der 6-Hydroxy-4-phenyl-1-aza-9-oxafluorene bzw. 5-Hydroxy-7-phenyl-10-aza-11-oxabenz[o]fluorene durch neuartige Derivate erweitern. Hierbei lag ein besonderes Augenmerk der

Arbeit auf der Optimierung und dem Verständnis der bereits etablierten Syntheschritte. Im ersten Schritt wurden 3-Alkoxy und substituierte 3-Benzoyloxy-pyridine synthetisiert. Die hierfür verwendete WILLIAMSON-Ethersynthese konnte durch Veränderungen von Lösungsmittel, Base und Elektrophil in Hinsicht auf Ausbeute, Reaktionszeit und Nebenproduktanteil optimiert werden. Teilweise wurden hierdurch signifikante Erhöhungen der Ausbeuten um bis zu 40 Prozent erreicht. Die so erhaltenen Derivate wurden ebenso wie verschiedene 3-Halogenpyridine in einer regioselektiven Addition von GRIGNARD-Verbindungen nach COMINS zu den entsprechenden 3-substituierten 4-Phenyl-*N*-acetyl-1,4-dihydropyridinen umgesetzt. In diesem Reaktionsschritt konnten weitere bisher unbekannte Nebenprodukte isoliert werden, die ein besseres Verständnis der Reaktion ermöglichten. Ihre Entstehung in Abhängigkeit der eingesetzten Mengen an Edukten sowie der Reaktionstemperatur wurde untersucht und die Minimierung ihres Auftretens angestrebt. Durch Zykladdition von entweder *p*-Benzochinon oder *p*-Naphthochinon im sauren Milieu und anschließende Oxidation in einer „Ein-Topf-Reaktion“ nach VOIGT erfolgte aus diesen die Synthese der jeweiligen Azoxafluorene. Dabei wurde erstmals eine systematische Untersuchung von Art und Konzentration der eingesetzten Säurekomponente vorgenommen. Mit dem Austausch der bisher verwendeten Perchlorsäure durch konzentrierte Schwefelsäure in leicht erhöhter Konzentration konnte die Ausbeute allgemein positiv beeinflusst werden und teilweise bisher nicht zugängliche Zielverbindungen erhalten werden. Insgesamt wurden 23 Derivate synthetisiert. Der Einsatz weiterer, verschiedener Brönstedt- und Lewis-Säuren erbrachte neue Erkenntnisse über den Reaktionsmechanismus und die Art der benötigten Säurekomponente. Während der Synthese der 3- bzw. 8-Iodazoxafluorene im „Ein-Topf-Verfahren“ fand eine vollständige Deiodierung der Derivate statt. Auf diese Weise wurden erstmals 4-Phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol und 7-Phenyl-naphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5-ol als an Position 3 bzw. Position 8 unsubstituierte Azoxafluorene erhalten. Durch nähere Untersuchungen dieser Reaktion sowie der Reaktion äquivalenter Brom-substituierter Derivate konnte ein Reaktionsmechanismus für die Dehalogenierung postuliert werden.

Als Modifikationen der Grundstruktur sollten an der freien Hydroxy-Gruppe verschiedene Alkylierungen erprobt werden. Hierbei gelang eine gezielte Methylierung, Ethylierung, Propylierung und Isopropylierung der Phenol-Gruppe durch verschiedene Varianten der WILLIAMSON-Ethersynthese. Dadurch wurden 43 neuartige, in der Literatur unbekannte Zielverbindungen in guter bis sehr guter Ausbeute erhalten. Mithilfe der Umsetzung der freien Hydroxy-Gruppe mit Ethylencarbonat und Kaliumcarbonat in DMF nach FUMAGALLI *et al.* gelang zusätzlich die Synthese von 5- bzw. 6-(2-Hydroxy)ethoxy-azoxafluorenen. Auf diese Weise konnten fünf weitere literaturunbekannte Zielverbindungen synthetisiert werden. Der Versuch dieselbe Methode in abgewandelter Form unter Einsatz von 2-Oxazolidinon zur Synthese von (2-Amino)ethoxy-azoxafluorenen zu nutzen misslang jedoch. Mit *o*-Benzochinon, *p*-Benzochinonimin und *p*-Benzochinondiimin wurden drei neue Chinonvarianten synthetisiert und in der „Ein-Topf-Reaktion“ nach VOIGT erprobt. Hierbei konnte jedoch auch unter

modifizierten Reaktionsbedingungen kein entsprechendes 1-Aza-9-oxafluoren oder α -Carbolin isoliert werden. Der katalytische Umsatz von Brom-substituierten Azoxafluorenen zu entsprechenden amino-substituierten Azoxafluorenen war bisher zwar nicht erfolgreich, stellt aber weiterhin eine interessante Syntheseroute dar.

Im Anschluss zur Synthese erfolgte die analytische Charakterisierung von Identität und Reinheit der Zielverbindungen mittels NMR-Spektroskopie, HPLC und Massenspektrometrie. Die ^1H -NMR-Strukturanalyse der synthetisierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine war hierbei besonders durch die Detektion von Signalverdopplungen geprägt, die durch magnetische Feldeffekte und die Ausbildung von energetisch begünstigten Rotameren zustande kamen. Eine nähere Betrachtung der aufgespaltenen Signale lieferte neue Hypothesen zu bevorzugten Rotameren sowie zur Aufspaltung der Signale der Wasserstoffatome der Acetyl-Gruppe. Die Strukturabsicherung von 4-Phenylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-ol und 7-Phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-5-ol wurde mithilfe zusätzlicher 2D- ^1H , ^1H -NMR-Korrelationspektroskopie erreicht.

Die biologische Testung der inhibitorischen Aktivität der Zielverbindungen wurde zunächst für einige ausgewählte Verbindungen in Kooperation mit der PROQINASE GmbH an den Proteinkinasen CDK1/B, ERK2, GSK3 β , JNK3 und Fyn wt durchgeführt. Hierbei erwiesen sich die raumfordernden 10-Aza-11-oxabenzo[*a*]fluorene Verbindung **41** und **67** als selektive Inhibitoren der Tyrosinkinase Fyn mit K_i -Werten im niederen mikromolaren Bereich (**41**: $K_i = 3,8 \mu\text{M}$; **67**: $K_i = 2,1 \mu\text{M}$). Auffällig ist hier auch das sehr unterschiedliche Hemmprofil das sich für das 10-Aza-11-oxabenzo[*a*]fluoren Verbindung **43** ergibt, das sich lediglich in der Position des Chlor-Substituenten am Benzlyoxy-Rest von Verbindung **41** unterscheidet. Dieses hemmt Fyn wt nicht und CDK1/B und ERK2 in moderatem Umfang ($K_i(\text{CDK1/B}) = 29,5 \mu\text{M}$; $K_i(\text{ERK2}) = 57,7 \mu\text{M}$). Als bisher einziger Inhibitor der Testreihe mit Hemmeigenschaften an Serin/Threonin-Proteinkinasen und Tyrosin-Proteinkinasen konnte Verbindung **40** identifiziert werden ($K_i(\text{Fyn wt}) = 58,8 \mu\text{M}$; $K_i(\text{GSK3}\beta) = 60,8 \mu\text{M}$; $K_i(\text{JNK3}) = 18,9 \mu\text{M}$).

Der Großteil der synthetisierten Substanzen wurde in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von V.KRSTOF auf ihre inhibitorische Wirkung an den Kinasen CDK1/B, CDK2/E, GSK3 β und Fyn wt hin überprüft. Als potentester Inhibitor dieser Testreihe konnte das 3-Isopropoxy-1-aza-9-oxafluoren Verbindung **32** mit nanomolaren Aktivitäten an CDK1/B und mikromolaren Aktivitäten an GSK3 β ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,08 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 0,08 \mu\text{M}$; $K_i(\text{GSK3}\beta) = 2,82 \mu\text{M}$) identifiziert werden. Die korrespondierenden an Position 8 alkoxylierten 10-Aza-11-oxabenzo[*a*]fluoren-Derivat erwiesen sich hingegen als weitgehend inaktiv gegenüber den getesteten Kinasen. Eine duale Hemmung von CDK1 und GSK3 β zeigte das 3-(3-Methoxy)benzlyoxy-1-aza-9-oxafluoren Verbindung **46** und das an Position 8 unsubstituierte 10-Aza-11-oxabenzo[*a*]fluoren Verbindung **53** (**46**: $K_i(\text{CDK1/B}) = 0,7 \mu\text{M}$; $K_i(\text{GSK3}\beta) = 3,02 \mu\text{M}$; **53**: $K_i(\text{CDK1/B}) = 0,35 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 0,66 \mu\text{M}$; $K_i(\text{GSK3}\beta) = 1,75 \mu\text{M}$). Das zu Verbindung **53** analoge 1-Aza-9-oxafluoren Verbindung **52** wies hingegen nur an den untersuchten CDKs Hemmwirkungen auf ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,96 \mu\text{M}$;

$K_i(\text{CDK2/E}) = 0,52 \mu\text{M}$). Von den an der freien Phenolgruppe alkylierten Derivaten zeigten nur das methoxylierte 1-Aza-9-oxafluoren Verbindung **55** relevante Aktivität an diesen beiden Serin/Threonin-Proteinkinasen (**55**: $K_i(\text{CDK1/B}) = 0,31 \mu\text{M}$; $K_i(\text{CDK2/E}) = 1,08 \mu\text{M}$; $K_i(\text{GSK3}\beta) = 1,41 \mu\text{M}$). Eine Hemmung von CDK1/B konnte auch für das (2-hydroxy)ethoxylierte 1-Aza-9-oxafluoren Verbindung **98** beobachtet werden ($K_i(\text{CDK1/B}) = 0,31 \mu\text{M}$). In beiden Fällen konnte jedoch keine Aktivität an der Fyn wt beschrieben werden. Eine solche konnte nur bei dem 6-ethoxylierten 1-Aza-9-oxafluoren-Derivaten Verbindung **68** und Verbindung **70** nachgewiesen werden (**68**: $K_i(\text{Fyn wt}) = 4,16 \mu\text{M}$; **70**: $K_i(\text{Fyn wt}) = 12,84 \mu\text{M}$). Ebenfalls geringe Aktivität zeigte das 10-Aza-11-oxabenzofluoren Verbindung **47** ($K_i(\text{Fyn wt}) = 14,11 \mu\text{M}$).

In Kooperation mit D. ROBAA aus der Arbeitsgruppe von W. SIPPL wurden zur Untersuchung der Bindungsmodi der aktivsten und vielversprechendsten Derivate *Docking*-Studien durchgeführt. Hierbei wurde Verbindung **32** und Verbindung **98** an CDK1/B sowie Verbindung **67** an Fyn wt überprüft.

4.2 Ausblick

Ausgehend von den Ergebnissen dieser Arbeit sollte bei zukünftig synthetisierten Verbindungen der Löslichkeit und Molekülgröße der Verbindungen sowie dem Einfügen weiterer Wasserstoffbrückendonoren und -akzeptoren besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden.

In der Reihe der 1-Aza-9-oxafluorene bzw. 10-Aza-11-oxabenzofluorene sollte der Halogen-Amino-Austausch, wie es bereits unter Abschnitt 3.1.10 beschrieben wurde, weiterverfolgt werden. Eine geeignete Methode, die diesen Zweck erfüllt, könnte die Substanzbibliothek sinnvoll erweitern. Ansonsten könnte durch eine einfache nukleophile Substitution am Aromaten mit Alkyl- und Benzylaminen raumforderndere 3- bzw. 8-Amino-Derivate synthetisiert werden.

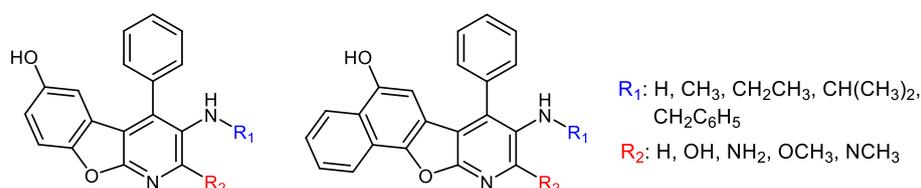


Abbildung 43: Überblick zu möglichen Derivatisierungen der Azoxafluoren-Leitstruktur.

Ein so synthetisiertes Benzylamin-Derivat, könnte durch eine konventionelle Hydrogenolyse ebenfalls zum entsprechenden unsubstituierten Amin-Derivat umgesetzt werden. Die bisher nicht substituierte Position 2 des Pyridin-Ringes könnte durch Amino- oder Hydroxy-Gruppen neue Wechselwirkungen mit der *Hinge*-Region der untersuchten Kinasen eingehen. Diese könnten ebenfalls durch Alkylierungen modifiziert werden. In wie weit diese Verbindungen auch unter Verwendung von 3-Aminopyridin-Derivate als Ausgangsstoff der etablierten dreistufigen Synthese in akzeptablen Ausbeuten erreichbar sind, gilt es ebenfalls zu überprüfen.

Eine Variation der Substitution an Position 4 bzw. Position 7 anstelle des etablierten Phenyl-Ringes sind bisher nur in geringem Umfang erfolgt. VOIGT erprobte mit der Einführung einer Methyl-Gruppe an dieser Position einen weiteren lipophilen Rest, der jedoch eine geringere inhibitorische Aktivität bedingte.³⁰⁰ Interaktionen mit der polaren Phosphat-Bindungs-Region sind jedoch oft ein wichtiges Motiv von Proteinkinase-Inhibitoren. Die Synthese von Verbindungen mit hydrophilen Gruppen an dieser Position stellt somit eine interessante Option dar. Eine Hydroxy-Gruppe böte sich hierbei an, da sie als Wasserstoffbrückenakzeptor und –Donor agieren könnte und zahlreiche weitere Derivatisierungen ermöglichen würde. Zugänglich wären die entsprechenden Azoxafluorene eventuell über die Umsetzung von substituierten *N*-Acetyl-4-pyridinon mit *p*-Chinonen in der bekannten „Ein-Topf-Synthese“ nach VOIGT. In wie weit die für einige Lösungsmittel wie Dichlormethan beschriebene Acylwanderung am *N*-Acetyl-4-pyridinon auch in Dioxan in nennenswertem Ausmaß zur Bildung des 4-Acetoxy-pyridins führt, gilt es zu überprüfen.³⁸⁹ Die gezielte *N*-Acetylierung der substituierten 4-Pyridinone ließe sich durch die von EFFENBERGER *et al.* beschriebene Methodik unter Verwendung eines Überschusses an Acetanhydrid erreichen.³⁹⁰

Neue Variationen der in der „Ein-Topf-Synthese“ nach VOIGT eingesetzten Säurekomponente könnten zur weiteren Verbesserung der Ausbeute sowie zum genaueren Verständnis des Reaktionsmechanismus führen. Hierbei würden starke Lewis-Säuren wie Bortrifluoriddiethyletherat sich für eine weitere Überprüfung eignen. Angesichts der Erkenntnisse von FUKUZUMI *et al.* für die Reaktion von *p*-Benzochinonen mit *N*-Alkyl-1,4-dihydropyridinen unter Einsatz eines Scandium(III)trifluoromethansulfonat-Katalysators, könnte solch ein Übergangsmetall-Katalysator auch in unseren Umsetzungen erprobt werden.³⁵²

Die Synthese von analogen α -Carbolinen stellt weiterhin einen vielversprechenden Ansatz dar. Die Ausbildung einer weiteren Wasserstoffbrückenbindung mit der *Hinge*-Region durch das Einfügen eines Wasserstoffbrückendonors an dieser Position könnte die Affinität zu den untersuchten Proteinkinasen stark erhöhen. Als neuen Syntheseweg abseits des bisher überprüften Ringschlusses zwischen *p*-Chinoniminen und *N*-Acetyl-1,4-Dihydropyridinen könnte eine modifizierte NENITZESCU-Cyclisierung erprobt werden. Nach dem Vorbild von WILLEMANN *et al.* könnten 3-substituierte 2,4-Diaminopyridin- und 2,4,6-Triaminopyridin-Derivate mit *p*-Chinonen zu den entsprechenden α -Carbolinen umgesetzt werden.³⁹¹

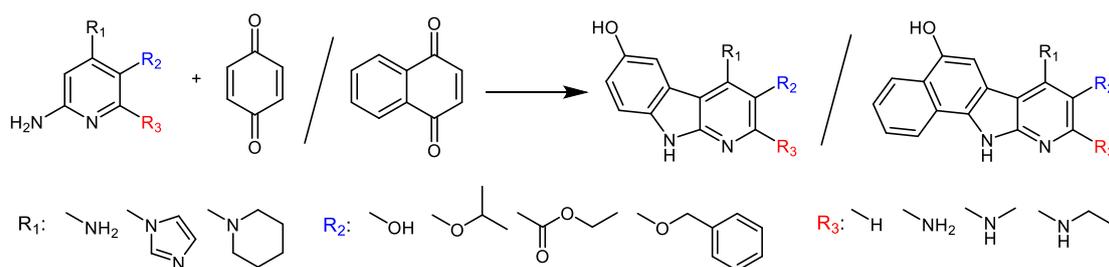


Abbildung 44: Überblick zur möglichen Synthese und Derivatisierung von Diazafluorenen

Dadurch erhaltenen 2,4-Diamino-1,9-diazafluorenen würde in Position 2 ein weiterer Wasserstoffbrückendonator für Wechselwirkungen mit der *Hinge*-Region zur Verfügung stehen. Die Amino-Gruppe in Position 4 könnte zu stickstoffhaltigen Heterozyklen umgesetzt werden, die den 4-Phenyl-Ring der bisher untersuchten 1-Aza-9-oxafluorene ersetzen würden.

Alternativ wäre ein 6-Amino-1,9-diazafluoren ein interessanter Ausgangspunkt für weitere Derivatisierungen. Dieses könnte durch die Synthese des α -Carbolins über eine modifizierte GRAEBE-ULLMANN-Reaktion aus 1-Pyridinylbenzotriazol gewonnen werden.³⁰² Dieses wiederum könnte mithilfe von konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure nitriert werden und im Anschluss zum entsprechenden Amin reduziert werden.^{302,392} Eine andere Möglichkeit könnte eine Palladium-katalysierte interne Arylierung des 3-Chlor-*N*-(4-nitrophenyl)pyridin-2-amin mit anschließender Reduktion der Nitro-Gruppe darstellen.^{302,393} Das hierüber erhaltene Grundgerüst könnte einen interessanten Ausgangspunkt für weitere Derivatisierungen sein.

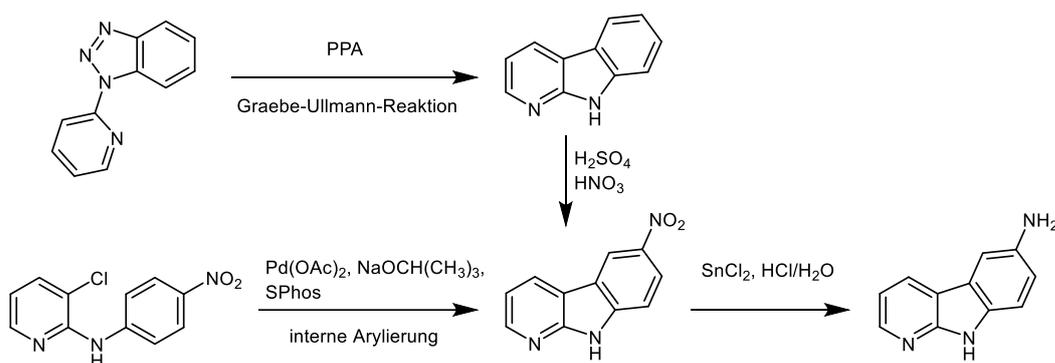


Abbildung 45: Darstellung möglicher Synthesewege zur Herstellung des 6-Amino-1,9-diazafluoren-Grundkörpers. PPA = Polyphosphorsäure, SPhos = 2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl

Die biologische Testung der synthetisierten Verbindungen sollte durch eine Zytotoxizitätsbestimmung sowie ein breiteres Screening der inhibitorischen Potenz an einem größeren Kinasenspektrum erweitert werden. Untersuchungen von Löslichkeit und Verteilungskoeffizient könnten wichtige Aussagen über die Verabreichung sowie über die Permeation der Zielverbindungen durch die Blut-Hirn-Schranke geben.

II.

Experimenteller Teil

5 Geräte, Methoden und Chemikalien

5.1 Methoden und Geräte der Analytik und Synthese

5.1.1 Generelle Methoden der Synthese

Extraktion

Zur Extraktion von Reaktionsansätzen wurde ein Scheidetrichter genutzt. Das verwendete Volumen an Extraktionsmittel entsprach dem jeweiligen Bezugsvolumen des (wässrigen) Ansatzes. Der Extraktionsvorgang wurde insgesamt dreimal mit gleichen Volumina durchgeführt. Veränderte Bedingungen wie pH-Wert und Temperatur sowie das jeweilige Extraktionsmittel sind den Allgemeinen Arbeitsvorschriften oder der jeweiligen Verbindungsmonographie zu entnehmen.

Filtration

Die Filtration wurde mit Rundfiltern aus Zellulose der Firma MUNKTELL AHLSTROM mittels Schwerkraft durchgeführt. Zudem wurden, wenn es der Zerteilungsgrad der Stoffgemische zuließ, Porzellanfritten der Größe G3 bzw. G4 verwendet. Hierbei wurde über eine Saugflasche mit darauf aufgesteckter Fritte ein Unterdruck angelegt. Das zu trennende Stoffgemisch wurde daraufhin in die Fritte gegossen.

Reaktionen

Die in dieser Arbeit beschriebenen Synthesen wurden, wenn nicht anders beschrieben, in Rundkolben aus Borosilikatglas in Größen von 10 bis 250 mL durchgeführt. Die Durchmischung wurde mithilfe von Magnetrührwerken und Magnetrührstäbchen bewerkstelligt. Zur Kühlung von Reaktionsansätzen wurden Kältebäder (Trockeneis in einem Gemisch aus gleichen Teilen Methanol und Isopropanol oder einer unterkühlten Schmelze aus Eis und Natriumchlorid im Verhältnis 3:1) verwendet. War ein Erhitzen des Reaktionsansatzes notwendig wurden Silikonöl-Bäder (bis 220 °C) verwendet. Der Verlauf jeder Reaktion wurde massenspektrometrisch und dünnschichtchromatographisch verfolgt.

Schwerkraftsäulenchromatographie

Siehe 5.1.2.1 Schwerkraftsäulenchromatographie

Trocknung

Verbindungen, die einer Trocknung bedurften, wurden über mehrere Tage in einem mit wasserfreien Calciumchlorid oder Kieselgel ST-Trockenperlen mit Methylviolett als Indikator bestückten Exsikkator gelagert. In einigen Fällen zum Beispiel der Trocknung von Lithiumchlorid wurde eine Trockenpistole verwendet. Diese wurde mit Phosphorpentoxid als Trockenmittel befüllt. Die

Verbindung wurde in die Trockenkammer gegeben, die daraufhin evakuiert wurde. Die Apparatur wurde dann für mehrere Stunden durch siedendes Methanol erhitzt. Komponenten, die für die Verwendung im Syntheseprozess ausgeglüht oder zum Entfernen von Wasser oder anderen störenden Faktoren (zum Beispiel bei Silberoxid die Entfernung von Silbercarbonat durch Erhitzen auf über 218 °C), stärker erhitzt werden mussten, wurden in einen Trockenschrank für mehrere Stunden auf die entsprechend angegebene Temperatur (in der Regel 220 °C) erhitzt.³⁹⁴

Waschen

Das jeweilige möglichst feinkristalline Produkt wurde in einem Lösungsmittel suspendiert, in dem es nur eine sehr geringe Löslichkeit im Verhältnis zu den zu entfernenden Verunreinigungen aufwies. Nach einer Wartezeit von zehn bis zwanzig min wurde die resultierende Suspension zentrifugiert und der flüssige Überstand mithilfe einer Mikroliterpipette abgenommen. Dieser Prozess wurde falls notwendig mehrfach wiederholt. Im Anschluss fand eine wie oben beschrieben durchgeführte Trocknung statt. Diese Methode wurde vor allem bei geringen Produktmengen oder sehr geringen Verunreinigungen angewendet, bei denen eine vollständige Umkristallisation nicht erforderlich oder möglich erschien.

Umkristallisation

Die entsprechende Substanz wurde in einem Lösungsmittel suspendiert, in dem es nur eine sehr geringe Löslichkeit aufwies, und erwärmt bis eine vollständige Lösung eintrat. Anschließend wurde dieser Ansatz bei Temperaturen von 2-8 °C oder -20 °C mehrere Tage bzw. bis zur Bildung eines festen Präzipitats gelagert. Dieses Präzipitat wurde filtriert oder zunächst zentrifugiert und der flüssige Überstand mithilfe einer Mikroliterpipette abgetrennt. Im Anschluss wurden diese Schritte gegebenenfalls wiederholt oder das Präzipitat mit anderen Lösungsmitteln gewaschen, bevor es schlussendlich wie oben beschrieben getrocknet wurde.

5.1.2 Chromatographie

5.1.2.1 Schwerkräftsäulenchromatographie

Die Schwerkräftsäulenchromatographie war die Methode, die zur Auftrennung von Substanzgemischen verwendet wurde. Zu diesem Zweck wurden Glassäulen mit Teflon- oder Glashähnen mit verschiedenen Durchmessern und Längen benutzt. Als stationäre Phase wurde Kieselgel 60 (63-200 nm Partikelgröße) verwendet. Dieses wurde in die entsprechenden Glassäulen eingebracht, in dem zunächst das Kieselgel im jeweils verwendeten Laufmittelgemisch suspendiert und diese viskose Mischung in die Säulen gefüllt worden war. Anschließend wurde durch angelegten Überdruck die stationäre Phase komprimiert und überschüssiges Laufmittel entfernt. Die folgenden Laufmittelgemische wurden als mobile Phasen eingesetzt. Die angegebenen Zusammensetzungen sind als Volumen-Volumen-Verhältnisse (V/V) zu verstehen.

LM 1: Cyclohexan/Ethylacetat	1:4
LM 2: Cyclohexan/Ethylacetat	1:1
LM 3: Cyclohexan/Ethylacetat	3:2
LM 4: Cyclohexan/Ethylacetat	7:3
LM 5: Cyclohexan/Ethylacetat	4:1
LM 6: Cyclohexan/Ethylacetat	9:1
LM 7: Ethylacetat/Methanol	8:2

Das Rohprodukt wurde direkt auf die Säule aufgetragen. Sollte dies zum Beispiel auf Grund hoher Viskosität erschwert sein, brachte man es vorher auf Kieselgel 60' auf. Dafür wurde das Rohprodukt in einer ausreichenden Menge Dichlormethan oder Ethylacetat gelöst und mit 800 mg Kieselgel 60 pro 500 mg Rohprodukt versetzt. Das Lösungsmittel wurde mittels eines Rotationsvakuumverdampfers entfernt und das zurückbleibende mit Rohprodukt beschichtete Kieselgel auf die mit stationärer Phase bestückte Säule aufgebracht.

5.1.2.2 Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Methode der Dünnschichtchromatographie wurde analytisch genutzt zur Bestimmung von Substanzen und der Verfolgung der Auftrennung von Substanzgemischen und Reaktionsverläufen.

Als stationäre Phase wurden TLC SILICA GEL 60 F₂₅₄-Platten der Firma MERCK KGaA verwendet. Dabei handelte es sich um Aluminiumblätter, auf die Kieselgel 60 zusammen mit einem Fluoreszenzindikator aufgebracht wurde, der unter Licht der Wellenlänge 254 nm eine grüne Lumineszenz zeigt. Als mobile Phase wurden die bereits unter 5.1.2.1 beschriebenen Laufmittel verwendet. Hinzu kommen noch folgende Laufmittel, die nur in der Dünnschichtchromatographie genutzt wurden.

LM 8: Chloroform/Ethylacetat/Methanol	85:15:1
LM 9: Toluol/Methanol	9:1

Zur Verwendung wurden 20 mL des entsprechenden Laufmittelgemisches in die Kammer gefüllt. Diese wurde dann geschlossen und mehrere Minuten bis zum Erreichen der Kammersättigung stehen gelassen. Die zu vermessenden Proben wurden in Methanol, Dichlormethan oder Aceton gelöst und punktuell auf eine vorbereitete DC-Platte aufgetragen. Die Laufmittelstrecke einer solchen musste mindestens 7 cm betragen um eine verlässliche Trennung zu gewährleisten. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 365 nm oder in Einzelfällen auch mittels einer Iod-Kammer. In den Verbindungsmonographien werden die entsprechenden R_F-Werte mit der jeweiligen Nummer des verwendeten Laufmittelgemisches angegeben

5.1.2.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*englisch: high performance liquid chromatography*) wurde im Rahmen dieser Arbeit zur qualitativen Bestimmung der Reinheiten der synthetisierten und zur Testung herangezogenen Endverbindungen verwendet. Folgende Geräte wurden verwendet:

HPLC-Gerät 1:

JASCO, PU-980, 851 AS.

Säule: LICHROSPHER®100 RP-18 Säule von MERCK KGaA.

Injektionsvolumen: 10 µL

Flussrate: 1,0 mL/min

Laufmittel: isokratisch, Laufmittelzusammensetzung in entsprechender Monographie angegeben

Laufzeit: max. 100 min

Detektor: UV-Vis-Detektor UV-970, bei 254 nm gemessen

Software: BORWIN 1.50, für die Auswertung der Rohdaten und Verarbeitung der Grafiken wurde OriginLab 8.0 genutzt

HPLC-Gerät 2:

SHIMADZU; LC-10AD, SIL-HAT auto sampler.

Säule: XTERRA RP-18 Säule (3,5µM, 3,9×100 mm) von WATERS.

Injektionsvolumen: 10 µL.

Flussrate: 0,5 mL/min.

Laufmittel: Elutionsgradient; Beginnend mit 100 % dest. Wasser. Der Anteil an Methanol wurde innerhalb von 15 min auf 100 % Methanol erhöht. Zur Verbesserung der Trennung setzte man den Eluenten 0,1 % Trifluoressigsäure hinzu.

Laufzeit: 30 min

Detektor: UV-Vis-Detektor SPD-M10A VP PDA, bei 254 nm gemessen

Software: LAB SOLUTIONS 5.54. SP2

Welches Gerät für die Bestimmung der jeweiligen Reinheit verwendet wurde, wird in der Monographie durch Angabe von * für HPLC-Gerät 1 und ** für HPLGerät 2 angegeben. Zur Probenvorbereitung wurden circa 0,1 mg Testsubstanz in 100 µL Methanol gelöst und bei unzureichender Löslichkeit bis zu 60 µL DMSO hinzugegeben (Angabe in der entsprechenden Verbindungsmonographie). Der Peak des zugegebenen DMSO musste teilweise aus den Spektren herausgerechnet werden.

5.1.3 Massenspektrometrie (MS)

Zur qualitativ analytischen Massenbestimmung sowie zum Verfolgen von Reaktionsverläufen wurden Massenspektrometer genutzt. Hierbei kamen folgende Geräte zum Einsatz:

EXPRESSION S VON ADVION

Ionisierungsmethode: Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI), Kapillartemperatur: 220 °C, positive Ionisierung: Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck, Messbereich: 10-2000 (u/z), Messgenauigkeit: $\pm 0,1$ u/z, Zufuhr der Probe: über einen erhitzten Kapillarstab (*Atmospheric Solids Analysis Probe*[®]).³⁹⁵

LCQ-CLASSIC VON THERMO FINNIGAN

Ionisierungsmethode: Elektronen-Spray-Ionisation (ESI), Kapillartemperatur: 220 °C, positive und negative Ionisierung: Elektronenspray-Methode mit 5,0 kV, Messbereich: 50-2000 (u/z), Messgenauigkeit: $\pm 0,1$ u/z, Zufuhr der Probe: Injektion kontinuierlich 20 μ L/min mittels Spritzenpumpe.

Welches Gerät in der entsprechenden Verbindungsmonographie verwendet wurde ist am Kürzel der entsprechenden Ionisierungsmethode (APCI oder ESI) erkenntlich. In der jeweiligen Monographie erfolgt die Angabe des Ergebnisses nach folgender Struktur: Massenzahl (m/z) (relative Intensität des Peaks in Bezug zum Basispeak, [Ionenzuordnung]). Für die hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS) wurde das folgende Gerät verwendet.

BRUKER Apex III 70 e

Typ: Fouriertransformations-Ionenzyklotronresonanz-Massenspektrometer.

Maximale Toleranz für Abweichungen: 5 ppm

Im Falle der HR-MS wurde das Ergebnis in der Verbindungsmonographie in folgender Art und Weise angegeben: Massenzahl (m/z) (relative Intensität des Peaks in Bezug zum Basispeak, [Ionenzuordnung]) berechnet für [Summenformel des Ions]: errechnete exakte Masse des Ions.

5.1.4 Kernresonanzchromatographie (NMR)

Die Methode der Kernresonanzchromatographie (*englisch: nuclear magnetic resonance spectroscopy*) wurde zur Strukturcharakterisierung bzw. -Identifizierung der Syntheseprodukte herangezogen. Hierfür wurden ¹H- sowie einzelne ¹³C-, NOESY-, ¹H,¹H-COSY-, HSQC- und HMBC-Spektren vermessen.

Als Messgeräte wurden 400 MHz VNMRS und 500 MHz DD2 von AGILENT TECHNOLOGIES verwendet. Zur Probenvorbereitung wurden 3-7 mg (¹H-NMR, ¹H,¹H-COSY, NOESY) bzw. 15-30 mg (¹³C, HSQC, HMBC) der zu vermessenden Substanz in 0,75 mL deuteriertem Lösungsmittel (Angabe in der Verbindungsmonographie) gelöst und in ein NMR-Probenröhrchen abgefüllt. Als Lösungsmittel wurde wahlweise DMSO-d₆, CDCl₃, Aceton-d₆ oder Methanol-d₄ verwendet.

Als interner Standard bei der Messung wurde Tetramethylsilan benutzt. Software: Die Rohdatenauswertung wurde mit MESTRENOVA 11.0 von MESTRELAB RESEARCH S.L. vorgenommen.

Bei der ¹³C-NMR wurde die Vermessung der Proben entkoppelt von ¹H-Atomen bei 101 MHz bei 27 °C vorgenommen. Die Angabe, der bei der Auswertung der erhaltenen Spektren erhaltenen

Ergebnisse, erfolgt in der Verbindungsmonographie wie folgt: Chemische Verschiebung der Signale (δ) in *parts per million* (ppm), (chemische Zuordnung der C –Atome).

$^1\text{H-NMR}$: Die Vermessung der Proben wurde bei einer Arbeitsfrequenz von 400 MHz (27 °C) oder 500 MHz (27 °C) vorgenommen (Angabe in der jeweiligen Verbindungsmonographie). Die chemische Verschiebung bezieht sich auf die Symmetrieachse der jeweiligen Signale. Die Wiedergabe der Spektrenergebnisse in der Monographie der Verbindungen erfolgt auf diese Art und Weise: Chemische Verschiebung des Signalsymmetrieachse oder Angabe des Bereichs der chemischen Verschiebung des Signals bei unklarer Symmetrie (Signalmultiplizität, Anzahl der korrespondierenden $^1\text{H-Atome}$, Kopplungskonstante J in Hz, chemische Zuordnung der $^1\text{H-Atome}$). Für die Angabe der Signalmultiplizitäten werden folgende Abkürzungen genutzt: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quadruplett), h (Septett), br (verbreitertes Signal), m (Multipllett, ohne Angabe von Kopplungskonstanten, diese Angabe erfolgte auch bei nicht vollständig aufgelösten oder überlagerten Signalen ohne klare Symmetrie). Im Falle des Falles wurden auch Kombinationen der voranstehenden symmetrischen Multiplizitäten verwendet so zum Beispiel die Kombination ddd (Dreifachdublett) oder dt (Doppeltriplett). Die Angabe der Multiplizität steht für die Wiedergabe eines Signales, das sich scheinbar als Signal erster Ordnung im Spektrum erkennen lässt, bei dem es sich aber um ein unzureichend aufgelöstes Signal höherer Ordnung handelt. Als Beispiel sei das Pseudotriplett „t“ im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **73**, bei dem es sich um ein schlecht aufgelöstes Dreifachdublett handelt. Es wird aus diesem Grund ohne diese scheinbare Kopplungskonstanten angegeben.

Die zweidimensionalen Spektren ($^1\text{H},^1\text{H-COSY}$, HSQC, HMBC, NOESY) wurden ebenfalls entweder bei 101 MHz (27 °C), 400 MHz (27 °C) oder 500 MHz (27 °C) vermessen. Deren Ergebnisse werden auf Grund ihrer Komplexität nicht in der Verbindungsmonographie ausführlich dargestellt, sondern nur im theoretischen Teil herangezogen, wenn sie einen Beitrag zur Strukturaufklärung darstellen konnten.

5.1.5 Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzbereiche wurde mit einem BOETIUS PHMK 05 Heitzschmikroskop der Firma VEB WÄGETECHNIK RAPIDO RADEBEUL (maximale Heiztemperatur 360 °C)vorgenommen. Die unkorrigierten Messwerte wurden zusammen mit dem jeweiligen Fällungsmittel angegeben.

5.1.6 Sonstige verwendete Geräte

Heizpilze

Zum Erhitzen von Rundkolben für die Verwendung der Trockenpistole sowie zum Trocknen von Lösungsmitteln unter Zuhilfenahme von Natrium wurden Heizpilze der Firma HERAEUS-WITTMANN vom Typ 65B 1,0 L verwendet mit einer Leistung von 320 W verwendet

Magnetrührplatten

Zur Durchmischung mit Magnetrührern und zum Erhitzen mit Hilfe von Silikonbädern der Reaktionsansätze wurden im Rahmen der Arbeit folgende Magnetrührplatten genutzt:

Tabelle 13: Verwendete Magnetrührplatten

Bezeichnung	Heidolph MR 3001	Heidolph MR 3001	Ikamag RET	Ikamag RH basic	Ikamag RH
Maximal- temperatur in °C	300	300	300	320	320
Motorleistung in min ⁻¹	1000-1250	1000-1250	0-1100	100-2000	20-2000

Trockenschrank

Zum Trocknen von Substanzen, Entfernen von Wasser oder Ausglühen von Glasgeräten wurde ein Trockenschrank der Firma BINDER GmbH vom Typ 1511530000202 mit einer Leistung von 1,6 kW einem Nenntemperaturbereich von 0 bis 300 °C genutzt.

Vakuumrotationsverdampfer mit Wasserbad und Membranvakuumpumpe

Zum Entfernen von Lösungsmitteln wurden folgende Geräte genutzt:

HEIDOLPH VV 2011 Vakuumrotationsverdampfer

HEIDOLPH WB 2001 Wasserbad (Temperaturregler bis maximal 100 °C)

VACUUBRAND, Model: MZ 2C Membranvakuumpumpe

Resona C 311 Vakuumrotationsverdampfer mit Wasserbad

VACUUBRAND, Model: CVC 211 Membranvakuumpumpe

Waagen

Im Laufe der Arbeit wurden folgende Fein-, Präzisions- und Handelswaagen zum Abwägen von Chemikalien und anderen Komponenten genutzt:

Tabelle 14: Verwendete Fein-, Präzisions- und Handelswaagen

Bezeichnung	Mettler Toledo XA105 Dual Range	Sartorius BA210S	Basic	Scaltec SPA 62
Wägebereich	120 g / 41 g*	200 g		4200 g
Standard- abweichung	$\leq \pm 0,05-0,1 \text{ mg} /$ $0,02 \text{ mg}^*$	$\leq \pm 0,1 \text{ mg}$		$\leq \pm 0,2 \text{ g}$
Ablesbarkeit	0,1 mg / 0,01 mg	0,1 mg		0,1 g
Richtigkeit	0,2 mg	$\leq \pm 0,2 \text{ mg}$		$\leq \pm 0,1 \text{ g}$

*Angabe für Werte im Feinbereich

Zentrifuge

Zum Komprimieren von Präzipitaten bei der Umkristallisation (siehe 5.1.1 Generelle Methoden der Synthese) wurde zur erleichterten Abtrennung den flüssigen Überstands eine Zentrifuge MiniSpin® der Firma EPPENDORF mit einem F-45-12-11 Festwinkelrotor mit einer Kapazität von maximal 12 · 2,0 mL und einer maximalen Rotationsgeschwindigkeit von 13400 rpm eingesetzt.

5.1.7 In silico-Untersuchungen

5.1.7.1 Konformationsanalyse der N-Acetyl-1,4-Dihydropyridine

Zur Ermittlung der in Abbildung 22 auf Seite 55 dargestellten energieoptimierten Konformationen für Verbindung **21** wurde das Programm CHEM3D Version 15.0 (PERKINELMER, Inc., Waltham, MA, USA, 2015) verwendet. Zunächst wurde für beide Enantiomere des Moleküls von einer zufälligen Startkonformation aus mittels der Programmfunktion *Dihedral Driver* die Diederwinkel mit minimaler Energie für die C-N-Bindung an Position 1 und die C-C-Bindung an Position 4 zum Phenyl-Ring kalkuliert. Aus diesen Berechnungen resultierten jeweils 2 Ausgangsisoformen mit minimierter Energie für diese Einzelbindungen. Die resultierenden 4 Konformere wurden im Anschluss einer Energieoptimierung durch ein MMFF94-Kraftfeld unterzogen. Die aus diesen Berechnungen resultierenden 4 Konformationen für Verbindung **21** wurden dann als Ball-Stick-Modelle in Abbildung 22 dargestellt

5.1.7.2 Molecular-Modelling-Untersuchungen zum Bindungsmodus ausgewählter Inhibitoren

Die *Docking*-Untersuchungen, die im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet wurden, sind in Kooperation mit Frau Dr. DINA ROBAA AUS dem Arbeitskreis SIPPL der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt worden.

Docking-Studien an CDK1/B

In der Protein Data Bank konnte eine Kristallstruktur der Kette A von humaner CDK1/CyclinB/CKs2 im Komplex mit dem Inhibitor CGP74514A als verfügbare Kristallstruktur identifiziert und heruntergeladen werden (PDB ID: 6GU4). Bei dem Inhibitor CGP74514A handelt es sich um ein 2,6,9-trisubstituiertes Purin-Derivat mit nanomolaren Hemmaktivitäten an CDK1.³⁹⁶

Proteinpräparation: Die Präparation der zuvor identifizierten Proteinstruktur wurde mit dem Programm SCHRÖDINGERS PROTEIN PREPARATION (Schrödinger Suite 2019-1: Proteinpräparationsassistent; Epik, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2016; Impact, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2016; Prime, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2019) durchgeführt. Hierbei wurden innerhalb der Strukturen Wasserstoffatome angefügt, Protonierungszustände bestimmt und die Proteinkonformation minimiert. Mit Ausnahme des Wassermoleküls HOH417 wurden alle enthaltenen Lösungsmittelmoleküle entfernt. Die Protonierungszustände von Aminosäureresten, Tautomere und das Wasserstoffbrückenbindungsnetz wurden optimiert und im Anschluss wurde für die Komplexe durch die Verwendung des OPLS3e-Kraftfelds unter Standardeinstellungen eine Energieminimierung unterzogen. Für die Erzeugung des Rezeptorgitters wurden Standardeinstellungen verwendet. Dabei wurde der kokristallisierte Ligand als Zentrum des Gitters bestimmt.

Präparation der Liganden: Die überprüften Liganden Verbindung **32** und **98** wurden mittels des Programms LigPrep (Schrödinger Release 2019-1: LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2019) vorbereitet. Dabei wurden der Protonierungszustand für pH 7±1 bestimmt und die Strukturen unter Zuhilfenahme des OPLS23e-Kraftfelds energieminimiert. Im Anschluss wurde mit dem Programm CONFGEN (Schrödinger Release 2019-1: ConfGen, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2019) je 20 Konformere für beide Liganden errechnet.

Docking: Die molekularen *Docking*-Untersuchungen wurden mittels des Programms GLIDE (Schrödinger Release 2019-1: Glide, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2019) durchgeführt. Hierbei wurde der Standard-Präzisionsmodus verwendet. Das Docking wurde an den erzeugten Rezeptorgittern durchgeführt. Für die Minimierung danach wurde die Anzahl der Docking-Positionen pro Ligand auf 20 erhöht und als maximale Anzahl an Ausgangsstellungen pro Ligand eins festgelegt.

Docking-Studien an Fyn wt

Für die humane Tyrosinkinase Fyn stand die Kristallstruktur kokristallisiert mit Staurosporin zur Verfügung (PDB ID: 2DQ7). Die Proteinstruktur wurde heruntergeladen und wie für CDK1/B beschrieben präpariert. Hierbei wurden in diesem Fall alle Wassermoleküle entfernt und ein Rezeptorgitter mit dem kokristallisierten Inhibitor im Zentrum erstellt. Die Präparation des

Liganden Verbindung **67** und das anschließende Docking wurden analog zum Vorgehen bei CDK1/B durchgeführt.

5.2 Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel

Soweit es die Umstände erforderlich machten, sind die verwendeten Lösungsmittel nach literaturbekannten Methoden aufgereinigt bzw. getrocknet worden.³⁹⁷

Zur Analytik und Synthese der beschriebenen Verbindungen sind die aufgelisteten Chemikalien aus dem Bestand des Pharmazieinstitutes bezogen oder kommerziell erworben worden (Bezugsquellen in Klammern).

1,4-Benzochinon (SIGMA ALDRICH)
1,4-Dioxan (GRÜSSING GmbH)
1,4-Naphthochinon (SIGMA ALDRICH)
2-Brompropan (SIGMA ALDRICH)
2-Chlorobenzylchlorid (SIGMA ALDRICH)
2-Iodethanol (SIGMA ALDRICH)
2-Methoxybenzylalkohol (ALFA AESAR)
2-Methoxyphenol (SIGMA ALDRICH)
2-Oxazolidinon (SIGMA ALDRICH)
3-Brompyridin (SIGMA ALDRICH)
3-Chlorbenzylchlorid (SIGMA ALDRICH)
3-Chlorpyridin (SIGMA ALDRICH)
3-Hydroxypyridin (SIGMA ALDRICH)
3-Iodpyridin (ACROS ORGANICS)
3-Methoxybenzylchlorid (SIGMA ALDRICH)
4-Aminophenol
4-Chlorobenzylchlorid (SIGMA ALDRICH)
4-Methoxybenzylalkohol (SIGMA ALDRICH)
Aceton
Aceton-*d*₆ (EURISO TOP)
Acetylchlorid (MERCK KGaA)
Aluminiumchlorid
Ammoniak 25 % (GRÜSSING GmbH)
Ammoniumchlorid 99,5 % (GRÜSSING GmbH)
Benzylchlorid (MERCK KGaA)
Brompropan
Calciumchlorid (GRÜSSING GmbH)

Geräte, Methoden und Chemikalien

Chloroform

Chloroform-*d* (EURISO TOP)

Cyclohexan (>99,5 % zur Synthese; GRÜSSING GmbH)

Dichlormethan (CARL ROTH GmbH)

Diethylether

Diisopropylether (CARL ROTH GmbH)

tert-Butylmethylether (CARL ROTH GmbH)

Dimethylsulfoxid (SIGMA ALDRICH)

Dimethylsulfoxid-*d*₆ (EURISO TOP)

Essigsäure (100 %) (CARL ROTH GmbH)

Ethanol

Ethylacetat

Ethylencarbonat (SIGMA ALDRICH)

Ehtylenglykol 99 % (GRÜSSING GmbH)

Hexan-1-ol

Iodethan

Iodmethan (MERCK SCHUCHARDT OHG)

Kalium-*tert*-butoxid (FLUKA CHEMIE GmbH)

Kaliumhydroxid (CARL ROTH GmbH)

Kaliumiodid

Kieselgel 60 (63-200 nm; MACHEREY-NAGEL)

Kieselgel ST-Trockenperlen (STEINERCHEMIE)

Kupfer-(I)-iodid

Lithiumchlorid

Methanol

Methanol-*d*₄ (EURISO TOP)

Methanol für HPLC (CARL ROTH GmbH)

Natrium

Natriumchlorid (ORG LABORCHEMIE GmbH)

Natriumhydrid

Natriumhydroxid (ORG LABORCHEMIE GmbH)

Natriumperodat (REANAL LABOR)

n-Hexan (GRÜSSING GmbH)

n-Heptan

N,N-Dimethylformamid 99 % (GRÜSSING GmbH)

N-Methyl-2-pyrrolidon (SIGMA ALDRICH)

Perchlorsäure 70 % (VEB LABORCHEMIE APOLDA)

Phenylmagnesiumchlorid 2 M in THF (SIGMA ALDRICH)

Phosphorpentoxid (CARL ROTH GmbH)

Geräte, Methoden und Chemikalien

Pyridin (GRÜSSING GmbH)

Salzsäure 37 % (ORG LABORCHEMIE GmbH)

Schwefelsäure 96% (ORG LABORCHEMIE GmbH)

Schwefelsäure, rauchend (ca. 65 % freies SO₃)

Silbernitrat (CARL ROTH GmbH)

Silberoxid (MERCK KGaA)

Seesand (GRÜSSING GmbH)

Silikonöl (bis 220 °C; GRÜSSING GmbH)

Tetrabutylammoniumbromid (ACROS ORGANICS)

Tetrahydrofuran (GRÜSSING GmbH)

Thionylchlorid (VEB LABORCHEMIE APOLDA)

Trifluoressigsäure (ACROS ORGANICS)

Toluen 99 % (ORG LABORCHEMIE GmbH)

Toluol-4-sulfonsäurechlorid (MERCK SCHUCHARDT OHG)

6 Synthese der Verbindungen

6.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

AAV 1: Darstellung der 3-Benzyloxy- und 3-Alkoxy-pyridine

1 eq. 3-Hydroxypyridin wurde in einem Rundkolben in 150 mL Dimethylformamid gelöst. Dieser wurde daraufhin im Eisbad auf 0 °C gekühlt und 1,3 eq. Kalium-*tert*-butanolat zugegeben. Nach 15 minütiger Wartezeit wurden 1,5 eq. des Benzylhalogenids oder Alkylhalogenids zum gekühlten Reaktionsansatz hinzugegeben. Der Kolben wurde aus dem Eisbad genommen und der weitere Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung der Edukte, nach 4-7 Stunden wurde überschüssiges Kalium-*tert*-butanolat durch die Zugabe von 50 mL gekühltem dest. Wasser (2-8 °C) zersetzt und die Lösung mit Hilfe von 10 %-iger wässriger Salzsäurelösung auf einen pH-Wert von 1-2 eingestellt. Daraufhin wurden der Reaktionsansatz in einen Scheidetrichter überführt, 100 mL Diethylether hinzugegeben und zweimal mit 75 mL 10 %-iger Salzsäurelösung extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit 10 mol Natriumhydroxidlösung auf einen pH Wert über 12 gebracht und im Scheidetrichter dreimal mit je 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden gegen *Brine* gewaschen und anschließend am Vakuumrotationsverdampfer eingeengt. Hierbei wurde mehrfach *n*-Heptan hinzugegeben, das ein azeotropes Gemisch mit dem hochsiedenden DMF bildet.³¹⁹ Das resultierende, ölige, viskose Produkt wurde falls notwendig säulenchromatographisch aufgereinigt.

