

**Synthese, Charakterisierung und biologische Evaluation
neuartiger Proteinkinase-Inhibitoren mit
1-Aza-9-oxafluoren-Grundstruktur gegen Neurodegeneration**

Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I

– Biowissenschaften –

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Herrn Volkmar Tell

geb. am 06. März 1985 in Bernburg (Saale)

Gutachter:

Prof. Dr. Andreas Hilgeroth

Prof. Dr. Wolfgang Sippl

PD Dr. Max Holzer

verteidigt am 14. September 2016

Für meine Familie!

Inhaltsverzeichnis

	Inhaltsverzeichnis	I
	Abkürzungsverzeichnis.....	IV
	Abbildungsverzeichnis.....	VII
	Tabellenverzeichnis	X
1	Einleitung	1
1.1	Die Alzheimer-Krankheit.....	2
1.1.1	Tau-Hypothese	5
1.1.2	Amyloid-Hypothese.....	7
2	Grundlagen	10
2.1	Das Tau-Protein	10
2.2	Proteinkinasen.....	12
2.2.1	AD-assoziierte Tau-Proteinkinasen	14
2.2.1.1	Cyclin-abhängige Kinasen (CDK).....	15
2.2.1.2	Glykogensynthase-Kinase 3 (GSK-3).....	17
2.2.1.3	Mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAP-K)	19
2.2.1.3.1	Extrazellulär-signalregulierte Kinase (ERK)	20
2.2.1.3.2	c-Jun-N-terminale Kinasen (JNK)	21
2.2.1.3.3	p38	22
2.2.1.4	Casein Kinase (CK)	23
2.2.1.5	Proteinkinase A (PKA) und dual-spezifische Tyrosinphosphorylierung- regulierende Kinase 1A (DYRK1A).....	24
2.3	Inhibitoren AD-relevanter Proteinkinasen	25
2.3.1	1-Aza-9-oxafluorene als Inhibitoren AD-relevanter Proteinkinasen	32
3	Zielstellung der Arbeit	36
4	Ergebnisse und Diskussion	39
4.1	Synthese (I)	39
4.1.1	Synthese der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene.....	39
4.1.1.1	Synthesekonzept	39

4.1.1.2	Synthese der kommerziell nicht verfügbaren Reaktanten.....	41
4.1.1.2.1	Synthese der substituierten <i>p</i> -Benzochinone	41
4.1.1.2.2	Synthese des 3-Benzyloxypyridins	42
4.1.1.3	Synthese der <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine	42
4.1.1.4	Synthese der Azaoxafluoren-Zielstrukturen	45
4.1.2	1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonylamid-Funktion.....	53
4.1.2.1	Synthese der 3-Carbonylamid-substituierten Derivate durch Aminolyse.....	53
4.1.2.2	Alternative Syntheseroute zur Darstellung von 3-Carbonylamid-Derivaten	54
4.1.2.2.1	Darstellung der Nicotinsäureamide.....	55
4.1.2.2.2	Darstellung der 1,4-Dihydropyridine mit 3-Carbonylamid-Funktion.....	58
4.1.2.2.3	3-Carbonylamid-Zielstrukturen aus <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridinen	60
4.1.2.3	Strukturabsicherung der 3-Carbonylamid-Zielverbindungen	61
4.2	Ergebnisse des Kinaseinhibitionsassays (I)	62
4.3	Zwischenfazit.....	68
4.4	Synthese (II).....	69
4.4.1	Strukturell variierte 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene.....	69
4.4.1.1	Synthese der 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierten Azaoxafluoren-Derivate	69
4.4.1.2	Synthese der 3-Fluor-substituierten Azaoxafluorene.....	71
4.4.1.3	3-Hydroxymethyl-Derivate durch Reduktion der 3-Ethylesterfunktion	72
4.4.1.4	Strukturvariation durch <i>O</i> -Debenzylierung und/oder <i>O</i> -Methylierung	78
4.4.1.4.1	<i>O</i> -Debenzylierung.....	79
4.4.1.4.2	<i>O</i> -Methylierung.....	81
4.5	Ergebnisse des Kinaseinhibitionsassays (II)	84
4.6	Dockinguntersuchungen	89
5	Zusammenfassung und Ausblick	94
6	Experimenteller Teil	99
6.1	Synthese und Charakterisierung der Verbindungen.....	99
6.1.1	Methoden, Geräte und Chemikalien	99
6.1.1.1	Schmelzpunktbestimmung	99
6.1.1.2	NMR-Spektroskopie	99
6.1.1.3	Massenspektrometrie	100
6.1.1.4	IR-Spektroskopie	100
6.1.1.5	Elementaranalyse	100
6.1.1.6	Chromatographie.....	101