AAV 2: Darstellung der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinderivate

1 eq. des jeweiligen 3-substituierten Pyridins wurde in einem ausgeglühten Zweihalsrundkolben unter Argon-Atmosphäre in absolutem Tetrahydrofuran gelöst. Im Anschluss wurden 0,1 eq. Kupfer(I)-iodid zusammen mit 0,2 eq. getrocknetem Lithiumchlorid (stark hygroskopisch) dem Ansatz zugegeben und in diesem teilweise gelöst bzw. suspendiert. Der Ansatz wurde daraufhin auf -40 °C oder -20 °C (fein zerstoßenes Trockeneis in einer gleichteiligen Mischung aus Methanol und Isopropanol oder eine 3:1-Kältemischung aus Eis und Natriumchlorid) heruntergekühlt. Dann wurden tropfenweise 1,1 eq. frisch destilliertes Acetylchlorid hinzugefügt. Eine Farbveränderung des Ansatzes nach tiefrot wies bei der Verwendung von 3-Benzyloxy-pyridin- und 3-Alkoxy-pyridin-Derivaten auf eine erfolgreiche *N*-Acetylierung hin. Bei 3-Halogenpyridin-Derivaten war diese Verfärbung nicht zu beobachten. Nach einer 15 minütigen Wartezeit bei -40 °C und 10 minütiger Wartezeit bei -20 °C wurden 1,2 eq. Phenylmagnesiumchlorid (2 M Lösung in THF) langsam zugetropft, woraufhin die tiefrote Färbung, sofern vorhanden, durch die Abreaktion des *N*-Acetylpyridinium-Salzes verschwand. Nach 15 min weiterer Kühlung wurde der Kolben aus dem Kältebad genommen und nach einer Wartezeit von 30 min bei -40 °C und einer Wartezeit von 10 min bei -20 °C wurden dem Ansatz

Synthese der Verbindungen

100 mL einer 20 %-igen Ammoniumchlorid-Lösung zugegeben. Der Ansatz wurde im Anschluss in einen Scheidetrichter überführt und mit dreimal je 100 mL Chloroform extrahiert. Danach extrahierte man die vereinigten organischen Phasen, solange mit einer ammoniakalischen Ammoniumchlorid-Lösung (20 %-ige Ammoniumchlorid-Lösung und 25 %-iger Ammoniak im Verhältnis 1:1) bis die wässrige Phase keine Blaufärbung durch den Kupfertetraminkomplex mehr aufwies. In der Folge wusch man die organische Phase gegen 100 mL einer 10 %-igen Salzsäurelösung, 100 mL dest. Wasser und gegen *Brine*. Die organischen Lösungsmittel wurden mit Hilfe des Vakuumrotationsverdampfers entfernt und das so erhaltene Rohprodukt (weißlich trübes bis oranges klares, viskoses Öl, bei Zugabe von gekühltem Methanol (2-8 °C) teilweise schon Aushärtung als weißer bis gelber amorpher Feststoff) säulenchromatographisch aufgetrennt. Das Produkt wurde, sofern es nicht bereits beim Entfernen des Laufmittelgemisches am Vakuumrotationsverdampfer ausfiel, mit Hilfe von gekühltem Methanol (2-8 °C) gefällt und im Exsikkator getrocknet. Schlussendlich wurden die Verbindungen auf Grund ihrer Oxidationsempfindlichkeit bei -20 °C unter Argon-Atmosphäre gelagert.

AAV 3: Darstellung der 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenz[a]fluoren-Derivate

1 eq. des entsprechenden *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinderivates und 1,3 eq. des jeweiligen 1,4-Chinons wurden in einem ausgeglühten Zweihalskolben unter Argon-Atmosphäre in einem möglichst geringen Volumen absolutem 1,4-Dioxan gelöst. Im Anschluss wurde ein Gemisch aus trockenem Dioxan und entweder Perchlorsäure (70 %(V/V)) oder Schwefelsäure (96 %(V/V)) über einen Tropftrichter über einen Zeitraum von minimal 20 min zugetropft. Angaben zur verwendeten Säure, deren Menge und dem jeweiligen Endvolumen sind den Verbindungsmonographien zu entnehmen. Nach kurzer Zeit ließ sich in den Ansätzen ein Farbumschlag beobachten. Der weitere Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch und massenspektrometrisch verfolgt. Wenn im Verlauf der Reaktion kein 1,4-Chinon aber noch Dihydropyridin-Edukt nachgewiesen werden konnte wurden noch einmal 0,3 eq. des Chinons zugegeben. Bei der Verwendung von 3-Benzoyloxy- und 3-Alkoxydihydropyridinderivaten war die Umsetzung in der Regel nach 12-48 Stunden abgeschlossen. Bei den 3-Halogenderivaten konnte ein vollständiger Umsatz erst nach 10-14 Tagen unter Verwendung von Perchlorsäure und unter 9-10 Tagen unter Verwendung von Schwefelsäure festgestellt werden. Nach vollständigem Umsatz der Edukte miteinander wurde die Reaktion durch die Zugabe von 20-50 mL dest. Wasser abgebrochen und der Ansatz mithilfe von 1 M Natriumhydroxidlösung auf pH 8-9 eingestellt. Der Reaktionsansatz wurde daraufhin mit Chloroform (3·100 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen gegen *Brine* gewaschen und am Vakuumsrotationsverdampfer eingeeengt. Der resultierende meist ölig viskose bis amorph feste Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgetrennt. Die so erhaltenen Produkte kristallisierte man (wie in 5.1.1 Generelle Methoden der Synthese beschrieben) um. Das verwendete Lösungsmittel wird in der jeweiligen

Synthese der Verbindungen

Verbindungsmonographie angegeben. Zum Schluss wurden die erhaltenen Feststoffe noch 48-96 Stunden im Exsikkator getrocknet.

AAV 4: Darstellung der 6-Methoxy-1-aza-9-oxafluoren- bzw. 5-Methoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivate

1 eq. des jeweiligen 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivates wurden in einem Zweihalsrundkolben unter Argon-Atmosphäre in 3-5 mL absolutem Tetrahydrofuran gelöst. Der Reaktionsansatz wurde im Eisbad auf eine Temperatur von 0 °C heruntergekühlt. Dem Ansatz wurde dann 7 eq. Natriumhydrid hinzugefügt, das aus einer 60 %-igen Paraffinöl-Dispersion gewonnen und durch mehrmaliges Waschen mit absolutem THF unter Schutzatmosphäre von Mineralöl befreit wurde. Nach einer 15 minütigen Wartezeit bei 0 °C und einer 15 minütigen Wartezeit bei RT wurde mithilfe einer Mikroliterpipette dem Ansatz 4 eq. Iodmethan zugegeben. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 4-6 Stunden ständiger Durchmischung bei RT wurde ein vollständiger Umsatz der Edukte beobachtet. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 10 mL eiskaltem dest. Wasser versetzt und nach der Zersetzung des überschüssigen Natriumhydrids in einen Scheidetrichter überführt. Der Ansatz wurde daraufhin mit Chloroform (3·10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden gegen *Brine* gewaschen und die Lösungsmittel mithilfe des Rotationsvakuumverdampfers entfernt. Das resultierende wachsartige bis amorph feste Rohprodukt wurde mittels der Säulenchromatographie aufgereinigt und anschließend wie unter 5.1.1 beschrieben auskristallisiert und getrocknet.

AAV 5: Darstellung der längerkettigen 6-Alkoxy-1-aza-9-oxafluoren- bzw. 5-Alkoxy-10-aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivate

1 eq. des entsprechenden 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenz[o]fluoren-Derivates wurden in einem Rundkolben in 5-10 mL Dimethylformamid gelöst. Dieser wurde im Anschluss im Eisbad auf 0 °C gekühlt und 1,4 eq. Kalium-*tert*-butanolat zugegeben. Nach 15 minütiger Wartezeit wurde das Alkyliodid (1,5 eq. bei Iodethan, 2 eq. bei 1-Iodpropan, 4 eq. bei 2-Iodpropan) zum gekühlten Reaktionsansatz hinzugegeben. Der Kolben wurde aus dem Eisbad genommen und der weitere Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Ein vollständiger Umsatz konnte bei der Verwendung von Iodethan und Iodpropan nach 3-5 Stunden beobachtet werden. Im Zuge der Isopropoxylierung mit 2-Iodpropan wurde dem Reaktionsansatz nach 4 Stunden auf 0 °C gekühlt. Im Anschluss wurden noch einmal 1 eq Kalium-*tert*-butanolat und nach der bereits beschriebenen Wartezeit von 15 min bei 0 °C und 15 min bei RT 1,2 eq 2-Iodpropan dem Ansatz zugefügt. Nach diesem wurde überschüssiges Kalium-*tert*-butanolat durch die Zugabe von 15 mL gekühltem dest. Wasser (2-8 °C) zersetzt. Der Ansatz wurde in einen Scheidetrichter überführt und mit Chloroform (3·20 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden daraufhin gegen *Brine* gewaschen und in der Folge eingeeengt. Das feste amorphe bis kristalline Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgetrennt. Die erhaltenen

Synthese der Verbindungen

Produktfraktionen fielen in aller Regel bereits beim Entfernen des Laufmittelgemisches aus, wurden aber teilweise zur Erhöhung der Reinheit noch umkristallisiert. Im Anschluss wurden die so erhaltenen Derivate im Exsikkator noch 72 Stunden getrocknet.

AAV 6: Darstellung der 6-Hydroxyethoxy-1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-Hydroxyethoxy-10-Aza-11-oxabenz[a]fluoren-Derivate

1 eq. des jeweiligen 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenz[a]fluoren-Derivates, 1,2 eq. Ethylencarbonat und 1 eq Kaliumcarbonat wurden in 3-5 mL Dimethylformamid gelöst bzw. suspendiert. Der Ansatz wurde im Paraffinbad 2 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Nachdem der Ansatz auf RT abgekühlt war, wurden ihm 15 mL Wasser hinzugefügt. Der resultierende Ansatz wurde mit Ethylacetat (3·20 mL) im Scheidetrichter extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden gegen 1 M Natriumhydroxidlösung und gegen *Brine* gewaschen und anschließend über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach der anschließenden Entfernung der organischen Lösungsmittel am Vakuumrotationsverdampfer wurde das wachsartige Rohprodukt mithilfe von Säulenchromatographie aufgereinigt. Final wurden die so erhaltenen Produkte umkristallisiert und 96 Stunden im Exsikkator getrocknet.

6.2 Verbindungsmonographien

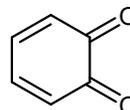
6.2.1 Synthese kommerziell nicht erhältlichlicher Edukte

Die im folgenden Teil aufgelisteten Substanzen waren als Edukte für die nachfolgenden Schritte erforderlich, konnten kommerziell aber nicht erworben werden. Die hier vorgenommene Charakterisierung beschränkt sich auf das notwendig Wesentliche.

1,2-Benzochinon

Summenformel: $C_6H_4O_2$

Relative Molmasse [M_r]: 108,10 g/mol



Darstellung:

Synthese nach ADLER und MAGNUSSON

3 g 2-Methoxyphenol (Guajacol) (24,17 mmol, 1 eq.) wurden in einem Rundkolben in 150 mL Wasser gelöst und im Eisbad auf 0 °C herabgekühlt. Anschließend wurde sehr schnell eine Lösung von 10,5 g Natriumperodat (49,09 mmol, 2,03 eq.) in 75 mL dest. Wasser, die zuvor ebenfalls auf 0 °C herabgekühlt worden ist, zum Ansatz gegeben. Der Reaktionsansatz verfärbte sich daraufhin von milchig gelb nach dunkelrot und wurde umgehend mit 100 mL Dichlormethan im Scheidetrichter extrahiert. Die organische Phase wurde kurz über wasserfreiem Natriumsulfat

Synthese der Verbindungen

getrocknet, filtriert und sofort am Vakuumrotationsverdampfer auf ein Volumen von ungefähr 20 mL reduziert. Aus dem konzentrierten Ansatz fiel nun das 1,2-Benzochinon nach Zugabe von n-Hexan in Form von dunkelroten Kristallnadeln aus. Nach Filtration des Ansatzes wurde das Produkt unter Lichtausschluss und Argon-Atmosphäre bei 2-8 °C gelagert.

Ausbeute: 63 %

Schmelzbereich: Zersetzung 63-67 °C

MS (m/z (%)): (ESI) 109,26 (100 % [M+H]⁺)

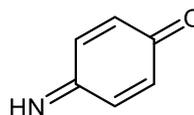
¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7.17-7.09 (m, 2H,4-H, 5-H); 6.40-6.32 (m, 2H,3-H, 6-H).

R_f-Werte (DC): 0,61 (LM 3)

1,4-Benzochinonimin

Summenformel: C₆H₄NO

Relative Molmasse [M_r]: 107,11 g/mol



Darstellung:

Synthese nach WILLSTÄTTER und PFANNENSTIEL

0,2 g 1,4-Aminophenol (1,83 mmol, 1 eq.) wurden in einem Rundkolben in 100 mL absolutem Diethylether gelöst. Anschließend wurde 0,6 g trockenes Silberoxid (2,59 mmol, 1,41 eq., 1 Stunde bei 220 °C im Trockenschrank erhitzt) und 1 g trockenes Natriumsulfat (7,04 mmol, 3,85 eq.) hinzugegeben. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 15 min war die Oxidation nahezu vollständig abgelaufen. Die Lösung nahm eine klare gelbe Farbe an. Das 1,4-Benzochinonimin konnte aus dieser Lösung nicht ohne Zersetzung extrahiert werden. Die Produktidentität konnte jedoch massenspektrometrisch bestätigt werden.

Die Produktlösung wies unter Lichtausschluss und Argon-Atmosphäre bei 2-8 °C eine Halbwertszeit von mehreren Wochen auf.

MS (m/z (%)): (APCI) 108,1 (100 % [M+H]⁺)

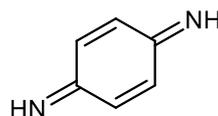
R_f-Werte (DC): 0,43 (LM3)

Synthese der Verbindungen

1,4-Benzochinonimin

Summenformel: $C_6H_4N_2$

Relative Molmasse [M_r]: 106,13 g/mol



Darstellung:

Synthese nach WILLSTÄTTER und PFANNENSTIEL

0,6 g 1,4-Phenylendiamin (5,55 mmol, 1 eq.) wurde analog zur Synthese des 1,4-Benzochinonimins in 200 mL absolutem Diethylether gelöst und mit 1,8 g trockenem Silberoxid (7,82 mmol, 1,41 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 45 min. Die Lösung nahm in diesem Fall mit zunehmendem Umsatz eine rote Färbung an und das Produkt konnte durch das Entfernen des Silberoxids durch Filtration und des Diethylethers mittels Vakuumrotationsverdampfer als gelbbraunes Pulver gewonnen werden. Das Produkt war unter Argon-Atmosphäre und Lichtausschluss bei 2-8 °C bis zu 40 Tage stabil.

Ausbeute: 71 %

Schmelzbereich: zersetzt sich bei Erhitzen über 57 °C

MS (m/z (%)): (APCI) 107,0 (100 % [M+H]⁺).

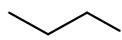
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 11,08 (s, 2H, N-H); 8,04 (s, 4H, 2-H, 3-H, 4-H, 5-H).

R_f-Werte (DC): 0,51 (LM3)

1-Iodpropan

Summenformel: C_3H_7I

Relative Molmasse [M_r]: 169,99 g/mol



Darstellung:

Synthese nach FINKELSTEIN

2 g 1-Brompropan (16,26 mmol, 1 eq.) wurden in einem Rundkolben in 20 mL Aceton gelöst. Dem Ansatz wurden daraufhin 3,66 g Natriumiodid (24,39 mmol, 1,5 eq.) hinzugefügt, fast unverzüglich trat die Bildung eines weiß-gelben Präzipitats auf, die auf eine erfolgte Reaktion hindeuteten. Nach einer Wartezeit von einer halben Stunde wurde dem Ansatz 20 mL dest. Wasser hinzugefügt und dieser in einen Scheidetrichter überführt. Hier wurde er mit Chloroform extrahiert (3*30 mL) und anschließend das Lösungsmittel am Vakuumrotationsverdampfer entfernt. Das Produkt wurde als klare, farblose bis leicht gelbe Flüssigkeit mit stechendem Geruch gewonnen.

Synthese der Verbindungen

Ausbeute: 98 %

Gefahrenhinweis: Dampf und Flüssigkeit entzündbar und **giftig beim Einatmen** (H 226-331)

2-Iodpropan

Summenformel: C_3H_7I

Relative Molmasse [M_r]: 169,99 g/mol



Darstellung:

Synthese nach FINKELSTEIN

2 g 2-Brompropan (16,26 mmol, 1 eq.) wurden in einem Rundkolben in 20 mL Aceton gelöst und analog zur Synthese des 1-Iodpropans mit 4,87 g Natriumiodid (32,52 mmol, 2,0 eq.) umgesetzt. Die Bildung eines weiß-gelben Präzipitats trat hier stark verzögert auf und die Reaktionszeit war mit 3 Stunden wesentlich länger. Das Produkt wurde als klare, leicht rötliche Flüssigkeit mit stechendem Geruch gewonnen.

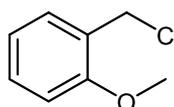
Ausbeute: 89 %

Gefahrenhinweis: Dampf und Flüssigkeit entzündbar, verursacht Haut- und schwere Augenreizungen und kann die Atemwege reizen (H 226-315-319-331)

2-Methoxybenzylchlorid

Summenformel: C_8H_9ClO

Relative Molmasse [M_r]: 156,61 g/mol



Darstellung:

10 g 2-Methoxybenzylalkohol (72,37 mmol, 1 eq.) werden in einem Rundkolben in 80 mL Diethylether gelöst und mit 0,4 g Pyridin (4,6 mmol, 0,06 eq.) versetzt. Der Ansatz wurde im Eisbad gekühlt und langsam 10 mL Thionylchlorid (16,5 g, 138,69 mmol, 1,92 eq.) zugegeben. Im Anschluss wurde der Reaktionsansatz für zwei Stunden zum Rückfluss erhitzt. Danach wurde er erneut im Eisbad gekühlt und vorsichtig Eiswasser zugegeben. Anschließend wird das Gemisch im Scheidetrichter mit Diethylether (3*80 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen dann am Rotationsvakuumverdampfer eingengt. Das Produkt war eine weiße bis hellgelb gefärbte Flüssigkeit.

Ausbeute: 98,5 %

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (APCI) 157,2 (100 % [M+H]⁺)

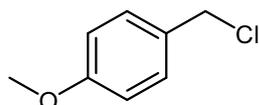
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,41-7,28 (m, 1H, 5-H); 7,22-7,05 (m, 1H, 4-H); 7,02 (d, 1H, ³J_{3/4} = 8,7 Hz, 3-H); 6,93 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 7,4 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,2 Hz, 1H, 6-H); 4,69 (s, 2H, 1-CH₂Cl); 3,42 (s, 3H, 2-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,63 (LM3)

4-Methoxybenzylchlorid

Summenformel: C₈H₉ClO

Relative Molmasse [M_r]: 156,61 g/mol



Darstellung:

10 g 4-Methoxybenzylalkohol (72,37 mmol, 1 eq.) werden in einem Rundkolben in 80 mL Diethylether gelöst und mit 0,4 g Pyridin (4,6 mmol, 0,06 eq.) und 10 mL Thionylchlorid (16,5 g, 138,69 mmol, 1,92 eq.) analog zur Synthese des 2-Methoxybenzylchlorids umgesetzt. Das Produkt wurde als ein hellgelbes Öl gewonnen.

Ausbeute: 96,0 %

MS (m/z (%)): (APCI) 157,2 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,34 (AA'BB', 2H, 2-H, 6-H); 6,91 (AA'BB', 2H, 3-H, 5-H); 4,70 (s, 2H, 1-CH₂Cl); 3,74 (s, 3H, 4-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,59 (LM3)

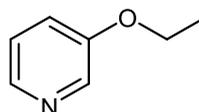
6.2.2 Synthese der 3-substituierten Pyridine

3-Ethoxyypyridin

Verbindung: 1

Summenformel: C₇H₉NO

Relative Molmasse [M_r]: 123,16 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 4,75 mL Iodethan (9,36 g, 60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als ein hellgelbes, viskoses Öl erhalten.

Ausbeute: 87,6 %

MS (m/z (%)): (APCI) 124,2 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,25 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 3,0 Hz, 2-H); 8,13 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,5 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,4 Hz, 6-H); 7,34 (ddd, 1H, ³J_{4/5} = 8,4 Hz, ⁴J_{4/2} = 3,0 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,4 Hz, 4-H); 7,29 (dd, 1H, ³J_{5/4} = 8,4 Hz, ³J_{5/6} = 4,5 Hz, 5-H); 4,07 (q, ³J_{CH₂/CH₂} = 7,0 Hz, 2H, 3-O-CH₂CH₃); 1,32 (t, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, 3H, 3-O-CH₂CH₃).

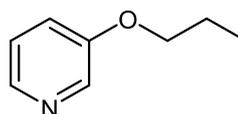
R_f-Werte (DC): 0,19 (LM 3LM 3LM 3)

3-Propoxyypyridin

Verbindung: 2

Summenformel: C₈H₁₁NO

Relative Molmasse [M_r]: 137,18 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 5,8 mL 1-Iodpropan (10,2 g, 60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als ein gelbes, viskoses Öl erhalten.

Ausbeute: 80,9 %

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (APCI) 138,2 (100 % [M+H]⁺)

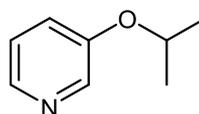
¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,25 (dd, 1H, ⁴J_{2/4} = 3,0 Hz, ⁵J_{2/5} = 0,8 Hz, 2-H); 8,23 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,5 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,4 Hz, 6-H); 7,35 (ddd, 1H, ³J_{4/5} = 8,4 Hz, ⁴J_{4/2} = 3,0 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,4 Hz, 4-H); 7,29 (ddd, 1H, ³J_{5/4} = 8,4 Hz, ³J_{5/6} = 4,5 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,8 Hz, 5-H); 3,97 (t, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,5 Hz, 2H, 3-O-CH₂CH₂CH₃); 1,72 (qt, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,4 Hz, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,5 Hz 2H, 3-O-CH₂CH₂CH₃); 0,96 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 3H, 3-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,24 (LM 3)

3-Isopropoxyipyridin

Verbindung: 3

Summenformel: C₈H₁₁NO



Relative Molmasse [M_r]: 137,18 g/mol

Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxyipyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 6,0 mL 2-Iodpropan (10,2 g, 60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als ein gelbes, viskoses Öl erhalten.

Ausbeute: 69,4 %

MS (m/z (%)): (APCI) 138,2 (100 % [M+H]⁺)

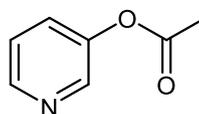
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,22 (dd, 1H, ⁴J_{2/4} = 2,9 Hz, ⁵J_{2/5} = 0,7 Hz, 2-H); 8,11 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,5 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,4 Hz, 6-H); 7,35 (ddd, 1H, ³J_{4/5} = 8,5 Hz, ⁴J_{4/2} = 2,9 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,4 Hz, 4-H); 7,28 (ddd, 1H, ³J_{5/4} = 8,5 Hz, ³J_{5/6} = 4,5 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,7 Hz, 5-H); 4,67 (h, ³J_{CH/CH₃} = 6,0 Hz, 2H, 3-O-CH(CH₃)₂); 1,26 (d, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,0 Hz, 3-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,25 (LM 3)

3-Acetoxyipyridin

Verbindung: 4

Summenformel: C₇H₇NO₂



Relative Molmasse [M_r]: 137,14 g/mol

Synthese der Verbindungen

Darstellung:

2,853 g 3-Hydroxypyridin (30 mmol, 1 eq.) wurden in einem Rundkolben in 25 mL absolutem Tetrahydrofuran gelöst. Tropfenweise wurden 2,5 mL frisch destilliertes Acetylchlorid (2,75 g, 35 mmol, 1,17 eq.) zugegeben. Nach leichter Gas- und Wärmebildung bildete sich eine fast klare Lösung, aus der kurz darauf ein weißes Präzipitat ausfiel. Die Reaktion wurde nach 20 min durch Kühlen des Ansatzes im Eisbad und anschließende Zugabe von 25 mL dest. Wasser abgebrochen. Der nun klare Reaktionsansatz wurde im Anschluss im Scheidetrichter mit Ethylacetat (3*25 mL) extrahiert, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und anschließend am Vakuumrotationsverdampfer eingengt. Das resultierende Produkt war ein klares farbloses Öl

Ausbeute: 95,4 %

MS (m/z (%)): (APCI) 138,1 (100 % [M+H]⁺)

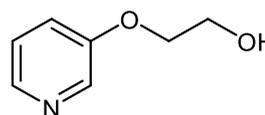
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,45 (dd, 1H, ⁴J_{2/4} = 2,7 Hz, ⁵J_{2/5} = 0,7 Hz, 2-H); 8,36 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 5,0 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,4 Hz, 6-H); 8,04 (ddd, 1H, ³J_{4/5} = 8,7 Hz, ⁴J_{4/2} = 2,7 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,1 Hz, 4-H); 7,69 (ddd, 1H, ³J_{5/4} = 8,5 Hz, ³J_{5/6} = 5,0 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,7 Hz, 5-H); 2,32 (s, 3H, 3-O-C(=O)CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,25 (LM 3)

3-(2-Hydroxyethoxy)pyridin

Verbindung: 5

Summenformel: C₇H₉NO₂



Relative Molmasse [M_r]: 139,15 g/mol

Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden in einem Rundkolben in 9,5 mL Dimethylformamid gelöst. Anschließend wurden im Reaktionsansatz 4,93 g Ethylencarbonat (60 mmol, 1,4 eq.) gelöst bzw. 5,53 g Kaliumcarbonat (40 mmol, 1 eq.) suspendiert. Der Ansatz wurde daraufhin für 3 Stunden zum Rückfluss erhitzt und nach dem Abkühlen auf RT mit 20 mL dest. Wasser versetzt. Im Anschluss wurde dieser in einen Scheidetrichter überführt und mittels 10%-iger Salzsäurelösung auf pH 1-2 eingestellt. Die resultierende saure wässrige Phase wurde mit 100 mL Diethylether gewaschen und dann 10%-ige Natriumhydroxidlösung hinzugefügt, bis ein pH-Wert > 12 erreicht war. Der alkalische Ansatz wurde dann mit Ethylacetat (3*100 mL) extrahiert, gegen *Brine* gewaschen und mit wasserfreiem Natriumsulfat

Synthese der Verbindungen

getrocknet. Anschließend wurden die organischen Lösungsmittel am Vakuumrotationsverdampfer abgetrennt.

Das bräunliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mittels LM 7 auf und erhielt eine leicht gelbes, klares, viskoses Öl

Ausbeute: 67,3 %

MS (m/z (%)): (ESI) 140,16 (100 % $[M+H]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,28 (dd, 1 H, $^4J_{2/4} = 3,0$ Hz, $^5J_{2/5} = 0,7$ Hz, 2-H); 8,15 (dd, 1 H, $^3J_{6/5} = 4,6$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,4$ Hz, 6-H); 7,38 (ddd, 1 H, $^3J_{4/5} = 8,4$ Hz, $^4J_{4/2} = 3,0$ Hz, $^4J_{4/6} = 1,4$ Hz, 4-H); 7,31 (ddd, 1 H, $^3J_{5/4} = 8,4$ Hz, $^3J_{5/6} = 4,6$ Hz, $^5J_{5/2} = 0,7$ Hz, 5-H); 4,89 (t, $^3J_{\text{OH}/\text{CH}_2} = 5,4$ Hz, 1H, 3-O-CH₂CH₂OH); 4,05 (t, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 5,3$ Hz, 2H, 3-O-CH₂CH₂OH); 3,72 (q, $^3J_{\text{CH}_2/(\text{CH}_2/\text{OH})} = 5,3$ Hz, 2H, 3-O-CH₂CH₂OH).

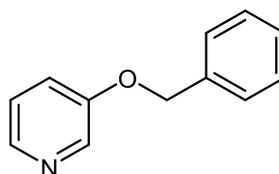
R_f-Werte (DC): 0,02 (LM 3)

3-Benzylloxypyridin

Verbindung: 6

Summenformel: C₁₂H₁₁NO

Relative Molmasse [M_r]: 185,22 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 6,9 mL Benzylchlorid (7,59 g, 60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als ein gelbes, hochviskoses Öl erhalten.

Ausbeute: 72,6 %

MS (m/z (%)): (APCI) 186,0 (100 % $[M+H]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,40 (d, 1H, $^4J_{2/4} = 2,8$ Hz, 2-H); 8,23 (dd, 1H, $^3J_{6/5} = 4,5$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,5$ Hz, 6-H); 7,45-7,30 (m, 5H, 3-OCH₂C₆H₅); 7,25 (dd, 1H, $^3J_{4/2} = 2,8$ Hz, $^4J_{4/6} = 1,5$ Hz, 4-H); 7,21 (dd, 1H, $^3J_{5/4} = 8,4$ Hz, $^4J_{5/6} = 4,5$ Hz, 5-H); 5,12 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₅).

R_f-Werte (DC): 0,24 (LM 3)

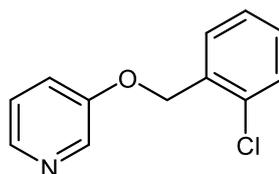
Synthese der Verbindungen

3-(2-Chlorbenzyloxy)pyridin

Verbindung: 7

Summenformel: $C_{12}H_{10}ClNO$

Relative Molmasse [M_r]: 219,05 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 7,6 mL 2-Chlorbenzylchlorid (9,66 g, 60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als ein hellgelbes, hochviskoses Öl erhalten.

Ausbeute: 74,9 %

MS (m/z (%)): (ESI) 220,48 (100 % [$M+H$]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,36 (dd, 1H, ⁴ $J_{2/4}$ = 3,0 Hz, ⁵ $J_{2/5}$ = 0,7 Hz 2-H); 8,19 (dd, 1H, ³ $J_{6/5}$ = 4,7 Hz, ⁴ $J_{6/4}$ = 1,4 Hz, 6-H); 7,64-7,57 (m, 1H, 3'-H); 7,54-7,49 (m, 1H, 6'-H); 7,47 (ddd, 1H, ³ $J_{4/5}$ = 8,5 Hz, ⁴ $J_{4/2}$ = 3,0 Hz, ⁴ $J_{4/6}$ = 1,4 Hz, 4-H); 7,43-7,37 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,34 (ddd, 1H, ³ $J_{5/4}$ = 8,5 Hz, ³ $J_{5/6}$ = 4,7 Hz, ⁵ $J_{5/2}$ = 0,7 Hz, 5-H); 5,22 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

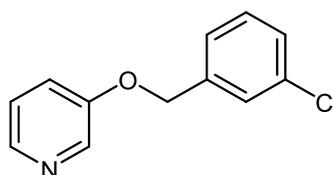
R_f-Werte (DC): 0,27 (LM 3)

3-(3-Chlorbenzyloxy)pyridin

Verbindung: 8

Summenformel: $C_{12}H_{10}ClNO$

Relative Molmasse [M_r]: 219,05 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 7,6 mL 3-Chlorbenzylchlorid (9,66 g, 60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als ein gelb-oranges, hochviskoses Öl erhalten.

Ausbeute: 70,0 %

MS (m/z (%)): (ESI) 220,29 (100 % [$M+H$]⁺)

Synthese der Verbindungen

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,35 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 3,0 Hz, 2-H); 8,17 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,6 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,1 Hz, 6-H); 7,53 (s, 1H, 2'-H); 7,48-7,37 (m, 4H, 4-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H); 7,33 (dd, 1H, ³J_{5/4} = 8,3 Hz, ³J_{5/6} = 4,6 Hz, 5-H); 5,19 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

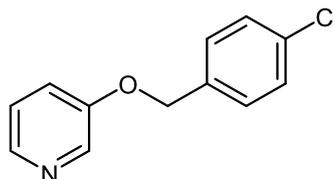
R_f-Werte (DC): 0,26 (LM 3)

3-(4-Chlorbenzyloxy)pyridin

Verbindung: 9

Summenformel: C₁₂H₁₀ClNO

Relative Molmasse [M_r]: 219,05 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 9,66 g 4-Chlorbenzylchlorid (60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als weiß-gelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 71,4 %

Schmelzbereich: 47-49 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

MS (m/z (%)): (APCI) 220,2 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,35 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 3,0 Hz, 2-H); 8,17 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,6 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,1 Hz, 6-H); 7,53 (s, 1H, 2'-H); 7,48-7,37 (m, 4H, 4-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H); 7,33 (dd, 1H, ³J_{5/4} = 8,3 Hz, ³J_{5/6} = 4,6 Hz, 5-H); 5,19 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

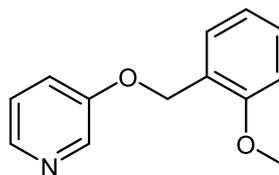
R_f-Werte (DC): 0,22 (LM 3)

3-(2-Methoxybenzyloxy)pyridin

Verbindung: 10

Summenformel: C₁₃H₁₃NO₂

Relative Molmasse [M_r]: 215,25 g/mol



Darstellung:

3,88 g 3-Hydroxypyridin (41 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 9,58 g 2-Methoxybenzylchlorid (61,2 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.)

Synthese der Verbindungen

umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als hellbraunes, viskoses Öl gewonnen.

Ausbeute: 57,3 %

MS (m/z (%)): (APCI) 216,3 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, Methanol-*d*₄ [δ in ppm]: 8,26 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 2,9 Hz, 2-H); 8,15 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,3 Hz, 6-H); 7,46 (ddd, 1H, ³J_{4/5} = 8,5 Hz, ⁴J_{4/2} = 2,9 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,3 Hz, 4-H); 7,39 (dd, 1H, ³J_{5/4'} = 7,8 Hz, ⁴J_{5/3} = 1,7 Hz, 5'-H); 7,34 (dd, 1H, ³J_{5/4} = 8,5 Hz, ³J_{5/6} = 4,8 Hz, 5-H); 7,31 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,8 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,7 Hz, 1H, 3'-H); 7,01 (d, 1H, ³J_{6'/5'} = 8,3 Hz, 6'-H); 6,95 (td, 1H, ³J_{4'/(3'/5')} = 7,8 Hz, ⁴J_{4'/6'} = 1,7 Hz, 4'-H); 5,17 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃); 3,86 (s, 3H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃).

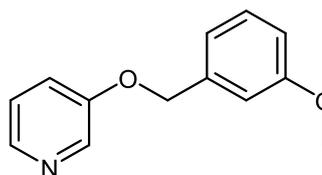
R_f-Werte (DC): 0,24 (LM 3)

3-(3-Methoxybenzyloxy)pyridin

Verbindung: 11

Summenformel: C₁₃H₁₃NO₂

Relative Molmasse [M_r]: 215,25 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 9,7 mL 3-Methoxybenzylchlorid (9,31 g, 59,44 mmol, 1,49 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als oranges, viskoses Öl gewonnen.

Ausbeute: 62,7 %

MS (m/z (%)): (APCI) 216,2 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, Methanol-*d*₄ [δ in ppm]: 8,27 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 2,7 Hz, 2-H); 8,10 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 4,6 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,8 Hz, 6-H); 7,44 („s“, 1H, 2'-H); 7,38-7,22 (m, 3H, 4'-H, 5'-H, 6'-H); 6,99 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 4,6 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,8 Hz, 5-H); 6,86 (dd, 1H, ³J_{4/5} = 8,3 Hz, ⁴J_{4/2} = 2,7 Hz, 4-H); 5,11 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃); 3,77 (s, 3H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃).

R_f-Werte (DC): 0,22 (LM 3)

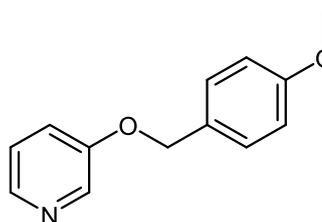
Synthese der Verbindungen

3-(4-Methoxybenzyloxy)pyridin

Verbindung: 12

Summenformel: $C_{13}H_{13}NO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 215,25 g/mol



Darstellung:

3,804 g 3-Hydroxypyridin (40 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 1 (siehe 6.1) mit 9,38 g 4-Methoxybenzylchlorid (60 mmol, 1,5 eq.) und 5,83 g Kalium-*tert*-butanolat (52 mmol, 1,3 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 1 aufgereinigt und als oranges, hochviskoses Öl gewonnen.

Ausbeute: 49,8 %

MS (m/z (%)): (APCI) 216,3 (100 % [$M+H$]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,45 (d, 1H, ⁴ $J_{2/4}$ = 2,9 Hz, 2-H); 7,29 (dd, 1H, ³ $J_{6/5}$ = 4,8 Hz, ⁴ $J_{6/4}$ = 1,3 Hz, 6-H); , 6,65 (ddd, 1H, ³ $J_{4/5}$ = 8,5 Hz, ⁴ $J_{4/2}$ = 3,0 Hz, ⁴ $J_{4/6}$ = 1,3 Hz, 4-H); 6,55 (AA'BB', 2H, ³ J = 8,6 Hz, 2'-H, 6'-H); 6,53 (dd, 1H, ³ $J_{5/4}$ = 8,5 Hz, ³ $J_{5/6}$ = 4,8 Hz, 5-H); 6,12 (AA'BB', 2H, ³ J = 8,6 Hz, 3'-H, 5'-H) 4,27 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃); 2,98 (s, 3H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃).

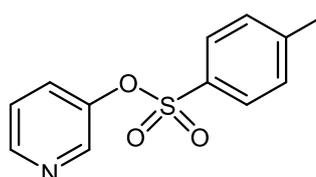
R_f-Werte (DC): 0,19 (LM 3)

Pyridin-3-yl 4-methylbenzensulfonat

Verbindung: 13

Summenformel: $C_{12}H_{11}NO_3S$

Relative Molmasse [M_r]: 249,28 g/mol



Darstellung:

2 g 3-Hydroxypyridin (21 mmol, 1 eq.) und 5,1 g Toluol-4-sulfonsäurechlorid (26,75 mmol, 1,27 eq.) wurden zusammen in einem Rundkolben in 140 mL über Molsieb getrocknetem Pyridin unter Argon-Atmosphäre gelöst. Anschließend wurde der Ansatz für 6 Stunden im Paraffinbad zum Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde der Ansatz auf 0 °C mittels Eisbad abgekühlt und mit 150 mL dest. Wasser versetzt. Danach wurde der Ansatz in einen Scheidetrichter überführt und mit Dichlormethan (3*100 mL) extrahiert. Die vereinigten Phasen wurden am Vakuumrotationsverdampfer eingeengt und es resultierte ein weißer, kristalliner Feststoff.

Ausbeute: 81,7 %

Synthese der Verbindungen

Schmelzbereich: 76-79 °C (aus Dichlormethan)

MS (m/z (%)): (APCI) 249,9 (100 % $[M+H]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,50 (dd, 1H, $^3J_{6/5} = 4,6$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,5$ Hz, 6-**H**); 8,22 (d, 1H, $^4J_{2/4} = 2,7$ Hz, 2-**H**); 7,74 (AA'BB', 2H, $^3J = 8,5$ Hz, 1H, 2'-**H**, 6'-**H**); 7,53 (ddd, 1H, $^3J_{5/4} = 8,4$ Hz, $^4J_{5/6} = 4,6$ Hz, $^4J_{5/2} = 0,8$ Hz, 5-**H**); 7,50-7,42 (m, 3H, AA'BB', 3'-**H**, 5'-**H**, 4-**H**); 2,41 (s, 3H, 3-SO₃-C₆H₄CH₃)

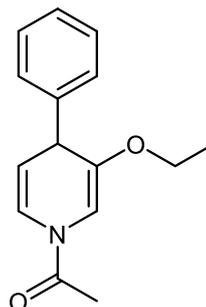
R_f-Werte (DC): 0,27 (LM 3)

6.2.3 Synthese der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine

Bei der Abbildung der Verbindungen innerhalb dieser Monographien wurde eine simple Darstellung der Struktur gewählt. Enantiomeren- bzw. Rotamereneffekte wurden in dieser nicht berücksichtigt

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-ethoxy-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 14
 Summenformel: C₁₅H₁₇NO₂
 Relative Molmasse [M_r]: 243,31 g/mol
 Darstellung:



3,0 g Verbindung **1** (24,36 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,9 mL Acetylchlorid (2,09 g, 26,63 mmol, 1,09 eq.) und 14,6 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (14,89 g, 29,2 mmol, 1,2 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende hellgelbe Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 62,1 %

Schmelzbereich: 119-121 °C (aus Methanol)

MS (*m/z* (%)): (APCI) 244,0 (100 % [M+H]⁺); 200,0 (85 % [M+H - COCH₃]⁺)

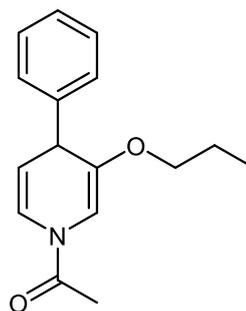
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,33-7,25 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,23-7,11 (m, 7H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z], 6-H [Z]); 6,88 (dt, 1H, ³J_{6/5} = 8,1 Hz, ⁴J_{6/(2/4)} = 1,3 Hz, 6-H [E]); 6,77 (d, 1H, ⁴J_{2/6} = 1,3 Hz, 2-H [E]); 6,34 (d, 1H, ⁴J_{2/6} = 1,3 Hz, 2-H [Z]); 5,10 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,1 Hz, ³J_{5/4} = 4,4 Hz, 5-H [Z]); 4,99 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,1 Hz, ³J_{5/4} = 4,4 Hz, 5-H [E]); 4,20 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,4 Hz, 4-H [E/Z]); 3,75 (ABX₃-System: AB-Teil, m, 2H, 3-OCH₂CH₃ [E]); 3,64 (ABX₃-System: AB-Teil, m, 2H, 3-OCH₂CH₃ [Z]); 2,24 (s, 3H, N-COCH₃ [E]); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 1,10 (ABX₃-System: X₃-Teil, 3H, ³J_{X3/AB} = 7,0 Hz, 3-OCH₂CH₃ [R2]); 1,09 (ABX₃-System: X₃-Teil, 3H, ³J_{X3/AB} = 7,0 Hz, 3-OCH₂CH₃ [E]).

R_f-Werte (DC): 0,37 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-propoxy-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 15
 Summenformel: $C_{16}H_{19}NO_2$
 Relative Molmasse [M_r]: 257,33 g/mol
 Darstellung:



3,3 g Verbindung **2** (24,06 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit 1,9 mL Acetylchlorid (2,09 g, 26,63 mmol, 1,11 eq.) und 14,6 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (14,89 g, 29,2 mmol, 1,21 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende schwach gelbe Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 58,3 %

Schmelzbereich: $70\text{-}71\text{ }^{\circ}\text{C}$ (aus Methanol)

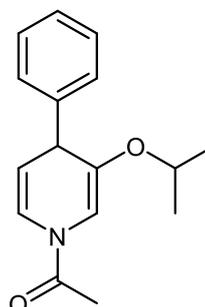
MS (m/z (%)): (APCI) 258,0 (100% [$M+H$] $^+$); 214,0 (100% [$M+H - COCH_3$] $^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ [δ in ppm]: 7,32-7,25 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,23-7,13 (m, 7H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z], 6-H [Z]); 6,89 (dt, 1H, $^3J_{6/5} = 8,1$ Hz, $^4J_{6/(2/4)} = 1,3$ Hz, 6-H [E]); 6,75 (d, 1H, $^4J_{2/6} = 1,3$ Hz, 2-H [E]); 6,32 (d, 1H, $^4J_{2/6} = 1,3$ Hz, 2-H [Z]); 5,11 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,1$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,4$ Hz, 5-H [Z]); 5,00 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,1$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,4$ Hz, 5-H [E]); 4,22 (d, 1H, $^3J_{4/5} = 4,4$ Hz, 4-H [E/Z]); 3,68 (ABX₂-System: AB-Teil, m, 2H, 3-OCH₂CH₂CH₃ [E]); 3,53 (ABX₂-System: AB-Teil, m, 2H, 3-OCH₂CH₂CH₃ [Z]); 2,24 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]); 1,51 (ABX₂-System: X₂-Teil + ABX₃-System: AB-Teil, m, 2H, , 3-OCH₂CH₃ [Z]); 1,48 (ABX₂-System: X₂-Teil + ABX₃-System: AB-Teil, m, 2H, 3-OCH₂CH₂CH₃ [E]); 0,71 (ABX₃-System: X₃-Teil, 6H, $^3J_{X_3/AB} = 7,0$ Hz, 3-OCH₂CH₂CH₃ [E/Z]).

R_f-Werte (DC): 0,39 (LM 3)

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-isopropoxy-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 16
 Summenformel: $C_{15}H_{17}NO_2$
 Relative Molmasse [M_r]: 257,33 g/mol



Synthese der Verbindungen

Darstellung:

2,8 g Verbindung **3** (20,41 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,6 mL Acetylchlorid (1,76 g, 22,42 mmol, 1,1 eq.) und 12,2 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (12,44 g, 24,4 mmol, 1,2 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende gelbe Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als beiger kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 51,1 %

Schmelzbereich: 65-66 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 258,0 (100 % [M+H]⁺); 216,0 (50 % [M+H - COCH₃]⁺); 214,0 (55 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,33-7,24 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,23-7,09 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z]); 7,13 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,1 Hz, 6-H [Z]); 6,86 (dt, 1H, ³J_{6/5} = 8,1 Hz, ⁴J_{6/(2/4)} = 1,3 Hz, 6-H [E]); 6,80 (d, 1H, ⁴J_{2/6} = 1,3 Hz, 2-H [E]); 6,38 (d, 1H, ⁴J_{2/6} = 1,3 Hz, 2-H [Z]); 5,09 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,1 Hz, ³J_{5/4} = 4,4 Hz, 5-H [Z]); 4,98 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,1 Hz, ³J_{5/4} = 4,4 Hz, 5-H [E]); 4,30 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃)₂} = 6,0 Hz, 3-OCH(CH₃)₂ [E]); 4,20 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃)₂} = 6,0 Hz, 3-OCH(CH₃)₂ [Z]); 4,15 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,4 Hz, 4-H [E/Z]); 2,23 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,21 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]); 1,12 (d, 6H, ³J_{(CH₃)₂/CH} = 6,0 Hz, 3-OCH(CH₃)₂ [E]); 0,96 (d, 6H, ³J_{(CH₃)₂/CH} = 6,0 Hz, 3-OCH(CH₃)₂ [Z]).

R_f-Werte (DC): 0,41 (LM 3)

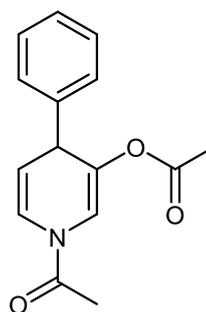
(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-acetoxy-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 17

Summenformel: C₁₅H₁₅NO₃

Relative Molmasse [M_r]: 257,29 g/mol

Darstellung:



3,0 g Verbindung **4** (21,88 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,7 mL Acetylchlorid (1,87 g, 23,82 mmol, 1,09 eq.) und 13,2 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (13,46 g, 26,4 mmol, 1,21 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende klare Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen. Alternativ wurden 1,72 g 3-Hydroxypyridin (18 mmol, 1 eq.) nach AAV 2 mit 2,9 mL Acetylchlorid (3,19 g, 40,64 mmol, 2,26 eq.) und 11,0 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (11,22 g, 22,0 mmol, 1,22 eq.) umgesetzt. Im Anschluss

Synthese der Verbindungen

wurde das Produkt ebenfalls mittels Säulenchromatographie unter Verwendung von LM3 aufgereinigt das Produkt wurde ebenfalls nach Umkristallisation aus Methanol als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 47,9 % (Edukt: Verbindung 4) 42,2 % (Edukt: 3-Hydroxypyridin)

Schmelzbereich: 71-75 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (ESI) 280,11 (100% $[M+Na]^+$)

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 7,35-7,29 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,27-7,14 (m, 7H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z], 6-H [Z]); 7,16 (s, 1H, 2-H [Z]); 7,02 (s, 1H, 2-H [E]); 6,94 (d, 1H, $^3J_{6/5} = 8,2$ Hz, 6-H [E]); 5,15 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,0$ Hz, 5-H [Z]); 5,04 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,0$ Hz, 5-H [E]); 4,38 (d, 1H, $^3J_{4/5} = 4,0$ Hz, 4-H [E/Z]); 2,26 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,21 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]); 2,07 (s, 6H, 3-OCOCH₃ [E/Z]).

R_f-Werte (DC): 0,35 (LM 3)

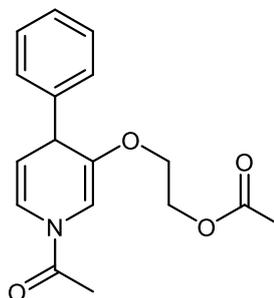
(EZ,RS)-1-Acetyl-3-(2-acetoxyethoxy)4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 18

Summenformel: C₁₇H₁₉NO₄

Relative Molmasse [M_r]: 301,34 g/mol

Darstellung:



3,0 g Verbindung 5 (21,56 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 3,4 mL Acetylchlorid (3,754 g, 47,65 mmol, 2,21 eq.) und 13,2 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (13,46 g, 26,4 mmol, 1,22 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende klare Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als weißer kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 48,0 %

Schmelzbereich: 89-90 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 302,0 (25 % $[M+H]^+$); 258,0 (100 % $[M+H - COCH_3]^+$)

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 7,61 (dt, 1H, $^3J_{6/5} = 8,1$ Hz, $^4J_{6/(2/4)} = 1,4$ Hz, 6-H [Z]); 7,36-7,19 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, [E/Z]); 7,24-7,12 (m, 4H, 2'-H, 6'-H, [E/Z]); 6,89 (dt, 1H, $^3J_{6/5} = 8,1$ Hz, $^4J_{6/(2/4)} = 1,4$ Hz, 6-H [E]); 6,80 (d, 1H, $^4J_{2/4} = 1,4$ Hz, 2-H [E]); 6,40 (d, 1H, $^4J_{2/4} = 1,4$ Hz,

Synthese der Verbindungen

2-H [Z]); 5,11 (dd, 1H, $^3J_{5/4} = 8,1$ Hz, $^3J_{5/6} = 4,3$ Hz, 5-H [Z]); 5,03 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,1$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [E]); 4,40-4,13 (m, 4H, 3-OCH₂CH₂OCOCH₃ [E]); 4,23 (dd, 2H, $^3J_{4/5} = 4,3$ Hz, $^4J_{4/2} = 1,2$ Hz, 4-H [E/Z]); 4,10-3,73 (m, 4H, 3-OCH₂CH₂OCOCH₃ [Z]); 2,24 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]); 1,87 (s, 3H, 3-OCH₂CH₂OCOCH₃ [E]); 1,85 (s, 3H, 3-OCH₂CH₂OCOCH₃ [Z]).

R_f-Werte (DC): 0,21 (LM 3)

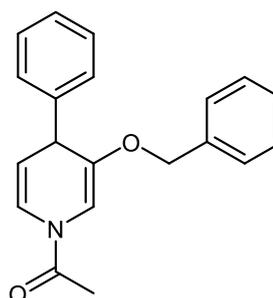
(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-benzyloxy-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 19

Summenformel: C₂₀H₁₉NO₂

Relative Molmasse [M_r]: 305,37 g/mol

Darstellung:



3,8 g Verbindung **6** (20,51 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -40 °C bzw. bei -20 °C (siehe Vermerk bei den entsprechenden Ausbeuten) mit 1,6 mL Acetylchlorid (1,76 g, 22,42 mmol, 1,09 eq.) und 12,2 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (12,44 g, 24,4 mmol, 1,19 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende schwach gelbe, hochviskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 49,9 % (bei -40 °C); 40,6 % (bei -20 °C)

Schmelzbereich: 77-80 °C (aus Methanol)

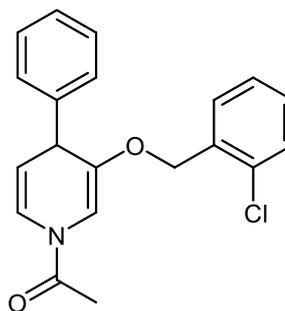
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 7,37-7,19 (m, 17H, 3'-H,4'-H, 5'-H [E/Z], 3-O-CH₂C₆H₅ [E/Z], 6-H [Z]); 7,17-7,10 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 6,99 (d, 1H, $^4J_{2/4} = 1,2$ Hz, 2-H [E]); 6,69 (dt, 1H, $^3J_{6/5} = 8,3$ Hz, $^4J_{6/(2/4)} = 1,4$ Hz, 6-H [E]); 6,12 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,16 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,3$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [Z]); 5,08 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,3$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [E]); 4,79 (AB-System: 2H, $\Delta\delta_{A/B} = 0,074$ ppm, $^2J_{A/B} = 11,9$ Hz, 3-OCH₂C₆H₅ [E]); 4,77 (AB-System: 2H, $\Delta\delta_{A/B} = 0,094$ ppm, $^2J_{A/B} = 12,1$ Hz, 3-OCH₂C₆H₅ [Z]); 4,32 (d, 2H, $^3J_{4/5} = 4,3$ Hz, 4-H [E/Z]); 2,28 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,18 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,35 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-(2-Chlorbenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 20
 Summenformel: $C_{20}H_{18}ClNO_2$
 Relative Molmasse [M_r]: 339,10 g/mol
 Darstellung:



3,5 g Verbindung **7** (15,97 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -40 °C bzw. bei -20 °C (siehe Vermerk bei den entsprechenden Ausbeuten) mit 1,25 mL Acetylchlorid (1,38 g, 17,52 mmol, 1,1 eq.) und 9,6 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (9,79 g, 19,2 mmol, 1,2 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Das resultierende hellgelbe, hochviskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 53,4 % (bei -40 °C); 44,9 % (bei -20 °C)

Schmelzbereich: 97-98 °C (aus Methanol)

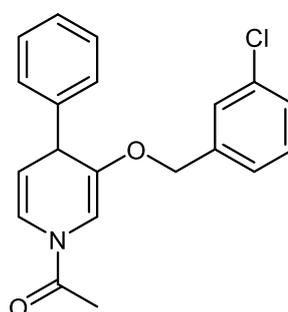
MS (m/z (%)): (APCI) 342,0 (35 % [M+H]⁺) 340,0 (100 % [M+H]⁺); 298,0 (30 % [M+H - COCH₃]⁺); 296,0 (62 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,44-7,36 (m, 4H, 3''-H, 6''-H [E/Z]); 7,33-7,26 (m, 8H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 4''-H [E/Z]); 7,25-7,19 (m, 6H, 2'-H, 6'-H, 5''-H [E/Z]); 7,18 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,4 Hz, 6-H [Z]); 6,92 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,4 Hz, 6-H [E]); 6,91 (s, 1H, 2-H [E]); 6,54 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,14 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,4 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [Z]); 5,04 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,4 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [E]); 4,92 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,114 ppm, ²J_{A/B} = 11,9 Hz, 3-O-CH₂C₆H₄Cl [E]); 4,81 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,021 ppm, ²J_{A/B} = 12,4 Hz, 3-O-CH₂C₆H₄Cl [Z]); 4,33 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,3 Hz, 4-H [E/Z]); 2,24 (s, 3H, N-COCH₃ [E]); 2,07 (s, 3H, N-COCH₃ [Z]).

R_f-Werte (DC): 0,44 (LM 3)

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-(3-Chlorbenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 21
 Summenformel: $C_{20}H_{18}ClNO_2$
 Relative Molmasse [M_r]: 339,10 g/mol



Synthese der Verbindungen

Darstellung:

3,5 g Verbindung **8** (15,97 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -40 °C bzw. bei -20 °C (siehe Vermerk bei den entsprechenden Ausbeuten) mit 1,25 mL Acetylchlorid (1,38 g, 17,52 mmol, 1,1 eq.) und 9,6 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (9,79 g, 19,2 mmol, 1,2 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Das resultierende gelbe, hochviskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 51,6 % (bei -40 °C); 44,7 % (bei -20 °C)

Schmelzbereich: 93-97 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (ESI) 364,29 (39 % [M+Na]⁺); 362,42 (100 % [M+Na]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,36-7,26 (m, 8H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 2''-H [E/Z]); 7,27-7,18 (m, 6H, 2'-H, 6'-H, 5''-H [E/Z]); 7,17 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [Z]); 7,15-7,09 (m, 4H, 4''-H, 6''-H [E/Z]); 6,91 (dt, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, ⁴J_{6/(2/4)} = 1,4 Hz, 6-H [E]); 6,86 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H [E]); 6,46 (d, 1H, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H [Z]); 5,14 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [Z]); 5,03 (dd, 1H, ³J_{5/4} = 8,2 Hz, ³J_{5/6} = 4,3 Hz, 5-H [E]); 4,87 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,105 ppm, ²J_{A/B} = 11,9 Hz, 3-O-CH₂C₆H₄Cl [E]); 4,76 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,109 ppm, ²J_{A/B} = 12,1 Hz, 3-O-CH₂C₆H₄Cl [Z]); 4,34 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,3 Hz, 4-H [E/Z]); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,21 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,36 (LM 3)

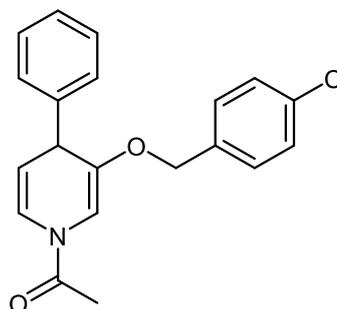
(EZ,RS)-1-Acetyl-3-(4-Chlorbenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 22

Summenformel: C₂₀H₁₈ClNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 339,10 g/mol

Darstellung:



3,7 g Verbindung **9** (16,89 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -40 °C bzw. bei -20 °C (siehe Vermerk bei den entsprechenden Ausbeuten) mit 1,3 mL Acetylchlorid (1,43 g, 18,22 mmol, 1,08 eq.) und 10,2 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (10,4 g, 20,4 mmol, 1,21 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Das resultierende gelbe, hochviskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Synthese der Verbindungen

Ausbeute: 55,5 % (bei -40 °C); 47,3 % (bei -20 °C)

Schmelzbereich: 67-71 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 342,0 (34 % [M+H]⁺); 340,0 (100 % [M+H]⁺); 298,0 (29 % [M+H - COCH₃]⁺); 296,0 (55 % [M+H - COCH₃]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm] 7,45-7,26 (m, 10H, 4-C₆H₅ [E/Z]); 7,22 (AA'BB', 4H, ³J = 8,2 Hz, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,20-18 (m, 1H, 6-H [Z]); 7,16 (AA'BB', 4H, ³J = 8,2 Hz, 3'-H, 5'-H [E/Z]); 6,90 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [E]); 6,87 (s, 1H, 2-H [E]); 6,47 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,13 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [Z]); 5,02 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [E]); 4,85 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,106 ppm, ²J_{A/B} = 12,3 Hz, 3-OCH₂-C₆H₄Cl [E]); 4,74 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,103 ppm, ²J_{A/B} = 12,5 Hz, 3-OCH₂-C₆H₄Cl [Z]); 4,32 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,3 Hz, 4-H [E/Z]); 2,22 (s, 6H, N-COCH₃ [R1/R2]).

R_f-Werte (DC): 0,34 (LM 3)

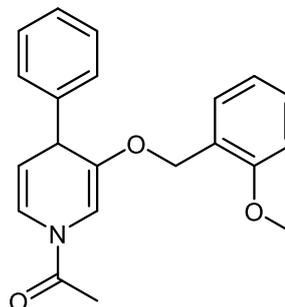
(*EZ,RS*)-1-Acetyl-3-(2-Methoxybenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 23

Summenformel: C₂₁H₂₁NO₃

Relative Molmasse [M_r]: 335,40 g/mol

Darstellung:



3,7 g Verbindung **10** (17,19 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,35 mL Acetylchlorid (1,49 g, 18,92 mmol, 1,1 eq.) und 11,0 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (11,22 g, 22,0 mmol, 1,28 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Das resultierende gelbe, hochviskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als hellgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 41,3 %

Schmelzbereich: 96-98 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 337,5 (15 % [M+H]⁺); 336,5 (100 % [M+H]⁺); 293,4 (10 % [M+H - COCH₃]⁺); 292,4 (55 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,38-7,24 (m, 4H, 3''-H, 6''-H [E/Z]); 7,29-7,12 (m, 10H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 4''-H, 5''-H [E/Z]); 7,08 (d, 1H, ³J_{6/5} = 7,9 Hz, 6-H [Z]); 7,03 (d, 1H, ³J_{6/5} = 7,9 Hz, 6-H [E]); 6,99-6,78 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]) 6,88 (s, 1H, 2-H [E]); 6,47 (s, 1H, 2-H [Z]);

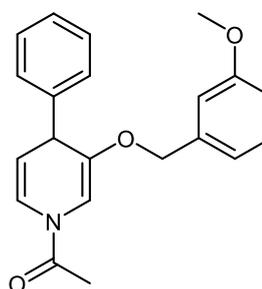
Synthese der Verbindungen

5,12 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 7,9$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [Z]); 5,01 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 7,9$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,4$ Hz, 5-H [E]); 4,77 (AB-System: 2H, $\Delta\delta_{A/B+} = 0,104$ ppm, $^2J_{A/B} = 11,8$ Hz, 3-O-CH₂C₆H₄OCH₃ [E]); 4,65 (AB-System: 2H, $\Delta\delta_{A/B-} = 0,086$ ppm, $^2J_{A/B} = 12,4$ Hz, 3-O-CH₂C₆H₄OCH₃ [Z]); 4,28 (d, 2H, $^3J_{4/5} = 4,3$ Hz, 4-H [E/Z]); 3,70 (m, 6H, 3-O-CH₂-C₆H₄-O-CH₃ [E/Z]); 2,24 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,42 (LM 3)

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-(3-Methoxybenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 24
Summenformel: C₂₁H₂₁NO₃
Relative Molmasse [M_r]: 335,40 g/mol
Darstellung:



3,5 g Verbindung **11** (16,26 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,3 mL Acetylchlorid (1,43 g, 18,22 mmol, 1,12 eq.) und 10,0 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (10,20 g, 20,0 mmol, 1,23 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende gelbe, viskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als blassgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 42,4 %

Schmelzbereich: 95-98 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 337,5 (5 % [M+H]⁺); 336,5 (25 % [M+H]⁺); 293,4 (15 % [M+H - COCH₃]⁺); 292,4 (100 % [M+H - COCH₃]⁺)

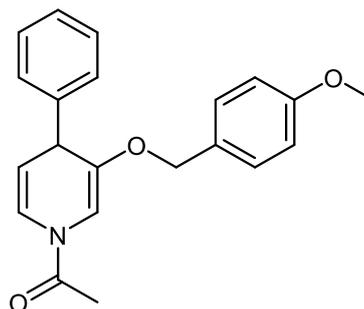
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,40-7,27 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,27-7,13 (m, 9H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 5''-H [E/Z], 6-H [Z]); 6,91 (d, 1H, $^3J_{6/5} = 8,2$ Hz, 6-H [E]); 6,87 (s, 1H, 2-H [E]); 6,79 (dd, 2H, $^3J_{4''/5''} = 8,1$ Hz, $^4J_{4''/2''} = 2,3$ Hz, 4''-H [E/Z]); 6,73 (d, 2H, $^3J_{6''/5''} = 7,7$ Hz, 6''-H [E/Z]); 6,69 (d, 2H, $^4J_{2''/4''} = 2,3$ Hz, 2''-H [E/Z]); 6,46 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,13 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [Z]); 5,02 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [E]); 4,80 (AB-System: 2H, $\Delta\delta_{A/B+} = 0,109$ ppm, $^2J_{A/B} = 12,1$ Hz, 3-O-CH₂C₆H₄OCH₃ [E]); 4,75 (AB-System: 2H, $\Delta\delta_{A/B-} = 0,113$ ppm, $^2J_{A/B} = 12,3$ Hz, 3-O-CH₂C₆H₄OCH₃ [Z]); 4,32 (d, 2H, $^3J_{4/5} = 4,3$ Hz, 4-H [E/Z]); 3,65 (s, 3H, 3-O-CH₂-C₆H₄-O-CH₃ [Z]); 3,64 (s, 3H, 3-O-CH₂-C₆H₄-O-CH₃ [E]); 2,22 (s, 6H, N-COCH₃ [R1/R2]).

R_f-Werte (DC): 0,39 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-(4-Methoxybenzyloxy)-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 25
 Summenformel: C₂₁H₂₁NO₃
 Relative Molmasse [M_r]: 335,40 g/mol



Darstellung:

3,7 g Verbindung **12** (17,19 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,35 mL Acetylchlorid (1,49 g, 18,92 mmol, 1,1 eq.) und 11,0 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (11,22 g, 22,0 mmol, 1,28 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Das resultierende gelb-orange, hochviskose Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als hellgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 46,5 %

Schmelzbereich: 92-96 °C (aus Methanol)

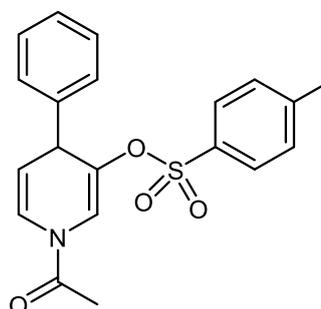
MS (m/z (%)): (APCI) 337,5 (20 % [M+H]⁺); 336,5 (85 % [M+H]⁺); 293,4 (20 % [M+H - COCH₃]⁺); 292,4 (100 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,36-7,23 (m, 3H, 4'-H [E/Z], 6-H [Z]); 7,25-7,12 (m, 4H, 3'-H, 5'-H [E/Z]); 7,13-7,03 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 6,89 (AA'BB', 4H, 2''-H, 6''-H [E/Z]); 6,83 (m, AA'BB', 5H, 3''-H, 5''-H [E/Z], 6-H [E]); 6,47 (s, 1H, 2-H [E]); 5,16 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,12 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [Z]); 5,01 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,4 Hz, 5-H [E]); 4,77 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,111 ppm, ²J_{A/B} = 11,6 Hz, 3-O-CH₂C₆H₄OCH₃ [E]); 4,65 (AB-System: 2H, Δδ_{A/B} = 0,116 ppm, ²J_{A/B} = 11,5 Hz, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃ [Z]); 4,27 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,3 Hz, 4-H [E/Z]); 3,70 (m, 6H, 3-O-CH₂C₆H₄OCH₃ [E/Z]); 2,23 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,35 (LM 3)

(E,Z,RS)-1-Acetyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3-yl 4-Methylbenzensulfonat

Verbindung: 26
 Summenformel: C₂₀H₁₉NO₄S
 Relative Molmasse [M_r]: 369,10 g/mol



Synthese der Verbindungen

Darstellung:

3,2 g Verbindung **13** (12,84 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,0 mL Acetylchlorid (1,1 g, 14,01 mmol, 1,1 eq.) und 8,0 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (8,16 g, 16,0 mmol, 1,24 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 3 aufgereinigt. Das resultierende gelbe Öl wurde aus Methanol umkristallisiert und als schwach gelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 47,4 %

Schmelzbereich: 103-104 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 372,4 (5 % [M+H]⁺); 371,4 (20 % [M+H]⁺); 370,4 (100 % [M+H]⁺); 327,3 (5 % [M+H - COCH₃]⁺); 326,3 (25 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm] 7,78 (s, 1H, 2-H [E]); 7,72 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [Z]); 7,46 (AA'BB', 4H, ³J = 8,1 Hz, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,36-7,19 (m, 10H, 4-C₆H₅ [E/Z]); 7,10 (AA'BB', 4H, ³J = 5,9 Hz, 3'-H, 5'-H [E/Z]); 6,86 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [E]); 6,73 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,09 („s“ br, 1H, 5-H [Z]); 4,99 („s“ br, 1H, 5-H [E]); 4,15 (d, 2H, ³J_{4/5} = 4,2 Hz, 4-H [E/Z]); 2,41 (s, 6H, 3-SO₃C₆H₄CH₃); 2,22 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,04 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,35 (LM 3)

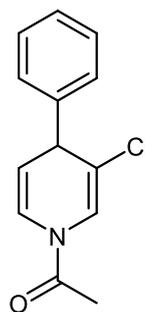
(EZ,RS)-1-Acetyl-3-chlor-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 27

Summenformel: C₁₃H₁₂ClNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 233,70 g/mol

Darstellung:



2 g 3-Chlorpyridin (17,61 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20 °C mit 1,4 mL Acetylchlorid (1,54 g, 19,62 mmol, 1,11 eq.) und 10,5 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (10,71 g, 21,0 mmol, 1,19 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Es resultierte ein schwach gelber, amorpher Feststoff, der nachdem er aus Methanol umkristallisiert worden war, in Form von weißen bis klaren Kristallen gewonnen werden konnte.

Ausbeute: 87,6 %

Schmelzbereich: 148-151 °C (aus Methanol)

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (APCI) 236,0(25 % [M+H]⁺); 235,0 (15 % [M+H]⁺); 234,0 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,39 (s, 1 H, 2-H [E]) 7,38-7,32 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,30-7,21 (m, 7H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z], 2-H [Z]); 7,13 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [Z]); 6,93 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [E]); 5,13 („s“ br, 1H, 5-H [Z]); 5,04 („s“ br, 1H, 5-H [E]); 4,34 (s, 2H, 4-H [E/Z]); 2,27 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,26 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,45 (LM 3)

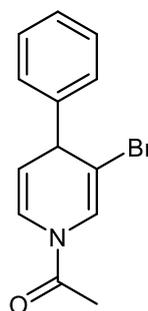
(*EZ,RS*)-1-Acetyl-3-brom-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 28

Summenformel: C₁₃H₁₂BrNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 278,15 g/mol

Darstellung:



2,78 g 3-Brompyridin(17,61 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20°C mit 1,4 mL Acetylchlorid (1,54 g, 19,62 mmol, 1,11 eq.) und 10,5 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (10,71 g, 21,0 mmol, 1,19 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Es resultierte ein gelber, amorpher Feststoff, der nachdem er aus Methanol umkristallisiert worden war, in Form von weißen bis leicht gelben Kristallen gewonnen werden konnte.

Ausbeute: 80,2 %

Schmelzbereich: 134-138 °C (aus Methanol)

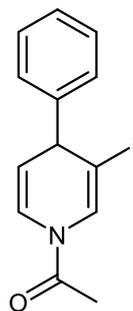
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7.51 (d, 1 H, ⁴J_{2/4} = 1.3 Hz, 2-H [E]) 7.43-7.31 (m, 5H, 2'-H, 6'-H [E/Z], 2-H [Z],) 7.30-7.21 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z]); 7.14 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8.1 Hz, 6-H [Z]); 6.93 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8.1 Hz, 6-H [E]); 5.10 („s“ br, 1H, 5-H [Z]); 5.00 („s“ br, 1H, 5-H [E]); 4.38 (s, 2H, 4-H [E/Z]); 2.28 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2.25 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,47 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

(E,Z,RS)-1-Acetyl-3-iod-4-phenyl-1,4-dihydropyridin

Verbindung: 29
Summenformel: C₁₃H₁₂INO₂
Relative Molmasse [M_r]: 325,15 g/mol
Darstellung:



2,5 g 3-Iodpyridin (12,2 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 2 (siehe 6.1) bei -20°C mit 1,0 mL Acetylchlorid (1,1 g, 19,62 mmol, 1,15 eq.) und 7,5 mL 2 M Phenylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (10,71 g, 15,0 mmol, 1,23 eq.) umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit LM 4 aufgereinigt. Es resultierte ein hellgelber, teilkristalliner Feststoff, der nachdem er aus Methanol umkristallisiert worden war, in Form eines weißen kristallinen Feststoff gewonnen werden konnte.

Ausbeute: 75,0 %

Schmelzbereich: 111-114 °C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): 327,3 (15 % [M+H]⁺); 326,3 (100 % [M+H]⁺); 282,2 (25 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 7,85 (s, 1H, 2-H [E]); 7,41-7,33 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z]); 7,32-7,29 (m, 1 H, 6-H [Z]); 7,26-7,22 (m, 4H, 2'-H, 6'-H [E/Z]); 7,17 (s, 1H, 2-H [E]); 6,66 (d, 1H, ³J_{6/5} = 8,3 Hz, 6-H [E]); 5,03 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,3 Hz, ³J_{5/4} = 4,2 Hz, 5-H [Z]); 4,93 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 8,3 Hz, ³J_{5/4} = 4,2 Hz, 1H, 5-H [E]); 4,32 (d br, 2H, ³J_{4/5} = 4,2 Hz, 4-H [E/Z]); 2,29 (s, 3H, N-COCH₃ [R1]); 2,25 (s, 3H, N-COCH₃ [R2]).

R_f-Werte (DC): 0,47 (LM 3)

6.2.4 Synthese der 3-Alkoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzofluoren-Derivate

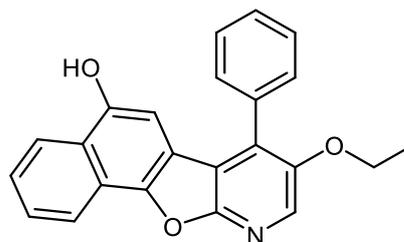
8-Ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 30

Summenformel: $C_{23}H_{17}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 355,39 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **14** (4,11 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,845 g 1,4-Naphthochinon (5,34 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 18 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM4 auf. Es resultierte ein brauner, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen leicht bräunlichen bis ockerfarbenen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 7,5 %

Schmelzbereich: 224-227 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

98,732 % t_R : 12,795 min

MS (m/z (%)):

(APCI) 357,1 (30 % $[M+H]^+$); 356,0 (100 % $[M+H]^+$)

HR-MS (m/z (%)):

356,1276 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{23}H_{18}NO_3]^+$: 356,1281

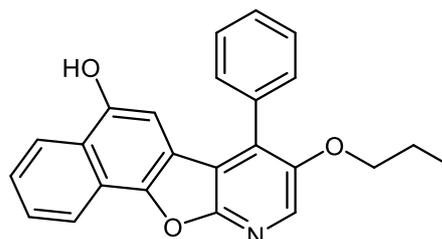
1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 10,04 (s, 1H, 5-OH); 8,30 (d, 1H, $^3J_{1/2} = 8,2$ Hz, 1-H); 8,29 (s, 1H, 9-H); 8,20 (d, 1H, $^3J_{4/3} = 8,2$ Hz, 4-H); 7,70 (ddd, 1H, $^3J_{2/1} = 8,2$ Hz, $^3J_{2/3} = 6,9$ Hz, $^4J_{2/4} = 1,2$ Hz, 2-H); 7,65-7,55 (m, 6H, 3-H, 7- C_6H_5); 6,62 (s, 1H, 6-H); 4,11 (q, 2H, $^3J_{CH_2/CH_3} = 6,9$ Hz, 8-O- CH_2CH_3); 1,19 (t, 3H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,4$ Hz, 8-O- CH_2CH_3).

R_f -Werte (DC): 0,44 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

8-Propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 31
Summenformel: $C_{24}H_{19}NO_3$
Relative Molmasse [M_r]: 369,42 g/mol
Darstellung:

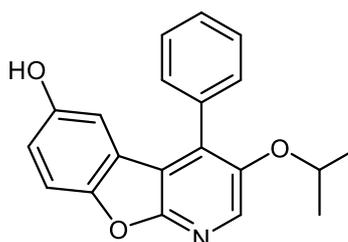


1 g Verbindung **15** (3,89 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,799 g 1,4-Naphthochinon (5,05 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat zweimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen sandfarbenen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 6,2 %
Schmelzbereich: 251-257 °C (aus Diethylether)
Reinheit**:
MS (m/z (%)): (APCI) 371,1 (25 % [M+H]⁺); 370,1 (100 % [M+H]⁺)
¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,05 (s, 1H, 5-OH); 8,31 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,29 (s, 1H, 9-H); 8,22 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,71 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,67-7,55 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 6,64 (s, 1H, 6-H); 4,03 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,3 Hz, 8-O-CH₂CH₂CH₃); 1,60 (dt, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,3 Hz, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,5 Hz, 8-O-CH₂CH₂CH₃); 0,83 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,5 Hz, 8-O-CH₂CH₂CH₃).
R_f-Werte (DC): 0,49 (LM 3)

3-Isopropoxy-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 32
Summenformel: $C_{20}H_{17}NO_3$
Relative Molmasse [M_r]: 319,36 g/mol
Darstellung:



1 g Verbindung **16** (3,89 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,546 g 1,4-Benzochinon (5,05 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter

Synthese der Verbindungen

Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein hellbrauner, kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende gelbbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellgelben kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 4,9 %

Schmelzbereich: 210-211 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

97,859 %	t _R : 11,191 min
----------	-----------------------------

MS (m/z (%)): (APCI) 321,1 (32 % [M+H]⁺); 320,1 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 320,1281 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₀H₁₈NO₃]⁺: 320,1281

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,33 (s, 1H, 6-OH); 8,25 (s, 1H, 2-H); 7,63-7,51 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,50 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 6,96 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 4,37 (hept, 1H, ³J_{CH/(CH₃)₂} = 6,1 Hz, 3-OCH(CH₃)); 1,10 (d, 6H, ³J_{(CH₃)₂/CH} = 6,1 Hz, 3-OCH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,42 (LM 3)

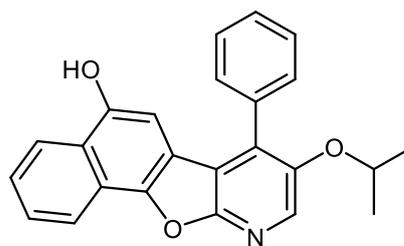
8-Isopropoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 33

Summenformel: C₂₄H₁₉NO₃

Relative Molmasse [M_r]: 369,42 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **16** (3,89 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,799 g 1,4-Naphthochinon (5,05 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat zweimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen leicht ockerfarbenen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 5,8 %

Schmelzbereich: 257-259 °C (aus Diethylether)

Synthese der Verbindungen

Reinheit**:
97,801 % (MeOH/H₂O) t_R: 13,365 min

MS (m/z (%)):
(APCI) 371,0 (22 % [M+H]⁺); 370,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)):
370,1439 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₄H₂₀NO₃]⁺: 370,1438

¹H-NMR:
500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,05 (s, 1H, 5-OH); 8,31 (d, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1H, 1-H); 8,29 (s, 1H, 9-H); 8,22 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,71 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,68-7,55 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 6,64 (s, 1H, 6-H); 4,40 (hept, 1H, ³J_{CH/(CH₃)₂} = 6,1 Hz, 8-OCH(CH₃)); 1,12 (d, ³J_{(CH₃)₂/CH} = 6,1 Hz, 6H, 8-OCH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC):
0,51 (LM 3)

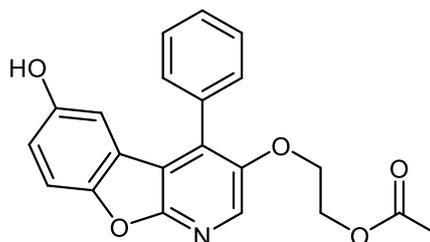
3-(2-Acetoxyethoxy)-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung:
34

Summenformel:
C₂₁H₁₇NO₅

Relative Molmasse [M_r]:
363,37 g/mol

Darstellung:



0,8 g Verbindung **18** (2,66 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,373 g 1,4-Benzochinon (3,45 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 42 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 3 auf. Es resultierte ein brauner, amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende gelbbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellbraunen kristallinen Feststoff.

Ausbeute:
0,5 %

Schmelzbereich:
157-159 °C

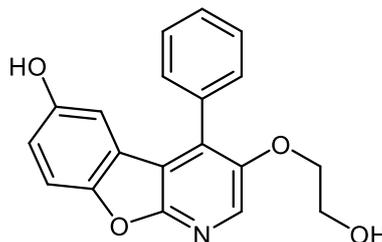
¹H-NMR:
400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,09 (s, 1H, 6-OH); 8,57 (s, 1H, 2-H); 7,97 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,2 Hz, 8-H); 7,45-7,35 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,45-7,35 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,18 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,2 Hz, ⁴J_{7/5} = 4,5 Hz, 7-H); 6,53 (s, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 4,37-4,20 (m, 2H, 3-OCH₂CH₂-O-(C=O)CH₃); 4,06-3,85 (m, 2H, 3-OCH₂CH₂-O-(C=O)CH₃); 1,33 (s, 3H, 3-OCH₂CH₂-O-(C=O)CH₃).

R_f-Werte (DC):
0,33 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

3-(2-Hydroxyethoxy)-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 35
Summenformel: $C_{19}H_{15}NO_4$
Relative Molmasse [M_r]: 321,33 g/mol
Darstellung:

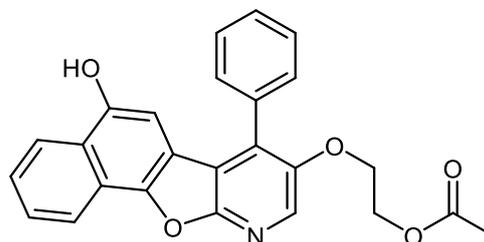


Das Produkt fiel als Nebenprodukt bei der bereits beschriebenen Synthese von Verbindung **34** an. Konnte bei der säulenchromatographischen Aufreinigung jedoch nicht in für die Analytik ausreichenden Mengen isoliert werden. Auf seine Identität geben nur die charakteristische blaue Fluoreszenz unter UV-Licht der Wellenlänge 365 nm und der R_f -Wert, der eine ähnliche Abweichung zu Verbindung **34** wie Verbindung **36** zu Verbindung **37** aufwies, Aufschluss.

Ausbeute: <0,1 % (Als Nebenprodukt bei der Synthese von Verbindung **34**)
 R_f -Werte (DC): 0,08 (LM 3)

8-(2-Acetoxyethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 36
Summenformel: $C_{25}H_{19}NO_5$
Relative Molmasse [M_r]: 413,43 g/mol
Darstellung:



0,8 g Verbindung **18** (2,66 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,546 g 1,4-Naphthochinon (3,45 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 3 auf. Es resultierte ein dunkelbrauner, amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende gelbbraune Präzipitat zweimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellbraunen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 0,6 %
MS (m/z (%)): (ESI) 849,29 (100 % [$2M+Na$]⁺); 436,31 (41 % [$M+Na$]⁺); 414,62 (43 % [$M+Na$]⁺); 412,24 (100 % [M]); (APCI) 415,2 (25 % [$M+H$]⁺); 414,2 (100 % [$M+H$]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-*d*₆ [δ in ppm]: 9,03 (s, 1H, 5-OH); 8,48 (s, 1H, 9-H); 8,37 (d, 1H, ³*J*_{1/2} = 8,3 Hz, 1-H); 8,33 (d, 1H, ³*J*_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,73 (ddd, 1H, ³*J*_{2/1} = 8,3 Hz, ³*J*_{2/3} = 6,9 Hz,

Synthese der Verbindungen

$^4J_{2/4} = 1,2 \text{ Hz}$, 2-**H**); 7,68-7,55 (m, 5H, 7-**C₆H₅**); 6,71 (s, 1H, 6-**H**); 4,10-4,97 (m, 2H, 8- **OCH₂CH₂-O-(C=O)CH₃**); 3,35-3,21 (m, 2H, 8- **OCH₂CH₂-O-(C=O)CH₃**); 2,09 (s, 3H, 8-**OCH₂CH₂-O-(C=O)CH₃**).

R_f-Werte (DC): 0,29 (LM 3)

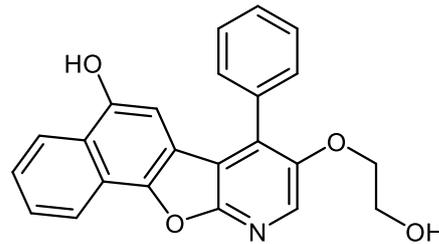
8-(2-Hydroxyethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 37

Summenformel: C₂₃H₁₇NO₄

Relative Molmasse [M_r]: 371,39 g/mol

Darstellung:



Das Produkt fiel als Nebenprodukt bei der bereits beschriebenen Synthese von Verbindung **36** an und konnte bei der säulenchromatographischen Aufreinigung isoliert werden. Das Produkt resultierte in beiden Fällen als ein brauner, amorpher Feststoff. Eine Kristallisation gelang nicht

Ausbeute: <0,1 % (Als Nebenprodukt bei der Synthese von Verbindung **36**)

MS (m/z (%)): (ESI) 370,30 (100% [M]⁻)

R_f-Werte (DC): 0,11 (LM 3)

6.2.5 Synthese der 3-Benzoyloxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-b]fluoren-Derivate

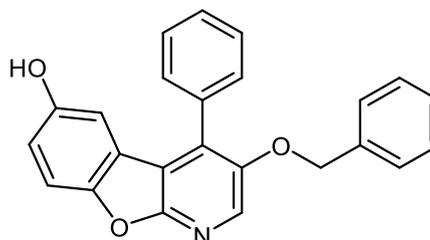
3-Benzoyloxy-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 38

Summenformel: $C_{24}H_{17}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 367,40 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **19** (3,3 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,460 g 1,4-Benzochinon (4,25 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 3 auf. Es resultierte ein roter, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellrote Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen beigen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 4,9 % (mit Perchlorsäure) 8,0 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 218-220 °C (aus Diethylether)

MS (m/z (%)): (APCI) 369,0 (23 % $[M+H]^+$); 368,0 (100 % $[M+H]^+$)

HR-MS (m/z (%)): 368,1288 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{24}H_{18}NO_3]^+$: 368,1281

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,35 (s, 1H, 6-OH); 8,33 (s, 1H, 2-H); 7,69–7,55 (m, 5H, 4-C $_6$ H $_5$); 7,51 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 8-H); 7,42–7,19 (m, 5H, 3-O-CH $_2$ C $_6$ H $_5$); 6,93 (dd, 1H, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 5,18 (s, 2H, 3-O-CH $_2$ C $_6$ H $_5$).

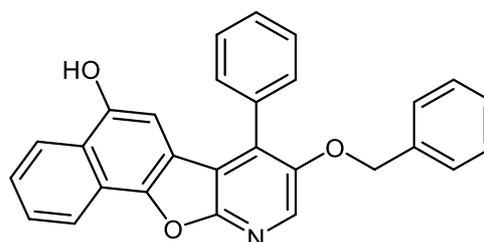
R_f -Werte (DC): 0,39 (LM 3)

8-Benzoyloxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 39

Summenformel: $C_{28}H_{19}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 417,46 g/mol



Synthese der Verbindungen

Darstellung:

1 g Verbindung **19** (3,3 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,673 g 1,4-Naphthochinon (4,25 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 42 h unter Verwendung von Perchlorsäure bzw. 35 h unter der Verwendung von Schwefelsäure isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen, Final erhielt man einen ockerfarbenen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 6,0 % (mit Perchlorsäure) 9,5 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 220-222 °C (aus Diethylether)

MS (*m/z* (%)): (APCI) 419,1 (28 % [M+H]⁺); 418,1 (100 % [M+H]⁺).

HR-MS (*m/z* (%)): 418,1446 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₈H₂₀NO₃]⁺: 418,1438

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,07 (s, 1H, 5-OH); 8,38 (s, 1H, 9-H); 8,32 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,23 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,5 Hz, 4-H); 7,72 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,68–7,56 (m, 6H, 7-C₆H₅, 3-H); 7,43–7,21 (m, 5H, 8-O-CH₂C₆H₅); 6,64 (s, 1H, 6-H); 5,21 (s, 2H, 8-O-CH₂C₆H₅).

¹³C-NMR: 101 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 157,98 (C10a); 149,70 (C5); 149,26 (C8); 145,18 (C11a); 137,19 (C1'); 134,78 (C1''); 133,20 (C9); 133,06 (C7); 129,98 (C2', C6'); 129,20 (C4'); 128,98 (C3', C5'); 128,77 (C2'', C6''); 128,25 (C4''); 127,85 (C2); 127,82 (C3'', C5''); 126,47 (C3); 125,46 (C4a); 123,76 (C4); 121,26 (C11b); 120,88 (C1); 117,47 (C6a); 116,27 (C6b); 100,58 (C6); 72,29 (8-O-CH₂-C₆H₅).

R_f-Werte (DC): 0,42 (LM 3)

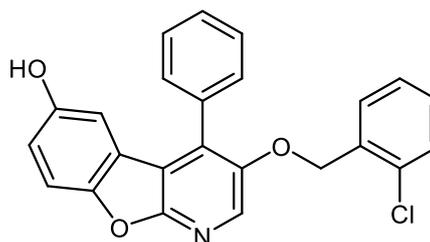
3-(2-Chlorbenzyloxy)-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 40

Summenformel: C₂₄H₁₆ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 401,85 g/mol

Darstellung:



Synthese der Verbindungen

1 g Verbindung **20** (2,95 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,414 g 1,4-Benzochinon (3,83 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein hellroter, kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende blassrosa Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 5,6 % (mit Perchlorsäure) 9,0 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 240-242 °C (aus Diethylether)

Reinheit*: 100,0 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R: 4,100 min

MS (m/z (%)): (APCI) 404,0 (22 % [M+H]⁺); 403,0 (21 % [M+H]⁺); 402,0 (100 % [M+H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,36 (s, 1H, 6-OH); 8,36 (s, 1H, 2-H); 7,62-7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,51 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,46 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,9 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,3 Hz, 3'-H); 7,39-7,30 (m, 2H, 4'-H, 6'-H); 7,28 (td, 1H, ³J_{5'/(4'/6')} = 7,4 Hz, ⁴J_{5'/3'} = 1,3 Hz, 1H, 5'-H); 6,93 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 5,21 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

R_f-Werte (DC): 0,41 (LM 3)

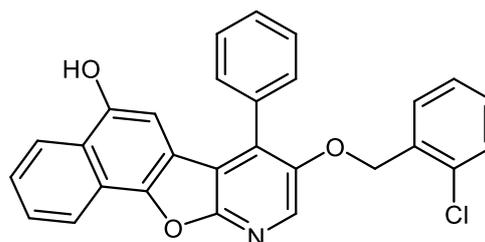
8-(2-Chlorbenzyloxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 41

Summenformel: C₂₈H₁₈ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 451,91 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **20** (2,95 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,606 g 1,4-Naphthochinon (3,83 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 48 h unter Verwendung von Perchlorsäure bzw. 38 h unter der Verwendung von Schwefelsäure isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat zweimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen sandfarbenen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 6,2 % (mit Perchlorsäure) 9,1 % (mit Schwefelsäure)

Synthese der Verbindungen

Schmelzbereich: 234-237 °C (aus Diethylether)

Reinheit*: 98,8 % (MeOH/H₂O 70:30) t_R: 56,225 min

MS (m/z (%)): (ESI) 452,61 (100% [M+H]⁺); 450,33 (100% [M]⁻)

HR-MS (m/z (%)): 452,1049 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₈H₁₉ClNO₃]⁺: 452,1048

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm] 10,06 (s, 1H, 5-OH); 8,39 (s, 1H, 9-H); 8,31 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,71 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,64-7,55 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,45 (dd, 1H, ³J_{3/4} = 7,8 Hz, ⁴J_{3/5} = 1,4 Hz, 3'-H); 7,40 – 7,29 (m, 2H, 4'-H, 6'-H); 7,28 (td, 1H, ³J_{5/4,6'} = 8,2 Hz, ⁴J_{5/3'} = 1,4 Hz, 5'-H) 6,62 (s, 1H, 6-H); 5,22 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl).

R_f-Werte (DC): 0,49 (LM 3)

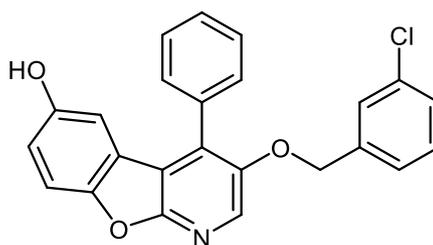
3-(3-Chlorbenzyloxy)-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 42

Summenformel: C₂₄H₁₆ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 401,85 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **21** (2,95 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,414 g 1,4-Benzochinon (3,83 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein roter kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellrote Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen blasrosa, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 5,2 % (mit Perchlorsäure) 7,9 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 223-227 °C (aus Diethylether)

MS (m/z (%)): (APCI) 404,0 (22 % [M+H]⁺); 403,0 (21 % [M+H]⁺); 402,0 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,35 (s, 1H, 6-OH); 8,32 (s, 1H, 2-H); 7,65-7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,49 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,36–7,30 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,27 (d, 1H, ⁴J_{2'/6'} = 1,6 Hz, 2'-H); 7,21 (ddd, 1H, ³J_{6'/5'} = 5,9 Hz, ⁴J_{6'/4'} = 2,9 Hz, ⁴J_{6'/2'} = 1,6 Hz, 6'-H); 6,92 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,5 Hz, 5-H); 5,18 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

Synthese der Verbindungen

R_F-Werte (DC): 0,41 (LM 3)

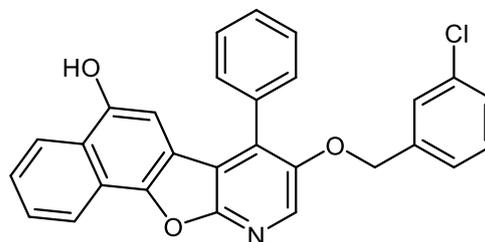
8-(3-Chlorbenzyloxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 43

Summenformel: C₂₈H₁₈ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 451,91 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **21** (2,95 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,606 g 1,4-Naphthochinon (3,83 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 48 h unter Verwendung von Perchlorsäure bzw. 35 h unter der Verwendung von Schwefelsäure isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat zweimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen blassgelben, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 5,6 % (mit Perchlorsäure) 8,9 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 219-222 °C (aus Diethylether)

Reinheit*: 97,8 % (MeOH/H₂O 70:30) t_R: 51,392 min

MS (m/z (%)): (APCI) 454,0 (33 % [M+H]⁺); 453,0 (32 % [M+H]⁺); 452,0 (100 % [M+H]⁺).

HR-MS (m/z (%)): 452,1053 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₈H₁₉ClNO₃]⁺: 452,1048

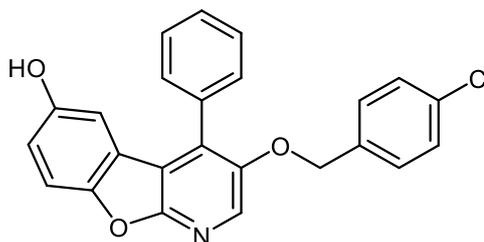
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,07 (s, 1H, 5-OH); 8,36 (s, 1H, 9-H); 8,30 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 4-H); 7,71 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,67-7,54 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,36-7,30 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,27 (s, 1H, 2'-H); 7,25-7,21 (m, 1H, 6'-H); 6,63 (s, 1H, 6-H); 5,21 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl).

R_F-Werte (DC): 0,44 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

3-(4-Chlorbenzyloxy)-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 44
Summenformel: C₂₄H₁₆ClNO₃
Relative Molmasse [M_r]: 401,85 g/mol
Darstellung:



1 g Verbindung **22** (2,95 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,414 g 1,4-Benzochinon (3,83 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 24 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 3 auf. Es resultierte ein hellroter kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende blassrosa Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 4,9 % (mit Perchlorsäure) 8,7 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 208-211 °C (aus Diethylether)

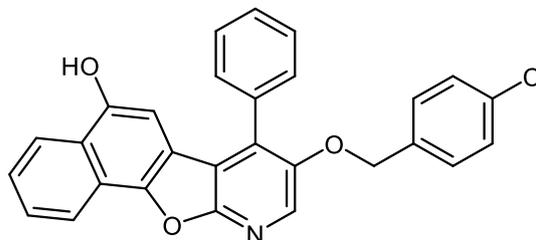
MS (m/z (%)): (APCI) 404,0 (22 % [M+H]⁺); 403,0 (21 % [M+H]⁺); 402,0 (100 % [M+H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,35 (s, 1H, 6-OH); 8,31 (s, 1H, 2-H); 7,62–7,52 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,49 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,37 (AA'BB', 2H, ³J = 8,5 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,28 (AA'BB', 2H, ³J = 8,5 Hz, 3'-H, 5'-H); 6,92 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,51 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 5,15 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

R_f-Werte (DC): 0,38 (LM 3)

8-(4-Chlorbenzyloxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 45
Summenformel: C₂₈H₁₈ClNO₃
Relative Molmasse [M_r]: 451,91 g/mol
Darstellung:



1 g Verbindung **22** (2,95 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,606 g 1,4-Naphthochinon (3,83 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 45 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein rot-

Synthese der Verbindungen

brauner, kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat zweimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellbraunen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 6,4 %

Schmelzbereich: 242-245 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

100,00 % t_R : 14,215 min

MS (m/z (%)): (APCI) 454,0 (35 % [M+H]⁺); 453,0 (35 % [M+H]⁺); 452,0 (100 % [M+H]⁺).

HR-MS (m/z (%)): 452,1046 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₈H₁₉ClNO₃]⁺: 452,1048

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,06 (s, 1H, 5-OH); 8,34 (s, 1H, 9-H); 8,30 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 4-H); 7,70 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,67-7,54 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,37 (AA'BB', 2H, ³J = 8,5 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,29 (AA'BB', 2H, ³J = 8,5 Hz, 3'-H, 5'-H); 6,62 (s, 1H, 6-H); 5,18 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl).