6.1.1.6.1	Dünnschichtchromatographie	101
6.1.1.6.2	Präparative Dünnschichtchromatographie	101
6.1.1.6.3	Säulenchromatographie.....	101
6.1.1.7	Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel	101
6.1.2	Beschreibung der Verbindungen.....	104
6.1.2.1	Allgemeine Angaben	104
6.1.2.2	Allgemeine Arbeitsanweisungen	104
6.1.2.3	Synthese kommerziell nicht erhältlicher 1,4-Benzo-/1,4-Naphthochinone	109
6.1.2.4	Synthese 3-substituierter Pyridine	112
6.1.2.5	Synthese <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine	118
6.1.2.6	Synthese 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	127
6.1.2.6.1	3-Benzyloxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	127
6.1.2.6.2	3-Ethylester-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	134
6.1.2.6.3	3-Carbonsäureamid-substituierte 1-Aza-9-oxafluorene.....	145
6.1.2.6.4	3-Fluor-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene.....	153
6.1.2.6.5	6-TBDMS-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene.....	155
6.1.2.6.6	3-Hydroxymethyl-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	159
6.1.2.6.7	3,6-Dihydroxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	162
6.1.2.6.8	3-Benzyloxy-6-methoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene.....	168
6.1.2.6.9	3-Fluor-6-methoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	172
6.1.2.6.10	3-Hydroxy-6-methoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene.....	174
6.1.2.6.11	3,6-Dimethoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene	178
6.1.2.7	3,4-disubstituierte Pyridine	182
6.2	Biochemische Untersuchung - ³³ PanQinase® Assay	191
	Literaturverzeichnis	194
	Anhang	i
	Spektren ausgewählter Verbindungen.....	ii
	Liste der Veröffentlichungen	xiv
	Danksagung.....	xvi
	Eigenständigkeitserklärung	xvii
	Lebenslauf.....	xviii

Abkürzungsverzeichnis

A β	β -Amyloid-Protein
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AD	Alzheimer Demenz
aliph.	aliphatisch
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid-Precursor-Protein
APT	<i>attached proton test</i> (NMR)
aromat.	aromatisch
ATF2	<i>activating transcription factor 2</i>
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (<i>attenuated total reflection</i>)
BBB	Blut-Hirn-Schranke (<i>blood-brain barrier</i>)
ber.	berechnet
br	breit (NMR, IR)
Bz	Benzyl
bzgl.	bezüglich
CDK	Cyclin-abhängige Kinase
CK	Casein Kinase
clogP	ber. dek. Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten
COMPARE	<i>computerized pattern recognition pattern</i>
COSY	Korrelationsspektroskopie (<i>correlation spectroscopy</i>)
CTF	C-terminales Fragment
d	Dublett (NMR)
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Doppeldublett (NMR)
dek.	dekadischer
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
DTT	Dithiothreitol
DYRK1A	dual-spezifische Tyrosinphosphorylierung-regulierende Kinase 1A