R_f-Werte (DC): 0,45 (LM 3)

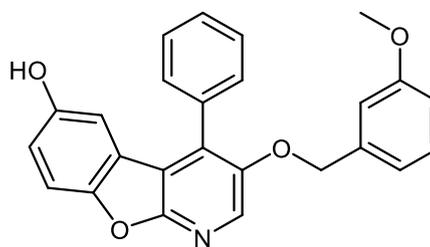
3-(3-Methoxybenzyloxy)-4-phenylbenzofuro[2.3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 46

Summenformel: C₂₅H₁₉NO₄

Relative Molmasse [M_r]: 397,43 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **24** (2,98 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,419 g 1,4-Benzochinon (3,87 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %). Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 10 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein dunkelroter teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende rote Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellroten, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 0,2 %

Schmelzbereich: 197-202 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

98,18 % t_R : 12,234 min (Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µl DMSO)

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (ESI) 817,00 (100 % [2M+Na]⁺); 420,40 (46 % [M+Na]⁺); 398,55 (37 % [M+H]⁺); 396,17 (100 % [M]⁻)

HR-MS (m/z (%)): 398,1386 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₅H₂₀NO₄]⁺: 398,1387

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,34 (s, 1H, 6-OH); 8,31 (s, 1H, 2-H); 7,63-7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,49 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,9 Hz, 8-H); 7,24-7,18 (m, 1H, 5'-H); 6,92 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,5 Hz, 7-H); 6,84 (d, 1H, ⁴J_{2'/4'} = 1,4 Hz, 2'-H); 6,82 (dt, 2H, ³J_{(4/6)/5} = 6,9 Hz, ⁴J_{4'/(2'/6')} = ⁴J_{6'/(2'/4')} = 1,4 Hz, 4'-H, 6'-H); 6,50 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,5 Hz, 5-H); 5,14 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃); 3,67 (s, 3H, 3-OCH₂C₆H₄OCH₃);

R_f-Werte (DC): 0,42 (LM 3)

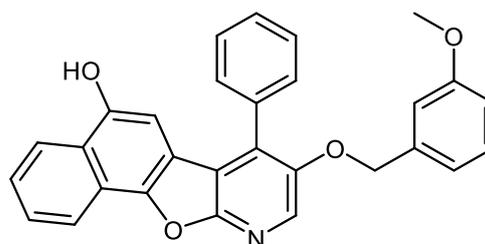
8-(3-Methoxybenzyloxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 47

Summenformel: C₂₉H₂₁NO₄

Relative Molmasse [M_r]: 447,49 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **24** (2,98 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,613 g 1,4-Naphthochinon (3,87 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) umgesetzt. Das Rohprodukt, das nach einer Reaktionsdauer von 8 h isoliert wurde, reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein rotbrauner, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende braune Präzipitat dreimal mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen roten kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 0,3 %

Schmelzbereich: 182-184 °C (aus Diethylether)

Reinheit**): 99,358 % t_R: 13,829 min (Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µL DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 916,98 (100 % [2M+Na]⁺); 448,39 (39 % [M+H]⁺); 446,21 (100 % [M]⁻)

HR-MS (m/z (%)): 448,1542 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₉H₂₂NO₄]⁺: 448,1543

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,06 (s, 1H, 5-OH); 8,35 (s, 1H, 9-H); 8,30 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,1 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,71 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,1 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,67-7,54 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,27-7,18 (m, 1H, 5'-H); 6,86 (s, 1H, 2'-H); 6,85-

Synthese der Verbindungen

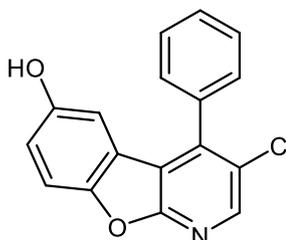
6,80 (m, 1H, 4'-H, 6'-H); 6,61 (s, 1H, 6-H); 5,17 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄OCH₃); 3,68 (s, 3H, 8-OCH₂C₆H₄OCH₃).

R_f-Werte (DC): 0,43 (LM 3)

6.2.6 Synthese der 3-Halogen-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-b]pyridin-Derivate

3-Chlor-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 48
 Summenformel: C₁₇H₁₀ClNO₂
 Relative Molmasse [M_r]: 295,72 g/mol



Darstellung:

1 g Verbindung **27** (4,27 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,601 g 1,4-Benzochinon (5,56 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 12 d unter Verwendung von Perchlorsäure und 10 d unter Verwendung von Schwefelsäure in Anspruch. An Tag 5 wurden die Ansätze mit weiteren 0,138 g 1,4-Benzochinon (1,28 mmol, 0,3 eq.) versetzt. Das im Anschluss isolierte Rohprodukt reinigte man in beiden Fällen säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein beiger, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende weiße Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 17,2 % (mit Perchlorsäure) 19,8 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 277-281 °C (aus Diethylether)

MS (m/z (%)): (ESI) 296,49 (100 % [M+H]⁺); 294,42 (100 % [M]⁻)

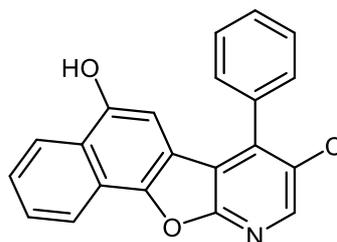
¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,45 (s, 1H, 6-OH); 8,56 (s, 1H, 2-H); 7,69–7,59 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,48 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,42–7,19 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,96 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 1H, 7-H); 6,33 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H).

R_f-Werte (DC): 0,42 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

8-Chlor-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 49
Summenformel: $C_{21}H_{12}ClNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 345,78 g/mol
Darstellung:



1 g Verbindung **27** (4,27 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,880 g 1,4-Naphthochinon (5,56 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %) oder 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 10 d unter Verwendung von Perchlorsäure und 9 d unter Verwendung von Schwefelsäure in Anspruch. An Tag 5 wurden die Ansätze mit weiteren 0,203 g 1,4-Naphthochinon (1,28 mmol, 0,3 eq.) versetzt. Das im Anschluss isolierte Rohprodukt reinigte man in beiden Fällen säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen ockerfarbenen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 16,4 % (mit Perchlorsäure) 18,6 % (mit Schwefelsäure)

Schmelzbereich: 312-315 °C (aus Diethylether)

Reinheit*: 98,9 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R : 6,008 min

MS (m/z (%)): (ESI) 346,44 (100 % [M+H]⁺); 344,44 (100 % [M])

HR-MS (m/z (%)): 346,0631 (100 % [M+H]⁺) berechnet für $[C_{21}H_{13}ClNO_2]^+$: 346,0629

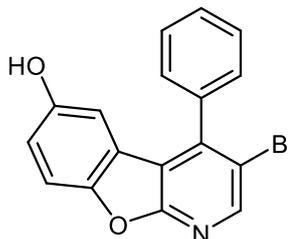
¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,20 (s, 1H, 5-OH); 8,58 (s, 1H, 9-H); 8,32 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,1 Hz, 1-H); 8,22 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 4-H); 7,73 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,1 Hz, ³J_{2/3} = 6,8 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,71–7,64 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,62 (ddd, 1H, ³J_{3/4} = 8,3 Hz, ³J_{3/2} = 6,9 Hz, ⁴J_{3/1} = 1,3 Hz, 3-H); 7,59–7,55 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,44 (s, 1H, 6-H).

R_f-Werte (DC): 0,55 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

3-Brom-4-phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 50
Summenformel: $C_{17}H_{10}BrNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 340,18 g/mol
Darstellung:



1 g Verbindung **28** (3,6 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,505 g 1,4-Benzochinon (4,67 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %). Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 14 d in Anspruch. An Tag 5 wurde der Ansatz mit weiteren 0,117 g 1,4-Benzochinon (1,08 mmol, 0,3 eq.) versetzt. Das anschließend isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein leicht gelber, kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende weiße Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 15,9 %

Schmelzbereich: 255-259 °C (aus Diethylether)

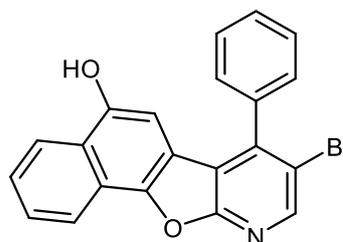
MS (m/z (%)): (APCI) 343,0 (10 % [$M+H$]⁺); 341,9 (85 % [$M+H$]⁺); 341,0 (15 % [$M+H$]⁺); 339,9 (75 % [$M+H$]⁺); 235,9 (80 % [$M+H - \text{Hydrochinon}$]⁺); 233,9 (100 % [$M+H - \text{Hydrochinon}$]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,43 (s, 1H, 6-OH); 8,65 (s, 1H, 2-H); 7,70-7,60 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,56 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,9 Hz, 8-H); 7,51-7,43 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 6,95 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,23 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H).

R_f-Werte (DC): 0,46 (LM 3)

8-Brom-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 51
Summenformel: $C_{21}H_{12}BrNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 390,24 g/mol
Darstellung:



1 g Verbindung **28** (3,6 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,739 g 1,4-Naphthochinon (4,67 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 71,8 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3,2 mL Perchlorsäure (70 %). Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 14 d in Anspruch.

Synthese der Verbindungen

An Tag 5 wurde der Ansatz mit weiteren 0,171 g 1,4-Naphthochinon (1,08 mmol, 0,3 eq.) versetzt. Das anschließend isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner, kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende braune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellbraunen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 15,1 %

Schmelzbereich: 298-299 °C

Reinheit*: 98,94 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R: 6,483 min

MS (m/z (%)): (APCI) 392,9 (22 % [M+H]⁺); 391,9 (100 % [M+H]⁺); 390,9 (18 % [M+H]⁺); 389,9 (87 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 392,0106 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₁H₁₃⁸¹BrNO₂]⁺: 390,0104

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 10,14 (s, 1H, 5-OH); 8,68 (s, 1H, 9-H); 8,32 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,4 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,2 Hz, 1H, 4-H); 7,73 (ddd, ³J_{2/1} = 8,4 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,3 Hz, 2-H); 7,70-7,65 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,61 (ddd, 1H, ³J_{3/4} = 8,2 Hz, ³J_{3/2} = 6,9 Hz, ⁴J_{3/1} = 1,3 Hz, 3-H); 7,57-7,49 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,34 (s, 1H, 6-H).

¹³C-NMR: 101 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 161,61 (C10a); 150,25 (C5); 146,56 (C9); 145,17 (C11a); 144,87 (C1'); 136,01 (C7); 129,79 (C4'); 129,41 (C2', C6'); 129,06 (C3', C5'); 128,09 (C2); 126,81 (C3); 125,69 (C4a); 123,81 (C4); 121,08 (C11b); 120,90 (C1); 117,92 (C8); 117,02 (C6a); 116,40 (C6b); 100,10 (C5).

R_f-Werte (DC): 0,55 (LM 3)

6.2.7 Synthese der weiteren Azoxafluoren-Derivate

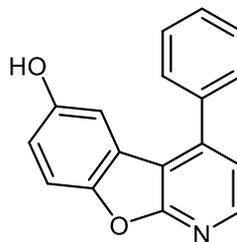
4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: 52

Summenformel: $C_{17}H_{11}NO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 261,28 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **29** (3,08 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,432 g 1,4-Benzochinon (4 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 10 d in Anspruch. Am Tag 5 wurde der Ansatz mit weiteren 0,1 g 1,4-Benzochinon (0,92 mmol, 0,3 eq.) versetzt. Das im Anschluss isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein orange-roter, teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende rötliche Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellorange, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 14,4 %

Schmelzbereich: 257-260 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

96,464 % -DMSO t_R : 10,323 min

MS (m/z (%)): (ESI) 262,61 (100 % $[M+H]^+$); 260,40 (100 % $[M]$)

HR-MS (m/z (%)): 262,0861 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{17}H_{12}NO_2]^+$: 262,0863

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,42 (s, 1H, 6-OH); 8,44 (d, 1H, $^3J_{2/3} = 5,1$ Hz, 2-H); 7,72-6,68 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,67-7,56 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,57 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 9,5$ Hz, 8-H); 7,37 (d, 1H, $^3J_{2/3} = 5,1$ Hz, 3-H); 6,95 (dt, 2H, $^3J_{7/8} = 9,5$ Hz, $^4J_{(5/7)/(7/5)} = 2,6$ Hz, 5-H, 7-H).

R_f -Werte (DC): 0,38 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

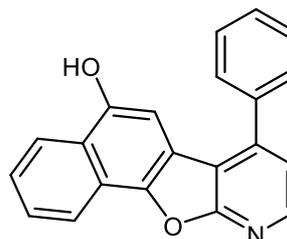
7-Phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin-5-ol

Verbindung: 53

Summenformel: $C_{21}H_{13}NO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 311,34 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **29** (3,08 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,632 g 1,4-Naphthochinon (4 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL konzentrierter Schwefelsäure (96 %) umgesetzt. Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 11 d in Anspruch. An Tag 5 wurden der Ansatz mit weiteren 0,146 g 1,4-Naphthochinon (0,92 mmol, 0,3 eq.) versetzt. Das im Anschluss isolierte Rohprodukt reinigte man säulen-chromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein brauner teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellbraunen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 10,1 %

Schmelzbereich: 250-251 °C (aus Diethylether)

Reinheit** : 95,937 % -DMSO t_R : 12,518 min

MS (m/z (%)): (ESI) 312,67 (100 % $[M+H]^+$); 310,42 (100 % $[M]$)

HR-MS (m/z (%)): 312,1019 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{21}H_{14}NO_2]^+$: 312,1019

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 10,16 (s, 1H, 5-OH); 8,48 (d, 1H, $^3J_{9/8} = 5,1$ Hz, 9-H); 8,35 (d, 1H, $^3J_{1/2} = 8,4$ Hz, 1-H); 8,25 (d, 1H, $^3J_{4/3} = 8,2$ Hz, 4-H); 7,78-7,72 (m, 3H, 2-H, 2'-H, 6'-H); 7,72-7,59 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,43 (d, 1H, $^3J_{8/9} = 5,1$ Hz, 8-H); 7,05 (s, 1H, 6-H).

^{13}C -NMR: 101 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 163,19 (C10a); 149,93 (C5); 145,86 (C11a); 145,61 (C9); 144,04 (C7); 137,29 (C1'); 129,63 (C4'); 129,51 (C2', C6'); 129,04 (C3', C5'); 127,95 (C2); 126,46 (C3); 125,42 (C4a); 123,76 (C4); 121,24 (C11b); 120,90 (C1); 120,67 (C8); 117,15 (C6a); 114,85 (C6b); 100,86 (s, C6).

R_f -Werte (DC): 0,45 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

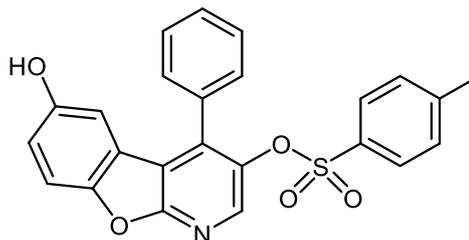
4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridine-6-ol-3-yl 4-methylbenzensulfonat

Verbindung: 54

Summenformel: C₂₄H₁₇NO₅S

Relative Molmasse [M_r]: 431,46 g/mol

Darstellung:



1 g Verbindung **26** (2,71 mmol, 1 eq.) wurden nach AAV 3 (siehe 6.1) mit 0,381 g 1,4-Benzochinon (3,52 mmol, 1,3 eq.) in einem Gemisch von 77 mL trockenem 1,4-Dioxan und 3 mL Schwefelsäure. Die vollständige Umsetzung des Edukts nahm 5 d in Anspruch. Das anschließend isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM 4 auf. Es resultierte ein leicht brauner, kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende hellbraune Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellbraunen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 1,1 %

Schmelzbereich: 241-246°C (aus Diethylether)

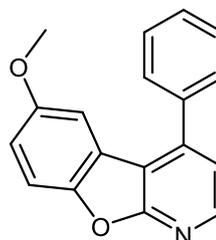
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 9,44 (s, 1H, 6-OH); 8,34 (s, 1H, 2-H); 7,51 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,52 (m, 1H, 4'-H); 7,46 (AA'BB', 2H, ³J = 8,3 Hz, 2''-H, 6''-H); 7,24 (m, 4H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H); 7,19–7,16 (m, AA'BB', 2H, 3''-H, 5''-H); 6,96 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,48 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 2,41 (s, 3H, 3-SO₃C₆H₄CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,34 (LM 3)

6.2.8 Synthese der 6-methoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-methoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzofluoren-Derivate

6-Methoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung:	55
Summenformel:	C ₁₈ H ₁₃ NO ₂
Relative Molmasse [M _r]:	275,31 g/mol
Darstellung:	



85 mg Verbindung **52** (325 µmol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 4 mL absolutem THF gelöst und mit 54,7 mg Natriumhydrid (2,28 mmol, 7 eq.) und 80 µL Iodmethan (185,3 mg, 1,3 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein hellroter amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende schwach rote Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen kristallinen Feststoff.

Ausbeute:	86,8 %
Schmelzbereich:	170-173 °C (aus Diethylether)
Reinheit**:	99,349 % t _R : 11,556 min (Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µL DMSO)
MS (m/z (%)):	(APCI) 277,1 (33 % [M+H] ⁺) 276,1 (100 % [M+H] ⁺)
HR-MS (m/z (%)):	276,1017 (100 % [M+H] ⁺) berechnet für [C ₁₈ H ₁₄ NO ₂] ⁺ : 276,1019
¹ H-NMR:	500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ [δ in ppm]: 8,49 (d, 1H, ³ J _{2/3} = 5,1 Hz, 2- H); 7,77–7,73 (m, 2H, 2'- H , 6'- H); 7,72 (d, 1H, ³ J _{8/7} = 9,0 Hz, 8- H); 7,69–7,64 (m, 2H, 3'- H , 5'- H); 7,66–7,57 (m, 1H, 4'- H); 7,43 (d, 1H, ³ J _{3/2} = 5,1 Hz, 1H, 3- H); 7,18 (dd, 1H, ³ J _{7/8} = 9,0 Hz, ⁴ J _{7/5} = 2,7 Hz, 7- H); 7,03 (d, 1H, ⁴ J _{5/7} = 2,7 Hz, 5- H); 3,67 (s, 3H, 6-O-CH ₃).
R _F -Werte (DC):	0,49 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

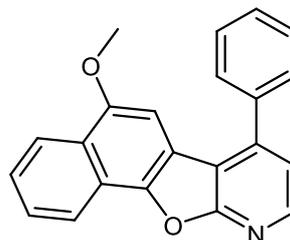
5-Methoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 56

Summenformel: $C_{22}H_{15}NO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 325,37 g/mol

Darstellung:



84 mg Verbindung **53** (269,8 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 45,3 mg Natriumhydrid (1,89 mmol, 7 eq.) und 70 μ L Iodmethan (159,6 mg, 1,1 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein oranges Öl. Dieses wurde aus Methanol umkristallisiert. Dadurch erhielt man einen gelben kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 85,1 %

Schmelzbereich: 137-139 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

99,737 % t_R : 13,539 min (Probenansatz 100 μ L Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 327,1 (20 % $[M+H]^+$) 326,1 (100 % $[M+H]^+$)

HR-MS (m/z (%)): 326,1175 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{22}H_{15}NO_2]^+$: 326,1176

1H -NMR: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,49 (d, 1H, $^3J_{2/3} = 5,1$ Hz, 2-H); 7,77–7,73 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,72 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,69–7,64 (m, 2H, 3'-H, 5'-H); 7,66–7,57 (m, 1H, 4'-H); 7,43 (d, 1H, $^3J_{3/2} = 5,1$ Hz, 1H, 3-H); 7,18 (dd, 1H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 7,03 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 3,67 (s, 3H, 6-O-CH $_3$).

R_f -Werte (DC): 0,52 (LM 3)

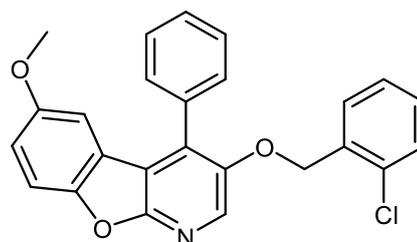
3-(2-Chlorbenzyloxy)-6-methoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 57

Summenformel: $C_{25}H_{18}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 415,87 g/mol

Darstellung:



64 mg Verbindung **40** (159 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 26,8 mg Natriumhydrid (1,11 mmol, 7 eq.) und 40 μ L Iodmethan (90,4 mg, 637 μ mol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt

Synthese der Verbindungen

reinierte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein gelbes Öl. Dieses wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende schwach gelbe Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 90,2 %

Schmelzbereich: 123-126 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

98,742 %	t _R : 14,840 min	(Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µL DMSO)
----------	-----------------------------	--

MS (m/z (%)):

(APCI) 418,0	(35 % [M+H] ⁺);	417,0	(25 % [M+H] ⁺);	416,0	(100 % [M+H] ⁺)
--------------	-----------------------------	-------	-----------------------------	-------	-----------------------------

HR-MS (m/z (%)):

416,1049	(100 % [M+H] ⁺)	berechnet für [C ₂₅ H ₁₉ ClNO ₃] ⁺ :	416,1048
----------	-----------------------------	---	----------

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,39 (s, 1H, 2-H); 7,64 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H); 7,61-7,51 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,44 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,9 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,3 Hz, 3'-H); 7,40-7,25 (m, 3H, 4'-H, 5'-H, 6'-H); 7,12 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,54 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,21 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 3,57 (s, 3H, 6-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,54 (LM 3)

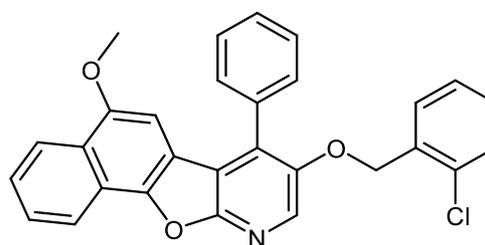
8-(2-Chlorbenzyloxy)-5-methoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 58

Summenformel: C₂₉H₂₀ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 465,93 g/mol

Darstellung:



76 mg Verbindung **41** (168 µmol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 6 mL absolutem THF gelöst und mit 28,3 mg Natriumhydrid (1,18 mmol, 7 eq.) und 42 µL Iodmethan (95,5 mg, 67,3 µmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein braunes Öl. Dieses wurde aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen gelb-braunen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 88,5 %

Schmelzbereich: 208-209 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

99,521 %	-DMSO	t _R : 14,985 min
----------	-------	-----------------------------

MS (m/z (%)):

(APCI) 468,0	(39 % [M+H] ⁺);	467,0	(34 % [M+H] ⁺);	466,0	(100 % [M+H] ⁺)
--------------	-----------------------------	-------	-----------------------------	-------	-----------------------------

Synthese der Verbindungen

HR-MS (m/z (%)): 466,1207 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₉H₂₁ClNO₃]⁺: 466,1204

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,43 (s, 1H, 9-H); 8,35 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,1 Hz, 1-H); 8,23 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 4-H); 7,76 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,1 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,73-7,50 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,46 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,6 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,5 Hz, 3'-H); 7,42 (dd, ³J_{6'/5'} = 7,6 Hz, ⁴J_{6'/4'} = 2,0 Hz, 1H, 6'-H); 7,35 (td, ³J_{4'/(3'/5')} = 7,6 Hz, ⁴J_{4'/6'} = 2,0 Hz, 1H, 4'-H); 7,29 (td, ³J_{5'/(4'/6')} = 7,6 Hz, ⁴J_{5'/3'} = 1,5 Hz, 1H, 5'-H); 6,47 (s, 1H, 6-H); 5,27 (s, 2H, 8-O-CH₂-C₆H₅Cl); 3,67 (s, 3H, 5-O-CH₃).

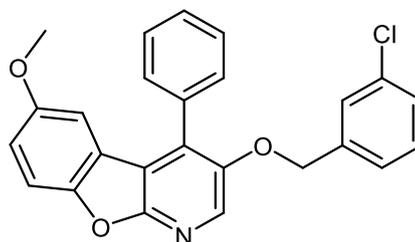
R_f-Werte (DC): 0,52 (LM 3)

3-(3-Chlorbenzyloxy)-6-methoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 59

Summenformel: C₂₅H₁₈ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 415,87 g/mol



Darstellung:

79 mg Verbindung **42** (197 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 33 mg Natriumhydrid (1,38 mmol, 7 eq.) und 50 μL Iodmethan (114 mg, 803 μmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein gelber, amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende schwach gelbe Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 87,1 %

Schmelzbereich: 118-122 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

98,015 % t_R: 14,781 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μL DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 418,0 (35 % [M+H]⁺); 417,0 (30 % [M+H]⁺); 416,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 416,1050 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₅H₁₉ClNO₃]⁺: 416,1048

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,37 (s, 1H, 2-H); 7,64 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H); 7,67-7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,37-7,31 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,30 (d, 1H, ⁴J_{2'/6'} = 1,6 Hz, 2'-H); 7,28-7,21 (m, 1H, 6'-H); 7,12 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,55 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,21 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 3,58 (s, 3H, 6-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,50 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

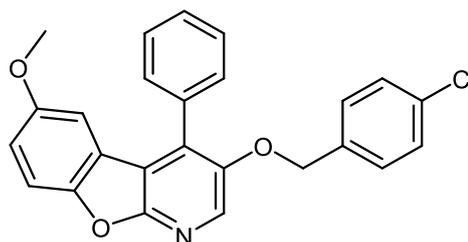
3-(4-Chlorbenzyloxy)-6-methoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 60

Summenformel: $C_{25}H_{18}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 415,87 g/mol

Darstellung:



34 mg Verbindung **44** (84,6 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 3 mL absolutem THF gelöst und mit 14,2 mg Natriumhydrid (592 μ mol, 7 eq.) und 21 μ L Iodmethan (48 mg, 338 μ mol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 4 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein gelbes Öl. Dieses wurde aus Diethylether umkristallisiert und das entstehende gelbe Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen weißen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 91,4 %

Schmelzbereich: 142-144 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

99,497 % t_R : 14,773 min

MS (m/z (%)):

(ESI) 853,23 (100 % [$2M+Na$] $^+$); 416,73 (90 % [$M+H$] $^+$)

HR-MS (m/z (%)):

416,1048 (100 % [$M+H$] $^+$) berechnet für [$C_{25}H_{19}ClNO_3$] $^+$: 416,1048

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,35 (s, 1H, 2-H); 7,63 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,61-7,53 (m, 5H, 4-C $_6$ H $_5$); 7,37 (AA'BB', 2H, $^3J = 8,5$ Hz, 2'-H, 6'-H); 7,30 (AA'BB', 2H, $^3J = 8,5$ Hz, 3'-H, 5'-H); 7,12 (dd, 1H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,54 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 5,18 (s, 2H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_4$ Cl); 3,57 (s, 3H, 6-O-CH $_3$).

R_f -Werte (DC): 0,50 (LM 3)

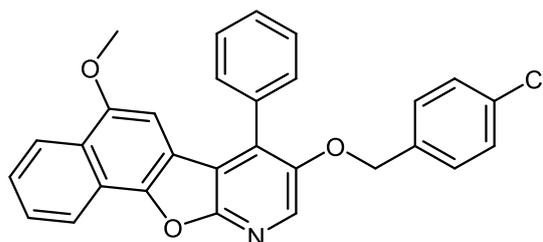
8-(4-Chlorbenzyloxy)-5-methoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 61

Summenformel: $C_{29}H_{20}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 465,93 g/mol

Darstellung:



76 mg Verbindung **45** (168 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 6 mL absolutem THF gelöst und mit 28,3 mg Natriumhydrid (1,18 mmol, 7 eq.) und 42 μ L Iodmethan (95,5 mg,

Synthese der Verbindungen

67,3 μmol , 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM5 auf. Es resultierte ein brauner amorpher Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellgelben kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 87,8 %

Schmelzbereich: 187-191 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

MS (m/z (%)): (ESI) 953,00 (78 % [2M+Na]⁺); 466,42 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 466,1206 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₉H₂₁ClNO₃]⁺: 466,1204

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,44 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,1 Hz, 1-H); 8,31 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 4-H); 8,23 (s, 1H, 9-H); 7,72-7,66 (m, 1 H, 2-H); 7,66-7,39 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,28 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,16 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 3'-H, 5'-H); 6,51 (s, 1H, 6-H); 5,08 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,75 (s, 3H, 5-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,54 (LM 3)

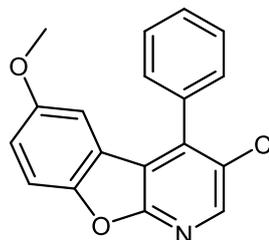
3-Chlor-6-methoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 62

Summenformel: C₁₈H₁₂ClNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 309,75 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **48** (338 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 56,8 mg Natriumhydrid (2,37 mmol, 7 eq.) und 84 μL Iodmethan (192 mg, 1,35 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Es resultierte ein gelber teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert. Dadurch erhielt man einen weißen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 83,1 %

Schmelzbereich: 128-129 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (APCI) 312,0 (30 % [M+H]⁺); 311,0 (20 % [M+H]⁺); 310,0 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,60 (s, 1H, 2-H); 7,71 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 1H, 8-H); 7,69-7,60 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,64-7,51 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,17 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,34 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 3,56 (s, 3H, 6-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,61 (LM 3)

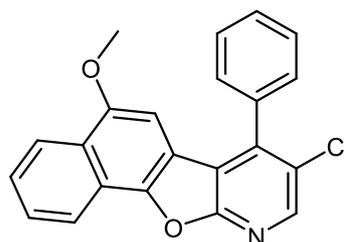
8-Chlor-5-methoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 63

Summenformel: C₂₂H₁₄ClNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 359,81 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **49** (289 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 48,6 mg Natriumhydrid (2,02 mmol, 7 eq.) und 72 μL Iodmethan (164,2 mg, 1,16 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die für einen vollständigen Umsatz der Edukte benötigte Zeit betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Es resultierte ein brauner kristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen gelben kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 82,3 %

Schmelzbereich: 187-191 °C (aus Diethylether)

Reinheit** : 87,009 % t_R:14,287 min

MS (m/z (%)): (ESI) 360,68 (100 % [M+H]⁺)

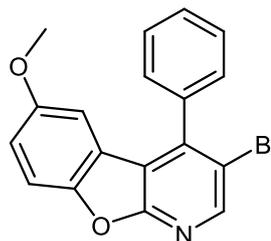
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,62 (s, 1H, 9-H); 8,36 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1H, 1-H); 8,23 (d, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 1H, 4-H); 7,77 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,3 Hz, 2-H); 7,74-7,66 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,65-7,57 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,22 (s, 1H, 6-H); 3,63 (s, 3H, 5-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,62 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

3-Brom-6-methoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 64
Summenformel: $C_{18}H_{12}BrNO_2$
Relative Molmasse $[M_r]$: 354,20 g/mol
Darstellung:

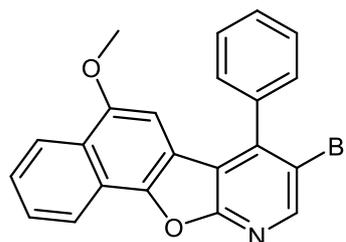


76 mg Verbindung **50** (223 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 37,5 mg Natriumhydrid (1,56 mmol, 7 eq.) und 56 μL Iodmethan (126,8 mg, 893 μmol , 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 4 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Es resultierte ein gelb-oranger teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Ethylacetat umkristallisiert. Dadurch erhielt man einen weißen kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 85,7 %
Schmelzbereich: 261-262°C (aus Ethylacetat)
Reinheit**:
100,000 % t_R : 14,720 min
MS (m/z (%)): (APCI) 359,9 (37 % $[M+H]^+$); 356,9 (16 % $[M+H]^+$); 355,9 (100 % $[M+H]^+$); 354,9 (15 % $[M+H]^+$); 353,9 (87 % $[M+H]^+$)
HR-MS (m/z (%)): 354,0126 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{18}H_{13}BrNO_2]^+$: 354,0124; 356,0126 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{18}H_{13}^{81}BrNO_2]^+$: 356,0126
 $^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,71 (s, 1H, 2-H); 7,72 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,70-7,62 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,55-7,49 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,17 (dd, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 1H, 7-H); 6,25 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 3,56 (s, 3H, 6-O-CH $_3$).
 R_f -Werte (DC): 0,59 (LM 3)

8-Brom-5-methoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 65
Summenformel: $C_{22}H_{14}BrNO_2$
Relative Molmasse $[M_r]$: 405,27 g/mol
Darstellung:



Synthese der Verbindungen

116 mg Verbindung **51** (297 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 4 (siehe 6.1) in 5 mL absolutem THF gelöst und mit 49,9 mg Natriumhydrid (2,08 mmol, 7 eq.) und 74 μL Iodmethan (168,8 mg, 1,19 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die für einen vollständigen Umsatz der Edukte benötigte Zeit betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Es resultierte ein hellbrauner teilkristalliner Feststoff. Dieser wurde aus Diethylether umkristallisiert und das gelbe Präzipitat mit Methanol gewaschen. Final erhielt man einen hellgelben kristallinen Feststoff.

Ausbeute: 86,7 %

Schmelzbereich: 187-191 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

95,697 % t_R : 14,489 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)
--

MS (m/z (%)): (ESI) 406,57 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 406,0262 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₁₈H₁₃⁸¹BrNO₂]⁺: 406,0260

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,72 (s, 1H, 9-H); 8,36 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,23 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,78 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,74-7,64 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,61-7,57 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,13 (s, 1H, 6-H); 3,62 (s, 3H, 5-O-CH₃).

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 161,67 (C10a); 152,08 (C5); 146,38 (C10a); 146,31 (C11a); 144,66 (C7); 136,12 (C1'); 129,14 (C4'); 129,08 (C2', C6'); 128,63 (C3', C5'); 127,47 (C2); 126,57 (C3); 126,04 (C4a); 122,99 (C4); 121,35 (C11b); 121,06 (C1); 118,34 (C8); 116,31 (C6a); 115,87 (C6b); 96,26 (C6); 55,31 (5-O-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,53 (LM 3)

6.2.9 Synthese der 6-ethoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-ethoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-b]pyridin

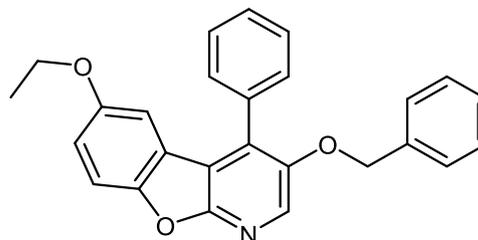
3-Benzoyloxy-6-ethoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 66

Summenformel: $C_{26}H_{21}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 395,46 g/mol

Darstellung:



111 mg Verbindung **38** (302 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 47,5 mg Kalium-*tert*-butanolat (423 μ mol, 1,4 eq.) und 36 μ L Iodethan (70,7 mg, 453 μ mol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 7 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 91,1 %

Schmelzbereich: 160-163 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*: 98,5 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R : 9,008 min (Probenansatz 100 μ L Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 396,1 (100 % [$M+H$]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,35 (s, 1H, 2-H); 7,62 (d, 1H, ³ $J_{8/7}$ = 9,0 Hz, 8-H); 7,61-7,51 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,36-7,22 (m, 5H, 3-O-CH₂C₆H₅); 7,10 (dd, 1H, ³ $J_{7/8}$ = 9,0 Hz, ⁴ $J_{7/5}$ = 2,7 Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, ⁴ $J_{5/7}$ = 2,7 Hz, 5-H); 5,19 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₅); 3,80 (q, 2H, ³ J_{CH_2/CH_3} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃); 1,23 (t, 3H, ³ J_{CH_3/CH_2} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃).

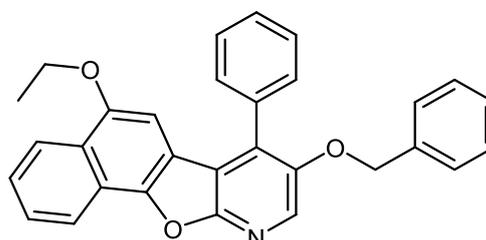
R_f-Werte (DC): 0,48 (LM 3)

8-Benzoyloxy-5-ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 67

Summenformel: $C_{30}H_{23}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 445,52 g/mol



Synthese der Verbindungen

Darstellung:

110 mg Verbindung **39** (263 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 41,4 mg Kalium-*tert*-butanolat (369 μmol , 1,4 eq.) und 32 μL Iodethan (61,6 mg, 395 μmol , 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellrotes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Diethylether gewaschen und als ein hellrosaner, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 86,6 %

Schmelzbereich: 166-167 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

99,037 % t_R :	14,844 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)
------------------	---

MS (m/z (%)):

(APCI) 447,5(25 % [M+H] ⁺);	446,5 (100 % [M+H] ⁺)
---	-----------------------------------

HR-MS (m/z (%)):

446,1753 (100 % [M+H] ⁺)	berechnet für [C ₃₀ H ₂₄ NO ₃] ⁺ :	446,1751
--------------------------------------	---	----------

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,38 (s, 1H, 9-H); 8,35 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,0 Hz, 1-H); 8,25 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,2 Hz, 4-H); 7,73 („t“, 1 H, 2-H); 7,68-7,56 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,38-7,24 (m, 5H, 8-O-CH₂C₆H₅); 6,43 (s, 1H, 6-H); 5,22 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₅); 3,84 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃); 1,36 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,57 (LM 3)

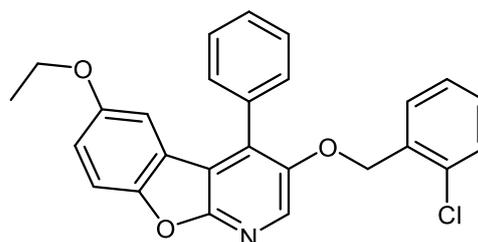
3-(2-Chlorbenzyloxy)-6-ethoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 68

Summenformel: C₂₆H₂₀ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 429,90 g/mol

Darstellung:



50 mg Verbindung **40** (124 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 19,5 mg Kalium-*tert*-butanolat (174 μmol , 1,4 eq.) und 15 μL Iodethan (29,1 mg, 187 μmol , 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellgelbes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 89,7 %

Synthese der Verbindungen

Schmelzbereich: 147-149 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

99,074 % t_R : 13,930 min

MS (m/z (%)): (APCI) 432,2 (35 % [M+H]⁺); 431,2 (30 % [M+H]⁺); 430,2 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 430,1203 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₆H₂₁ClNO₃]⁺: 430,1204

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,38 (s, 1H, 2-H); 7,62 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H) 7,59-7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,44 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,8 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,4 Hz, 3'-H); 7,37 (dd, 1H, ³J_{6'/5'} = 7,4 Hz, ⁴J_{6'/4'} = 2,1 Hz, 6'-H) 7,32 (dd, 1H, ³J_{4'/3'} = 7,8 Hz, ⁴J_{4'/6'} = 2,1 Hz, 1H, 4'-H); 7,27 (dd, 1H, ³J_{5'/6'} = 7,4 Hz, ⁴J_{5'/3'} = 1,4 Hz, 5'-H); 7,10 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,22 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 3,80 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃); 1,23 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,52 (LM 3)

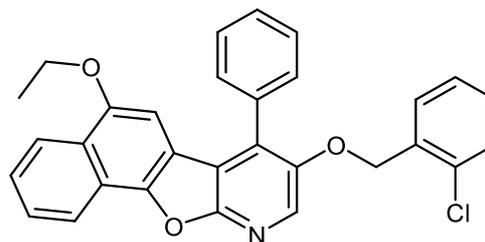
8-(2-Chlorbenzyloxy)-5-ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 69

Summenformel: C₃₀H₂₂ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 479,13 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **41** (221 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 34,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (310 μmol, 1,4 eq.) und 27 μL Iodethan (51,8 mg, 332 μmol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 7 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellbraunes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Diethylether gewaschen und als ein sandfarbener, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 86,6 %

Schmelzbereich: 204-206 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*:

98,05 % (MeOH/H₂O 70:30) t_R : 71,475 min

MS (m/z (%)): (APCI) 482,0 (34 % [M+H]⁺) 481,0 (31 % [M+H]⁺); 480,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 480,1360 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₃₀H₂₃ClNO₃]⁺: 480,1361

Synthese der Verbindungen

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,43 (s, 1H, 9-H); 8,35 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,0 Hz, 1-H); 8,25 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,2 Hz, 4-H); 7,76 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,0 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,70-7,55 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,46 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,8 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,4 Hz, 3'-H); 7,41 (dd, 1H, ³J_{6'/5'} = 7,4 Hz, ⁴J_{6'/4'} = 2,0 Hz, 6'-H); 7,35 (td, 1H, ³J_{4'/(3'/5')} = 7,6 Hz, ⁴J_{4'/6'} = 2,0 Hz, 4'-H); 7,29 (td, ³J_{5'/(4'/6')} = 7,4 Hz, ⁴J_{5'/3'} = 1,4 Hz, 5'-H); 6,45 (s, 1H, 6-H); 5,27 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,86 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃); 1,36 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,59 (LM 3)

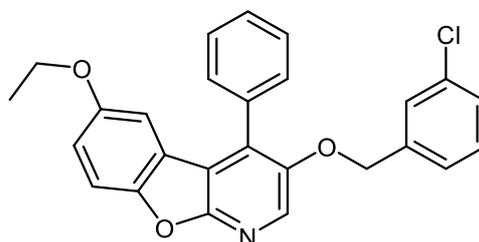
3-(3-Chlorbenzyloxy)-6-ethoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 70

Summenformel: C₂₆H₂₀ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 429,90 g/mol

Darstellung:



61 mg Verbindung **42** (152 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 23,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (213 μmol, 1,4 eq.) und 18 μL Iodethan (35,5 mg, 228 μmol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein sandfarbenes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 88,2 %

Schmelzbereich: 120-121 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**): 97,659 % t_R: 15,081 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μL DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 430,45 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 430,1204 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₆H₂₁ClNO₃]⁺: 430,1204

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,36 (s, 1H, 2-H); 7,65-7,52 (m, 6H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,37-7,30 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,29 (d, ⁴J_{2'/6'} = 1,9 Hz, 1H, 2'-H); 7,25-7,19 (m, 1H, 6'-H); 7,10 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,53 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,20 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 3,80 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃); 1,22 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,54 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

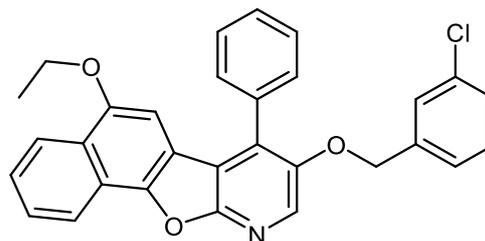
8-(3-Chlorbenzyloxy)-5-ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 71

Summenformel: $C_{30}H_{22}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 479,13 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **43** (221 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 34,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (310 μ mol, 1,4 eq.) und 27 μ L Iodethan (51,8 mg, 332 μ mol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein oranges, kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein helloranger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 85,9 %

Schmelzbereich: 201-204 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

96,417 % t_R : 15,273 min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ l DMSO)

MS (m/z (%)):

(ESI) 480,49 (100 % [$M+H$]⁺)

HR-MS (m/z (%)):

480,1359 (100 % [$M+H$]⁺) berechnet für $[C_{30}H_{23}ClNO_3]^+$: 480,1361

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm] 8,39 (s, 1H, 9-H); 8,34 (d, 1H, ³ $J_{1/2}$ = 8,1 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³ $J_{4/3}$ = 8,4 Hz, 4-H); 7,71 (ddd, 1H, ³ $J_{2/1}$ = 8,1 Hz, ³ $J_{2/3}$ = 6,9 Hz, ⁴ $J_{2/4}$ = 1,2 Hz, 2-H); 7,69-7,57 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,38-7,30 (m, 3H, 2'-H, 4'-H, 5'-H); 7,26 (dt, 1H, ³ $J_{6'/5'}$ = 6,3 Hz, ⁴ $J_{6'/(2/4)'}$ = 2,1 Hz, 6'-H); 6,46 (s, 1H, 6-H); 5,24 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,85 (q, 2H, ³ J_{CH_2/CH_3} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃); 1,36 (t, 3H, ³ J_{CH_3/CH_2} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,58 (LM 3)

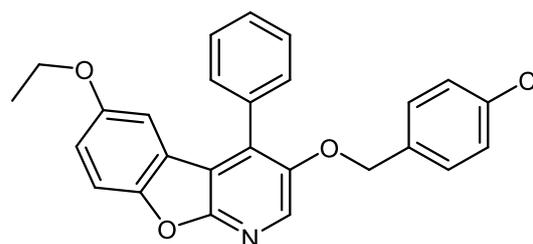
3-(4-Chlorbenzyloxy)-6-ethoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 72

Summenformel: $C_{26}H_{20}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 429,90 g/mol

Darstellung:



Synthese der Verbindungen

75 mg Verbindung **44** (187 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 29,3 mg Kalium-*tert*-butanolat (261 μmol , 1,4 eq.) und 23 μL Iodethan (43,7 mg, 280 μmol , 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein beiges, kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 89,6 %

Schmelzbereich: 92-93 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

MS (m/z (%)): (APCI) 432,1 (33 % [M+H]⁺) 431,1 (29 % [M+H]⁺); 430,1 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,34 (s, 1H, 2-H); 7,61 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,9 Hz, 8-H); 7,61–7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,37 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,29 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 3'-H, 5'-H); 7,09 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,51 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,17 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 3,80 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃); 1,22 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,52 (LM 3)

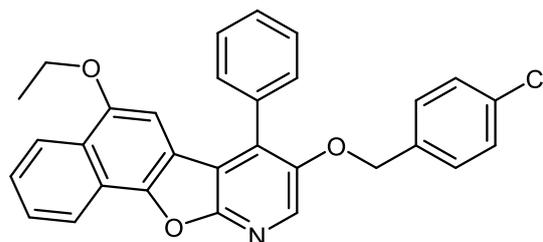
8-(4-Chlorbenzyloxy)-5-ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 73

Summenformel: C₃₀H₂₂ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 479,13 g/mol

Darstellung:



112 mg Verbindung **45** (248 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 10 mL DMF gelöst und mit 38,9 mg Kalium-*tert*-butanolat (347 μmol , 1,4 eq.) und 30 μL Iodethan (60 mg, 372 μmol , 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellbraunes, kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Diethylether gewaschen und als ein hellgelbes, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 86,3 %

Schmelzbereich: 179-182 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

98,751 % t_R: 16,229 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (APCI) 482,0 (31 % [M+H]⁺) 481,0 (30 % [M+H]⁺); 480,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 480,1364 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₃₀H₂₃ClNO₃]⁺: 480,1361

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,33 (s, 1H, 9-H); 8,24 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,4 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,3 Hz, 4-H); 7,75 („t“, 1 H, 2-H); 7,69-7,54 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,39 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,33 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 3'-H, 5'-H); 6,44 (s, 1H, 6-H); 5,22 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,85 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃); 1,36 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,55 (LM 3)

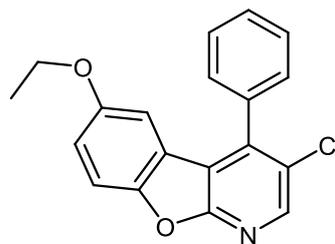
3-Chlor-6-ethoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 74

Summenformel: C₁₉H₁₄ClNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 323,78 g/mol

Darstellung:



78 mg Verbindung **48** (264 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 41,4 mg Kalium-*tert*-butanolat (369 μmol, 1,4 eq.) und 32 μL Iodethan (61,7 mg, 396 μmol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein beiges, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 92,5 %

Schmelzbereich: 160-163 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*: 92,9 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R: 6,867 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μl DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 324,42 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 324,0786 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₁₉H₁₅ClNO₂]⁺: 324,0786

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,59 (s, 1H, 2-H); 7,68 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H); 7,69-7,61 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,56-7,52 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,14 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz,

Synthese der Verbindungen

$^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-**H**); 6,32 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-**H**); 3,78 (q, 2H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 6,9$ Hz, 6-O-**CH₂CH₃**); 1,22 (t, 3H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 6,9$ Hz, 6-O-**CH₂CH₃**).

R_f-Werte (DC): 0,67 (LM 3)

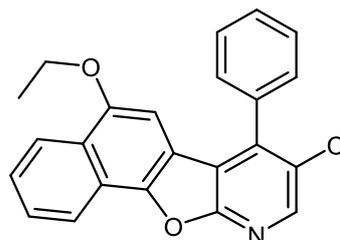
8-Chlor-5-ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 75

Summenformel: C₂₃H₁₆ClNO₂

Relative Molmasse [M_r]: 373,84 g/mol

Darstellung:



96,4 mg Verbindung **49** (279 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 41,4 mg Kalium-*tert*-butanolat (369 μmol, 1,4 eq.) und 32 μL Iodethan (61,6 mg, 395 μmol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbliches, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 88,9 %

Schmelzbereich: 169-172 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*: 98,23 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R: 29,108 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μL DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 376,0 (62 % [M+H]⁺) 375,0 (50 % [M+H]⁺); 374,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 374,0943 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₃H₁₇ClNO₂]⁺: 374,0942

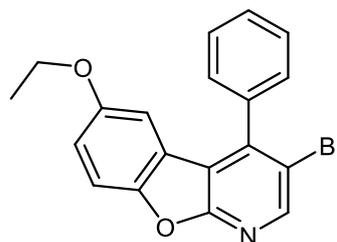
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,60 (s, 1H, 9-**H**); 8,33 (d, 1H, $^3J_{1/2} = 8,2$ Hz, 1-**H**); 8,25 (d, 1H, $^3J_{4/3} = 8,4$ Hz, 4-**H**); 7,73 (ddd, 1H, $^3J_{2/1} = 8,2$ Hz, $^3J_{2/3} = 6,8$ Hz, $^4J_{2/4} = 1,2$ Hz, 2-**H**); 7,73-7,63 (m, 4H, 3-**H**, 3'-**H**, 4'-**H**, 5'-**H**); 7,63-7,57 (m, 2H, 2'-**H**, 6'-**H**); 6,18 (s, 1H, 6-**H**); 3,79 (q, 2H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 6,9$ Hz, 5-O-**CH₂CH₃**); 1,36 (t, 3H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 6,9$ Hz, 5-O-**CH₂CH₃**).

R_f-Werte (DC): 0,65 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

3-Brom-6-ethoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 76
Summenformel: $C_{19}H_{14}BrNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 368,23 g/mol
Darstellung:



63,8 mg Verbindung **48** (188 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 29,5 mg Kalium-*tert*-butanolat (263 μ mol, 1,4 eq.) und 23 μ L Iodethan (43,9 mg, 281 μ mol, 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss einmal mit Diethylether und zweimal mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

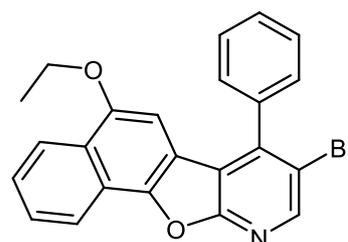
Ausbeute: 95,8 %
Schmelzbereich: 150-151 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)
Reinheit**:
MS (m/z (%)): (APCI) 369,9 (91 % [$M+H$]⁺) 368,9 (33 % [$M+H$]⁺); 367,9 (100 % [$M+H$]⁺)
HR-MS (m/z (%)): 368,0276 (100 % [$M+H$]⁺) berechnet für $[C_{19}H_{15}BrNO_2]^+$: 368,0281

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,69 (s, 1H, 2-H); 7,68 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H) 7,69-7,59 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,53-7,48 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,14 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,22 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 3,77 (q, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃); 1,21 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 6-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,68 (LM 3)

8-Brom-5-ethoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 77
Summenformel: $C_{23}H_{16}BrNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 418,29 g/mol
Darstellung:



Synthese der Verbindungen

85 mg Verbindung **51** (279 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 41,4 mg Kalium-*tert*-butanolat (369 μmol , 1,4 eq.) und 32 μL Iodethan (61,6 mg, 395 μmol , 1,5 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte hellbraune kristalline Rohprodukt zeigte keine massenspektrometrisch oder dünnschichtchromatographisch detektierbaren Verunreinigungen. Es wurde aus Diethylether umkristallisiert und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 88,4 %

Schmelzbereich: 167-169 °C (aus Diethylether)

Reinheit*: 98,8 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R : 31,608 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 859,17 (100 % [2M+Na]⁺); 420,49 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,70 (s, 1H, 9-H); 8,34 (d, 1H, ³*J*_{1/2} = 8,1 Hz, 1-H); 8,25 (d, 1H, ³*J*_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,73 (ddd, 1 H, ³*J*_{2/1} = 8,1 Hz, ³*J*_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴*J*_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,74-7,62 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,62-7,55 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,09 (s, 1H, 6-H); 3,77 (q, 2H, ³*J*_{CH₂/CH₃} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃); 1,33 (t, 3H, ³*J*_{CH₃/CH₂} = 6,9 Hz, 5-O-CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,64 (LM 3)

6.2.10 Synthese der 6-propoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-propoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-b]pyridin

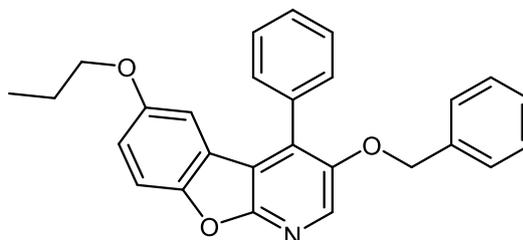
3-Benzoyloxy-6-propoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 78

Summenformel: $C_{27}H_{23}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 409,49 g/mol

Darstellung:



79,2 mg Verbindung **38** (216 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 33,9 mg Kalium-*tert*-butanolat (302 μ mol, 1,4 eq.) und 42 μ L 1-Iodpropan (73,3 mg, 431 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Diethylether gewaschen und als ein hellgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 88,2 %

Schmelzbereich: 160-163 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

98,817 % t_R : 14,935 min (Probenansatz 100 μ L Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)):

(ESI) 410,68 (100 % $[M+H]^+$)

HR-MS (m/z (%)):

410,1746 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{27}H_{24}NO_3]^+$: 410,1751

1H -NMR: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,39 (s, 1H, 2-H); 7,61-7,51 (m, 6H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,34-7,23 (m, 5H, 3-O-CH₂C₆H₅); 7,09 (dd, 1H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,51 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 5,18 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₅); 3,69 (t, 2H, $^3J_{CH_2/CH_2} = 6,6$ Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 1,60 („h“, 2H, $^3J_{CH_2/(CH_2/CH_3)} = 7,1$ Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 0,80 (t, 3H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,4$ Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f -Werte (DC): 0,53 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

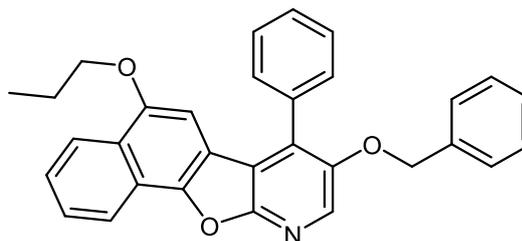
8-Benzyloxy-5-propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 79

Summenformel: $C_{31}H_{25}NO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 459,54 g/mol

Darstellung:



35,2 mg Verbindung **39** (84 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 13,2 mg Kalium-*tert*-butanolat (118 μ mol, 1,4 eq.) und 16 μ L 1-Iodpropan (28,7 mg, 169 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 7 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein braunes amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Diethylether gewaschen und als ein hellbrauner, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 84,3 %

Schmelzbereich: 145-147 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

95,898 % t_R : 15,118 min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 462,1 (9 % $[M+H]^+$) 461,1 (30 % $[M+H]^+$); 460,1 (100 % $[M+H]^+$)

HR-MS (m/z (%)): 460,1904 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{31}H_{26}NO_3]^+$: 460,1907

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,37 (s, 1H, 9-H); 8,32 (d, 1H, $^3J_{1/2} = 8,2$ Hz, 1-H); 8,23 (d, 1H, $^3J_{4/3} = 8,3$ Hz, 4-H); 7,74 („t“, 1 H, 2-H); 7,69-7,55 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,39-7,24 (m, 5H, 8-O-CH₂C₆H₅); 6,41 (s, 1H, 6-H); 5,22 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₅); 3,76 (t, 2H, $^3J_{CH_2/CH_2} = 6,4$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,76 („h“, 2H, $^3J_{CH_2/(CH_2/CH_3)} = 7,0$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,00 (t, 3H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,4$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f -Werte (DC): 0,58 (LM 3)

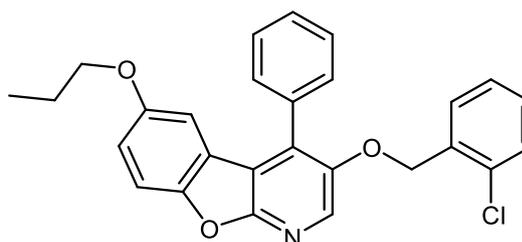
3-(2-Chlorbenzyloxy)-6-propoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 80

Summenformel: $C_{27}H_{22}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 443,93 g/mol

Darstellung:



Synthese der Verbindungen

100 mg Verbindung **40** (124 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 19,5 mg Kalium-*tert*-butanolat (174 μmol , 1,4 eq.) und 15 μL 1-Iodpropan (29,1 mg, 187 μmol , 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 6 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und als ein blassgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 84,3 %

Schmelzbereich: 117-121 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

95,751 % t_R : 15,393 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)
--

MS (m/z (%)):

(ESI) 909,37 (100 % $[\text{2M}+\text{Na}]^+$); 444,41(15 % $[\text{M}+\text{H}]^+$)
--

HR-MS (m/z (%)):

444,1360 (100 % $[\text{M}+\text{H}]^+$) berechnet für $[\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{ClNO}_3]^+$: 444,1361
--

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,39 (s, 1H, 2-**H**); 7,62 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-**H**) 7,60-7,52 (m, 5H, 4-**C** $_6$ **H** $_5$); 7,44 (dd, 1H, $^3J_{3'/4'} = 7,8$ Hz, $^4J_{3'/5'} = 1,4$ Hz, 3'-**H**); 7,40-7,24 (m, 3H, 4'-**H**, 5'-**H**, 6'-**H**); 7,11 (dd, 1H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-**H**); 6,52 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-**H**); 5,22 (s, 2H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_4$ Cl); 3,70 (t, 2H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 6,6$ Hz, 6-O-CH $_2$ CH $_2$ CH $_3$); 1,61 („h“, 2H, $^3J_{\text{CH}_2/(\text{CH}_2/\text{CH}_3)} = 7,1$ Hz, 6-O-CH $_2$ CH $_2$ CH $_3$); 0,88 (t, 3H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,4$ Hz, 6-O-CH $_2$ CH $_2$ CH $_3$).

R $_f$ -Werte (DC): 0,61 (LM 3)

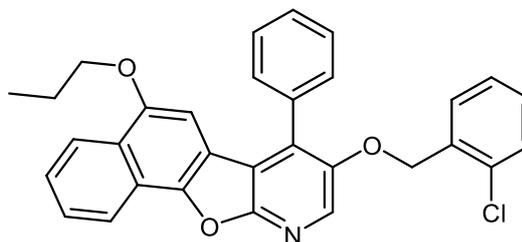
8-(2-Chlorbenzyloxy)-5-propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 81

Summenformel: C $_{34}$ H $_{24}$ ClNO $_3$

Relative Molmasse [M $_r$]: 493,99 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **41** (221 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 9 mL DMF gelöst und mit 34,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (310 μmol , 1,4 eq.) und 43 μL 1-Iodpropan (75,2 mg, 443 μmol , 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellbraunes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Diethylether gewaschen und als ein sandfarbener, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 82,5 %

Synthese der Verbindungen

Schmelzbereich: 137-140 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:
98,906 % t_R : 15,520 min (Probenansatz 100 μ L Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)):
(ESI) 1008,96 (100 % [M+Na]⁺); 495,25 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)):
494,1512 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₃₄H₂₅ClNO₃]⁺: 494,1517

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,43 (d, 1H, ³J_{1/2} = 7,9 Hz, 1-H); 8,34 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,2 Hz, 4-H); 8,25 (s, 1H, 9-H); 7,72-7,64 (m, 2 H, 2-H, 3-H); 7,64-7,55 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,52-7,40 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,36 (dd, 1H, ³J_{3/4'} = 7,7 Hz, ⁴J_{3/5'} = 1,5 Hz, 3''-H); 7,28 (dd, 1H, ³J_{6'/5'} = 7,3 Hz, ⁴J_{6'/4'} = 2,0 Hz, 6''-H); 7,24-7,18 (m, 2H, 4''-H, 5''-H); 6,51 (s, 1H, 6-H); 5,20 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,80 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,88 (qt, 2H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,4 Hz, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,4 Hz 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,09 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 158,35 (C10a); 151,02 (C5); 148,89 (C8); 146,62 (C11a); 138,56 (C1'); 135,50 (C1''); 134,38 (C2''); 133,04 (C7); 132,82 (C9); 129,84 (C2', C6'); 129,66 (C4''); 128,88 (C4'); 128,33 (C3', C5'); 128,03 (C6''); 127,29 (C3''); 127,20 (C2); 126,24 (C3); 126,14 (C5''); 125,13 (C4a); 123,03 (C4); 121,51 (C11b); 121,03 (C1); 117,15 (C6a); 116,79 (C6b); 97,57 (C6); 72,50 (8-O-CH₂-C₆H₅); 69,60 (5-O-CH₂-CH₂-CH₃); 22,33 (5-O-CH₂-CH₂-CH₃); 10,62 (5-O-CH₂-CH₂-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,62 (LM 3)

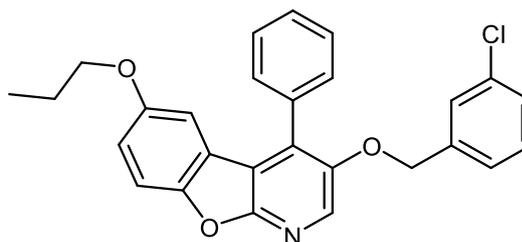
3-(3-Chlorbenzyloxy)-6-propoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 82

Summenformel: C₂₇H₂₂ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 443,93 g/mol

Darstellung:



116 mg Verbindung **42** (289 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 45,5 mg Kalium-*tert*-butanolat (405 μ mol, 1,4 eq.) und 56 μ L 1-Iodpropan (98,2 mg, 578 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 9 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelb-oranges, amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final wurde es als ein hellgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 81,6 %

Synthese der Verbindungen

Schmelzbereich: 91-93 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

97,621 %	t _R : 13,860 min	(Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µL DMSO)
----------	-----------------------------	--

MS (m/z (%)):

APCI 444,6 (ESI)	(100 % [M+H] ⁺)
------------------	-----------------------------

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,35 (s, 1H, 2-H); 7,65-7,52 (m, 6H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,36-7,22 (m, 4H, 3-O-CH₂C₆H₄Cl); 7,10 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,52 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,20 (s, 2H, 3-O-CH₂C₆H₄Cl); 3,70 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,6 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 1,61 („h“, 2H, ³J_{CH₂/(CH₂/CH₃)} = 7,1 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 0,88 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,58 (LM 3)

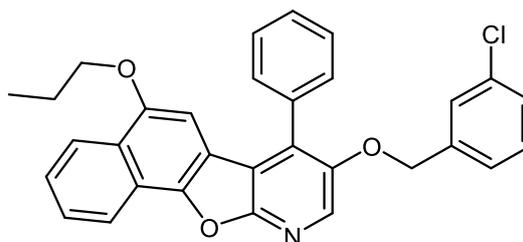
8-(3-Chlorbenzyloxy)-5-propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 83

Summenformel: C₃₄H₂₄ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 493,99 g/mol

Darstellung:



102,7 mg Verbindung **43** (227 µmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 9 mL DMF gelöst und mit 35,7 mg Kalium-*tert*-butanolat (318 µmol, 1,4 eq.) und 44 µL 1-Iodpropan (77,3 mg, 455 µmol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 9 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final wurde es als ein sandfarbener, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 81,3 %

Schmelzbereich: 201-204 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

96,417 %	t _R : 15,273 min	(Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µL DMSO)
----------	-----------------------------	--

MS (m/z (%)):

(ESI) 494,53	(100 % [M+H] ⁺)
--------------	-----------------------------

HR-MS (m/z (%)):

494,1516	(100 % [M+H] ⁺)	berechnet für [C ₃₄ H ₂₅ ClNO ₃] ⁺ : 494,1517
----------	-----------------------------	--

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm] 8,41 (s, 1H, 9-H); 8,35 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,3 Hz, 1-H); 8,26 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,77 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,3 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H);

Synthese der Verbindungen

7,69-7,60 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,39-7,35 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,34 (d, 1H, ⁴J_{2'/6'} = 2,0 Hz, 2'-H); 7,27 (dt, 1H, ³J_{6'/5'} = 6,6 Hz, ⁴J_{6'/(2/4)'} = 2,0 Hz, 6'-H); 6,47 (s, 1H, 6-H); 5,26 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,77 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,77 („h“, 2H, ³J_{CH₂/(CH₂/CH₃)} = 7,1 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,00 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,61 (LM 3)

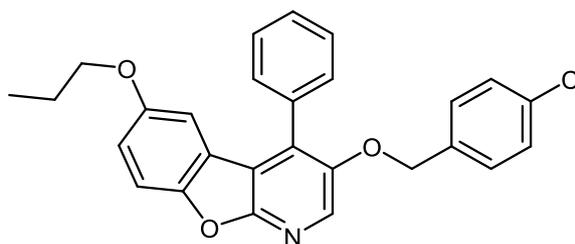
3-(4-Chlorbenzyloxy)-6-propoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 84

Summenformel: C₂₇H₂₂ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 443,93 g/mol

Darstellung:



71,1 mg Verbindung **44** (177 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 27,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (248 μmol, 1,4 eq.) und 34 μL 1-Iodpropan (60,2 mg, 354 μmol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 7 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellgelbes, kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 82,2 %

Schmelzbereich: 123-126 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

99,486 % t_R: 15,399 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μL DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 446,1 (27 % [M+H]⁺); 445,1 (22 % [M+H]⁺); 444,1 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,34 (s, 1H, 2-H); 7,61 (d, 1H, ³J_{8/7} = 8,9 Hz, 8-H); 7,63–7,52 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,37 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,29 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 3'-H, 5'-H); 7,09 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,51 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,18 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 3,70 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,6 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 1,61 („h“, 2H, ³J_{CH₂/(CH₂/CH₃)} = 7,1 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 0,88 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,57 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

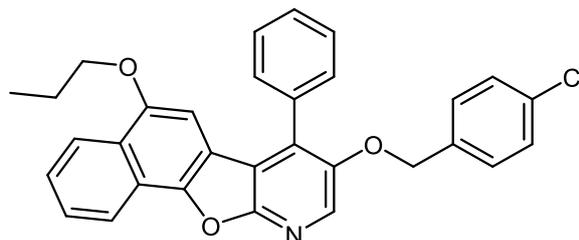
8-(4-Chlorbenzyloxy)-5-propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 85

Summenformel: $C_{34}H_{24}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 493,99 g/mol

Darstellung:



92 mg Verbindung **45** (204 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 10 mL DMF gelöst und mit 32 mg Kalium-*tert*-butanolat (285 μ mol, 1,4 eq.) und 40 μ L 1-Iodpropan (69,3 mg, 408 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 9 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein oranges, kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein gelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 79,8 %

Schmelzbereich: 171-174 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*: 99,262 % t_R : 15,474 min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 496,2 (32 % [M+H]⁺); 495,3 (35 % [M+H]⁺); 494,3 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 494,1518 (100 % [M+H]⁺) berechnet für $[C_{34}H_{25}ClNO_3]^+$: 494,1517

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,38 (s, 1H, 9-H); 8,33 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,3 Hz, 1-H); 8,24 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,75 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,3 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,71-7,54 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,39 (AA'BB', 2H, ³J = 8,5 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,33 (AA'BB', 2H, ³J = 8,5 Hz, 3'-H, 5'-H); 6,43 (s, 1H, 6-H); 5,22 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 3,75 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,77 („h“, 2H, ³J_{CH₂/(CH₂/CH₃)} = 7,0 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,00 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 158,26 (C10a); 151,06 (C5); 148,92 (C8); 146,68 (C11a); 135,62 (C4''); 134,95 (C1''); 133,80 (C1'); 133,12 (C7); 132,81 (C8); 129,88 (C4'); 128,84 (C2', C6'); 128,64 (C3'', C5''); 128,62 (C2'', C6''); 128,31 (C3', C5'); 127,25 (C2); 126,29 (C3); 126,17 (C4a); 123,05 (C4); 121,53 (C11b); 121,09 (C1); 117,25 (C6a); 116,78 (C6b); 97,58 (C6); 72,68 (8-O-CH₂-C₆H₅); 69,63 (5-O-CH₂-CH₂-CH₃); 22,37 (5-O-CH₂-CH₂-CH₃); 10,66 (5-O-CH₂-CH₂-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,56 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

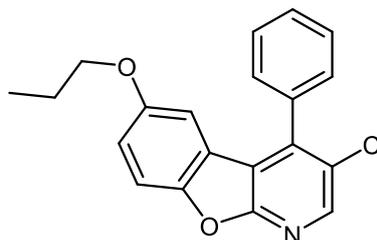
3-Chlor-6-propoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 86

Summenformel: $C_{20}H_{16}ClNO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 337,80 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **48** (338 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 53,1 mg Kalium-*tert*-butanolat (473 μ mol, 1,4 eq.) und 66 μ L 1-Iodpropan (115 mg, 676 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 7 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein oranges, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 87,2 %

Schmelzbereich: 121-123 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*: 94,4 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R : 9,667 min

MS (m/z (%)): (APCI) 340,0 (35 % [M+H]⁺); 339,1 (25 % [M+H]⁺); 338,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 338,0938 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₀H₁₇ClNO₂]⁺: 338,0942

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,60 (s, 1H, 2-H); 7,69 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H) 7,70-7,61 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,57-7,53 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,15 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,32 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 3,68 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 6,6 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 1,60 („h“, 2H, ³J_{CH₂/(CH₂/CH₃)} = 7,1 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃); 0,80 (t, 3H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 6-O-CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 161,97 (C9a); 155,27 (C6, C8a); 149,90 (C4); 145,26 (C2); 143,58 (C1'); 134,21 (C4b); 129,29 (C4'); 128,85 (C2', C6'); 128,78 (C3', C5'); 122,23 (C3); 117,50 (C4a, C7); 112,60 (C8); 106,26 (C5); 70,02 (6-O-CH₂-CH₂-CH₃); 22,32 (6-O-CH₂-CH₂-CH₃); 10,36 (6-O-CH₂-CH₂-CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,63 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

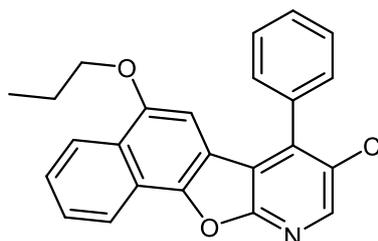
8-Chlor-5-propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 87

Summenformel: $C_{24}H_{18}ClNO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 387,86 g/mol

Darstellung:



100 mg Verbindung **49** (289 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 9 mL DMF gelöst und mit 45,4 mg Kalium-*tert*-butanolat (405 μ mol, 1,4 eq.) und 56 μ L 1-Iodpropan (98,3 mg, 578 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final wurde so ein hellgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 83,4 %

Schmelzbereich: 99-100 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

94,097 % t_R : 15,033 min (Probenansatz 100 μ L Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)):

(ESI) 797,21 (62 % $[2M+Na]^+$); 388,53 (100 % $[M+H]^+$)

HR-MS (m/z (%)):

388,1099 (100 % $[M+H]^+$) berechnet für $[C_{24}H_{19}ClNO_2]^+$: 388,1099

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,60 (s, 1H, 9-H); 8,33 (d, 1H, $^3J_{1/2} = 8,4$ Hz, 1-H); 8,23 (d, 1H, $^3J_{4/3} = 8,1$ Hz, 4-H); 7,76 (ddd, 1H, $^3J_{2/1} = 8,4$ Hz, $^3J_{2/3} = 6,8$ Hz, $^4J_{2/4} = 1,2$ Hz, 2-H); 7,72-7,64 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,63-7,58 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,17 (s, 1H, 6-H); 3,74 (t, 2H, $^3J_{CH_2/CH_2} = 6,4$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,73 („h“, 2H, $^3J_{CH_2/(CH_2/CH_3)} = 7,0$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 0,97 (t, 3H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,4$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f -Werte (DC): 0,63 (LM 3)

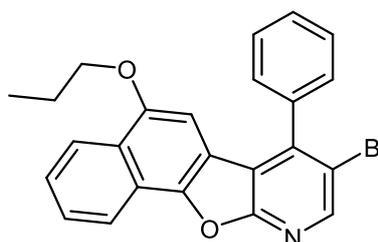
8-Brom-5-propoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 88

Summenformel: $C_{24}H_{18}BrNO_2$

Relative Molmasse [M_r]: 432,32 g/mol

Darstellung:



Synthese der Verbindungen

104,1 mg Verbindung **51** (267 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 41,9 mg Kalium-*tert*-butanolat (373 μmol , 1,4 eq.) und 52 μL 1-Iodpropan (90,7 mg, 534 μmol , 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelb-oranges, amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final wurde so ein gelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 84,7 %

Schmelzbereich: 119-123 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

95,030 % t_R :	15,016 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μL DMSO)
------------------	---

MS (m/z (%)):

(ESI) 892,76 (81 % $[2M+Na]^+$);	434,57 (100 % $[M+H]^+$);	432,46 (85 % $[M+H]^+$)
-----------------------------------	----------------------------	--------------------------

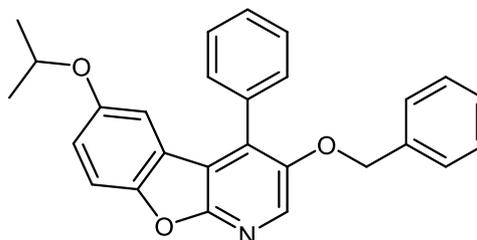
$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,72 (s, 1H, 9-H); 8,36 (d, 1H, $^3J_{1/2} = 8,2$ Hz, 1-H); 8,25 (d, 1H, $^3J_{4/3} = 8,4$ Hz, 4-H); 7,78 („t“, 1H, 2-H); 7,73-7,65 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,60-7,56 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,11 (s, 1H, 6-H); 3,70 (t, 2H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 6,4$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 1,74 („h“, 2H, $^3J_{\text{CH}_2/(\text{CH}_2/\text{CH}_3)} = 7,1$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃); 0,98 (t, 3H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,4$ Hz, 5-O-CH₂CH₂CH₃).

R_f-Werte (DC): 0,65 (LM 3)

6.2.11 Synthese der 6-isopropoxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 5-isopropoxy-substituierten 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-b]pyridin

3-Benzoyloxy-6-isopropoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 89
 Summenformel: $C_{27}H_{23}NO_3$
 Relative Molmasse [M_r]: 409,49 g/mol



Darstellung:

111,8 mg Verbindung **38** (304 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 47,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (426 μ mol, 1,4 eq.) und 122 μ L 2-Iodpropan (206,9 mg, 1,22 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 11 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer wurde ein gelb-oranges, viskoses Öl erhalten. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final wurde so ein blassoranger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 77,3 %

Schmelzbereich: 118-121 °C (aus Diethylether)

Reinheit*: 97,32 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R : 9,650 min (Probenansatz 100 μ L Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 412,3 (5 % [M+H]⁺); 411,3 (25 % [M+H]⁺); 410,3 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 410,1744 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₇H₂₄NO₃]⁺: 410,1751

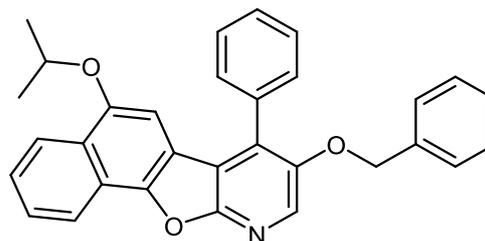
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,35 (s, 1H, 2-H); 7,64-7,52 (m, 6H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,35-7,24 (m, 5H, 3-O-CH₂C₆H₅); 7,08 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,49 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 5,19 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₅); 4,23 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,1 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂); 1,15 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,1 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,61 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

8-Benzyloxy-5-isopropoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 90
 Summenformel: $C_{31}H_{25}NO_3$
 Relative Molmasse [M_r]: 459,54 g/mol
 Darstellung:



152,5 mg Verbindung **39** (365 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 7 mL DMF gelöst und mit 57,3 mg Kalium-*tert*-butanolat (510 μ mol, 1,4 eq.) und 146 μ L 2-Iodpropan (247,9 mg, 1,46 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 10 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein braunes kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein ockerfarbener, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 75,4 %

Schmelzbereich: 173-175 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**:

95,718 % t_R : 14,897 min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 462,1 (10 % [M+H]⁺); 461,1 (30 % [M+H]⁺); 460,1 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 460,1902 (100 % [M+H]⁺) berechnet für $[C_{31}H_{26}NO_3]^+$: 460,1907

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,39 (s, 1H, 9-H); 8,33 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,21 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,74 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,68-7,56 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,35-7,27 (m, 5H, 8-O-CH₂C₆H₅); 6,42 (s, 1H, 6-H); 5,23 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₅); 4,23 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂); 1,15 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂).

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 158,54 (C10a); 149,73 (C5); 148,89 (C8); 146,58 (C11a); 138,60 (C1'); 135,41 (C1''); 134,49 (C2''); 134,44 (C7); 133,09 (C9); 129,77 (C2', C6'); 129,69 (C4''); 128,84 (C4'); 128,39 (C3', C5'); 128,07 (C3''); 127,35 (C6'); 127,15 (C2); 126,85 (C5'); 126,18 (C3); 125,16 (C4a); 123,32 (C4); 121,08 (C1); 117,15 (C6a); 116,89 (C6b); 99,47 (C6); 72,56 (8-O-CH₂-C₆H₅); 70,78 (5-O-CH(CH₃)₂); 21,85 (5-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,59 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

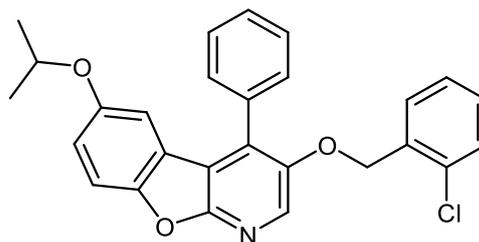
3-(2-Chlorbenzyloxy)-6-isopropoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 91

Summenformel: $C_{27}H_{22}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 443,93 g/mol

Darstellung:



59,1 mg Verbindung **40** (147 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 23,1 mg Kalium-*tert*-butanolat (206 μ mol, 1,4 eq.) und 59 μ L 2-Iodpropan (100 mg, 588 μ mol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 10 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, viskoses Öl. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und als ein gelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 79,7 %

Schmelzbereich: 96-100 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

95,870 % t_R : 14,084 min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ L DMSO)

MS (m/z (%)):

(APCI) 447,1 (8 % [$M+H$]⁺); 446,1 (35 % [$M+H$]⁺); 445,1 (30 % [$M+H$]⁺); 444,1 (100 % [$M+H$]⁺)

HR-MS (m/z (%)):

444,1363 (100 % [$M+H$]⁺) berechnet für $[C_{27}H_{23}ClNO_3]^+$: 444,1361

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,38 (s, 1H, 2-H); 7,61 (d, 1H, ³*J*_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H) 7,59-7,53 (m, 5H, 4-C₆H₅); 7,45 (dd, 1H, ³*J*_{3/4'} = 7,8 Hz, ⁴*J*_{3/5'} = 1,4 Hz, 3'-H); 7,41-7,23 (m, 3H, 4'-H, 5'-H, 6'-H); 7,08 (dd, 1H, ³*J*_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴*J*_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,49 (d, 1H, ⁴*J*_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,23 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 4,23 (h, 1H, ³*J*_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,0 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂); 1,15 (d, 6H, ³*J*_{CH₃/CH} = 6,1 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,59 (LM 3)

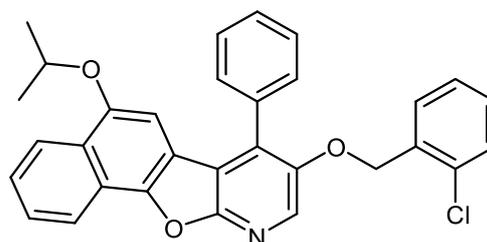
8-(2-Chlorbenzyloxy)-5-isopropoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 92

Summenformel: $C_{34}H_{24}ClNO_3$

Relative Molmasse [M_r]: 493,99 g/mol

Darstellung:



Synthese der Verbindungen

100 mg Verbindung **41** (221 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 9 mL DMF gelöst und mit 34,8 mg Kalium-*tert*-butanolat (310 μmol , 1,4 eq.) und 88 μL 2-Iodpropan (150,3 mg, 884 μmol , 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 11 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein braunes, viskoses Öl. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und zweimal mit Methanol gewaschen. Final wurde es als ein hellbrauner, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 74,8 %

Schmelzbereich: 63-67 °C (aus Diethylether)

Reinheit**:

89,068 % t_R :	15,319 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)
------------------	---

MS (m/z (%)):

(APCI) 496,5 (35 % [M+H] ⁺); 495,5 (40 % [M+H] ⁺); 494,5 (100 % [M+H] ⁺)
--

HR-MS (m/z (%)):

494,1521 (100 % [M+H] ⁺) berechnet für [C ₃₄ H ₂₅ ClNO ₃] ⁺ : 494,1517

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,43 (d, 1H, ³J_{1/2} = 7,9 Hz, 1-H); 8,34 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,2 Hz, 4-H); 8,25 (s, 1H, 9-H); 7,72-7,64 (m, 2 H, 2-H, 3-H); 7,64-7,55 (m, 3H, 3'-H,4'-H, 5'-H); 7,52-7,40 (m, 2H, 2'-H,6'-H); 7,36 (dd, 1H, ³J_{3'/4'} = 7,7 Hz, ⁴J_{3'/5'} = 1,5 Hz, 3''-H); 7,28 (dd, 1H, ³J_{6'/5'} = 7,3 Hz, ⁴J_{6'/4'} = 2,0 Hz, 6''-H); 7,24-7,18 (m, 2H, 4''-H, 5''-H); 6,51 (s, 1H, 6-H); 5,20 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 4,23 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂); 1,15 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂).

R_F-Werte (DC): 0,62 (LM 3)

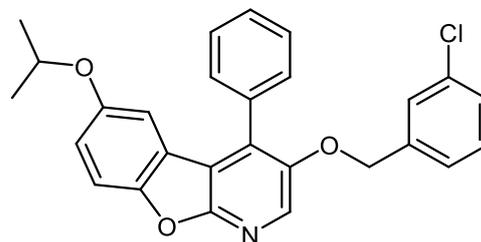
3-(3-Chlorbenzyloxy)-6-isopropoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 93

Summenformel: C₂₇H₂₂ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 443,93 g/mol

Darstellung:



116 mg Verbindung **42** (289 μmol , 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 45,5 mg Kalium-*tert*-butanolat (405 μmol , 1,4 eq.) und 116 μL 2-Iodpropan (196,5 mg, 1,16 μmol , 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 12 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein gelbes, amorphes Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und mit Methanol gewaschen. Final wurde es als ein hellgelber, kristalliner Feststoff gewonnen.

Synthese der Verbindungen

Ausbeute: 77,9 %

Schmelzbereich: 87-91 °C (aus Diethylether)

Reinheit** : 99,558 % t_R : 14,054 min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ l DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 909,08 (100 % [2M+Na]⁺); 444,70 (56 % [M+H]⁺); (APCI) 447,1 (5 % [M+H]⁺); 446,1 (35 % [M+H]⁺); 445,1 (30 % [M+H]⁺); 444,1 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 444,1363 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₇H₂₃ClNO₃]⁺: 444,1361

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,36 (s, 1H, 2-H); 7,66-7,55 (m, 6H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,43-7,33 (m, 2H, 4'-H, 5'-H); 7,30 (d, 1H, ⁴J_{2'/6'} = 1,9 Hz, 2'-H); 7,28-7,20 (m, 1H, 6'-H); 7,09 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,51 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,21 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 4,24 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,1 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂); 1,16 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,1 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,59 (LM 3)

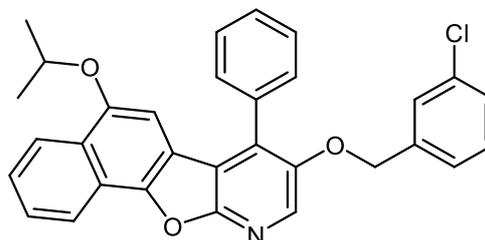
8-(3-Chlorbenzyloxy)-5-isopropoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 94

Summenformel: C₃₄H₂₄ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 493,99 g/mol

Darstellung:



103,4 mg Verbindung **43** (229 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 9 mL DMF gelöst und mit 35,9 mg Kalium-*tert*-butanolat (320 μ mol, 1,4 eq.) und 44 μ l 2-Iodpropan (155,6 mg, 915 μ mol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 12 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein braunes, kristallines Präzipitat. Dieses wurde mit Methanol gewaschen und als ein hellbrauner, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 74,2 %

Schmelzbereich: 194-197 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit** : 95,432 % t_R : 15,300min (Probenansatz 100 μ l Wasser, 60 μ l DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 1010,32 (100 % [2M+Na]⁺); 494,36 (40 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 494,1518 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₃₄H₂₅ClNO₃]⁺: 494,1517

Synthese der Verbindungen

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm] 8,44 (s, 1H, 9-H); 8,35 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,26 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,77 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,67-7,58 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,54 (dd, 1H, ³J_{4'/5'} = 7,8 Hz, ⁴J_{4'/2'} = 1,5 Hz, 4'-H); 7,47 (dd, 1H, ³J_{6'/5'} = 7,7 Hz, ⁴J_{6'/2'} = 1,5 Hz, 6'-H); 7,41-7,33 (m, 2H, 2'-H, 5'-H); 6,44 (s, 1H, 6-H); 5,29 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₄Cl); 4,23 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂); 1,28 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,61 (LM 3)

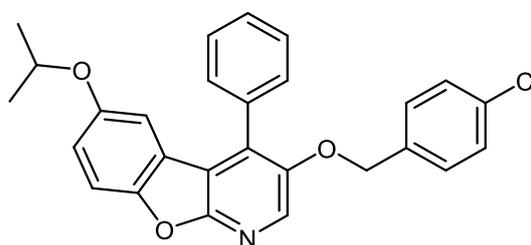
3-(4-Chlorbenzyloxy)-6-isopropoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 95

Summenformel: C₂₇H₂₂ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 443,93 g/mol

Darstellung:



107,3 mg Verbindung **44** (267 μmol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 6 mL DMF gelöst und mit 42 mg Kalium-*tert*-butanolat (374 μmol, 1,4 eq.) und 107 μL 2-Iodpropan (181,7 mg, 1,07 mmol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 10 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein hellgelbes, kristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss mit Methanol gewaschen und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 78,6 %

Schmelzbereich: 125-127 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit**): 99,123 % t_R: 14,091 min (Probenansatz 100 μL Wasser, 60 μL DMSO)

MS (m/z (%)): (ESI) 909,13 (100 % [2M+Na]⁺); 444,61 (50 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 444,1354 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₇H₂₃ClNO₃]⁺: 444,1361

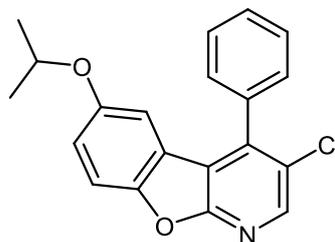
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,34 (s, 1H, 2-H); 7,63-7,53 (m, 6H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,37 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 2'-H, 6'-H); 7,30 (AA'BB', 2H, ³J = 8,4 Hz, 3'-H, 5'-H); 7,08 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,49 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,18 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl); 4,23 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,0 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂); 1,15 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,0 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,54 (LM 3)

Synthese der Verbindungen

3-Chlor-6-isopropoxy-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 96
Summenformel: $C_{20}H_{16}ClNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 337,80 g/mol
Darstellung:

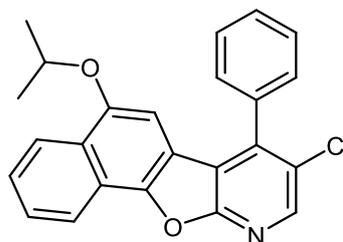


72,4 mg Verbindung **48** (245 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 5 mL DMF gelöst und mit 38,3 mg Kalium-*tert*-butanolat (343 μ mol, 1,4 eq.) und 98 μ L 2-Iodpropan (166,6 mg, 980 μ mol, 4 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 11 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer entstand ein oranges, teilkristallines Präzipitat. Dieses wurde im Anschluss aus Diethylether umkristallisiert und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 82,2 %
Schmelzbereich: 121-123 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)
MS (m/z (%)): (APCI) 340,3 (30 % [M+H]⁺); 339,3 (20 % [M+H]⁺); 338,3 (30 % [M+H]⁺)
HR-MS (m/z (%)): 338,0937 (100 % [M+H]⁺) berechnet für $[C_{20}H_{17}ClNO_2]^+$: 338,0942
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,60 (s, 1H, 2-H); 7,69 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H) 7,70-7,61 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,57-7,53 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,15 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,32 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 4,23 (h, 1H, ³J_{CH/(CH3)/CH3} = 6,0 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂); 1,15 (d, 6H, ³J_{CH3/CH} = 6,0 Hz, 6-O-CH(CH₃)₂).
R_f-Werte (DC): 0,63 (LM 3)

8-Chlor-5-isopropoxy-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 97
Summenformel: $C_{24}H_{18}ClNO_2$
Relative Molmasse [M_r]: 387,86 g/mol
Darstellung:



120,2 mg Verbindung **49** (289 μ mol, 1 eq.) wurden nach AAV 5 (siehe 6.1) in 9 mL DMF gelöst und mit 45,4 mg Kalium-*tert*-butanolat (405 μ mol, 1,4 eq.) und 56 μ L 1-Iodpropan (98,3 mg, 578 μ mol, 2 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 8 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM6 auf. Bereits beim Entfernen des Laufmittels am

Synthese der Verbindungen

Vakuumrotationsverdampfer entstand ein braunes, kristallines Präzipitat. Dieses wurde zweimal mit Methanol gewaschen. Final wurde so ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 76,7 %

Schmelzbereich: 167-169 °C (aus Cyclohexan/Ethylacetat)

Reinheit*: 99,71 % (MeOH/H₂O 80:20) t_R: 30,508 min (Probenansatz 100 µl Wasser, 60 µL DMSO)

MS (m/z (%)): (APCI) 391,0 (7 % [M+H]⁺); 390,0 (40 % [M+H]⁺); 389,0 (30 % [M+H]⁺); 388,0 (100 % [M+H]⁺)

HR-MS (m/z (%)): 388,1100 (100 % [M+H]⁺) berechnet für [C₂₄H₁₉ClNO₂]⁺: 388,1099

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,61 (s, 1H, 9-H); 8,34 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,2 Hz, 1-H); 8,23 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,76 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,72-7,64 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,62-7,55 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,09 (s, 1H, 6-H); 4,15 (h, 1H, ³J_{CH/(CH₃/CH₃)} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂); 1,25 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,0 Hz, 5-O-CH(CH₃)₂).

R_f-Werte (DC): 0,64 (LM 3)

6.2.12 Synthese der (2-hydroxyethoxy)-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren- bzw. 10-Aza-11-oxabenzofuro[2,3-b]pyridin

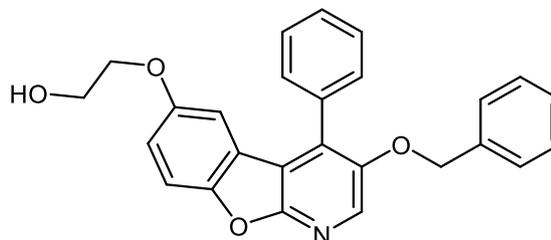
3-Benzoyloxy-6-(2-hydroxyethoxy)-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 98

Summenformel: $C_{26}H_{21}NO_4$

Relative Molmasse [M_r]: 411,46 g/mol

Darstellung:



101,6 mg Verbindung **38** (277 μ mol, 1 eq.) wurden in 3 mL DMF gelöst und nach AAV 6 (siehe 6.1) mit 29,2 mg Ethylencarbonat (332 μ mol, 1,2 eq.) und 38,2 mg Kaliumcarbonat (277 μ mol, 1 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 3 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulen-chromatographisch mit LM1 auf. Beim Einengen der ausgewählten Produktfraktionen am Vakuumrotationsverdampfer wurde ein gelbes viskoses Öl erhalten. Dieses wurde im Anschluss aus Methanol umkristallisiert und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 89,3 %

Schmelzbereich: 195-200 °C (aus Methanol)

Reinheit**:

96,796 % t_R : 11,982 min

MS (m/z (%)): (APCI) 413,1 (25 % $[M+H]^+$); 412,1 (100 % $[M+H]^+$)

1H -NMR: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,37 (s, 1H, 2-H); 7,63 (d, 1H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,64-7,55 (m, 5H, 4-C $_6$ H $_5$); 7,35-7,24 (m, 5H, 3-O-CH $_2$ C $_6$ H $_5$); 7,14 (dd, 1H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,56 (d, 1H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 5,20 (s, 2H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 4,80 (s br, 1H, 6-O-CH $_2$ CH $_2$ OH) 3,78 (t, 2H, $^3J_{CH_2/CH_2} = 5,0$ Hz, 6-O-CH $_2$ CH $_2$ OH); 3,63 (t, 3H, $^3J_{CH_2/CH_2} = 5,0$ Hz, 6-O-CH $_2$ CH $_2$ OH).

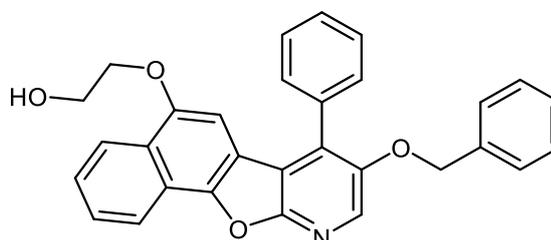
R_f -Werte (DC): 0,22 (LM 3)

8-Benzoyloxy-5-(2-hydroxyethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 99

Summenformel: $C_{30}H_{23}NO_4$

Relative Molmasse [M_r]: 461,52 g/mol



Synthese der Verbindungen

Darstellung:

61,8 mg Verbindung **39** (148 μmol , 1 eq.) wurden in 3 mL DMF gelöst und nach AAV 6 (siehe 6.1) mit 15,6 mg Ethylencarbonat (178 μmol , 1,2 eq.) und 20,5 mg Kaliumcarbonat (148 μmol , 1 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 3 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulen-chromatographisch mit LM2 auf. Beim Einengen der ausgewählten Produktfraktionen am Vakuumrotationsverdampfer wurde ein hellgelbes viskoses Öl erhalten. Dieses wurde im Anschluss aus Methanol umkristallisiert und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 83,1 %

Schmelzbereich: 183-185 °C (aus Methanol)

Reinheit**:

98,835 %	t_R : 13,486 min (Probenansatz 100 μl Wasser, 60 μL DMSO)
----------	---

MS (m/z (%)):

(ESI) 946,92 (100 % [2M+Na] ⁺); 462,18 (100 % [M+H] ⁺)
--

HR-MS (m/z (%)):

362,1704 (100 % [M+H] ⁺) berechnet für [C ₂₄ H ₁₉ ClNO ₂] ⁺ : 462,1700

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,39 (s, 1H, 9-H); 8,36-8,32 (m, 2H, 1-H, 4-H); 7,76 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,1 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,3 Hz, 2-H); 7,68-7,58 (m, 6H, 3-H, 7-C₆H₅); 7,40-7,22 (m, 5H, 8-O-CH₂C₆H₅); 6,45 (s, 1H, 6-H); 5,23 (s, 2H, 8-OCH₂C₆H₅); 4,93 (t, 1H, ³J_{OH/CH₂} = 5,4 Hz, 5-O-CH₂CH₂OH); 3,78 (m, 4H, 5-O-CH₂CH₂OH).

R_f-Werte (DC): 0,28 (LM 3)

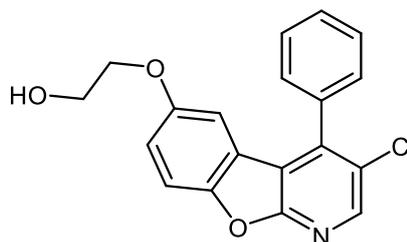
3-Chlor-6-(2-hydroxyethoxy)-4-Phenylbenzofuro[2,3-b]pyridin

Verbindung: 100

Summenformel: C₁₉H₁₄ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 339,78 g/mol

Darstellung:



78 mg Verbindung **48** (264 μmol , 1 eq.) wurden in 4 mL DMF gelöst und nach AAV 6 (siehe 6.1) mit 29,2 mg Ethylencarbonat (332 μmol , 1,2 eq.) und 38,2 mg Kaliumcarbonat (277 μmol , 1 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 3 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulen-chromatographisch mit LM1 auf. Beim Einengen der ausgewählten Produktfraktionen am Vakuumrotationsverdampfer wurde ein blassgelbes Öl erhalten. Dieses wurde im Anschluss aus Ethylacetat umkristallisiert und als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 86,5 %

Synthese der Verbindungen

Schmelzbereich: 127-129 °C (aus Ethylacetat)

Reinheit*: 98,146 % t_R : 11,379 min

MS (m/z (%)): (APCI) 342,0 (38 % [M+H]⁺); 341,0 (25 % [M+H]⁺); 340,0 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,60 (s, 1H, 2-H); 7,70 (d, 1H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H) 7,69-7,60 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,58-7,53 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,18 (dd, 1H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,35 (d, 1H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 4,80 (t, 1H, ³J_{OH/CH2} = 5,4 Hz, 6-O-CH₂CH₂OH) 3,75 (t, 2H, ³J_{CH2/CH2} = 4,7 Hz, 6-O-CH₂CH₂OH); 3,63 (dt, 3H, ³J_{CH2/OH} = 5,4 Hz, ³J_{CH2/CH2} = 4,7 Hz, 6-O-CH₂CH₂OH).

R_f-Werte (DC): 0,22 (LM 3)

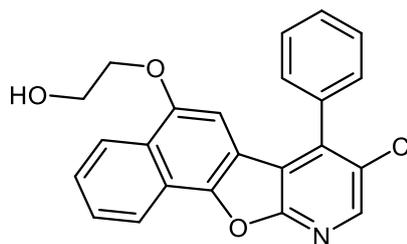
8-Chlor-5-(2-hydroxyethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 101

Summenformel: C₂₃H₁₆ClNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 389,84 g/mol

Darstellung:



75,1 mg Verbindung **49** (217 μmol, 1 eq.) wurden in 4 mL DMF gelöst und nach AAV 6 (siehe 6.1) mit 23 mg Ethylencarbonat (261 μmol, 1,2 eq.) und 30 mg Kaliumcarbonat (217 μmol, 1 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 2,5 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulenchromatographisch mit LM1 auf. Beim Einengen der ausgewählten Produktfraktionen am Vakuumrotationsverdampfer wurde ein sandfarbenes amorphes Präzipitat erhalten. Dieses wurde im Anschluss aus Methanol umkristallisiert und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 84,6 %

Schmelzbereich: 177-178 °C (aus Methanol)

Reinheit**: 97,199 % t_R : 13,137 min

MS (m/z (%)): (ESI) 413,35(73 % [M+Na]⁺); 390,53 (100 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,61 (s, 1H, 9-H); 8,35 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,4 Hz, 1-H); 8,34 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,5 Hz, 4-H); 7,78 (ddd, 1H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H);

Synthese der Verbindungen

7,72-7,65 (m, 4H,3-**H**, 3'-**H**, 4'-**H**, 5'-**H**); 7,63-7,60 (m, 2H, 2'-**H**, 6'-**H**); 6,20 (s, 1H, 6-**H**); 4,94 (s br, 1H, 5-O-CH₂CH₂OH); 3,76-3,71 (m, 4H, 5-O-CH₂CH₂OH).