EA	Elementaranalyse
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
EI	Elektronenstoß-Ionisation
eq.	Äquivalent (<i>equivalent</i>)
ERK	Extrazellulär-signalregulierte Kinase
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
gef.	gefunden
ggf.	gegebenenfalls
GSH	Glutathion
GSK-3 β	Glykogensynthase-Kinase 3 β
GST	Glutathion-S-Transferase
GTP	Guanosintriphosphat
HBA	Wasserstoffbrückenakzeptor
HBD	Wasserstoffbrückendonator
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
<i>i. v.</i>	<i>in vacuo</i>
IC ₅₀	halbmaximale inhibitorische Konzentration
IDE	<i>insulin-degrading enzyme</i>
IL-1 β	Interleukin-1 β
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante (NMR)
JNK	c-Jun-N-terminale Kinase
K_i	Affinitätskonstante
LC	<i>liquid chromatography</i>
Lit.	Literaturangabe
LRP	<i>lipoprotein receptor-related protein</i>
m	Multipllett (NMR), medium (IR)
m/z	Massezahl pro Ladung
MAO	Monoaminoxidase
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
Me	Methyl
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure (<i>messenger ribonucleic acid</i>)
MS	Massenspektrometrie

MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
MW	Mittelwert
NCI	<i>National Cancer Institute</i> , Bethesda, USA
NFTs	<i>neurofibrillary tangles</i>
NMDA	<i>N-Methyl-D-Aspartat</i>
NMR	Kernmagnetresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
Nr.	Nummer
o. g.	oben genannt
PAGE	<i>polyacrylamide gel electrophoresis</i>
PEG	Polyethylenglycol
Ph	Phenyl
PHFs	<i>paired helical filaments</i>
PKA	Proteinkinase A
Pos.	Position
ppm	<i>parts per million</i>
Pr	Propyl
PSA	<i>polar surface area</i>
q	Quartett (NMR)
RAGE	<i>receptor for advanced glycation endproducts</i>
RT	Raumtemperatur
s	Singulett (NMR), stark (IR)
SDS	Natriumlaurylsulfat (<i>sodium dodecyl sulfate</i>)
sh	Schulter (<i>shoulder</i> , IR)
SQ	Selektivitätsquotient
SSR	selektive Serotonin-Wiederaufnahme (<i>selective serotonin reuptake</i>)
t	Triplett (NMR)
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
TNF α	Tumor Nekrose Faktor α
u. a.	unter anderem, unter anderen
UV	Ultraviolett
w	schwach (<i>weak</i> , IR)
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Histopathologische Merkmale der Alzheimerschen Erkrankung.....	2
Abbildung 2:	Pathogenese der Alzheimer Demenz.....	4
Abbildung 3:	Entstehung der NFTs durch Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins.....	6
Abbildung 4:	Bildung toxischer A β -Fragmente aus dem APP und mögliche Anti-Amyloid-Therapieansätze	7
Abbildung 5:	Tau-Protein-Isoform mit 441 Aminosäuren	11
Abbildung 6:	Vom Tau-Protein zum neurofibrillären Bündel – post-translationale Modifikationen	11
Abbildung 7:	Regionen der ATP-Bindungstasche	13
Abbildung 8:	Proteinkinasen mit > 10 identifizierten AD-assoziierten Phosphorylierungsstellen am Tau-Protein.....	15
Abbildung 9:	Wichtige CDK/Cyclin-Komplexe im Zellzyklus	16
Abbildung 10:	Regulierung der GSK-3 β -Aktivität durch Phosphorylierung am Serinrest 9.....	18
Abbildung 11:	Glykogensynthase-Kinase 3 in der AD-Pathologie.....	19
Abbildung 12:	Vereinfachte schematische Darstellung der wichtigsten MAP-K-Kaskaden	20
Abbildung 13:	Inhibitoren der CDKs	26
Abbildung 14:	GSK-3 β -selektive Inhibitoren	27
Abbildung 15:	p38-selektive Inhibitoren.....	28
Abbildung 16:	ERK- bzw. JNK-selektive Inhibitoren	29
Abbildung 17:	Erste selektive Kinaseinhibitoren mit 1-Aza-9-oxafluoren-Grundstruktur	32
Abbildung 18:	Erste Docking-Ergebnisse der 1-Aza-9-oxafluorene an der GSK-3 β	34
Abbildung 19:	Docking-Lösung für die 1-Aza-9-oxafluorene an der CDK5 und der GSK-3 β	35
Abbildung 20:	Synthese der 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluorene durch Cycloaddition	36
Abbildung 21:	Synthese der 6-Hydroxy-1-aza-9-oxafluorene als „Ein-Topf-Reaktion“	36
Abbildung 22:	Zielstrukturen des ersten Teils der Arbeit	37
Abbildung 23:	Zielstrukturen des zweiten Teils der Arbeit	38
Abbildung 24:	2-Stufen-Synthesekonzept zur Darstellung der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene	39
Abbildung 25:	Mesomere Grenzstrukturen des Pyridiniumions	39
Abbildung 26:	Bildung der 1-Aza-9-oxafluorene - vermuteter Reaktionsmechanismus -	41