R_f-Werte (DC): 0,26 (LM 3)

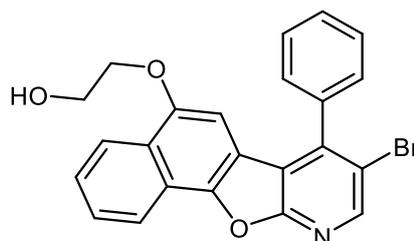
8-Brom-5-(2-hydroxyethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 102

Summenformel: C₂₃H₁₆BrNO₃

Relative Molmasse [M_r]: 389,84 g/mol

Darstellung:



96 mg Verbindung **51** (246 μmol, 1 eq.) wurden in 5 mL DMF gelöst und nach AAV 6 (siehe 6.1) mit 26 mg Ethylencarbonat (295 μmol, 1,2 eq.) und 34 mg Kaliumcarbonat (246 μmol, 1 eq.) umgesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 3 Stunden. Das isolierte Rohprodukt reinigte man säulen-chromatographisch mit LM2 auf. Beim Einengen der ausgewählten Produktfraktionen am Vakuumrotationsverdampfer wurde ein sandfarbenes amorphes Präzipitat erhalten. Dieses wurde im Anschluss aus Ethylacetat umkristallisiert und als ein beiger, kristalliner Feststoff gewonnen.

Ausbeute: 83,4 %

Schmelzbereich: 119-120 °C (aus Ethylacetat)

Reinheit**): 98,189 % t_R: 12,199 min

MS (m/z (%)): (ESI) 413,35(73 % [M+Na]⁺); 390,53 (100 % [M+H]⁺)

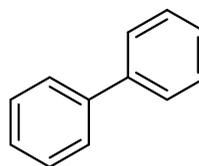
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,72 (s, 1H, 9-**H**); 8,37 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,3 Hz, 1-**H**); 8,34 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,5 Hz, 4-**H**); 7,78 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,2 Hz, ³J_{2/3} = 6,9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-**H**); 7,74-7,64 (m, 4H,3-**H**, 3'-**H**, 4'-**H**, 5'-**H**); 7,61-7,57 (m, 2H, 2'-**H**, 6'-**H**); 6,13 (s, 1H, 6-**H**); 4,93 (s br, 1H, 5-O-CH₂CH₂OH); 3,77-3,70 (m, 4H, 5-O-CH₂CH₂OH).

R_f-Werte (DC): 0,35 (LM 3)

6.2.13 Nebenprodukte

Biphenyl

Verbindung:	103
Summenformel:	C ₁₂ H ₁₀
Relative Molmasse [M _r]:	154,21 g/mol



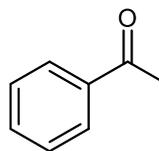
Darstellung:

Diese Verbindung entstand als Nebenprodukt bei allen Synthesen von 3,4-disubstituierten 1,4-Dihydropyridinen durch Reaktion von 2 Phenylmagnesiumchlorid-Molekülen miteinander. Dieses wird ebenfalls über das komplexierte Kupfer katalysiert. Die Ausbeute variierte stark abhängig von der Zahl der Äquivalente des eingesetzten Phenylmagnesiumchlorids und des Substituenten an Position 3 des umzusetzenden Pyridins. Am geringsten war die Ausbeute bei 3-Halogen-substituierten Pyridinen als Edukten und am höchsten bei sterisch anspruchsvollen 3-Benzyloxy-substituierten Pyridinen. Zur Analyse wurde das Nebenprodukt bei der Säulenchromatographie abgetrennt und nach dem Entfernen des Laufmittels aus Diethylether umkristallisiert. Es wurde in Form eines hellgelben kristallinen Feststoffes gewonnen

Ausbeute:	7-40 %
Schmelzpunkt:	89 °C (aus Diethylether)
MS (m/z (%)):	(APCI) 167,0 (100 % [M+Na] ⁺); 154,0 (50 % [M+H] ⁺)
¹ H-NMR:	500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ [δ in ppm]: 7,66-7,63 (m, 4H, 2-H, 6-H, 2'-H, 6'-H); 7,47-7,43 (m, 4H, 3-H, 5-H, 3'-H, 5'-H); 7,35 (tt, 2H, ³ J _{4/(3/5)} = ³ J _{4'/(3'/5')} = 7,3 Hz, ⁴ J _{4/(2/6)} = ⁴ J _{4'/(2'/6')} = 1,2 Hz, 4-H, 4'-H).
R _f -Werte (DC):	0,66 (LM 3)

Acetophenon

Verbindung:	104
Summenformel:	C ₈ H ₈ O
Relative Molmasse [M _r]:	120,15 g/mol



Darstellung:

Synthese der Verbindungen

Diese Verbindung entstand als Nebenprodukt bei allen Synthesen von 3,4-disubstituierten 1,4-Dihydropyridinen durch Reaktion von Phenylmagnesiumchlorid mit Acetylchlorid. Die Ausbeute variierte stark abhängig von der Zahl der Äquivalente des eingesetzten Phenylmagnesiumchlorids und des eingesetzten Acetylchlorids und des Substituenten an Position 3 des umzusetzenden Pyridins. Am geringsten war die Ausbeute bei 3-Halogen-substituierten Pyridinen als Edukten und am höchsten bei sterisch anspruchsvollen 3-Benzyloxy-substituierten Pyridinen. Zur Analyse wurde das Nebenprodukt bei der Säulenchromatographie abgetrennt und nach dem Entfernen des Laufmittels als leicht gelbliches Öl gewonnen.

Ausbeute: 2-11 %

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 8,00-7,93 (m, 2H, 2-H, 6-H); 7,57-7,43 (tt, 1H, $^3J_{4/(3/5)} = 7,2$ Hz, $^4J_{4/(2/6)} = 1,2$ Hz, 4-H); 7,51-7,42 (m, 2H, 3-H, 5-H); 2,61 (s, 3H, 1-CO-CH₃).

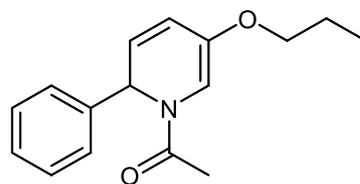
R_f -Werte (DC): 0,52 (LM 3)

(EZ,RS)-1-Acetyl-3-propoxy-6-phenyl-1,6-dihydropyridin

Verbindung: 105

Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_2$

Relative Molmasse [M_r]: 257,33 g/mol



Darstellung:

Diese Verbindung fiel als Nebenprodukt bei der Synthese von Verbindung **15** an. Es wurde bei der Säulenchromatographie isoliert und nach dem Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer als gelbes Öl gewonnen.

Ausbeute: 3,3 %

MS (m/z (%)): (APCI) 260,1 (3 % [$M+H$]⁺); 259,1 (20 % [$M+H$]⁺); 258,1 (100 % [$M+H$]⁺)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 7,61-7,56 (m, 2H, 2'-H, 6'-H [Z]); 7,42-7,36 (m, 2H, 2'-H, 6'-H [E]); 7,35-7,20 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z]); 7,04 (d, 1H, $^3J_{6/5} = 7,4$ Hz, 6-H [Z]); 6,24 (dd, 1H, $^3J_{6/5} = 7,4$ Hz, $^4J_{6/4} = 0,9$ Hz, 6-H [E]); 6,15 (s, 1H, 2-H [E]); 5,89 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,43 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 7,3$ Hz, $^3J_{5/4} = 6,4$ Hz, 5-H [Z]); 5,40 (dd, 1H, $^3J_{5/6} = 7,3$ Hz, $^3J_{5/4} = 6,4$ Hz, 5-H [E]); 5,16 (dd, 1H, $^3J_{4/5} = 6,4$ Hz, 4-H [E]); 5,00 (dd, 1H, $^3J_{4/5} = 6,4$ Hz, 4-H [Z]); 3,78-3,61 (m, 2H, 3-O-CH₂CH₂CH₃ [E]); 3,67-3,60 (m, 2H, 3-O-CH₂CH₂CH₃ [Z]); 2,17 (s, 3H, N-COCH₃ [E]); 2,10 (s, 3H, N-COCH₃ [Z]); 1,72-1,61 (m, 4H, 3-O-CH₂CH₂CH₃ [E/Z]); 1,11-0,84 (d, 6H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}} = 6,1$ Hz, 3-O-CH₂CH₂CH₃ [E/Z]).

R_f -Werte (DC): 0,45 (LM 3)

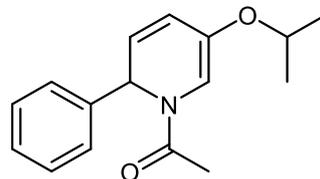
Synthese der Verbindungen

(EZ,RS)-1-Acetyl-3-isopropoxy-6-phenyl-1,6-dihydropyridin

Verbindung: 106

Summenformel: C₁₅H₁₇NO₂

Relative Molmasse [M_r]: 257,33 g/mol



Darstellung:

Diese Verbindung fiel als Nebenprodukt bei der Synthese von Verbindung **16** an. Es wurde bei der Säulenchromatographie isoliert und nach dem Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer als gelbes Öl gewonnen.

Ausbeute: 5,9 %

MS (m/z (%)): (APCI) 260,4 (3 % [M+H]⁺); 259,4 (20 % [M+H]⁺); 258,3 (100 % [M+H]⁺); 215,3 (10 % [M+H - COCH₃]⁺); 214,3 (65 % [M+H - COCH₃]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 7,60-7,54 (m, 2H, 2'-H, 6'-H [Z]); 7,43-7,36 (m, 2H, 2'-H, 6'-H [E]); 7,31-7,20 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H [E/Z]); 7,00 (d, 1H, ³J_{6/5} = 7,3 Hz, 6-H [Z]); 6,20 (dd, 1H, ³J_{6/5} = 7,3 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,0 Hz, 6-H [E]); 6,10 (s, 1H, 2-H [E]); 5,43 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 7,3 Hz, ³J_{5/4} = 6,3 Hz, 5-H [Z]); 5,39 (dd, 1H, ³J_{5/6} = 7,3 Hz, ³J_{5/4} = 6,3 Hz, 5-H [E]); 5,32 (s, 1H, 2-H [Z]); 5,16 (dd, 1H, ³J_{4/5} = 6,3 Hz, 4-H [E]); 4,97 (dd, 1H, ³J_{4/5} = 6,3 Hz, 4-H [Z]); 4,39-4,25 (m, 1H, 3-O-CH(CH₃)₂ [E]); 4,08-4,00 (m, 1H, 3-O-CH(CH₃)₂ [Z]); 2,17 (s, 3H, N-COCH₃ [E]); 2,10 (s, 3H, N-COCH₃ [Z]); 1,26 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,1 Hz, 3-O-CH(CH₃)₂ [E]); 1,16 (d, 6H, ³J_{CH₃/CH} = 6,1 Hz, 3-O-CH(CH₃)₂ [Z]).

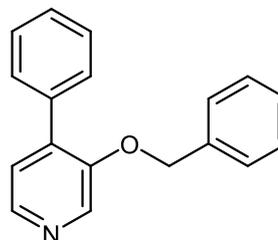
R_f-Werte (DC): 0,48 (LM 3)

3-Benzylloxy-4-phenylpyridin

Verbindung: 107

Summenformel: C₁₈H₁₅NO

Relative Molmasse [M_r]: 261,32 g/mol



Darstellung:

Diese Verbindung wurde als Nebenprodukt bei der Synthese der Verbindungen **16**, **38** und **39** gebildet. Es wurde bei der Säulenchromatographie isoliert und nach dem Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer als gelb-oranges Öl gewonnen. Dieses wurde aus Methanol umkristallisiert. Final wurde so ein gelber, kristalliner Feststoff erhalten.

Synthese der Verbindungen

Ausbeute: 29,8 % (bei Verbindung **16** bei -40 °C); 37,8 % (bei Verbindung **16** bei -20 °C); 51,4 % (bei Verbindung **38**); 47,6 % (bei Verbindung **39**)

Schmelzbereich: 71-73°C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (ESI) 262,60 (100 % [M+H]⁺); 263,81 (24 % [M+H]⁺); 264,63 (11 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,51 (s, 1H, 2-H); 8,27 (d, 1H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, 6-H); 7,63-7,59 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,40-7,26 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,40-7,26 (m, 7H, 5-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H); 5,12 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₅).

R_f-Werte (DC): 0,19 (LM 3)

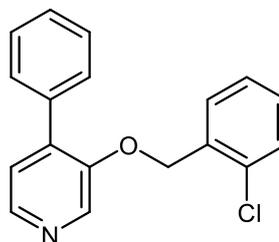
3-(2-Chlorbenzyloxy)-4-phenylpyridin

Verbindung: 108

Summenformel: C₁₈H₁₄ClNO

Relative Molmasse [M_r]: 295,77 g/mol

Darstellung:



Diese Verbindung wurde als Nebenprodukt bei der Synthese der Verbindungen **20**, **40** und **41** gebildet. Es wurde bei der Säulenchromatographie isoliert und nach dem Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer als gelbes Öl gewonnen. Dieses wurde aus Methanol umkristallisiert. Final wurde so ein gelber, kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 27,4 % (bei Verbindung **20** bei -40 °C); 35,7 % (bei Verbindung **20** bei -20 °C); 53,5 % (bei Verbindung **40**); 49,1 % (bei Verbindung **41**)

Schmelzbereich: 77-81°C (aus Methanol)

MS (m/z (%)): (APCI) 298,2 (25 % [M+H]⁺); 297,3 (20 % [M+H]⁺); 296,2 (100 % [M+H]⁺); 222,1 (15 % [M+H - Ph]⁺); 221,1 (10 % [M+H - Ph]⁺); 220,1 (55 % [M+H - Ph]⁺)

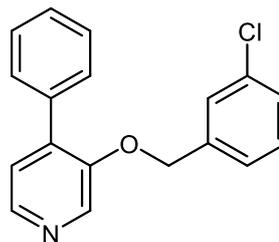
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,55 (s, 1H, 2-H); 8,30 (d, 1H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, 6-H); 7,64-7,58 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,48 (dd, 2H, ³J_{3''/4''} = ³J_{6''/5''} = 9,1 Hz, ⁴J_{3''/5''} = ⁴J_{6''/4''} = 1,7 Hz, 3''-H, 6''-H); 7,46-7,29 (m, 6H, 5-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 4''-H, 5''-H); 5,29 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

R_f-Werte (DC): 0,32 (LM 3)

3-(3-Chlorbenzyloxy)-4-phenylpyridin

Synthese der Verbindungen

Verbindung: 109
Summenformel: C₁₈H₁₄ClNO
Relative Molmasse [M_r]: 295,77 g/mol



Darstellung:

Diese Verbindung wurde als Nebenprodukt bei der Synthese der Verbindungen **21**, **42** und **43** gebildet. Es wurde bei der Säulenchromatographie isoliert und nach dem Entfernen des Laufmittels am Vakuumrotationsverdampfer als gelbes Öl gewonnen. Dieses wurde aus Methanol umkristallisiert. Final wurde so ein gelber, kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 29,0 % (bei Verbindung 20 bei -40 °C); 34,7 % (bei Verbindung 20 bei -20 °C);
50,4 % (bei Verbindung 40); 48,2 % (bei Verbindung 41)

Schmelzbereich: 72-74°C (aus Methanol)

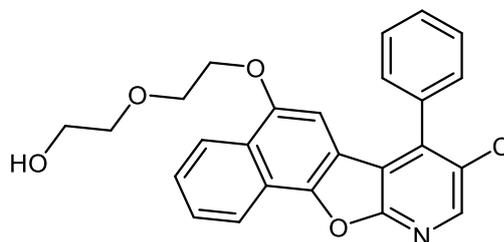
MS (m/z (%)): (APCI) 298,2 (30 % [M+H]⁺); 297,3 (20 % [M+H]⁺); 296,2 (100 % [M+H]⁺);
222,1 (20 % [M+H - Ph]⁺); 221,1 (10 % [M+H - Ph]⁺); 220,1 (60 % [M+H - Ph]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,51 (s, 1H, 2-H); 8,28 (d, 1H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, 6-H); 7,64-7,58 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,50-7,39 (m, 4H, 5-H,3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,39-7,34 (m, 2H, 4''-H, 5''-H); 7,36 (s, 1H, 2''-H); 7,32 (dt, 2H, ³J_{6''/5''} = 7,0 Hz, ⁴J_{6''/2''} = ⁴J_{6''/4''} = 1,8 Hz, 6''-H); 5,27 (s, 2H, 3-OCH₂C₆H₄Cl).

R_f-Werte (DC): 0,20 (LM 3)

8-Chlor-5-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 110
Summenformel: C₂₅H₂₀ClNO₄
Relative Molmasse [M_r]: 433,89 g/mol



Darstellung:

Diese Verbindung wurde als Nebenprodukt bei der Darstellung von Verbindung **101** gebildet. Die Ausbeute war abhängig von der eingesetzten Menge an Ethylencarbonat. Die Verbindung konnte bei der Säulenchromatographie isoliert werden. Eine Umkristallisierung war nicht erfolgreich und so resultierte die Verbindung als gelbbrauner, amorpher Feststoff

Ausbeute: 61,3 % (bei Verwendung von 2 eq. Ethylencarbonat)
6,0 % (bei Verwendung von 1,2 eq. Ethylencarbonat)

Synthese der Verbindungen

MS (m/z (%)): (ESI) 456,44 (100 % [M+Na]⁺); 434,62 (75 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8.63 (s, 1H, 9-H); 8.38 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8.1 Hz, 1-H); 8.27 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8.4 Hz, 4-H); 7.78 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8.1 Hz, ³J_{2/3} = 6.9 Hz, ⁴J_{2/4} = 1.3 Hz, 2-H); 7.74-7.65 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7.65-7.61 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6.24 (s, 1H, 6-H); 4.38 (s br, 1H, 5- O-CH₂CH₂-O-CH₂CH₂OH); 3.87 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 4.4 Hz, 5- O-CH₂CH₂-O-CH₂CH₂OH); 3.78 (t, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 4.4 Hz, 5- O-CH₂CH₂-O-CH₂CH₂OH). 3.47-3.24 (m, 4H, 5- O-CH₂CH₂-O-CH₂CH₂OH).

R_f-Werte (DC): 0,11 (LM 3)

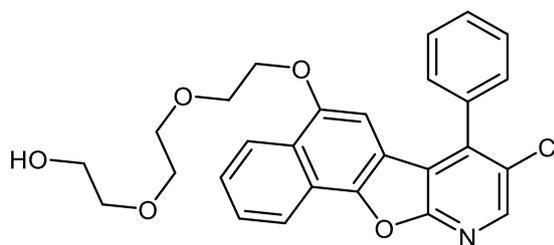
8-Chlor-5-(2-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)ethoxy)-7-phenylnaphtho[2',1':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: 111

Summenformel: C₂₇H₂₄ClNO₅

Relative Molmasse [M_r]: 477,94 g/mol

Darstellung:



Diese Verbindung wurde als Nebenprodukt bei der Darstellung von Verbindung **101** gebildet. Sie entstand nur beim Einsatz von 2 Äquivalenten Ethylencarbonat bei der Umsetzung. Die Verbindung konnte bei der Säulenchromatographie isoliert werden. Eine Umkristallisierung war nicht erfolgreich und so resultierte die Verbindung als brauner, amorpher Feststoff

Ausbeute: 3,4 %

MS (m/z (%)): (ESI) 500,62 (100 % [M+Na]⁺); 478,76 (61 % [M+H]⁺)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-*d*₆ [δ in ppm]: 8,63 (s, 1H, 9-H); 8,37 (d, 1H, ³J_{1/2} = 8,0 Hz, 1-H); 8,27 (d, 1H, ³J_{4/3} = 8,4 Hz, 4-H); 7,80 (ddd, 1 H, ³J_{2/1} = 8,0 Hz, ³J_{2/3} = 7,0 Hz, ⁴J_{2/4} = 1,2 Hz, 2-H); 7,74-7,66 (m, 4H, 3-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,65-7,61 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 6,25 (s, 1H, 6-H); 4,54 (t, 1H, ³J_{OH/CH₂} = 5,3 Hz, 5- O-(CH₂CH₂-O)₃H); 3,87 („t“, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 4,7 Hz, 5- O-CH₂CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂H); 3,78 („t“, 2H, ³J_{CH₂/CH₂} = 4,8 Hz, 5- O-CH₂CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂H); 3,63-3,59 (m, 2H, 5-O-(CH₂)₂-O-CH₂CH₂-O-(CH₂)₂-OH); 3,55-3,49 (m, 2H, 5-O-(CH₂)₂-O-CH₂CH₂-O-(CH₂)₂-OH); 3,48-3,43 (m, 4H, 5- O-(CH₂CH₂-O)₂-CH₂CH₂OH); 3,42-3,39 (m, 4H, 5- O-(CH₂CH₂-O)₂-CH₂CH₂OH).

R_f-Werte (DC): 0,06 (LM 3)

7 Biochemische Testverfahren

7.1 Bestimmung von IC₅₀-Werten mittels des ³³PanQinase®-Assays der PROQINASE GmbH

Das ³³PanQinase®-Assay ist ein automatisiertes Verfahren der Firma PROQINASE GmbH zur Bestimmung von verschiedenen inhibitorischen Kennzahlen von niedermolekularen Verbindungen an Kinasen. Im Rahmen dieser Dissertation wurden IC₅₀-Werte von ausgewählten Verbindungen an CDK1/B, Fyn wt, GSK3β, ERK2 und JNK3 bestimmt. Die Kinasen CDK1/B, Fyn wt und GSK3β, die in diesem Verfahren verwendet wurden, konnten durch die Anwendung eines Baculovirus-Expressionssystems in Sf9-Insektenzellen als humane rekombinante, His-markierte Proteine oder GST-Fusionsproteine gewonnen werden. ERK2 und JNK3 wurden durch Expression in *Escherichia Coli* als unmarkierte, human rekombinante Proteine hergestellt. In allen Expressionssystemen wurde menschliche cDNA als Vektor verwendet. Die Aufreinigung der Kinasen wurde dann mittels Affinitätschromatographie an GSH-Agarose (SIGMA ALDRICH) oder *Immobilized metal ion affinity chromatography* (IMAC) durchgeführt. Die Reinheit und Identität der Kinasen wurde mittels SDS-PAGE gefolgt von einer Coomassie-Färbung und massenspektrometrischer Überprüfung (LC-ESI-MS-MS) festgestellt. Als Substrate für die Proteinkinasen wurden verschiedene synthetische Peptide eingesetzt (siehe Tabelle 15): RB-CTF bei CDK1/B, Poly(Glu:Tyr)_{4,1} (SIGMA ALDRICH) bei Fyn wt, RBER-IRStide bei GSK3β, RBER-CHKtide bei ERK2 und ATF2 bei JNK3.^{398–402}

Die Firma PROQINASE GmbH erhielt von jeder zu testenden Verbindung je 2 mg Probensubstanz in kristalliner Form. Aus dieser Substanzmenge wurde durch Lösen in DMSO für jede Verbindung eine Stammlösung mit einer Konzentration von 10mM erstellt. Durch halblogarithmische Serienverdünnung der Stammlösungen mit reinem DMSO wurden jeweils 10 Lösungen mit einer Konzentration zwischen 0,3 µM und 10 mM erstellt. Von diesen Lösungen wurden jeweils 10 µL mit je 90 µL Wasser versetzt. So wurden Probelösungen mit einer Konzentration zwischen 30 nM und 1 mM in 10 % DMSO in Wasser erhalten. Dies geschah nur wenige Minuten vor der Überführung der Probelösungen in das Assay um eine Ausfällung der eingesetzten Verbindungen möglichst zu verhindern. Zu beachten ist hierbei jedoch, dass bei den meisten Verbindungen in der höchstkonzentrierten Probenlösung trotzdem eine sichtbare Ausfällung beobachtet werden konnte.

Für alle durchgeführten Assays wurde ein BECKMAN-COULTER SAGIAN-Automatiksystem verwendet. Die Assays wurden auf 96-Well-FlashPlates™ (PERKIN ELMER) mit je 50 µL Reaktionsvolumen pro Well durchgeführt. Dazu wurden 5 µL der jeweiligen Probelösung zusammen mit 20 Standardpuffer, 20 µL Substrat-Enzym-Lösung und 5 µL wässrige ATP-Lösung in ein Well pipettiert. Jedes Well enthielt folglich: HEPES-NaOH (70 mM, pH 7,5) MgCl₂ (3 mM) MnCl₂ (3mM),

Na₃VO₄ (3 µM), DTT (1,2 mM), PEG_{20.000} (50 mg/mL), DMSO (0,5 µL) und [γ -³³P]-ATP (0,3 µM (bei ERK2, Fyn wt GSK-3 β , JNK3) oder 1 µM (bei CDK1/B) entsprechend 3·10⁵ cpm bzw. 9·10⁵ cpm, Gehalt abhängig von der ATP-K_m der jeweiligen Kinase). Zur vollständigen Durchmischung aller Bestandteile wurde die Platte auf einen Schüttler verbracht.

Tabelle 15: Parameter der durch die PROQINASE GmbH durchgeführten Proteinkinaseinhibitons-Assays. Die Kinasen-Konzentration in nM gibt die maximale molare Konzentration an Kinase im Assay an die Prämisse vorausgesetzt, dass 100 % der eingewogenen Enzym-Zubereitung ausschließlich aktives Enzym enthalten.

Kinase	Kinase-Konzentration [ng/50 µL]	Kinase-Konzentration [nM]	ATP-K _m [µM]	Substrat	Substrat-Konzentration [µg/50 µL]	ATP-Konzentration [µM]
CDK1/B	50	7,0	0,8	RBBER-CHKtide	2	1
ERK2	10	4,8	1,7	RBBER-CHKtide	2	0,3
Fyn wt	10	2,2	2,4	Poly(Glu,Tyr) _{4:1}	0,125	0,3
GSK-3 β	50	13,1	0,7	RBBER-CHKtide	1	0,3
JNK3	5	2,1	0,39	ATF2	2	0,3

Das 96-Well-FlashPlates™ wurde für 60 Min bei 30 °C inkubiert. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 µL 2 %-iger Phosphorsäure (V/V) abgebrochen. Die Lösungsrückstände wurden mit einer Pipette abgesaugt und die verwendeten Wells dreimal mit je 200 µL 0,9 %-iger Natriumchloridlösung (m/V) gewaschen. Danach wurde die Platte getrocknet. Die Aufnahme von ³³P_i in das Substrat wurde mittels eines *Microplate*-Szintillationszählers (MicroBeta®, WALLAC) bestimmt. Hiermit konnte die prozentuale Restaktivität der jeweiligen Kinase mittels Gleichung 3 für die entsprechende Konzentration an Zielverbindung bestimmt werden. Zur Berechnung der IC₅₀-Werte aus den erhaltenen, prozentualen Restaktivitäten wurde das Programm QUATTRO WORKFLOW V3.1.1 von QUATTRO RESEARCH GmbH genutzt. Die IC₅₀-Wert-Ermittlung erfolgte als Doppelbestimmung.

7.1.1 Testergebnisse

Tabelle 16: Auflistung der durch die ProQinase GmbH in Doppelbestimmung ermittelten IC₅₀-Werte. TS = Testsubstanz. n.b. = nicht bestimmt.

TS	IC ₅₀ CDK1/B [µM]			IC ₅₀ ERK2 [µM]			IC ₅₀ Fyn wt [µM]			IC ₅₀ GSK3 β [µM]			IC ₅₀ JNK3 [µM]		
	1	2	∅	1	2	∅	1	2	∅	1	2	∅	1	2	∅
40	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.	72,0	60,3	66,2	97,5	76,0	86,8	39,5	27,5	33,5
41	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.	4,07	4,47	4,27	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.
43	53,8	78,7	66,3	95,3	30,2	62,8	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.
67	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.	1,94	2,70	2,32	>100	>100	n.b.	>100	>100	n.b.

7.2 Bestimmungen der Inhibitionen der Verbindungen durch den Arbeitskreis von V.KRYSTOF

Die vollständige Testung aller relevanten Zielverbindungen an CDK1/B, CDK2/E, Fyn wt und GSK3 β erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Dr. V.KRYSTOF an der Palacký Universität Olomouc (Tschechische Republik) durchgeführt.

Die verwendeten Kinasen bei der PROQINASE GmbH erworben. Dort wurden sie nach dem in Abschnitt 7.1 beschriebenen Verfahren synthetisiert, aufgereinigt und analysiert.^{398–400,403} Als Substrat wurde bei Fyn wt Poly(Glu:Tyr)_{4:1} (SIGMA ALDRICH), bei GSK3 β GSM-Peptid (MERCK CHEMICALS) in Anwesenheit von 1 μ M ATP und 0,05 μ Ci [γ -³³P]-ATP angewendet. Bei CDK1/B und CDK2/E wurde Histon H1 und 15 μ M ATP und 0,05 μ Ci [γ -³³P]-ATP verwendet. Genauere Angaben zu den Assay-Parametern sind Tabelle 17 zu entnehmen.

Tabelle 17: Parameter der durch den Arbeitskreis von V.KRYSTOF durchgeführten Proteinkinaseinhibitions-Assays. Die Kinasen-Konzentration in nM gibt die maximale molare Konzentration an Kinase im Assay an die Prämisse vorausgesetzt, dass 100 % der eingewogenen Enzym-Zubereitung ausschließlich aktives Enzym enthalten.

Kinase	Kinase-Konzentration [μ g/mL]	Kinase-Konzentration [nM]	ATP-K _m [μ M]	Substrat	Substrat-Konzentration [mg/mL]	ATP-Konzentration [μ M]
CDK1/B	1	7,00	0,8	Histon H1	1	15
CDK2/E	1	7,56	2,9	Histon H1	1	15
Fyn wt	1,4	15,49	2,4	Poly(Glu,Tyr) _{4:1}	0,1	1
GSK-3 β	9	117,94	0,7	GSM Peptid	0,01	1

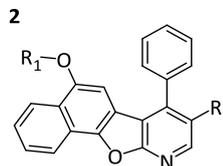
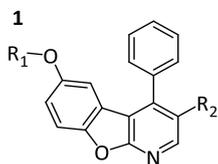
Das Assay wurde in einem Reaktionsvolumen von 10 μ L mit einem DMSO-Anteil von maximal 0,02 % in einem 96-Well-Plate durchgeführt. Die Ansätze wurden alle mit einem Standardpuffer hergestellt, so dass sich folgende Konzentrationen für die folgenden, enthaltenen Komponenten ergaben: HEPES-NaOH (60 mM, pH 7,5) MgCl₂ (3 mM) MnCl₂ (3mM), Na₃VO₄ (3 μ M), DTT (1,2 mM) und PEG_{20.000} (2,5 mg/50 mL). Die Ansätze wurden für jeweils 60 Min bei 30 °C in einem EPPENDORF-Thermomischer (350 UpM) inkubiert. Die Reaktion wurde im Anschluss durch Zugabe von 5 μ L 3 prozentiger Phosphorsäure (V/V) gestoppt. Das Reaktionsvolumen wurde auf P-81-Phosphocellulose (WHATMAN) übertragen und die verwendeten Wells dreimal mit 0,5 prozentiger Phosphorsäure (V/V) gewaschen. Das 96-Well-Plate wurde luftgetrocknet.

Die Quantifizierung der Kinaseinhibition wurde mit einem digitalen Bildanalysators FLA-7000 (FUJIFILM) vorgenommen. Die Restaktivitäten wurden für eine Konzentration der Testsubstanzen von 10 μ M bestimmt. Wenn die Restaktivität der jeweiligen Kinase im ersten Durchlauf geringer als 58 % war wurde für diese Substanz eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Im Anschluss wurde aus den erhaltenen Dosis-Wirkungskurven die Konzentration der 50 prozentigen Hemmung ermittelt und als IC₅₀-Wert für die jeweilige Verbindung angegeben.

7.2.1 Testergebnisse

Tabelle 18: Strukturübersicht für die durch den Arbeitskreis von V. KRSTOF getesteten Verbindungen. GS=Grundstruktur.

Grundstrukturen:



Verbindung	GS	Rest R ₁	Rest R ₂	Verbindung	GS	Rest R ₁	Rest R ₂
30	2	H	OCH ₂ CH ₃	69	1	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)
31	2	H	OCH ₂ CH ₂ CH ₃	69	2	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)
32	1	H	OCH(CH ₃) ₂	70	1	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)
33	2	H	OCH(CH ₃) ₂	71	2	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)
38	1	H	OCH ₂ C ₆ H ₅	72	1	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)
40	1	H	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)	76	1	CH ₂ CH ₃	Br
41	2	H	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)	78	1	CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₅
43	2	H	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)	79	2	CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₅
45	2	H	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)	80	1	CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)
46	1	H	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-OCH ₃)	82	1	CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)
47	2	H	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-OCH ₃)	84	1	CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)
51	2	H	Br	85	2	CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)
52	1	H	H	89	1	CH(CH ₃) ₂	OCH ₂ C ₆ H ₅
53	2	H	H	90	2	CH(CH ₃) ₂	OCH ₂ C ₆ H ₅
55	1	CH ₃	H	91	1	CH(CH ₃) ₂	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)
56	2	CH ₃	H	93	1	CH(CH ₃) ₂	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)
57	1	CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)	94	2	CH(CH ₃) ₂	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)
58	2	CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (2-Cl)	95	1	CH(CH ₃) ₂	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)
59	1	CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (3-Cl)	98	1	CH ₂ CH ₂ OH	OCH ₂ C ₆ H ₅
60	1	CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)	99	2	CH ₂ CH ₂ OH	OCH ₂ C ₆ H ₅
61	2	CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₄ (4-Cl)	100	1	CH ₂ CH ₂ OH	Cl
65	2	CH ₃	Br	101	2	CH ₂ CH ₂ OH	Cl
66	1	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₅	102	2	CH ₂ CH ₂ OH	Br
67	2	CH ₂ CH ₃	OCH ₂ C ₆ H ₅				

Biochemische Testverfahren

Tabelle 19: Auflistung der durch den Arbeitskreis von V.KRSTOF ermittelten, prozentualen Restaktivitäten der untersuchten Proteinkinasen bei einer Inhibitor-Konzentration von 10 µM. MW = Mittelwert; TS = Testsubstanzen.

TS	Restaktivität bei einer Substanzkonzentration von 10 µM [%]											
	CDK1/B			CDK2/E			Fyn wt			GSK3β		
	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW
30	69,1	72,4	70,8	66,5	n.b.	66,5	73,4	n.b.	73,4	92,2	n.b.	92,2
31	81,1	n.b.	81,1	96,6	n.b.	96,6	77,3	n.b.	77,3	92,2	n.b.	92,2
32	22,3	33,2	27,8	10,1	20,3	15,2	100,0	63,5	81,8	42,8	n.b.	42,8
33	64,9	n.b.	64,9	76,6	n.b.	76,6	96,9	81,6	89,3	102,0	n.b.	102,0
40	52,9	63,8	58,4	70,1	n.b.	70,1	52,9	63,8	58,4	59,9	57,2	58,6
41	76,6	n.b.	76,6	95,5	n.b.	95,5	67,0	n.b.	67,0	89,4	n.b.	89,4
43	71,9	n.b.	71,9	84,8	n.b.	84,8	71,6	n.b.	71,6	86,2	n.b.	86,2
45	78,7	n.b.	78,7	96,6	n.b.	96,6	101,8	60,7	81,3	84,5	n.b.	84,5
46	52,2	54,0	53,1	55,6	67,5	61,6	75,3	n.b.	75,3	61,1	47,4	54,3
47	80,9	n.b.	80,9	88,8	n.b.	88,8	106,4	87,9	97,2	103,5	n.b.	103,5
51	85,3	n.b.	85,3	72,4	n.b.	72,4	128,2	52,1	90,2	101,1	n.b.	101,1
52	78,0	73,6	75,8	82,6	84,1	83,4	97,5	n.b.	97,5	81,1	n.b.	81,1
53	41,5	47,4	44,4	27,5	38,0	32,8	84,0	n.b.	84,0	37,5	n.b.	37,5
55	41,8	45,6	43,7	40,9	42,1	41,5	73,7	n.b.	73,7	25,3	n.b.	25,3
56	86,1	n.b.	86,1	87,1	n.b.	87,1	78,7	n.b.	78,7	126,2	112,3	119,3
57	84,9	n.b.	84,9	93,1	n.b.	93,1	83,4	n.b.	83,4	94,5	n.b.	94,5
58	91,2	n.b.	91,2	95,2	n.b.	95,2	110,7	108,2	109,5	98,7	n.b.	98,7
59	87,3	n.b.	87,3	75,6	n.b.	75,6	87,0	n.b.	87,0	108,7	89,8	99,2
60	89,4	n.b.	89,4	88,8	n.b.	88,8	78,0	76,8	77,4	99,0	n.b.	99,0
61	97,8	n.b.	97,8	98,9	n.b.	98,9	82,9	n.b.	82,9	65,4	n.b.	65,4
65	76,7	n.b.	76,7	95,9	n.b.	95,9	113,4	97,7	105,6	96,5	75,3	85,9
66	75,9	n.b.	75,9	104,0	n.b.	104,0	50,4	91,9	71,2	92,3	96,4	94,4
67	100,9	n.b.	100,9	99,8	n.b.	99,8	60,7	n.b.	60,7	89,5	n.b.	89,5
68	90,8	n.b.	90,8	97,8	n.b.	97,8	59,6	3,4	31,5	90,6	136,0	113,3
69	93,1	n.b.	93,1	100,1	n.b.	100,1	96,3	n.b.	96,3	90,2	n.b.	90,2
70	80,1	n.b.	80,1	88,0	n.b.	88,0	63,4	n.b.	63,4	99,2	n.b.	99,2
71	85,0	n.b.	85,0	95,6	n.b.	95,6	116,0	77,2	96,6	102,6	n.b.	102,6
72	91,5	n.b.	91,5	94,8	n.b.	94,8	89,9	n.b.	89,9	84,5	n.b.	84,5
71	95,0	n.b.	95,0	79,4	n.b.	79,4	70,4	n.b.	70,4	94,2	n.b.	94,2
76	68,0	n.b.	68,0	89,9	n.b.	89,9	115,7	65,2	90,5	99,5	67,0	83,3
78	90,6	n.b.	90,6	86,9	n.b.	86,9	66,1	n.b.	66,1	91,7	n.b.	91,7
79	93,0	n.b.	93,0	76,9	n.b.	76,9	62,6	n.b.	62,6	94,9	n.b.	94,9
80	73,0	n.b.	73,0	85,7	n.b.	85,7	107,8	73,7	90,5	100,7	80,9	90,8
82	68,0	n.b.	68,0	80,3	n.b.	80,3	63,1	n.b.	63,1	67,9	76,4	72,2
84	81,2	n.b.	81,2	93,1	n.b.	93,1	69,5	n.b.	69,5	98,6	88,1	93,4
85	99,5	n.b.	99,5	95,4	n.b.	95,4	80,0	n.b.	80,0	92,7	68,4	80,6
89	84,2	n.b.	84,2	89,3	n.b.	89,3	67,5	n.b.	67,5	102,7	n.b.	102,7
90	90,0	n.b.	90,0	90,0	n.b.	90,0	122,3	115,1	118,7	103,7	n.b.	103,7

Biochemische Testverfahren

Restaktivität bei einer Substanzkonzentration von 10 µM [%]												
TS	CDK1/B			CDK2/E			Fyn wt			GSK3β		
	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW
91	74,8	n.b.	74,8	86,3	n.b.	86,3	68,7	n.b.	68,7	92,3	94,5	93,4
93	78,0	n.b.	78,0	86,8	n.b.	86,8	89,4	n.b.	89,4	100,2	96,9	98,6
94	92,6	n.b.	92,6	96,3	n.b.	96,3	117,1	77,4	97,3	100,2	96,9	98,6
95	68,5	n.b.	68,5	91,7	n.b.	91,7	100,7	80,6	90,7	97,3	75,3	86,3
98	55,3	6,8	31,1	51,3	66,0	58,7	63,0	n.b.	63,0	89,7	99,4	94,6
99	89,8	n.b.	89,8	90,8	n.b.	90,8	111,6	115,4	113,5	88,8	n.b.	88,8
100	57,1	60,3	58,7	45,7	62,7	54,2	145,0	82,4	113,7	75,7	105,2	90,5
101	62,1	n.b.	62,1	72,1	n.b.	72,1	91,2	n.b.	91,2	99,5	67,0	83,3
102	62,0	n.b.	62,0	71,8	n.b.	71,8	63,3	64,9	64,1	76,0	n.b.	76,0

8 Literaturverzeichnis

1. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2015, The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.
2. Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. ICD-10-GM Version 2020, Systematisches Verzeichnis, Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, Stand: 20.September 2019. 2019 [accessed 2020 Apr 27]. <https://www.dimdi.de/dynamic/de/klassifikationen/downloads/>.
3. Tönnies I. Abschied zu Lebzeiten: Wie Angehörige mit Demenzkranken leben. 3. Aufl. Bonn: BALANCE Buch + Medien Verl; 2009. 239 p. (Balance Erfahrungen). ISBN: 386739007X. ger.
4. van Deun U. Alzheimer - der lange Weg des Abschiednehmens: Tagebuch einer großen Liebe. Freiburg im Breisgau: Herder; 2006. 123 p. (Herder-Spektrum; Bd. 5726). ISBN: 9783451057267. ger.
5. Förstl H, Kurz A. Clinical features of Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1999;249(6):288–290. doi:10.1007/s004060050101.
6. org A'sA@a. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2019;15(3):321–387. doi:10.1016/j.jalz.2019.01.010.
7. Nichols E, Szeoke CEI, Vollset SE, Abbasi N, Abd-Allah F, Abdela J, Aichour MTE, Akinyemi RO, Alahdab F, Asgedom SW. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. 2019;18(1):88–106.
8. Statistisches Bundesamt. Sterbefälle, Sterbeziffern (je 100.000 Einwohner, altersstandardisiert) (ab 1998). Gliederungsmerkmale: Jahre, Region, Alter, Geschlecht, Nationalität, ICD-10, Art der Standardisierung: Diese Tabelle bezieht sich auf: Jahr: 2017, Region: Deutschland, Alter: Alle Altersgruppen, Geschlecht: Insgesamt, Nationalität: Alle Nationalitäten, Art der Standardisierung: Standardbevölkerung "Deutschland 2011. www.gbe-bund.de: Statistisches Bundesamt; 2020 [updated 2020 Apr 28; accessed 2020 Apr 28]. http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=3&p_aid=4448510&nummer=6&p_sprache=D&p_indsp=1005&p_aid=29499176.
9. Olshansky SJ, Carnes BA, Mandell MS. Future trends in human longevity: Implications for investments, pensions and the global economy. *Pensions Int J*. 2009;14(3):149–163. doi:10.1057/pm.2009.12.
10. Alzheimer Europe, editor. Dementia in Europe Yearbook 2019. 14, rue Dicks, L-1417 Luxembourg: Alzheimer Europe; 2020. 108 p. ISBN: 978-99959-995-9-9 [accessed 2020 Apr 28].
11. Schulz R, O'Brien AT, Bookwala J, Fleissner K. Psychiatric and physical morbidity effects of dementia caregiving: prevalence, correlates, and causes. *Gerontologist*. 1995;35(6):771–791. doi:10.1093/geront/35.6.771.
12. Boess F, Lieb M, Schneider E, Zimmermann T, Dodel R, Belger M. Kosten der Alzheimer-Erkrankung in Deutschland – aktuelle Ergebnisse der GERAS-Beobachtungsstudie. *Gesundh ökon Qual manag*. 2016;21(05):232–241. doi:10.1055/s-0042-100956.
13. Rosenberg M. Mutter, wann stirbst du endlich?: Wenn die Pflege der kranken Eltern zur Zerreißprobe wird. 2. Aufl. München: Blanvalet; 2013. 256 p. ISBN: 9783764504687. ger.
14. Ma M, Dorstyn D, Ward L, Prentice S. Alzheimers' disease and caregiving: a meta-analytic review comparing the mental health of primary carers to controls. *Aging Ment Health*. 2018;22(11):1395–1405. doi:10.1080/13607863.2017.1370689.
15. Fonareva I, Oken BS. Physiological and functional consequences of caregiving for relatives with dementia. *Int Psychogeriatr*. 2014;26(5):725–747. doi:10.1017/S1041610214000039.

Literaturverzeichnis

16. Wimo A, Guerchet M, Ali G-C, Wu Y-T, Prina AM, Winblad B, Jönsson L, Liu Z, Prince M. The worldwide costs of dementia 2015 and comparisons with 2010. *Alzheimers Dement*. 2017;13(1):1–7. doi:10.1016/j.jalz.2016.07.150.
17. Jia J, Wei C, Chen S, Li F, Tang Y, Qin W, Zhao L, Jin H, Xu H, Wang F, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide. *Alzheimers Dement*. 2018;14(4):483–491. doi:10.1016/j.jalz.2017.12.006.
18. RDD/10495. G8 dementia summit communique. 10 Downing St, Westminster, London SW1A 2AA, Vereinigtes Königreich: Department of Health and Social Care Great Britain; 2013 [updated 11.03.2013; accessed 2021 Jan 31]. <https://www.gov.uk/government/publications/g8-dementia-summit-agreements/g8-dementia-summit-communique>.
19. World Health Organization. Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025. Geneva: World Health Organisation; 2017. ISBN: 978-92-4-151348-7.
20. Kopplin I. Rückschlag für Alzheimerkranke: Pfizer stoppt Forschung. Frankfurt am Main: Frankfurter Allgemeine Zeitung; 2018 [updated 2018 Jan 8; accessed 2020 Apr 28]. <https://www.faz.net/aktuell/wirtschaft/unternehmen/pharmaunternehmen-pfizer-stoppt-alzheimerforschung-15380878.html>.
21. Cummings JL, Morstorf T, Zhong K. Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures. *Alzheimers Res Ther*. 2014;6(4):37. doi:10.1186/alzrt269.
22. Cummings J, Lee G, Mortsdorf T, Ritter A, Zhong K. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2017. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2017;3(3):367–384. doi:10.1016/j.trci.2017.05.002.
23. Cummings J, Lee G, Ritter A, Sabbagh M, Zhong K. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2019. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2019;5:272–293. doi:10.1016/j.trci.2019.05.008.
24. Cummings J, Feldman HH, Scheltens P. The "rights" of precision drug development for Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2019;11(1):76. doi:10.1186/s13195-019-0529-5.
25. Schneider JA, Arvanitakis Z, Bang W, Bennett DA. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology*. 2007;69(24):2197–2204. doi:10.1212/01.wnl.0000271090.28148.24.
26. Nelson PT, Alafuzoff I, Bigio EH, Bouras C, Braak H, Cairns NJ, Castellani RJ, Crain BJ, Davies P, Del Tredici K, et al. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012;71(5):362–381. doi:10.1097/NEN.0b013e31825018f7.
27. Brunström H, Gustafson L, Passant U, Englund E. Prevalence of dementia subtypes: a 30-year retrospective survey of neuropathological reports. *Arch Gerontol Geriatr*. 2009;49(1):146–149. doi:10.1016/j.archger.2008.06.005.
28. Lopez OL, Kuller LH. Epidemiology of aging and associated cognitive disorders: Prevalence and incidence of Alzheimer's disease and other dementias. *Handb Clin Neurol*. 2019;167:139–148. doi:10.1016/B978-0-12-804766-8.00009-1.
29. Hugo J, Ganguli M. Dementia and cognitive impairment: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Clin Geriatr Med*. 2014;30(3):421–442. doi:10.1016/j.cger.2014.04.001.
30. Brookmeyer R, Evans DA, Hebert L, Langa KM, Heeringa SG, Plassman BL, Kukull WA. National estimates of the prevalence of Alzheimer's disease in the United States. *Alzheimers Dement*. 2011;7(1):61–73. doi:10.1016/j.jalz.2010.11.007.
31. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*. 1997;388(6645):839–840. doi:10.1038/42166.
32. Gomperts SN. Lewy Body Dementias: Dementia With Lewy Bodies and Parkinson Disease Dementia. *Continuum (Minneap Minn)*. 2016;22(2 Dementia):435–463. doi:10.1212/CON.0000000000000309.

Literaturverzeichnis

33. Alzheimer A. über eine eigenartige Krankheit der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin*. 1907;(64):146–148.
34. Bondi MW, Edmonds EC, Salmon DP. Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future. *J Int Neuropsychol Soc*. 2017;23(9-10):818–831. doi:10.1017/S135561771700100X.
35. Brier MR, Gordon B, Friedrichsen K, McCarthy J, Stern A, Christensen J, Owen C, Aldea P, Su Y, Hassenstab J, et al. Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*. 2016;8(338):338ra66. doi:10.1126/scitranslmed.aaf2362.
36. Buerger K, Ewers M, Pirttilä T, Zinkowski R, Alafuzoff I, Teipel SJ, DeBernardis J, Kerkman D, McCulloch C, Soininen H, et al. CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2006;129(Pt 11):3035–3041. doi:10.1093/brain/awl269.
37. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund L-O, Freund-Levi Y, Tsolaki M, Minthon L, Wallin ÅK, Hampel H, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*. 2009;8(7):619–627. doi:10.1016/S1474-4422(09)70139-5.
38. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, Holtzman DM, Jagust W, Jessen F, Karlawish J, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14(4):535–562. doi:10.1016/j.jalz.2018.02.018.
39. Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde, Deutsche Gesellschaft für Neurologie. S3-Leitlinie "Demenzen". Berlin: AWMF; 2016 [accessed 2021 Jan 31]. 134 p. https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/038-013l_S3-Demenzen-2016-07.pdf.
40. Soria Lopez JA, González HM, Léger GC. Alzheimer's disease. *Handb Clin Neurol*. 2019;167:231–255. doi:10.1016/B978-0-12-804766-8.00013-3.
41. British Psychological Society. Dementia: A NICE-SCIE Guideline on Supporting People With Dementia and Their Carers in Health and Social Care. Leicester (UK): British Psychological Society; 2007. ISBN: 9781854334510.
42. Kasper S, Rainer M, Bacher R, Croy A, Fasching P, Fruhwürth G, Grunze H, Jagsch C, Jelem H, Kapfhammer HP. Demenzerkrankungen Medikamentöse Therapie. Konsensus-Statement–State of the art. *CliniCum neuropsychy Sonderausgabe* November. 2015.
43. Heiko Braak, Dietmar R. Thal, Estifanos Ghebremedhin, Kelly Del Tredici. Stages of the Pathologic Process in Alzheimer Disease: Age Categories From 1 to 100 Years. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2011;70(11):960Y969.
44. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, Iwatsubo T, Jack CR, Kaye J, Montine TJ, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011;7(3):280–292. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.003.
45. Bradfield NI, Ames D. Mild cognitive impairment: narrative review of taxonomies and systematic review of their prediction of incident Alzheimer's disease dementia. *BJPsych Bull*. 2020;44(2):67–74. doi:10.1192/bjb.2019.77.
46. Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D, Naj AC, Sims R, Bellenguez C, DeStafano AL, Bis JC, Beecham GW, Grenier-Boley B, et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2013;45(12):1452–1458. doi:10.1038/ng.2802.
47. Sims R, Hill M, Williams J. The multiplex model of the genetics of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2020;23(3):311–322. doi:10.1038/s41593-020-0599-5.
48. Tanzi RE, Bertram L. Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: a genetic perspective. *Cell*. 2005;120(4):545–555. doi:10.1016/j.cell.2005.02.008.
49. Askarova S, Umbayev B, Masoud A-R, Kaiyrylkyzy A, Safarova Y, Tsoy A, Olzhayev F, Kushugulova A. The Links Between the Gut Microbiome, Aging, Modern Lifestyle and Alzheimer's Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:104. doi:10.3389/fcimb.2020.00104.

Literaturverzeichnis

50. Birla H, Minocha T, Kumar G, Misra A, Singh SK. Role Of Oxidative Stress And Metal Toxicity In The Progression Of Alzheimer's Disease. *Curr Neuroparmacol*. 2020. doi:10.2174/1570159X18666200122122512.
51. Ettcheto M, Olloquequi J, Sánchez-López E, Busquets O, Cano A, Manzine PR, Beas-Zarate C, Castro-Torres RD, García ML, Bulló M, et al. Benzodiazepines and Related Drugs as a Risk Factor in Alzheimer's Disease Dementia. *Front Aging Neurosci*. 2019;11:344. doi:10.3389/fnagi.2019.00344.
52. Kandimalla R, Vallamkondu J, Corgiat EB, Gill KD. Understanding Aspects of Aluminum Exposure in Alzheimer's Disease Development. *Brain Pathol*. 2016;26(2):139–154. doi:10.1111/bpa.12333.
53. Sullivan PM. Influence of Western diet and APOE genotype on Alzheimer's disease risk. *Neurobiol Dis*. 2020;138:104790. doi:10.1016/j.nbd.2020.104790.
54. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;66(2):137–147. doi:10.1136/jnnp.66.2.137.
55. Hampel H, Mesulam M-M, Cuello AC, Farlow MR, Giacobini E, Grossberg GT, Khachaturian AS, Vergallo A, Cavedo E, Snyder PJ, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*. 2018;141(7):1917–1933. doi:10.1093/brain/awy132.
56. Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen. Cholinesterasehemmer bei Alzheimer Demenz: Abschlussbericht A05-19A. 2007.
57. Atri A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. *Med Clin North Am*. 2019;103(2):263–293. doi:10.1016/j.mcna.2018.10.009.
58. Wang R, Reddy PH. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;57(4):1041–1048. doi:10.3233/JAD-160763.
59. McShane R, Westby MJ, Roberts E, Minakaran N, Schneider L, Farrimond LE, Maayan N, Ware J, Debarros J. Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;3:CD003154. doi:10.1002/14651858.CD003154.pub6.
60. Oxford AE, Stewart ES, Rohn TT. Clinical Trials in Alzheimer's Disease: A Hurdle in the Path of Remedy. *Int J Alzheimers Dis*. 2020;2020:5380346. doi:10.1155/2020/5380346.
61. Hillen H. The Beta Amyloid Dysfunction (BAD) Hypothesis for Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*. 2019;13:1154. doi:10.3389/fnins.2019.01154.
62. Osorio C, Kanukuntla T, Diaz E, Jafri N, Cummings M, Sfera A. The Post-amyloid Era in Alzheimer's Disease: Trust Your Gut Feeling. *Front Aging Neurosci*. 2019;11:143. doi:10.3389/fnagi.2019.00143.
63. Blennow K, Leon MJ de, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2006;368(9533):387–403. doi:10.1016/S0140-6736(06)69113-7.
64. Steiner H, Fukumori A, Tagami S, Okochi M. Making the final cut: pathogenic amyloid- β peptide generation by γ -secretase. *Cell Stress*. 2018;2(11):292–310. doi:10.15698/cst2018.11.162.
65. Li S, Selkoe DJ. A mechanistic hypothesis for the impairment of synaptic plasticity by soluble A β oligomers from Alzheimer's brain. *J Neurochem*. 2020. doi:10.1111/jnc.15007.
66. Klyubin I, Cullen WK, Hu N-W, Rowan MJ. Alzheimer's disease A β assemblies mediating rapid disruption of synaptic plasticity and memory. *Mol Brain*. 2012;5:25. doi:10.1186/1756-6606-5-25.
67. Almeida Z, Brito R. Structure and Aggregation Mechanisms in Amyloids. *Molecules*. 2020;25(5). doi:10.3390/molecules25051195.
68. Anand R, Gill KD, Mahdi AA. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology*. 2014;76 Pt A:27–50. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.07.004.
69. Timmers M, van Broeck B, Ramael S, Slemmon J, Waepenaert K de, Russu A, Bogert J, Stieltjes H, Shaw LM, Engelborghs S, et al. Profiling the dynamics of CSF and plasma A β reduction after treatment with JNJ-54861911, a potent oral BACE inhibitor. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2016;2(3):202–212. doi:10.1016/j.trci.2016.08.001.

Literaturverzeichnis

70. Villarreal S, Zhao F, Hyde LA, Holder D, Forest T, Sondey M, Chen X, Sur C, Parker EM, Kennedy ME. Chronic Verubecestat Treatment Suppresses Amyloid Accumulation in Advanced Aged Tg2576-A β PPswe Mice Without Inducing Microhemorrhage. *J Alzheimers Dis.* 2017;59(4):1393–1413. doi:10.3233/JAD-170056.
71. Egan MF, Kost J, Voss T, Mukai Y, Aisen PS, Cummings JL, Tariot PN, Vellas B, van Dyck CH, Boada M, et al. Randomized Trial of Verubecestat for Prodromal Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 2019;380(15):1408–1420. doi:10.1056/NEJMoa1812840.
72. Henley D, Raghavan N, Sperling R, Aisen P, Raman R, Romano G. Preliminary Results of a Trial of Atabecestat in Preclinical Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 2019;380(15):1483–1485. doi:10.1056/NEJMc1813435.
73. Kemp A. Update on Phase III clinical trials of lanabecestat for Alzheimer's disease. Cambridge: AstraZeneca PLC; 2018 [updated 2018 Jun 12; accessed 2020 May 7]. <https://www.astrazeneca.com/media-centre/press-releases/2018/update-on-phase-iii-clinical-trials-of-lanabecestat-for-alzheimers-disease-12062018.html>.
74. Novartis. Novartis, Amgen and Banner Alzheimer's Institute discontinue clinical program with BACE inhibitor CNP520 for Alzheimer's prevention. Basel: Novartis; 2019 [updated 2019 Jul 11; accessed 2020 May 7]. <https://www.novartis.com/news/media-releases/novartis-amgen-and-banner-alzheimers-institute-discontinue-clinical-program-bace-inhibitor-cnp520-alzheimers-prevention>.
75. Eisai Inc. Eisai And Biogen To Discontinue Phase III Clinical Studies Of BACE Inhibitor Elenbecestat In Early Alzheimer's Disease. Bunkyo: Eisai Inc; 2019 [updated 2019 Sep 13; accessed 2020 May 7]. <http://eisai.mediaroom.com/2019-09-13-Eisai-And-Biogen-To-Discontinue-Phase-III-Clinical-Studies-Of-BACE-Inhibitor-Elenbecestat-In-Early-Alzheimers-Disease>.
76. Zhu K, Xiang X, Filser S, Marinković P, Dorostkar MM, Crux S, Neumann U, Shimshek DR, Rammes G, Haass C, et al. Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 Inhibition Impairs Synaptic Plasticity via Seizure Protein 6. *Biol Psychiatry.* 2018;83(5):428–437. doi:10.1016/j.biopsych.2016.12.023.
77. Coric V, Salloway S, van Dyck CH, Dubois B, Andreasen N, Brody M, Curtis C, Soininen H, Thein S, Shiovitz T, et al. Targeting Prodromal Alzheimer Disease With Avagacestat: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 2015;72(11):1324–1333. doi:10.1001/jamaneurol.2015.0607.
78. Doody RS, Raman R, Farlow M, Iwatsubo T, Vellas B, Joffe S, Kieburtz K, He F, Sun X, Thomas RG, et al. A phase 3 trial of semagacestat for treatment of Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2013;369(4):341–350. doi:10.1056/NEJMoa1210951.
79. Orgogozo J-M, Gilman S, Dartigues J-F, Laurent B, Puel M, Kirby LC, Jouanny P, Dubois B, Eisner L, Flitman S, et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology.* 2003;61(1):46–54. doi:10.1212/01.wnl.0000073623.84147.a8.
80. Mo J-J, Li J-Y, Yang Z, Liu Z, Feng J-S. Efficacy and safety of anti-amyloid- β immunotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and network meta-analysis. *Ann Clin Transl Neurol.* 2017;4(12):931–942. doi:10.1002/acn3.469.
81. Novartis. Novartis Q3 and 9M 2019 Condensed Interim Financial Report – Supplementary Data. Basel: Novartis; 2019 [accessed 2020 May 8]. <https://www.novartis.com/sites/www.novartis.com/files/2019-10-interim-financial-report-en.pdf>.
82. Adolfsson O, Pihlgren M, Toni N, Varisco Y, Buccarello AL, Antoniello K, Lohmann S, Piorkowska K, Gafner V, Atwal JK, et al. An effector-reduced anti- β -amyloid (A β) antibody with unique a β binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of A β . *J Neurosci.* 2012;32(28):9677–9689. doi:10.1523/JNEUROSCI.4742-11.2012.
83. Hu C, Adedokun O, Ito K, Raje S, Lu M. Confirmatory population pharmacokinetic analysis for bapineuzumab phase 3 studies in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *J Clin Pharmacol.* 2015;55(2):221–229. doi:10.1002/jcph.393.

Literaturverzeichnis

84. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, Dunstan R, Salloway S, Chen T, Ling Y, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016;537(7618):50–56. doi:10.1038/nature19323.
85. Ostrowitzki S, Deptula D, Thurfjell L, Barkhof F, Bohrmann B, Brooks DJ, Klunk WE, Ashford E, Yoo K, Xu Z-X, et al. Mechanism of amyloid removal in patients with Alzheimer disease treated with gantenerumab. *Arch Neurol*. 2012;69(2):198–207. doi:10.1001/archneurol.2011.1538.
86. Logovinsky V, Satlin A, Lai R, Swanson C, Kaplow J, Osswald G, Basun H, Lannfelt L. Safety and tolerability of BAN2401--a clinical study in Alzheimer's disease with a protofibril selective A β antibody. *Alzheimers Res Ther*. 2016;8(1):14. doi:10.1186/s13195-016-0181-2.
87. Demattos RB, Lu J, Tang Y, Racke MM, DeLong CA, Tzaferis JA, Hole JT, Forster BM, McDonnell PC, Liu F, et al. A plaque-specific antibody clears existing β -amyloid plaques in Alzheimer's disease mice. *Neuron*. 2012;76(5):908–920. doi:10.1016/j.neuron.2012.10.029.
88. Doody RS, Thomas RG, Farlow M, Iwatsubo T, Vellas B, Joffe S, Kieburtz K, Raman R, Sun X, Aisen PS, et al. Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2014;370(4):311–321. doi:10.1056/NEJMoa1312889.
89. Ostrowitzki S, Lasser RA, Dorflinger E, Scheltens P, Barkhof F, Nikolcheva T, Ashford E, Retout S, Hofmann C, Delmar P, et al. A phase III randomized trial of gantenerumab in prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2017;9(1):95. doi:10.1186/s13195-017-0318-y.
90. Roche. Roche to discontinue Phase III CREAD 1 and 2 clinical studies of crenezumab in early Alzheimer's disease (AD) - other company programmes in AD continue. Basel: Roche; 2019 [updated 2019 Jan 30; accessed 2020 May 8]. <https://www.roche.com/media/releases/med-cor-2019-01-30.htm>.
91. Servick K. Doubts persist for claimed Alzheimer's drug. *Science*. 2019;366(6471):1298. doi:10.1126/science.366.6471.1298.
92. Biogen. Biogen Plans Regulatory Filing for Aducanumab in Alzheimer's Disease Based on New Analysis of Larger Dataset from Phase 3 Studies. Cambridge: Biogen; 2019 [accessed 2020 May 19]. <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-plans-regulatory-filing-aducanumab-alzheimers-disease>.
93. Schneider L. A resurrection of aducanumab for Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*. 2020;19(2):111–112. doi:10.1016/S1474-4422(19)30480-6.
94. Boada M, López O, Núñez L, Szczepiorkowski ZM, Torres M, Grifols C, Páez A. Plasma exchange for Alzheimer's disease Management by Albumin Replacement (AMBAR) trial: Study design and progress. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2019;5:61–69. doi:10.1016/j.trci.2019.01.001.
95. Tapia-Rojas C, Cabezas-Opazo F, Deaton CA, Vergara EH, Johnson GVW, Quintanilla RA. It's all about tau. *Progress in Neurobiology*. 2019;175:54–76. doi:10.1016/j.pneurobio.2018.12.005.
96. Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1975;72(5):1858–1862. doi:10.1073/pnas.72.5.1858.
97. Pooler AM, Noble W, Hanger DP. A role for tau at the synapse in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neuropharmacology*. 2014;76 Pt A:1–8. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.09.018.
98. Wolfe MS. The role of tau in neurodegenerative diseases and its potential as a therapeutic target. *Scientifica (Cairo)*. 2012;2012:796024. doi:10.6064/2012/796024.
99. Sjöberg MK, Shestakova E, Mansuroglu Z, Maccioni RB, Bonnefoy E. Tau protein binds to pericentromeric DNA: a putative role for nuclear tau in nucleolar organization. *J Cell Sci*. 2006;119(Pt 10):2025–2034. doi:10.1242/jcs.02907.
100. Sultan A, Nesslany F, Violet M, Bégard S, Loyens A, Talahari S, Mansuroglu Z, Marzin D, Sergeant N, Humez S, et al. Nuclear tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Biol Chem*. 2011;286(6):4566–4575. doi:10.1074/jbc.M110.199976.

Literaturverzeichnis

101. Camero S, Benítez MJ, Cuadros R, Hernández F, Avila J, Jiménez JS. Thermodynamics of the interaction between Alzheimer's disease related tau protein and DNA. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e104690. doi:10.1371/journal.pone.0104690.
102. Brunello CA, Merezhko M, Uronen R-L, Huttunen HJ. Mechanisms of secretion and spreading of pathological tau protein. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(9):1721–1744. doi:10.1007/s00018-019-03349-1.
103. Guo T, Noble W, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol*. 2017;133(5):665–704. doi:10.1007/s00401-017-1707-9.
104. Skrabana R, Sevcik J, Novak M. Intrinsically disordered proteins in the neurodegenerative processes: formation of tau protein paired helical filaments and their analysis. *Cell Mol Neurobiol*. 2006;26(7-8):1085–1097. doi:10.1007/s10571-006-9083-3.
105. Paholikova K, Salingova B, Opattova A, Skrabana R, Majerova P, Zilka N, Kovacech B, Zilkova M, Barath P, Novak M. N-terminal truncation of microtubule associated protein tau dysregulates its cellular localization. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(3):915–926. doi:10.3233/JAD-140996.
106. Morris M, Maeda S, Vossel K, Mucke L. The many faces of tau. *Neuron*. 2011;70(3):410–426. doi:10.1016/j.neuron.2011.04.009.
107. Wang X, Wang D, Zhao J, Qu M, Zhou X, He H, He R. The proline-rich domain and the microtubule binding domain of protein tau acting as RNA binding domains. *Protein Pept Lett*. 2006;13(7):679–685. doi:10.2174/09298660677790566.
108. Bakota L, Brandt R. Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer's Disease. *Drugs*. 2016;76(3):301–313. doi:10.1007/s40265-015-0529-0.
109. Gustke N, Trinczek B, Biernat J, Mandelkow EM, Mandelkow E. Domains of tau protein and interactions with microtubules. *Biochemistry*. 1994;33(32):9511–9522. doi:10.1021/bi00198a017.
110. Janning D, Igaev M, Sündermann F, Brühmann J, Beutel O, Heinisch JJ, Bakota L, Piehler J, Junge W, Brandt R. Single-molecule tracking of tau reveals fast kiss-and-hop interaction with microtubules in living neurons. *Mol Biol Cell*. 2014;25(22):3541–3551. doi:10.1091/mbc.E14-06-1099.
111. Buée L, Bussièrre T, Buée-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders¹¹These authors contributed equally to this work. *Brain Research Reviews*. 2000;33(1):95–130. doi:10.1016/S0165-0173(00)00019-9.
112. Martin L, Latypova X, Terro F. Post-translational modifications of tau protein: implications for Alzheimer's disease. *Neurochem Int*. 2011;58(4):458–471. doi:10.1016/j.neuint.2010.12.023.
113. Köpke E, Tung YC, Shaikh S, Alonso AC, Iqbal K, Grundke-Iqbal I. Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *J Biol Chem*. 1993;268(32):24374–24384.
114. Wegmann S, Eftekhazadeh B, Tepper K, Zoltowska KM, Bennett RE, Dujardin S, Laskowski PR, MacKenzie D, Kamath T, Commins C, et al. Tau protein liquid-liquid phase separation can initiate tau aggregation. *EMBO J*. 2018;37(7). doi:10.15252/embj.201798049.
115. Mroczko B, Groblewska M, Litman-Zawadzka A. The Role of Protein Misfolding and Tau Oligomers (TauOs) in Alzheimer's Disease (AD). *Int J Mol Sci*. 2019;20(19). doi:10.3390/ijms20194661.
116. Mukrasch MD, Bibow S, Korukottu J, Jeganathan S, Biernat J, Griesinger C, Mandelkow E, Zweckstetter M. Structural polymorphism of 441-residue tau at single residue resolution. *PLoS Biol*. 2009;7(2):e34. doi:10.1371/journal.pbio.1000034.
117. Bergen M von, Barghorn S, Biernat J, Mandelkow E-M, Mandelkow E. Tau aggregation is driven by a transition from random coil to beta sheet structure. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1739(2-3):158–166. doi:10.1016/j.bbadis.2004.09.010.

Literaturverzeichnis

118. Sahara N, Maeda S, Murayama M, Suzuki T, Dohmae N, Yen S-H, Takashima A. Assembly of two distinct dimers and higher-order oligomers from full-length tau. *Eur J Neurosci*. 2007;25(10):3020–3029. doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05555.x.
119. Maeda S, Sahara N, Saito Y, Murayama M, Yoshiike Y, Kim H, Miyasaka T, Murayama S, Ikai A, Takashima A. Granular tau oligomers as intermediates of tau filaments. *Biochemistry*. 2007;46(12):3856–3861. doi:10.1021/bi061359o.
120. Thies E, Mandelkow E-M. Missorting of tau in neurons causes degeneration of synapses that can be rescued by the kinase MARK2/Par-1. *J Neurosci*. 2007;27(11):2896–2907. doi:10.1523/JNEUROSCI.4674-06.2007.
121. Braak H, Del Tredici K. Evolutional aspects of Alzheimer's disease pathogenesis. *J Alzheimers Dis*. 2013;33 Suppl 1:S155-61. doi:10.3233/JAD-2012-129029.
122. Novak P, Zilka N, Zilkova M, Kovacech B, Skrabana R, Ondrus M, Fialova L, Kontsekova E, Otto M, Novak M. AADvac1, an Active Immunotherapy for Alzheimer's Disease and Non Alzheimer Tauopathies: An Overview of Preclinical and Clinical Development. *J Prev Alzheimers Dis*. 2019;6(1):63–69. doi:10.14283/jpad.2018.45.
123. Axon Neuroscience SE. Axon Presented Positive Phase II Trial Results of AADvac1 at AAT-AD/PD 2020. Wien: Cision PR Newswire; 2020 [accessed 2020 May 26]. <https://www.prnewswire.com/news-releases/axon-presented-positive-phase-ii-trial-results-of-aadvac1-at-aat-adpd-2020-301034742.html>.
124. Hoskin JL, Sabbagh MN, Al-Hasan Y, Decourt B. Tau immunotherapies for Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs*. 2019;28(6):545–554. doi:10.1080/13543784.2019.1619694.
125. Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol*. 2020;887:173554. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173554.
126. Qureshi IA, Tirucherai G, Ahlijanian MK, Kolaitis G, Bechtold C, Grundman M. A randomized, single ascending dose study of intravenous B1B092 in healthy participants. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2018;4:746–755. doi:10.1016/j.trci.2018.10.007.
127. Biogen. Biogen Reports Top-Line Results from Phase 2 Study in Progressive Supranuclear Palsy. Geneva: Biogen; 2019 [accessed 2020 May 26]. <http://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-reports-top-line-results-phase-2-study-progressive>.
128. Wilcock GK, Gauthier S, Frisoni GB, Jia J, Hardlund JH, Moebius HJ, Bentham P, Kook KA, Schelter BO, Wischik DJ, et al. Potential of Low Dose Leuco-Methylthionium Bis(Hydromethanesulphonate) (LMTM) Monotherapy for Treatment of Mild Alzheimer's Disease: Cohort Analysis as Modified Primary Outcome in a Phase III Clinical Trial. *J Alzheimers Dis*. 2018;61(1):435–457. doi:10.3233/JAD-170560.
129. Wischik CM, Schelter BO, Wischik DJ, Storey JMD, Harrington CR. Modeling Prion-Like Processing of Tau Protein in Alzheimer's Disease for Pharmaceutical Development. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(3):1287–1303. doi:10.3233/JAD-170727.
130. Harrington C. Efficacy and safety of Tau-Aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate AD, a randomised, controlled, double-blind parallel-arm, phase 3 trial.
131. Bushak L. Alzheimer's Drug Targeting Tau Protein to Start New Clinical Trials. San Francisco: Being Patient; 2019 [accessed 2020 May 27]. <https://www.beingpatient.com/lmtm-clinical-trials/>.
132. Kinnings SL, Jackson RM. Binding site similarity analysis for the functional classification of the protein kinase family. *J Chem Inf Model*. 2009;49(2):318–329. doi:10.1021/ci800289y.
133. Kornev AP, Taylor SS. Defining the conserved internal architecture of a protein kinase. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1804(3):440–444. doi:10.1016/j.bbapap.2009.10.017.
134. Roskoski R. Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors. *Pharmacol Res*. 2019;144:19–50. doi:10.1016/j.phrs.2019.03.006.
135. Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome. *Science*. 2002;298(5600):1912–1934. doi:10.1126/science.1075762.

Literaturverzeichnis

136. Kornev AP, Taylor SS. Dynamics-Driven Allostery in Protein Kinases. *Trends in Biochemical Sciences*. 2015;40(11):628–647. doi:10.1016/j.tibs.2015.09.002.
137. Roskoski R. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes. *Pharmacol Res*. 2016;103:26–48. doi:10.1016/j.phrs.2015.10.021.
138. van Linden OPJ, Kooistra AJ, Leurs R, Esch IJP de, Graaf C de. KLIFS: a knowledge-based structural database to navigate kinase-ligand interaction space. *J Med Chem*. 2014;57(2):249–277. doi:10.1021/jm400378w.
139. Vulpetti A, Bosotti R. Sequence and structural analysis of kinase ATP pocket residues. *Farmacol*. 2004;59(10):759–765. doi:10.1016/j.farmac.2004.05.010.
140. Schwartz PA, Murray BW. Protein kinase biochemistry and drug discovery. *Bioorg Chem*. 2011;39(5-6):192–210. doi:10.1016/j.bioorg.2011.07.004.
141. Zuccotto F, Ardini E, Casale E, Angiolini M. Through the "gatekeeper door": exploiting the active kinase conformation. *J Med Chem*. 2010;53(7):2681–2694. doi:10.1021/jm901443h.
142. Cavallini A, Brewerton S, Bell A, Sargent S, Glover S, Hardy C, Moore R, Calley J, Ramachandran D, Poidinger M, et al. An unbiased approach to identifying tau kinases that phosphorylate tau at sites associated with Alzheimer disease. *J Biol Chem*. 2013;288(32):23331–23347. doi:10.1074/jbc.M113.463984.
143. Martin L, Latypova X, Wilson CM, Magnaudeix A, Perrin M-L, Yardin C, Terro F. Tau protein kinases: involvement in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*. 2013;12(1):289–309. doi:10.1016/j.arr.2012.06.003.
144. Toral-Rios D, Pichardo-Rojas PS, Alonso-Vanegas M, Campos-Peña V. GSK3 β and Tau Protein in Alzheimer's Disease and Epilepsy. *Front Cell Neurosci*. 2020;14:19. doi:10.3389/fncel.2020.00019.
145. Beurel E, Grieco SF, Jope RS. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases. *Pharmacol Ther*. 2015;148:114–131. doi:10.1016/j.pharmthera.2014.11.016.
146. Duda P, Wiśniewski J, Wójtowicz T, Wójcicka O, Jaśkiewicz M, Drulis-Fajdasz D, Rakus D, McCubrey JA, Gizak A. Targeting GSK3 signaling as a potential therapy of neurodegenerative diseases and aging. *Expert Opin Ther Targets*. 2018;22(10):833–848. doi:10.1080/14728222.2018.1526925.
147. Jaworski T, Banach-Kasper E, Gralec K. GSK-3 β at the Intersection of Neuronal Plasticity and Neurodegeneration. *Neural Plast*. 2019;2019:4209475. doi:10.1155/2019/4209475.
148. Kirouac L, Rajic AJ, Cribbs DH, Padmanabhan J. Activation of Ras-ERK Signaling and GSK-3 by Amyloid Precursor Protein and Amyloid Beta Facilitates Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *eNeuro*. 2017;4(2). doi:10.1523/ENEURO.0149-16.2017.
149. Kremer A, Louis JV, Jaworski T, van Leuven F. GSK3 and Alzheimer's Disease: Facts and Fiction... *Front Mol Neurosci*. 2011;4:17. doi:10.3389/fnmol.2011.00017.
150. Ma T. GSK3 in Alzheimer's disease: mind the isoforms. *J Alzheimers Dis*. 2014;39(4):707–710. doi:10.3233/JAD-131661.
151. Braicu C, Buse M, Busuioc C, Drula R, Gulei D, Raduly L, Rusu A, Irimie A, Atanasov AG, Slaby O, et al. A Comprehensive Review on MAPK: A Promising Therapeutic Target in Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(10). doi:10.3390/cancers11101618.
152. Kim EK, Choi E-J. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update. *Arch Toxicol*. 2015;89(6):867–882. doi:10.1007/s00204-015-1472-2.
153. Wild EJ, Tabrizi SJ. Targets for future clinical trials in Huntington's disease: what's in the pipeline? *Mov Disord*. 2014;29(11):1434–1445. doi:10.1002/mds.26007.
154. Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2011;75(1):50–83. doi:10.1128/MMBR.00031-10.
155. Yarza R, Vela S, Solas M, Ramirez MJ. c-Jun N-terminal Kinase (JNK) Signaling as a Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. *Front Pharmacol*. 2015;6:321. doi:10.3389/fphar.2015.00321.

156. Chen J-T, Lu D-H, Chia C-P, Ruan D-Y, Sabapathy K, Xiao Z-C. Impaired long-term potentiation in c-Jun N-terminal kinase 2-deficient mice. *J Neurochem.* 2005;93(2):463–473. doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03037.x.
157. Mehan S, Meena H, Sharma D, Sankhla R. JNK: a stress-activated protein kinase therapeutic strategies and involvement in Alzheimer's and various neurodegenerative abnormalities. *J Mol Neurosci.* 2011;43(3):376–390. doi:10.1007/s12031-010-9454-6.
158. Cui J, Zhang M, Zhang Y-Q, Xu Z-H. JNK pathway: diseases and therapeutic potential. *Acta Pharmacol Sin.* 2007;28(5):601–608. doi:10.1111/j.1745-7254.2007.00579.x.
159. Zeke A, Misheva M, Reményi A, Bogoyevitch MA. JNK Signaling: Regulation and Functions Based on Complex Protein-Protein Partnerships. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016;80(3):793–835. doi:10.1128/MMBR.00043-14.
160. Cioffi F, Adam RHI, Broersen K. Molecular Mechanisms and Genetics of Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2019;72(4):981–1017. doi:10.3233/JAD-190863.
161. Barage SH, Sonawane KD. Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides.* 2015;52:1–18. doi:10.1016/j.npep.2015.06.008.
162. Coffey ET. Nuclear and cytosolic JNK signalling in neurons. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15(5):285–299. doi:10.1038/nrn3729.
163. Lee M-S, Kao S-C, Lemere CA, Xia W, Tseng H-C, Zhou Y, Neve R, Ahljianian MK, Tsai L-H. APP processing is regulated by cytoplasmic phosphorylation. *J Cell Biol.* 2003;163(1):83–95. doi:10.1083/jcb.200301115.
164. Sergeant N, Bretteville A, Hamdane M, Caillet-Boudin M-L, Grognet P, Bombois S, Blum D, Delacourte A, Pasquier F, Vanmechelen E, et al. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev Proteomics.* 2008;5(2):207–224. doi:10.1586/14789450.5.2.207.
165. Rai SN, Dilnashin H, Birla H, Singh SS, Zahra W, Rathore AS, Singh BK, Singh SP. The Role of PI3K/Akt and ERK in Neurodegenerative Disorders. *Neurotox Res.* 2019;35(3):775–795. doi:10.1007/s12640-019-0003-y.
166. Cruz CD, Cruz F. The ERK 1 and 2 pathway in the nervous system: from basic aspects to possible clinical applications in pain and visceral dysfunction. *Curr Neuropharmacol.* 2007;5(4):244–252. doi:10.2174/157015907782793630.
167. Pei J-J, Braak H, An W-L, Winblad B, Cowburn RF, Iqbal K, Grundke-Iqbal I. Up-regulation of mitogen-activated protein kinases ERK1/2 and MEK1/2 is associated with the progression of neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. *Molecular Brain Research.* 2002;109(1-2):45–55. doi:10.1016/S0169-328X(02)00488-6.
168. Frasca G, Chiechio S, Vancheri C, Nicoletti F, Copani A, Angela Sortino M. β -Amyloid-Activated Cell Cycle in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells: Correlation with the MAP Kinase Pathway. *JMN.* 2004;22(3):231–236. doi:10.1385/JMN:22:3:231.
169. Ghasemi R, Moosavi M, Zarifkar A, Rastegar K, Maghsoudi N. The Interplay of Akt and ERK in A β Toxicity and Insulin-Mediated Protection in Primary Hippocampal Cell Culture. *J Mol Neurosci.* 2015;57(3):325–334. doi:10.1007/s12031-015-0622-6.
170. Cheng W, Yang Z, Wang S, Li Y, Wei H, Tian X, Kan Q. Recent development of CDK inhibitors: An overview of CDK/inhibitor co-crystal structures. *Eur J Med Chem.* 2019;164:615–639. doi:10.1016/j.ejmech.2019.01.003.
171. Wood DJ, Endicott JA. Structural insights into the functional diversity of the CDK-cyclin family. *Open Biol.* 2018;8(9). doi:10.1098/rsob.180112.
172. Echalié A, Endicott JA, Noble MEM. Recent developments in cyclin-dependent kinase biochemical and structural studies. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1804(3):511–519. doi:10.1016/j.bbapap.2009.10.002.
173. Malumbres M. Cyclin-dependent kinases. *Genome Biol.* 2014;15(6):122. doi:10.1186/gb4184.
174. Pavletich NP. Mechanisms of cyclin-dependent kinase regulation: structures of Cdk's, their cyclin activators, and Cip and INK4 inhibitors. *J Mol Biol.* 1999;287(5):821–828. doi:10.1006/jmbi.1999.2640.
175. Vijayaraghavan S, Moulder S, Keyomarsi K, Layman RM. Inhibiting CDK in Cancer Therapy: Current Evidence and Future Directions. *Target Oncol.* 2018;13(1):21–38. doi:10.1007/s11523-017-0541-2.

Literaturverzeichnis

176. Jeronimo C, Collin P, Robert F. The RNA Polymerase II CTD: The Increasing Complexity of a Low-Complexity Protein Domain. *J Mol Biol.* 2016;428(12):2607–2622. doi:10.1016/j.jmb.2016.02.006.
177. Cortés N, Guzmán-Martínez L, Andrade V, González A, Maccioni RB. CDK5: A Unique CDK and Its Multiple Roles in the Nervous System. *J Alzheimers Dis.* 2019;68(3):843–855. doi:10.3233/JAD-180792.
178. Shah K, Rossie S. Tale of the Good and the Bad Cdk5: Remodeling of the Actin Cytoskeleton in the Brain. *Mol Neurobiol.* 2018;55(4):3426–3438. doi:10.1007/s12035-017-0525-3.
179. Piedrahita D, Hernández I, López-Tobón A, Fedorov D, Obara B, Manjunath BS, Boudreau RL, Davidson B, Laferla F, Gallego-Gómez JC, et al. Silencing of CDK5 reduces neurofibrillary tangles in transgenic alzheimer's mice. *J Neurosci.* 2010;30(42):13966–13976. doi:10.1523/JNEUROSCI.3637-10.2010.
180. Liu S-L, Wang C, Jiang T, Tan L, Xing A, Yu J-T. The Role of Cdk5 in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol.* 2016;53(7):4328–4342. doi:10.1007/s12035-015-9369-x.
181. Lee KH, Lee S-J, Lee HJ, Choi GE, Jung YH, Kim DI, Gabr AA, Ryu JM, Han HJ. Amyloid β 1-42 (A β 1-42) Induces the CDK2-Mediated Phosphorylation of Tau through the Activation of the mTORC1 Signaling Pathway While Promoting Neuronal Cell Death. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:229. doi:10.3389/fnmol.2017.00229.
182. Lopes JP, Oliveira CR, Agostinho P. Neurodegeneration in an Abeta-induced model of Alzheimer's disease: the role of Cdk5. *Aging Cell.* 2010;9(1):64–77. doi:10.1111/j.1474-9726.2009.00536.x.
183. Sanphui P, Pramanik SK, Chatterjee N, Moorthi P, Banerji B, Biswas SC. Efficacy of cyclin dependent kinase 4 inhibitors as potent neuroprotective agents against insults relevant to Alzheimer's disease. *PLoS ONE.* 2013;8(11):e78842. doi:10.1371/journal.pone.0078842.
184. Copani A, Condorelli F, Caruso A, Vancheri C, Sala A, Giuffrida Stella AM, Canonico PL, Nicoletti F, Sortino MA. Mitotic signaling by beta-amyloid causes neuronal death. *FASEB J.* 1999;13(15):2225–2234.
185. Hernández-Ortega K, Quiroz-Baez R, Arias C. Cell cycle reactivation in mature neurons: a link with brain plasticity, neuronal injury and neurodegenerative diseases? *Neurosci Bull.* 2011;27(3):185–196. doi:10.1007/s12264-011-1002-z.
186. van Leeuwen LAG, Hoozemans JJM. Physiological and pathophysiological functions of cell cycle proteins in post-mitotic neurons: implications for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2015;129(4):511–525. doi:10.1007/s00401-015-1382-7.
187. Marlier Q, Jibassia F, Verteneuil S, Linden J, Kaldis P, Meijer L, Nguyen L, Vandenbosch R, Malgrange B. Genetic and pharmacological inhibition of Cdk1 provides neuroprotection towards ischemic neuronal death. *Cell Death Discov.* 2018;4:43. doi:10.1038/s41420-018-0044-7.
188. Yang K, Belrose J, Trepanier CH, Lei G, Jackson MF, MacDonald JF. Fyn, a potential target for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2011;27(2):243–252. doi:10.3233/JAD-2011-110353.
189. Knox R, Jiang X. Fyn in Neurodevelopment and Ischemic Brain Injury. *Dev Neurosci.* 2015;37(4-5):311–320. doi:10.1159/000369995.
190. Huculeci R, Buts L, Lenaerts T, van Nuland NAJ, Garcia-Pino A. Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the Fyn SH2 domain and its complex with a phosphotyrosine peptide. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 2012;68(Pt 3):359–364. doi:10.1107/S1744309112004186.
191. Lau DHW, Hogseth M, Phillips EC, O'Neill MJ, Pooler AM, Noble W, Hanger DP. Critical residues involved in tau binding to fyn: implications for tau phosphorylation in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2016;4(1):49. doi:10.1186/s40478-016-0317-4.
192. Jelić D, Mildner B, Kostrun S, Nujić K, Verbanac D, Culić O, Antolović R, Brandt W. Homology modeling of human Fyn kinase structure: discovery of rosmarinic acid as a new Fyn kinase inhibitor and in silico study of its possible binding modes. *J Med Chem.* 2007;50(6):1090–1100. doi:10.1021/jm0607202.
193. Schenone S, Brullo C, Musumeci F, Biava M, Falchi F, Botta M. Fyn kinase in brain diseases and cancer: the search for inhibitors. *Curr Med Chem.* 2011;18(19):2921–2942. doi:10.2174/092986711796150531.

Literaturverzeichnis

194. Nygaard HB. Targeting Fyn Kinase in Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry*. 2018;83(4):369–376. doi:10.1016/j.biopsych.2017.06.004.
195. Goldsmith JF, Hall CG, Atkinson TP. Identification of an alternatively spliced isoform of the fyn tyrosine kinase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;298(4):501–504. doi:10.1016/S0006-291X(02)02510-X.
196. Kinoshita T, Matsubara M, Ishiguro H, Okita K, Tada T. Structure of human Fyn kinase domain complexed with staurosporine. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;346(3):840–844. doi:10.1016/j.bbrc.2006.05.212.
197. Palacios EH, Weiss A. Function of the Src-family kinases, Lck and Fyn, in T-cell development and activation. *Oncogene*. 2004;23(48):7990–8000. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15489916/>. doi:10.1038/sj.onc.1208074.
198. Nakamura Y, Darnieder LM, Deeb TZ, Moss SJ. Regulation of GABAARs by phosphorylation. *Adv Pharmacol*. 2015;72:97–146. doi:10.1016/bs.apha.2014.11.008.
199. Um JW, Strittmatter SM. Amyloid- β induced signaling by cellular prion protein and Fyn kinase in Alzheimer disease. *Prion*. 2013;7(1):37–41. doi:10.4161/pri.22212.
200. Nygaard HB, van Dyck CH, Strittmatter SM. Fyn kinase inhibition as a novel therapy for Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2014;6(1):8. doi:10.1186/alzrt238.
201. Li C, Götz J. Somatodendritic accumulation of Tau in Alzheimer's disease is promoted by Fyn-mediated local protein translation. *EMBO J*. 2017;36(21):3120–3138. doi:10.15252/embj.201797724.
202. Boehm J. A 'danse macabre': tau and Fyn in STEP with amyloid beta to facilitate induction of synaptic depression and excitotoxicity. *Eur J Neurosci*. 2013;37(12):1925–1930. doi:10.1111/ejn.12251.
203. Zempel H, Mandelkow E. Lost after translation: missorting of Tau protein and consequences for Alzheimer disease. *Trends Neurosci*. 2014;37(12):721–732. doi:10.1016/j.tins.2014.08.004.
204. Haas LT, Salazar SV, Kostylev MA, Um JW, Kaufman AC, Strittmatter SM. Metabotropic glutamate receptor 5 couples cellular prion protein to intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Brain*. 2016;139(Pt 2):526–546. doi:10.1093/brain/awv356.
205. Ittner LM, Ke YD, Delerue F, Bi M, Gladbach A, van Eersel J, Wölfing H, Chieng BC, Christie MJ, Napier IA, et al. Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*. 2010;142(3):387–397. doi:10.1016/j.cell.2010.06.036.
206. Roberson ED, Halabisky B, Yoo JW, Yao J, Chin J, Yan F, Wu T, Hamto P, Devidze N, Yu G-Q, et al. Amyloid- β /Fyn-induced synaptic, network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease. *J. Neurosci*. 2011;31(2):700–711. doi:10.1523/JNEUROSCI.4152-10.2011.
207. Kaufman AC, Salazar SV, Haas LT, Yang J, Kostylev MA, Jeng AT, Robinson SA, Gunther EC, van Dyck CH, Nygaard HB, et al. Fyn inhibition rescues established memory and synapse loss in Alzheimer mice. *Ann Neurol*. 2015;77(6):953–971. doi:10.1002/ana.24394.
208. Panicker RC, Chattopadhyaya S, Coyne AG, Srinivasan R. Allosteric Small-Molecule Serine/Threonine Kinase Inhibitors. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1163:253–278. doi:10.1007/978-981-13-8719-7_11.
209. Huang D, Zhou T, Lafleur K, Nevado C, Cafilisch A. Kinase selectivity potential for inhibitors targeting the ATP binding site: a network analysis. *Bioinformatics*. 2010;26(2):198–204. doi:10.1093/bioinformatics/btp650.
210. Assadieskandar A, Yu C, Maisonneuve P, Liu X, Chen Y-C, Prakash GKS, Kurinov I, Sicheri F, Zhang C. Effects of rigidity on the selectivity of protein kinase inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2018;146:519–528. doi:10.1016/j.ejmech.2018.01.053.
211. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, Schwartz B, Simantov R, Kelley S. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(10):835–844. doi:10.1038/nrd2130.
212. Myers SH, Brunton VG, Unciti-Broceta A. AXL Inhibitors in Cancer: A Medicinal Chemistry Perspective. *J Med Chem*. 2016;59(8):3593–3608. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b01273.

Literaturverzeichnis

213. Vandana Lamba, Indraneel Ghosh. New Directions in Targeting Protein Kinases: Focusing Upon True Allosteric and Bivalent Inhibitors.
214. Jope RS. Lithium and GSK-3: one inhibitor, two inhibitory actions, multiple outcomes. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2003;24(9):441–443. doi:10.1016/S0165-6147(03)00206-2.
215. Beaulieu J-M, Marion S, Rodriguiz RM, Medvedev IO, Sotnikova TD, Ghisi V, Wetsel WC, Lefkowitz RJ, Gainetdinov RR, Caron MG. A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behavior. *Cell*. 2008;132(1):125–136. doi:10.1016/j.cell.2007.11.041.
216. Young W. Review of lithium effects on brain and blood. *Cell Transplant*. 2009;18(9):951–975. doi:10.3727/096368909X471251.
217. Sarno P de, Li X, Jope RS. Regulation of Akt and glycogen synthase kinase-3 β phosphorylation by sodium valproate and lithium. *Neuropharmacology*. 2002;43(7):1158–1164. doi:10.1016/S0028-3908(02)00215-0.
218. Chalecka-Franaszek E, Chuang DM. Lithium activates the serine/threonine kinase Akt-1 and suppresses glutamate-induced inhibition of Akt-1 activity in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(15):8745–8750. doi:10.1073/pnas.96.15.8745.
219. Hampel H, Ewers M, Bürger K, Annas P, Mörtberg A, Bogstedt A, Frölich L, Schröder J, Schönknecht P, Riepe MW, et al. Lithium Trial in Alzheimer's Disease: a randomized, single-blind, placebo-controlled, multicenter 10-week study. *J. Clin. Psychiatry*. 2009;70(6):922–931. doi:10.4088/JCP.08m04606.
220. Forlenza OV, Diniz BS, Radanovic M, Santos FS, Talib LL, Gattaz WF. Disease-modifying properties of long-term lithium treatment for amnesic mild cognitive impairment: randomised controlled trial. *Br J Psychiatry*. 2011;198(5):351–356. doi:10.1192/bjp.bp.110.080044.
221. Nunes MA, Viel TA, Buck HS. Microdose lithium treatment stabilized cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2013;10(1):104–107. doi:10.2174/1567205011310010014.
222. Polychronopoulos P, Magiatis P, Skaltsounis A-L, Myrianthopoulos V, Mikros E, Tarricone A, Musacchio A, Roe SM, Pearl L, Leost M, et al. Structural basis for the synthesis of indirubins as potent and selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3 and cyclin-dependent kinases. *J Med Chem*. 2004;47(4):935–946. doi:10.1021/jm031016d.
223. Meijer L, Skaltsounis A-L, Magiatis P, Polychronopoulos P, Knockaert M, Leost M, Ryan XP, Vonica CA, Brivanlou A, Dajani R, et al. GSK-3-selective inhibitors derived from Tyrian purple indirubins. *Chem Biol*. 2003;10(12):1255–1266. doi:10.1016/j.chembiol.2003.11.010.
224. Vougiannopoulou K, Ferandin Y, Bettayeb K, Myrianthopoulos V, Lozach O, Fan Y, Johnson CH, Magiatis P, Skaltsounis A-L, Mikros E, et al. Soluble 3',6-substituted indirubins with enhanced selectivity toward glycogen synthase kinase-3 alter circadian period. *J Med Chem*. 2008;51(20):6421–6431. doi:10.1021/jm800648y.
225. Martin L, Magnaudeix A, Wilson CM, Yardin C, Terro F. The new indirubin derivative inhibitors of glycogen synthase kinase-3, 6-BIDECO and 6-BIMYEO, prevent tau phosphorylation and apoptosis induced by the inhibition of protein phosphatase-2A by okadaic acid in cultured neurons. *J. Neurosci. Res*. 2011;89(11):1802–1811. doi:10.1002/jnr.22723.
226. Georgievska B, Sandin J, Doherty J, Mörtberg A, Neelissen J, Andersson A, Gruber S, Nilsson Y, Schött P, Arvidsson PI, et al. AZD1080, a novel GSK3 inhibitor, rescues synaptic plasticity deficits in rodent brain and exhibits peripheral target engagement in humans. *J Neurochem*. 2013;125(3):446–456. doi:10.1111/jnc.12203.
227. Bhat RV, Andersson U, Andersson S, Knerr L, Bauer U, Sundgren-Andersson AK. The Conundrum of GSK3 Inhibitors: Is it the Dawn of a New Beginning? *J Alzheimers Dis*. 2018;64(s1):S547–S554. doi:10.3233/JAD-179934.
228. Hu S, Begum AN, Jones MR, Oh MS, Beech WK, Beech BH, Yang F, Chen P, Ubeda OJ, Kim PC, et al. GSK3 inhibitors show benefits in an Alzheimer's disease (AD) model of neurodegeneration but adverse effects in control animals. *Neurobiol Dis*. 2009;33(2):193–206. doi:10.1016/j.nbd.2008.10.007.

229. Selenica M-L, Jensen HS, Larsen AK, Pedersen ML, Helboe L, Leist M, Lotharius J. Efficacy of small-molecule glycogen synthase kinase-3 inhibitors in the postnatal rat model of tau hyperphosphorylation. *Br J Pharmacol.* 2007;152(6):959–979. doi:10.1038/sj.bjp.0707471.
230. Coghlan MP, Culbert AA, Cross DAE, Corcoran SL, Yates JW, Pearce NJ, Rausch OL, Murphy GJ, Carter PS, Roxbee Cox L, et al. Selective small molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 modulate glycogen metabolism and gene transcription. *Chem Biol.* 2000;7(10):793–803. doi:10.1016/S1074-5521(00)00025-9.
231. Cross DA, Culbert AA, Chalmers KA, Facci L, Skaper SD, Reith AD. Selective small-molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 activity protect primary neurones from death. *J Neurochem.* 2001;77(1):94–102. doi:10.1046/j.1471-4159.2001.t01-1-00251.x.
232. Martínez A, Alonso M, Castro A, Pérez C, Moreno FJ. First non-ATP competitive glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3beta) inhibitors: thiadiazolidinones (TDZD) as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem.* 2002;45(6):1292–1299. doi:10.1021/jm011020u.
233. Domínguez JM, Fuertes A, Orozco L, del Monte-Millán M, Delgado E, Medina M. Evidence for irreversible inhibition of glycogen synthase kinase-3 β by tideglusib. *J Biol Chem.* 2012;287(2):893–904. doi:10.1074/jbc.M111.306472.
234. Lovestone S, Boada M, Dubois B, Hüll M, Rinne JO, Huppertz H-J, Calero M, Andrés MV, Gómez-Carrillo B, León T, et al. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015;45(1):75–88. doi:10.3233/JAD-141959.
235. Serenó L, Coma M, Rodríguez M, Sánchez-Ferrer P, Sánchez MB, Gich I, Agulló JM, Pérez M, Avila J, Guardia-Laguarta C, et al. A novel GSK-3beta inhibitor reduces Alzheimer's pathology and rescues neuronal loss in vivo. *Neurobiol Dis.* 2009;35(3):359–367. doi:10.1016/j.nbd.2009.05.025.
236. Koehler D, Shah ZA, Williams FE. The GSK3 β inhibitor, TDZD-8, rescues cognition in a zebrafish model of okadaic acid-induced Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2019;122:31–37. doi:10.1016/j.neuint.2018.10.022.
237. Wu Q, Wu W, Jacevic V, Franca TCC, Wang X, Kuca K. Selective inhibitors for JNK signalling: a potential targeted therapy in cancer. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2020;35(1):574–583. doi:10.1080/14756366.2020.1720013.
238. Graczyk PP. JNK inhibitors as anti-inflammatory and neuroprotective agents. *Future Med Chem.* 2013;5(5):539–551. doi:10.4155/fmc.13.34.
239. Scapin G, Patel SB, Lisnock J, Becker JW, LoGrasso PV. The Structure of JNK3 in Complex with Small Molecule Inhibitors. *Chem Biol.* 2003;10(8):705–712. doi:10.1016/S1074-5521(03)00159-5.
240. Bennett BL, Sasaki DT, Murray BW, O'Leary EC, Sakata ST, Xu W, Leisten JC, Motiwala A, Pierce S, Satoh Y, et al. SP600125, an anthrapyrazolone inhibitor of Jun N-terminal kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(24):13681–13686. doi:10.1073/pnas.251194298.
241. Ramin M, Azizi P, Motamedi F, Haghparast A, Khodaghohi F. Inhibition of JNK phosphorylation reverses memory deficit induced by β -amyloid (1-42) associated with decrease of apoptotic factors. *Behav Brain Res.* 2011;217(2):424–431. doi:10.1016/j.bbr.2010.11.017.
242. Bamji-Mirza M, Callaghan D, Najem D, Shen S, Hasim MS, Yang Z, Zhang W. Stimulation of insulin signaling and inhibition of JNK-AP1 activation protect cells from amyloid- β -induced signaling dysregulation and inflammatory response. *J Alzheimers Dis.* 2014;40(1):105–122. doi:10.3233/JAD-131949.
243. Bain J, McLauchlan H, Elliott M, Cohen P. The specificities of protein kinase inhibitors: an update. *Biochem J.* 2003;371(Pt 1):199–204. doi:10.1042/BJ20021535.
244. Borsello T, Clarke PGH, Hirt L, Vercelli A, Repici M, Schorderet DF, Bogousslavsky J, Bonny C. A peptide inhibitor of c-Jun N-terminal kinase protects against excitotoxicity and cerebral ischemia. *Nat Med.* 2003;9(9):1180–1186. doi:10.1038/nm911.
245. Borsello T, Bonny C. Use of cell-permeable peptides to prevent neuronal degeneration. *Trends Mol Med.* 2004;10(5):239–244. doi:10.1016/j.molmed.2004.03.008.

Literaturverzeichnis

246. Schwarze SR, Hruska KA, Dowdy SF. Protein transduction: unrestricted delivery into all cells? *Trends in Cell Biology*. 2000;10(7):290–295. doi:10.1016/S0962-8924(00)01771-2.
247. Han S-Y. c-Jun N-Terminal Kinase Signaling Inhibitors Under Development. *Toxicol Res*. 2008;24(2):93–100. doi:10.5487/TR.2008.24.2.093.
248. Sclip A, Antoniou X, Colombo A, Camici GG, Pozzi L, Cardinetti D, Feligioni M, Veglianesi P, Bahlmann FH, Cervo L, et al. c-Jun N-terminal kinase regulates soluble A β oligomers and cognitive impairment in AD mouse model. *J Biol Chem*. 2011;286(51):43871–43880. doi:10.1074/jbc.M111.297515.
249. Maik-Rachline G, Hacohen-Lev-Ran A, Seger R. Nuclear ERK: Mechanism of Translocation, Substrates, and Role in Cancer. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5). doi:10.3390/ijms20051194.
250. Roskoski R. Targeting ERK1/2 protein-serine/threonine kinases in human cancers. *Pharmacol Res*. 2019;142:151–168. doi:10.1016/j.phrs.2019.01.039.
251. National Cancer Institute. Clinical Trials Using Ulixertinib. Bethesda, Maryland: National Cancer Institute; 2020 [updated 2020 Jun 23; accessed 2020 Jun 23]. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/clinical-trials/intervention/ulixertinib>.
252. Sullivan RJ, Infante JR, Janku F, Wong DJL, Sosman JA, Keedy V, Patel MR, Shapiro GI, Mier JW, Tolcher AW, et al. First-in-Class ERK1/2 Inhibitor Ulixertinib (BVD-523) in Patients with MAPK Mutant Advanced Solid Tumors: Results of a Phase I Dose-Escalation and Expansion Study. *Cancer Discov*. 2018;8(2):184–195. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-1119.
253. Shin M, Franks CE, Hsu K-L. Isoform-selective activity-based profiling of ERK signaling. *Chem Sci*. 2018;9(9):2419–2431. doi:10.1039/c8sc00043c.
254. Wang X, Wang Y, Zhu Y, Yan L, Zhao L. Neuroprotective Effect of S-trans, Trans-farnesylthiosalicylic Acid via Inhibition of RAS/ERK Pathway for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13:4053–4063. doi:10.2147/DDDT.S233283.
255. Knockaert M, Greengard P, Meijer L. Pharmacological inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2002;23(9):417–425. doi:10.1016/S0165-6147(02)02071-0.
256. Wood DJ, Korolchuk S, Tatum NJ, Wang L-Z, Endicott JA, Noble MEM, Martin MP. Differences in the Conformational Energy Landscape of CDK1 and CDK2 Suggest a Mechanism for Achieving Selective CDK Inhibition. *Cell Chem Biol*. 2019;26(1):121-130.e5. doi:10.1016/j.chembiol.2018.10.015.
257. Miranda-Barrientos J, Nieto-Mendoza E, Hernández-Echeagaray E. The Cdk5 inhibitor Roscovitine increases LTP induction in corticostriatal synapses. *ASN Neuro*. 2014;6(2). doi:10.1042/AN20140006.
258. Sadleir KR, Vassar R. Cdk5 protein inhibition and A β 42 increase BACE1 protein level in primary neurons by a post-transcriptional mechanism: implications of CDK5 as a therapeutic target for Alzheimer disease. *J Biol Chem*. 2012;287(10):7224–7235. doi:10.1074/jbc.M111.333914.
259. Khalil HS, Mitev V, Vlaykova T, Cavicchi L, Zhelev N. Discovery and development of Seliciclib. How systems biology approaches can lead to better drug performance. *J Biotechnol*. 2015;202:40–49. doi:10.1016/j.jbiotec.2015.02.032.
260. Poratti M, Marzaro G. Third-generation CDK inhibitors: A review on the synthesis and binding modes of Palbociclib, Ribociclib and Abemaciclib. *Eur J Med Chem*. 2019;172:143–153. doi:10.1016/j.ejmech.2019.03.064.
261. Liu J, Yang J, Xu Y, Guo G, Cai L, Wu H, Zhao Y, Zhang X. Roscovitine, a CDK5 Inhibitor, Alleviates Sevoflurane-Induced Cognitive Dysfunction via Regulation Tau/GSK3 β and ERK/PPAR γ /CREB Signaling. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(2):423–435. doi:10.1159/000485008.
262. Zhang M, Li J, Chakrabarty P, Bu B, Vincent I. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors Attenuate Protein Hyperphosphorylation, Cytoskeletal Lesion Formation, and Motor Defects in Niemann-Pick Type C Mice. *The American Journal of Pathology*. 2004;165(3):843–853. doi:10.1016/S0002-9440(10)63347-0.

263. MacLeod R, Hillert E-K, Cameron RT, Baillie GS. The role and therapeutic targeting of α -, β - and γ -secretase in Alzheimer's disease. *Future Sci OA*. 2015;1(3):FSO11. doi:10.4155/fso.15.9.
264. Alvarez A, Toro R, Cáceres A, Maccioni RB. Inhibition of tau phosphorylating protein kinase cdk5 prevents β -amyloid-induced neuronal death. *FEBS Lett*. 1999;459(3):421–426. doi:10.1016/S0014-5793(99)01279-X.
265. Meijer L, Guidet S, Tung HYL. *Progress in Cell Cycle Research: Volume 1* [Seite 356]. Boston, MA: Springer US; 1995. 373 p. (Progress in Cell Cycle Research). ISBN: 1461518091.
266. Kitagawa M, Okabe T, Ogino H, Matsumoto H, Suzuki-Takahashi I, Kokubo T, Higashi H, Saitoh S, Taya Y, Yasuda H. Butyrolactone I, a selective inhibitor of cdk2 and cdc2 kinase. *Oncogene*. 1993;8(9):2425–2432.
267. Soni R, Muller L, Furet P, Schoepfer J, Stephan C, Zumstein-Mecker S, Fretz H, Chaudhuri B. Inhibition of cyclin-dependent kinase 4 (Cdk4) by fascaplysin, a marine natural product. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;275(3):877–884. doi:10.1006/bbrc.2000.3349.
268. Zhu G, Conner SE, Zhou X, Shih C, Li T, Anderson BD, Brooks HB, Campbell RM, Considine E, Dempsey JA, et al. Synthesis, structure-activity relationship, and biological studies of indolocarbazoles as potent cyclin D1-CDK4 inhibitors. *J Med Chem*. 2003;46(11):2027–2030. doi:10.1021/jm0256169.
269. Laderian B, Fojo T. CDK4/6 Inhibition as a therapeutic strategy in breast cancer: palbociclib, ribociclib, and abemaciclib. *Semin Oncol*. 2017;44(6):395–403. doi:10.1053/j.seminoncol.2018.03.006.
270. van Dyck CH, Nygaard HB, Chen K, Donohue MC, Raman R, Rissman RA, Brewer JB, Koeppe RA, Chow TW, Rafii MS, et al. Effect of AZD0530 on Cerebral Metabolic Decline in Alzheimer Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol*. 2019. doi:10.1001/jamaneurol.2019.2050.
271. Folch J, Petrov D, Ettcheto M, Pedrós I, Abad S, Beas-Zarate C, Lazarowski A, Marin M, Olloquequi J, Auladell C, et al. Masitinib for the treatment of mild to moderate Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*. 2015;15(6):587–596. doi:10.1586/14737175.2015.1045419.
272. Piette F, Belmin J, Vincent H, Schmidt N, Pariel S, Verny M, Marquis C, Mely J, Hugonot-Diener L, Kinet J-P, et al. Masitinib as an adjunct therapy for mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *Alzheimers Res Ther*. 2011;3(2):16. doi:10.1186/alzrt75.
273. AB Science. Interim results of masitinib study in Alzheimer's disease: positive trend of efficacy in one of the doses tested. Paris: AB Science; 2019. http://www.ab-science.com/images/_pdf/CP_AD_Interim_VEng_VF.pdf.
274. Nygaard HB, Wagner AF, Bowen GS, Good SP, MacAvoy MG, Strittmatter KA, Kaufman AC, Rosenberg BJ, Sekine-Konno T, Varma P, et al. A phase Ib multiple ascending dose study of the safety, tolerability, and central nervous system availability of AZD0530 (saracatinib) in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2015;7(1):35. doi:10.1186/s13195-015-0119-0.
275. Lortholary O, Chandesris MO, Livideanu CB, Paul C, Guillet G, Jassem E, Niekoszko M, Barete S, Verstovsek S, Grattan C, et al. Masitinib for treatment of severely symptomatic indolent systemic mastocytosis: a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *The Lancet*. 2017;389(10069):612–620. doi:10.1016/S0140-6736(16)31403-9.
276. Trias E, Ibarburu S, Barreto-Núñez R, Babdor J, Maciel TT, Guillo M, Gros L, Dubreuil P, Díaz-Amarilla P, Cassina P, et al. Post-paralysis tyrosine kinase inhibition with masitinib abrogates neuroinflammation and slows disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1):177. doi:10.1186/s12974-016-0620-9.
277. Dubreuil P, Letard S, Ciufolini M, Gros L, Humbert M, Castéran N, Borge L, Hajem B, Lermet A, Sippl W, et al. Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PLoS ONE*. 2009;4(9):e7258. doi:10.1371/journal.pone.0007258.
278. Hennequin LF, Allen J, Breed J, Curwen J, Fennell M, Green TP, Lambert-van der Brempt C, Morgentin R, Norman RA, Olivier A, et al. N-(5-chloro-1,3-benzodioxol-4-yl)-7-2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethoxy-5- (tetrahydro-2H-

Literaturverzeichnis

- pyran-4-yloxy)quinazolin-4-amine, a novel, highly selective, orally available, dual-specific c-Src/Abl kinase inhibitor. *J Med Chem.* 2006;49(22):6465–6488. doi:10.1021/jm060434q.
279. Hanke JH, Gardner JP, Dow RL, Changelian PS, Brissette WH, Weringer EJ, Pollok BA, Connelly PA. Discovery of a novel, potent, and Src family-selective tyrosine kinase inhibitor. Study of Lck- and FynT-dependent T cell activation. *J Biol Chem.* 1996;271(2):695–701. doi:10.1074/jbc.271.2.695.
280. Boschelli DH, Ye F, Wang YD, Dutia M, Johnson SL, Wu B, Miller K, Powell DW, Yaczko D, Young M, et al. Optimization of 4-phenylamino-3-quinolinecarbonitriles as potent inhibitors of Src kinase activity. *J Med Chem.* 2001;44(23):3965–3977. doi:10.1021/jm0102250.
281. Das J, Chen P, Norris D, Padmanabha R, Lin J, Moquin RV, Shen Z, Cook LS, Doweiko AM, Pitt S, et al. 2-aminothiazole as a novel kinase inhibitor template. Structure-activity relationship studies toward the discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-6-4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl-2-methyl-4-pyrimidinylamino-1,3-thiazole-5-carboxamide (dasatinib, BMS-354825) as a potent pan-Src kinase inhibitor. *J Med Chem.* 2006;49(23):6819–6832. doi:10.1021/jm060727j.
282. García-Gutiérrez V, Hernández-Boluda JC. Tyrosine Kinase Inhibitors Available for Chronic Myeloid Leukemia: Efficacy and Safety. *Front Oncol.* 2019;9:603. doi:10.3389/fonc.2019.00603.
283. Lonskaya I, Hebron ML, Selby ST, Turner RS, Moussa CE-H. Nilotinib and bosutinib modulate pre-plaque alterations of blood immune markers and neuro-inflammation in Alzheimer's disease models. *Neuroscience.* 2015;304:316–327. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.07.070.
284. Dhawan G, Combs CK. Inhibition of Src kinase activity attenuates amyloid associated microgliosis in a murine model of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2012;9:117. doi:10.1186/1742-2094-9-117.
285. Zhang P, Kishimoto Y, Grammatikakis I, Gottimukkala K, Cutler RG, Zhang S, Abdelmohsen K, Bohr VA, Misra Sen J, Gorospe M, et al. Senolytic therapy alleviates A β -associated oligodendrocyte progenitor cell senescence and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Nat Neurosci.* 2019;22(5):719–728. doi:10.1038/s41593-019-0372-9.
286. Zhu Y, Tchkonina T, Pirtskhalava T, Gower AC, Ding H, Giorgadze N, Palmer AK, Ikeno Y, Hubbard GB, Lenburg M, et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell.* 2015;14(4):644–658. doi:10.1111/accel.12344.
287. Xi H-Q, Wu X-S, Wei B, Chen L. Eph receptors and ephrins as targets for cancer therapy. *J Cell Mol Med.* 2012;16(12):2894–2909. doi:10.1111/j.1582-4934.2012.01612.x.
288. Thaimattam R, Banerjee R, Miglani R, Iqbal J. Protein kinase inhibitors: structural insights into selectivity. *Curr Pharm Des.* 2007;13(27):2751–2765. doi:10.2174/138161207781757042.
289. Bhat R, Xue Y, Berg S, Hellberg S, Ormö M, Nilsson Y, Radesäter A-C, Jerning E, Markgren P-O, Borgegård T, et al. Structural insights and biological effects of glycogen synthase kinase 3-specific inhibitor AR-A014418. *J Biol Chem.* 2003;278(46):45937–45945. doi:10.1074/jbc.M306268200.
290. Musk P. Magic shotgun methods for developing drugs for CNS disorders. *Discov Med.* 2004;4(23):299–302.
291. Ismaili L, do Carmo Carreiras M. Multicomponent Reactions for Multitargeted Compounds for Alzheimer's Disease. *Curr Top Med Chem.* 2017;17(31):3319–3327. doi:10.2174/1568026618666180112155424.
292. Zhang P, Xu S, Zhu Z, Xu J. Multi-target design strategies for the improved treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem.* 2019;176:228–247. doi:10.1016/j.ejmech.2019.05.020.
293. Cruz MI, Cidade H, Pinto M. Dual/multitargeted xanthone derivatives for Alzheimer's disease: where do we stand? *Future Med Chem.* 2017;9(14):1611–1630. doi:10.4155/fmc-2017-0086.
294. Corneć A-S, Monti L, Kovalevich J, Makani V, James MJ, Vijayendran KG, Oukoloff K, Yao Y, Lee VM-Y, Trojanowski JQ, et al. Multitargeted Imidazoles: Potential Therapeutic Leads for Alzheimer's and Other Neurodegenerative Diseases. *J Med Chem.* 2017;60(12):5120–5145. doi:10.1021/acs.jmedchem.7b00475.

295. Gandini A, Bartolini M, Tedesco D, Martinez-Gonzalez L, Roca C, Campillo NE, Zaldivar-Diez J, Perez C, Zuccheri G, Miti A, et al. Tau-Centric Multitarget Approach for Alzheimer's Disease: Development of First-in-Class Dual Glycogen Synthase Kinase 3 β and Tau-Aggregation Inhibitors. *J Med Chem*. 2018;61(17):7640–7656. doi:10.1021/acs.jmedchem.8b00610.
296. Zeiadeh I', Najjar A, Karaman R. Strategies for Enhancing the Permeation of CNS-Active Drugs through the Blood-Brain Barrier: A Review. *Molecules*. 2018;23(6). doi:10.3390/molecules23061289.
297. Brachwitz K, Hilgeroth A. Synthesis and first biological evaluation of 1-aza-9-oxafluorenes as novel lead structures for the development of small-sized cytostatics. *Bioorg Med Chem Lett*. 2002;12(3):411–413. doi:10.1016/S0960-894X(01)00769-7.
298. Brachwitz K, Voigt B, Meijer L, Lozach O, Schächtele C, Molnár J, Hilgeroth A. Evaluation of the first cytostatically active 1-aza-9-oxafluorenes as novel selective CDK1 inhibitors with P-glycoprotein modulating properties. *J Med Chem*. 2003;46(5):876–879. doi:10.1021/jm021090g.
299. Voigt B, Meijer L, Lozach O, Schächtele C, Totzke F, Hilgeroth A. Novel CDK inhibition profiles of structurally varied 1-aza-9-oxafluorenes. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005;15(3):823–825. doi:10.1016/j.bmcl.2004.10.091.
300. Voigt B. Entwicklung und Charakterisierung neuartiger 1-Aza-9-oxafluorene als Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen und GSK-3 β CYCLIN-ABHÄNGIGER KINASEN UND GSK-3 β [unv. Diss.]. Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Pharmazie; 2007. 169 p.
301. Tell V. Synthese, Charakterisierung und biologische Evaluation neuartiger Proteinkinase-Inhibitoren mit 1-Aza-9-oxafluoren-Grundstruktur gegen Neurodegeneration [unv. Diss.]. Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Pharmazie; 2016. 236 p.
302. Krug M. Entwicklung, Synthese und biologische Evaluation neuartiger selektiver Proteinkinaseinhibitoren [unv. Diss.]. Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Pharmazie; 2009. 473 p.
303. Holzer M, Schade N, Opitz A, Hilbrich I, Stieler J, Vogel T, Neukel V, Oberstadt M, Totzke F, Schächtele C, et al. Novel Protein Kinase Inhibitors Related to Tau Pathology Modulate Tau Protein-Self Interaction Using a Luciferase Complementation Assay. *Molecules*. 2018;23(9). doi:10.3390/molecules23092335.
304. Voigt B, Krug M, Schächtele C, Totzke F, Hilgeroth A. Probing novel 1-aza-9-oxafluorenes as selective GSK-3 β inhibitors. *ChemMedChem*. 2008;3(1):120–126. doi:10.1002/cmdc.200700175.
305. Tell V, Holzer M, Herrmann L, Mahmoud KA, Schächtele C, Totzke F, Hilgeroth A. Multitargeted drug development: Discovery and profiling of dihydroxy substituted 1-aza-9-oxafluorenes as lead compounds targeting Alzheimer disease relevant kinases. *Bioorg Med Chem Lett*. 2012;22(22):6914–6918. doi:10.1016/j.bmcl.2012.09.006.
306. Hilgeroth A, Kuna K, Kuckländer U. Novel functionalized 1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluorenes by cycloaddition of 4-(4-methoxyphenyl)-1,4-dihydropyridines and p -benzoquinone. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1998;35(3):551–553. doi:10.1002/jhet.5570350310.
307. Zeng X, Huang W, Qiu Y, Jiang S. An efficient copper-catalyzed synthesis of anilines by employing aqueous ammonia. *Org Biomol Chem*. 2011;9(24):8224–8227. doi:10.1039/c1ob06208e.
308. Adler E, Magnusson R, Hansen SE, Sömme R, Stenhagen E, Palmstierna H. Periodate Oxidation of Phenols. I. Monoethers of Pyrocatechol and Hydroquinone. *Acta Chem. Scand*. 1959;13:505–519. doi:10.3891/acta.chem.scand.13-0505.
309. Erickson JLE, Dechary JM. The Addition of Diphenylketene to o-Benzoquinone. *J Am Chem Soc*. 1952;74(10):2644–2646. doi:10.1021/ja01130a052.
310. Fischer A, Henderson G. Oxidation of Hydroquinones, Catechols, and Phenols using Ceric Ammonium Nitrate and Ammonium Dichromate Coated on Silica: An Efficient and Convenient Preparation of Quinones. *Synthesis*. 1985;1985(6/7):641–643. doi:10.1055/s-1985-31289.

Literaturverzeichnis

311. Cassis R, Valderrama JA. Studies on Quinones. XI. Synthesis of Quinones from Hydroquinones by Using Manganese Dioxide and Acid-Impregnated Manganese Dioxide 1. *Synthetic Communications*. 1983;13(5):347–356. doi:10.1080/00397918308066988.
312. Willstätter R, Pfannenstiel A. 713. Ueber die Imine des Chinons. III. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 1904;37(4):4605–4609. doi:10.1002/cber.19040370463.
313. Corbett JF. Benzoquinone imines. Part II. Hydrolysis of p-benzoquinone monoimine and p-benzoquinone diimine. *J. Chem. Soc., B.* 1969:213. doi:10.1039/j29690000213.
314. Lerner L. Identity of a purple dye formed by peroxidic oxidation of p-aminophenol at low pH. *J Phys Chem A*. 2011;115(35):9901–9910. doi:10.1021/jp2045806.
315. Vogel AI, Furniss BS. *Vogel's textbook of practical organic chemistry*. New ed., 5. ed., [Nachdr.]. New York: Longman; 2000. 1514 p. ISBN: 0470214147.
316. Yang GK, Bergman RG. Stereochemistry of metallacycle formation in the double alkylation of bis (triphenylphosphine) nitrogen (1+) bis (eta. 5-cyclopentadienyl)-di- mu.-carbonyldicobaltate with. alpha., gamma.-diiodoalkanes. *J Am Chem Soc.* 1983;105(19):6045–6052.
317. Popoff N, Macqueron B, Sayhoun W, Espinas J, Pelletier J, Boyron O, Boisson C, Merle N, Szeto KC, Gauvin RM, et al. Well-Defined Silica-Supported Zirconium-Benzyl Cationic Species: Improved Heterogenization of Single-Site Polymerization Catalysts. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2014;2014(5):888–895. doi:10.1002/ejic.201301317.
318. SCS GmbH. Sicherheitsdatenblatt gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 N,N-Dimethylformamid. Bonn: SCS GmbH; 2014 [updated 2016 Apr 30; accessed 2020 Jul 13]. <https://www.winlab.de/media/pdf/3e/a3/83/N-N-Dimethylformamid.pdf>.
319. Blanco B, Beltrán S, Cabezas JL, Coca J. Phase Equilibria of Binary Systems Formed by Hydrocarbons from Petroleum Fractions and the Solvents N -Methylpyrrolidone and N, N -Dimethylformamide. 1. Isobaric Vapor–Liquid Equilibria. *J. Chem. Eng. Data.* 1997;42(5):938–942. doi:10.1021/je970059u.
320. Fumagalli L, Bolchi C, Colleoni S, Gobbi M, Moroni B, Pallavicini M, Pedretti A, Villa L, Vistoli G, Valoti E. QSAR study for a novel series of ortho monosubstituted phenoxy analogues of alpha1-adrenoceptor antagonist WB4101. *Bioorg Med Chem.* 2005;13(7):2547–2559. doi:10.1016/j.bmc.2005.01.034.
321. Goetz-Luthy N. Reinvestigation of the Reaction of Ethylmagnesium Bromide with Pyridine. *J Am Chem Soc.* 1949;71(6):2254–2255. doi:10.1021/ja01174a513.
322. Joule JA, Mills K. *Heterocyclic Chemistry*. 5. Aufl. s.l.: Wiley-Blackwell; 2013. 720 p. ISBN: 1405133007. <http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=4037505>.
323. Bull JA, Mousseau JJ, Pelletier G, Charette AB. Synthesis of pyridine and dihydropyridine derivatives by regio- and stereoselective addition to N-activated pyridines. *Chem Rev.* 2012;112(5):2642–2713. doi:10.1021/cr200251d.
324. Fraenkel G, Cooper JW, Fink CM. Einstufige Synthese von 2-substituierten N-Äthoxycarbonyl-1,2-dihydropyridinen. *Angew. Chem.* 1970;82(13):518–519. doi:10.1002/ange.19700821311.
325. Chia W-L, Shen S-W, Lin H-C. Novel synthesis of liquid crystalline compounds of 5-substituted 2-(4-alkylphenyl)pyridines. *Tetrahedron Letters.* 2001;42(11):2177–2179. doi:10.1016/S0040-4039(00)02196-1.
326. Akiba K-y, Matsuoka H, Wada M. Regiospecific introduction of alkyl groups into 4-position of pyridine novel synthesis of 4-substituted pyridines. *Tetrahedron Letters.* 1981;22(41):4093–4096. doi:10.1016/S0040-4039(01)82074-8.
327. Ho T-L. Chemoselectivity of organometallic reactions. *Tetrahedron.* 1985;41(1):3–86. doi:10.1016/S0040-4020(01)83470-0.
328. Yamaguchi R, Nakazono Y, Matsuki T, Hata E-i, Kawanisi M. Highly Regioselective α -Addition of Alkynyl and Alkenyl Grignard Reagents to 1-Alkoxy carbonylpyridinium Salts and Its Application to Synthesis of 1-Azabicycloalkanes and (\pm)-Solenopsin A. *BCSJ.* 1987;60(1):215–222. doi:10.1246/bcsj.60.215.

329. Daniel L. Comins and Abdul H. Abdullah. Regioselective addition of Grignard reagents to 1-acylpyridinium salts. A convenient method for the synthesis of 4-alkyl(aryl)pyridines.
330. Yamaguchi R, Mochizuki K, Kozima S, Takaya H. Divergent change of regioselectivity in nucleophilic addition of electron deficient allylic tin reagents to 4-acylpyridinium salts; selective formation of 4,4-disubstituted 1,4-dihydropyridines. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1993;(12):981. doi:10.1039/c39930000981.
331. Edward Piers, Marcel Soucy. Reaction of Cuprate Reagents with Pyridine in the Presence of Chloroformate. A Novel Synthesis of 1,4-Dihydropyridine Derivatives.
332. Reetz MT, Kindler A. The Kharasch reaction revisited: CuX₃Li₂-catalyzed conjugate addition reactions of Grignard reagents. *Journal of Organometallic Chemistry.* 1995;502(1-2):C5-C7. doi:10.1016/0022-328X(95)05699-P.
333. Kozikowski AP, Araldi GL, Ball RG. Dipolar Cycloaddition Route to Diverse Analogues of Cocaine: The 6- and 7-Substituted 3-Phenyltropanes. *J. Org. Chem.* 1997;62(3):503–509. doi:10.1021/jo961957g.
334. Schade N. Entwicklung neuer multitargeting Kinaseinhibitoren zur Bekämpfung der Alzheimerschen Erkrankung. Halle; 2020.
335. Camus A, Marsich N. Substituted phenylcopper(I) compounds. *Journal of Organometallic Chemistry.* 1968;14(2):441–446. doi:10.1016/S0022-328X(00)87685-8.
336. Nelson TD, Crouch RD. Cu, Ni, and Pd Mediated Homocoupling Reactions in Biaryl Syntheses: The Ullmann Reaction. In: *Organic reactions.* [Hoboken, N.J.]: Wiley Online Library; 2003-. p. 265–555.
337. Harukichi Hashimoto/Takayuki Nakano. Thermal Decomposition of Copper and Silver Aryls in Aprotic Media¹.
338. Krizewsky J, Turner EE. XLIV.—Formation of diphenyl by the action of cupric salts on organometallic compounds of magnesium. *J. Chem. Soc., Trans.* 1919;115(0):559–561. doi:10.1039/CT9191500559.
339. Sakellarios E, Kyrimis T. Zur Kenntnis der Reaktion der Organomagnesiumverbindungen mit Kupfer (2)-chlorid. *Ber. dtsch. Chem. Ges. A/B.* 1924;57(2):322–326. doi:10.1002/cber.19240570233.
340. Lee J-I. Copper(II) Triflate-Induced Oxidative Coupling of Grignard Reagents. *Journal of the Korean Chemical Society.* 2005;49(1):117–120. doi:10.5012/jkcs.2005.49.1.117.
341. Surry DS, Spring DR. The oxidation of organocuprates--an offbeat strategy for synthesis. *Chem Soc Rev.* 2006;35(3):218–225. doi:10.1039/b508391p.
342. Li X, Li D, Li Y, Chang H, Gao W, Wei W. Homocoupling of heteroaryl/aryl/alkyl Grignard reagents: I₂-promoted, or Ni- or Pd- or Cu- or nano-Fe-based salt catalyzed. *RSC Adv.* 2016;6(90):86998–87002. doi:10.1039/C6RA17859F.
343. Wicht R, Bahnmüller S, Brandhorst K, Schweyen P, Bröring M. Cationic nickel porphyrinoids with unexpected reactivity. *Chem Sci.* 2016;7(1):583–588. doi:10.1039/c5sc03663a.
344. Ramesh N, Prakash C, Sureshbabu R, Dhayalan V, Mohanakrishnan AK. Unusual dimerization of N-protected bromomethylindoles/benzyl bromide with arylmetal halides: generation of indolylmethyl/benzyl radical. *Tetrahedron.* 2008;64(9):2071–2079. doi:10.1016/j.tet.2007.12.047.
345. Marciniak B, Ogrodowczyk M. Thermal stability of 1,4-dihydropyridine derivatives in solid state. *Acta Pol Pharm.* 2006;63(6):477–484.
346. Woodward S. Decoding the 'black box' reactivity that is organocuprate conjugate addition chemistry. *Chem. Soc. Rev.* 2000;29(6):393–401. doi:10.1039/b002690p.
347. Welker M, Woodward S, Veiros LF, Calhorda MJ. Chemoselectivity as a delineator of cuprate structure in catalytic 1,4-addition of diorganozinc reagents to Michael acceptors. *Chemistry.* 2010;16(19):5620–5629. doi:10.1002/chem.200903310.
348. Bartholomew ER, Bertz SH, Cope S, Dorton DC, Murphy M, Ogle CA. Neutral organocopper(III) complexes. *Chem Commun (Camb).* 2008;(10):1176–1177. doi:10.1039/b717290g.

Literaturverzeichnis

349. Gärtner T, Henze W, Gschwind RM. NMR-detection of Cu(III) intermediates in substitution reactions of alkyl halides with Gilman cuprates. *J Am Chem Soc.* 2007;129(37):11362–11363. doi:10.1021/ja074788y.
350. Engler TA, Reddy JP, Combrink KD, Vander Velde D. Formal 2 + 2 and 3 + 2 cycloaddition reactions of 2H-chromenes with 2-alkoxy-1,4-benzoquinones: regioselective synthesis of substituted pterocarpanes. *J. Org. Chem.* 1990;55(4):1248–1254. doi:10.1021/jo00291a027.
351. Engler TA, Lynch KO, Chai W, Meduna SP. Cycloaddition reactions of 1,4-benzoquinone mono- and bisimides with styrenyl systems: New syntheses of nitrogen substituted azapterocarpanes, pterocarpanes, 2-aryl-2,3-dihydroindoles and -dihydrobenzofurans. *Tetrahedron Letters.* 1995;36(16):2713–2716. doi:10.1016/0040-4039(95)00375-M.
352. Fukuzumi S, Fujii Y, Suenobu T. Metal ion-catalyzed cycloaddition vs hydride transfer reactions of NADH analogues with p-benzoquinones. *J Am Chem Soc.* 2001;123(42):10191–10199. doi:10.1021/ja016370k.
353. Roberts JD, Caserio MC. *Basic Principles of Organic Chemistry.* 2. ed. Boston, MA: Addison-Wesley; 1977. 1596 p. ISBN: 0-8053-8321-2.
354. Regeimbal J, Gleiter S, Trumpower BL, Yu C-A, Diwakar M, Ballou DP, Bardwell JCA. Disulfide bond formation involves a quinhydrone-type charge-transfer complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(24):13779–13784. doi:10.1073/pnas.1935988100.
355. Kvalnes DE. An Optical Method for the Study of Reversible Organic Oxidation—Reduction Systems. III. Preparation and Use of a New Optically Active Standard. *J Am Chem Soc.* 1934;56(3):670–672. doi:10.1021/ja01318a039.
356. v. d. Filimonov, Krasnokytzkaya EA, Poleshchuk OK, Lesina YA. Theoretical analysis of reactions of electrophilic iodination and chlorination of benzene and polycyclic arenes in density functional theory approximation. *Russ J Org Chem.* 2008;44(5):681–687. doi:10.1134/S1070428008050072.
357. Effenberger F, Menzel P. Reversibilität der Bromierung von N-Alkylanilinen. de. doi:10.18419/OPUS-1004.
358. Choi HY, Chi DY. A facile debromination reaction: can bromide now be used as a protective group in aromatic systems? *J Am Chem Soc.* 2001;123(37):9202–9203. doi:10.1021/ja0164374.
359. Ding T-H, Qu J-P, Kang Y-B. Visible-Light-Induced, Base-Promoted Transition-Metal-Free Dehalogenation of Aryl Fluorides, Chlorides, Bromides, and Iodides. *Org Lett.* 2020;22(8):3084–3088. doi:10.1021/acs.orglett.0c00827.
360. Ghosh I, Ghosh T, Bardagi JI, König B. Reduction of aryl halides by consecutive visible light-induced electron transfer processes. *Science.* 2014;346(6210):725–728. doi:10.1126/science.1258232.
361. Merino G, Heine T, Seifert G. The induced magnetic field in cyclic molecules. *Chemistry.* 2004;10(17):4367–4371. doi:10.1002/chem.200400457.
362. Pople JA. Proton Magnetic Resonance of Hydrocarbons. *The Journal of Chemical Physics.* 1956;24(5):1111. doi:10.1063/1.1742701.
363. Fischer T. *Synthese, Charakterisierung und biologische Evaluation neuartiger Rezeptortyrosinkinase-Inhibitoren mit Pyrimido[4,5-b]indolstruktur gegen Tumorerkrankungen.* Halle; 2020.
364. CARLSON WW, CRETCHER LH. Hydroxyalkylation with cyclic alkylene esters; synthesis of hydroxyethylapocupreine. *J Am Chem Soc.* 1947;69(8):1952–1956. doi:10.1021/ja01200a034.
365. Kao S-C, Lin Y-C, Ryu I, Wu Y-K. Revisiting Hydroxyalkylation of Phenols with Cyclic Carbonates. *Adv. Synth. Catal.* 2019;361(15):3639–3644. doi:10.1002/adsc.201900287.
366. Parrish JP, Salvatore RN, Jung KW. Perspectives on Alkyl Carbonates in Organic Synthesis. *Tetrahedron.* 2000;56(42):8207–8237. doi:10.1016/S0040-4020(00)00671-2.
367. Yoshino T, Inaba S, Ishido Y. *Synthetic Studies by the Use of Carbonates. III. The Condensation Reactions of Ethylene Carbonate with a Variety of Phenols Catalyzed by Lithium Hydride or Tetraethylammonium Halides.* BCSJ. 1973;46(2):553–556. doi:10.1246/bcsj.46.553.

Literaturverzeichnis

368. Ziosi P, Tabanelli T, Fornasari G, Cocchi S, Cavani F, Righi P. Carbonates as reactants for the production of fine chemicals: the synthesis of 2-phenoxyethanol. *Catal. Sci. Technol.* 2014;4(12):4386–4395. doi:10.1039/C4CY00913D.
369. Veronese FM, Pasut G. PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discov Today.* 2005;10(21):1451–1458. doi:10.1016/S1359-6446(05)03575-0.
370. Heravi MM, Ghavidel M, Mohammadkhani L. Beyond a solvent: triple roles of dimethylformamide in organic chemistry. *RSC Adv.* 2018;8(49):27832–27862. doi:10.1039/C8RA04985H.
371. Petersen TP, Larsen AF, Ritzén A, Ulven T. Continuous flow nucleophilic aromatic substitution with dimethylamine generated in situ by decomposition of DMF. *J. Org. Chem.* 2013;78(8):4190–4195. doi:10.1021/jo400390t.
372. Kivelson D, Kivelson MG. Spin-spin splitting in the NMR spectrum of methanol. *Journal of Molecular Spectroscopy.* 1958;2(1-6):518–523. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022285258900961>. doi:10.1016/0022-2852(58)90096-1.
373. Limbach HH, Seiffert W. Proton NMR spectroscopic study of cyclic proton exchange between acetic acid and methanol in tetrahydrofuran-d₈. *J Am Chem Soc.* 1980;102(2):538–542.
374. K. C. Tewari, N. C. Li. Nuclear magnetic resonance study of proton exchange in the water – 2-propanol system.
375. Seybold PG, Kreye WC. Theoretical estimation of the acidities of alcohols and azoles in gas phase, DMSO, and water. *Int. J. Quantum Chem.* 2012;112(24):3769–3776. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/qua.24216>. doi:10.1002/qua.24216.
376. Breitmaier E. Vom NMR-Spektrum zur Strukturformel organischer Verbindungen. 3. Aufl. s.l.: Wiley-VCH; 2012. 270 p. ISBN: 3527314997. ger. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=458188>.
377. McDougall PJ, Saenz J, Lao D, inventors. Aminoethylation process having improved yield of aryloxyalkylene amine compounds and reduced urea by-products - United States Patent 9035097. 13/612595. 2015 May 19.
378. Zeng X, Huang W, Qiu Y, Jiang S. An efficient copper-catalyzed synthesis of anilines by employing aqueous ammonia. *Org Biomol Chem.* 2011;9(24):8224–8227. doi:10.1039/c1ob06208e.
379. Surry DS, Buchwald SL. Selective palladium-catalyzed arylation of ammonia: synthesis of anilines as well as symmetrical and unsymmetrical di- and triarylamines. *J Am Chem Soc.* 2007;129(34):10354–10355. doi:10.1021/ja074681a.
380. Ji P, Atherton JH, Page MI. Copper(I)-catalyzed amination of aryl halides in liquid ammonia. *J Org Chem.* 2012;77(17):7471–7478. doi:10.1021/jo301204t.
381. Lee D-Y, Hartwig JF. Zinc trimethylsilylamide as a mild ammonia equivalent and base for the amination of aryl halides and triflates. *Org Lett.* 2005;7(6):1169–1172. doi:10.1021/ol050141b.
382. Lyles RH, Poindexter C, Evans A, Brown M, Cooper CR. Nonlinear model-based estimates of IC(50) for studies involving continuous therapeutic dose-response data. *Contemporary Clinical Trials.* 2008;29(6):878–886. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1551714408000839>. doi:10.1016/j.cct.2008.05.009.
383. Hafenbradl D, Baumann M, Neumann L. In Vitro Characterization of Small-Molecule Kinase Inhibitors. In: Klebl B, Müller G, editors. Protein kinases as drug targets. Weinheim, Chichester: Wiley-VCH; 2011. p. 1–43 (Methods and Principles in Medicinal Chemistry; vol. 49).
384. Steinhilber D, Schubert-Zsilavecz M, Roth HJ. Medizinische Chemie: Targets - Arzneistoffe - chemische Biologie. 2., völlig neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Deutscher Apotheker-Verlag; 2010. 703 p. ISBN: 3769250028. ger.
385. Copeland RA, Lombardo D, Giannaras J, Decicco CP. Estimating KI values for tight binding inhibitors from dose-response plots. *Bioorg Med Chem Lett.* 1995;5(17):1947–1952. doi:10.1016/0960-894X(95)00330-V.

Literaturverzeichnis

386. Cer RZ, Mudunuri U, Stephens R, Lebeda FJ. IC50-to-Ki: a web-based tool for converting IC50 to Ki values for inhibitors of enzyme activity and ligand binding. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(Web Server issue):W441-5. doi:10.1093/nar/gkp253.
387. Yung-Chi C, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol.* 1973;22(23):3099–3108. doi:10.1016/0006-2952(73)90196-2.
388. Di L, Kerns EH. Biological assay challenges from compound solubility: strategies for bioassay optimization. *Drug Discov Today.* 2006;11(9-10):446–451. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135964460600047X>. doi:10.1016/j.drudis.2006.03.004.
389. Haider A, Cornuz G, Wylter H. Synthesis of 4-Oxo-1,2,3,4-tetrahydropyridine (2,3-Dihydro-4(1H)pyridinone). *Helv Chim Acta.* 1975;58(5):1287–1292. doi:10.1002/hlca.19750580507.
390. Effenberger F, Mück AO, Bessey E. Die Acylierung von 4-Pyridon. *Chem. Ber.* 1980;113(6):2086–2099. doi:10.1002/cber.19801130605.
391. Willemann C, Waibel R, Troschütz R, Grünert R, Bednarski P. Unexpected formation of pyridodiindole derivatives with cytotoxic activity via double Nenitzescu reaction. *Journal of Heterocyclic Chemistry.* 2008;45(5):1517–1519. doi:10.1002/jhet.5570450546.
392. Ji N, Kluge AF, Weiss MM, Zhang Y, inventors; Kymera Therapeutics, Inc., USA, assignee. Preparation of novel bifunctional compounds as protein degraders and uses thereof. WO2020010227A1.
393. Hostyn S, Van Baelen G, Lemièrè GLF, Maes BUW. Synthesis of α -Carbolines Starting from 2,3-Dichloropyridines and Substituted Anilines. *Adv. Synth. Catal.* 2008;350(16):2653–2660. doi:10.1002/adsc.200800077.
394. Brumby A, Braumann P, Zimmermann K, van den Broeck F, Vandeveldt T, Goia D, Renner H, Schlamp G, Weise W, Tews P, et al. Silver, Silver Compounds, and Silver Alloys. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* 2008. doi:10.1002/14356007.a24_107.pub2.
395. Interchim x Advion. The Essential Systems & Consumables for High Performance LC & Mass Spectrometry. 2020 [accessed 2020 Oct 13]. <https://www.advion.com/rsc-brochure/essential-systems-consumables-for-high-performance-lc-purification-mass-spectrometry/>.
396. Imbach P, Capraro H-G, Furet P, Mett H, Meyer T, Zimmermann J. 2,6,9-trisubstituted purines: Optimization towards highly potent and selective CDK1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 1999;9(1):91–96. doi:10.1016/S0960-894X(98)00691-X.
397. Becker HGO, Beckert R. *Organikum: Organisch-chemisches Grundpraktikum.* 23., vollst. überarb. und aktualisierte Aufl. Weinheim: Wiley VCH; 2009. 861 p. ISBN: 9783527322923. ger.
398. ProQinase. Certificate of Analysis CDK1/CycB1 Recombinant Human Active Protein Kinase [accessed 2020 Nov 9]. https://www.proqinase.com/sites/default/files/public/cdk1_cycb_lot032_v2.pdf.
399. ProQinase. Certificate of Analysis FYN Recombinant Human Active Protein Kinase [accessed 2020 Nov 9]. https://www.proqinase.com/sites/default/files/public/fyn_wt_lot002_v8.pdf.
400. ProQinase. Certificate of Analysis GSK3-beta Recombinant Human Active Protein Kinase [accessed 2020 Nov 9]. https://www.proqinase.com/sites/default/files/public/gsk3-beta_lot003_v7.pdf.
401. ProQinase. Certificate of Analysis JNK3 Recombinant Human Active Protein Kinase [accessed 2020 Nov 9]. https://www.proqinase.com/sites/default/files/public/jnk3_lot004_v7.pdf.
402. ProQinase. Certificate of Analysis ERK2 Recombinant Human Active Protein Kinase [accessed 2020 Nov 9]. https://www.proqinase.com/sites/default/files/public/erk2_lot008_v4.pdf.
403. ProQinase. Certificate of Analysis CDK2/CycE1 Recombinant Human Active Protein Kinase [accessed 2020 Nov 9]. https://www.proqinase.com/sites/default/files/public/cdk2_cyce1_lot010_v4.pdf.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift gemäß der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet. Die daraus wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche gekennzeichnet.

Die Dissertationsschrift wurde ausschließlich der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen-Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegt und an keiner anderen universitären Einrichtung, weder im In- noch im Ausland, zur Erlangung des Doktorgrades eingereicht.

Ort, Datum

Unterschrift

Danksagung

Die vorliegende Arbeit ist vom Mai 2018 bis zum Dezember 2020 am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Fachbereich Pharmazeutische Chemie unter der Betreuung durch Herrn Professor Dr. Andreas Hilgeroth angefertigt worden. Einen wesentlichen Beitrag zur Finanzierung des Vorhabens lieferte in diesem Zeitraum ein Stipendium der Graduiertenförderung des Landes Sachsen-Anhalt.

Zuerst danke ich Herrn Professor Dr. Andreas Hilgeroth für das interessante Thema, das er mir zur Bearbeitung überließ, sowie die Bereitstellung der notwendigen Arbeitsmittel. Auch für die Ermutigung und Beratung im Zeitraum der Bearbeitung möchte ich mich bei ihm herzlich bedanken. Mein Dank gilt auch Frau Dr. Dinaa Robaa für die Erstellung der *in-silico*-Untersuchungen. Außerdem danke ich Frau Herbrich-Peters und Frau Woik für ihre stete Hilfsbereitschaft bei der Bearbeitung analytischer Fragestellungen. Auch Herr PD Dr. Schmidt, Herrn Dr. Ihling und Frau Rudolph möchte ich in diesem Zusammenhang danken. Des Weiteren bedanke ich mich bei dem Team der Proquinase GmbH und Dr. Vladimir Krystof von der Palacky-Universität Olomouc (Tschechien) für die Durchführung der biologischen Testung. Einen ganz besonderen Dank möchte ich an Herrn Dr. Nico Schade richten, der mir ab meinem ersten Tag im Labor ein fantastischer Mentor und ein sehr guter Freund gewesen ist. Danke für deinen Rat und Beistand im Labor und auch im Privaten. Eine besondere Freude war es mir mit Henry Döring und David Kreuzer im Labor zusammenzuarbeiten, die mir den Alltag versüßten, meinen musikalischen Horizont erweiterten und meine körperliche Unversehrtheit garantierten. Robin Gehrmann und Marius Seethaler möchte ich danken für Kuchen, Gespräche und Kazoo-Konzerte. Auch danke ich Kirolos Ashraf, Tobias Mohs, Fabian Lentz, Tim Fischer, Dominik Engelskircher und Kaveh Yasrebi aus dem Arbeitskreis von Professor Dr. Hilgeroth. Weiterhin möchte ich Johannes Albrecht aus der Arbeitsgruppe Professor Dr. Mäder danken für Zentrifugen, Gin und Blödsinn. Außerdem danke ich Herrn Stolzhein und Herrn Lerche für Chemikalien, Geräte und Stoizismus.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, möchte ich in höchstem Maße danken. Danke, dass ihr mich auf diesem gesamten Weg auf jede Art und Weise unterstützt habt. Ich kann nicht beschreiben wie dankbar ich euch dafür bin. In gleicher Weise möchte ich mich bei Frau Maria Lemke bedanken, die mich auf ihre einzigartige Weise stets unterstützt hat. Danke Maria, dass du für mich da bist.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Ansgar Opitz
Geburtsdatum: 03.09.1993
Geburtsort: Braunschweig

Schulbildung

2004 - 2012 Gymnasium im Schloss, Wolfenbüttel

Werdegang

ab 10/2012 Studium der Pharmazie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
08/2014 Abschluss des 1. Staatsexamens (Durchschnittsnote: 1,75)
09/2016 Abschluss des 2. Staatsexamens (Durchschnittsnote: 1,2)
11/2016 - 04/2017 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der AG Wirkstoffentwicklung und
-analytik an der Martin-Luther-Universität Halle
05/2017 - 10/2017 Arbeit als Pharmazeut im Praktikum in der Klinik-Apotheke des
Universitätsklinikums Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden
(AöR)
11/2017 - 04/2018 Beschäftigung als Pharmazeut im Praktikum in der Apotheke am
Rathenauplatz (Halle)
05/2018 Abschluss des 3. Staatsexamens (Durchschnittsnote: 1,0)
05/2018 Abrobation als Apotheker
05/2018 - 12/2020 Promotion am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle
Wittenberg im Fachbereich Pharmazeutische Chemie unter Betreuung von
Herrn Professor Dr. Andreas Hilgeroth.
Ab 01/2021 GMP-Referent bei der Menarini – Von Heyden GmbH

Publikationsliste

Molecules, 23 (9): 2335 (2018), Novel Protein Kinase Inhibitors Related to Tau Pathology Modulate Tau Protein-Self Interaction Using a Luciferase Complementation Assay; Max Holzer, Nico Schade, Ansgar Opitz, Isabell Hilbrich, Jens Stieler, Tim Vogel, Valentina Neukel, Moritz Oberstadt, Frank Totzke, Christoph Schächtele, Wolfgang Sippl und Andreas Hilgeroth, doi: 10.3390/molecules23092335