Abbildung 27: Synthese der <i>p</i> -Benzochinone 1c und 1f	41
Abbildung 28: Synthese des 3-Benzylloxypyridins 2	42
Abbildung 29: Darstellung der <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine 8 und 9	42
Abbildung 30: Enantio-/Rotamere der <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine 8 und 9	43
Abbildung 31: Vergleich der ¹ H-NMR-Spektren von 8 und 9	44
Abbildung 32: Synthese der 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene mithilfe unterschiedlich substituierter <i>p</i> -Chinone	45
Abbildung 33: Reihung der <i>para</i> -Chinone in abnehmender oxidierender Wirkung	47
Abbildung 34: ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 27 in CDCl ₃	49
Abbildung 35: Ringstrom-induziertes Magnetfeld.....	49
Abbildung 36: Energieminimierte Modelle der Verbindungen 27 , 20 und 23	50
Abbildung 37: ¹ H-NMR-Spektrum der Verbindung 28a in CDCl ₃	51
Abbildung 38: ¹ H-NMR-Spektrum der Verbindung 28b in CDCl ₃	52
Abbildung 39: Aminolyse des Ethylester-Derivates 27 zu den Zielstrukturen 34 - 40	53
Abbildung 40: Synthese der Nicotinsäureamide 3 - 7	55
Abbildung 41: Nicotinsäureamid - partielle Doppelbindung	55
Abbildung 42: ¹ H-NMR-Spektrum und APT- ¹³ C-NMR-Spektrum von Verbindung 7 in DMSO-d ₆	56
Abbildung 43: ¹ H, ¹ H-Korrelationsspektrum von Verbindung 7	57
Abbildung 44: Darstellung der <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridine mit 3-Carbonylamidrest (10 – 14) durch Grignard-Addition	58
Abbildung 45: ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 14 in CDCl ₃	59
Abbildung 46: Darstellung 3-Carbonylamid-substituierter 1-Aza-9-oxafluorene aus <i>N</i> -Acetyl-1,4-dihydropyridinen	60
Abbildung 47: ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 40 in CDCl ₃	61
Abbildung 48: Darstellung 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierter 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11- oxafluorene.....	69
Abbildung 49: Ausschnitt aus dem ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 25 in CDCl ₃	70
Abbildung 50: Darstellung 3-Fluor-substituierter 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene.....	71
Abbildung 51: Ausschnitt aus dem ¹ H-NMR-Spektrum von Verbindung 41 in DMSO-d ₆	72
Abbildung 52: Reduktion der Ethylesterfunktion.....	73
Abbildung 53: Methodenübersicht zur Reduktion der Ethylester-Derivate 27 und 31	73
Abbildung 54: Vergleich der ¹ H-NMR-Spektren von 31 , 44 , 46 und 48 in Aceton-d ₆	76
Abbildung 55: Strukturvariationen aus 20 , 24 , 25 und 26	78
Abbildung 56: Strukturvariationen aus 21 , 23 , 41 und 42	79

Abbildung 57: Katalytische Hydrogenolyse von Benzyloxyethern	79
Abbildung 58: Darstellung der Zielverbindungen durch <i>O</i> -Debenzylierung	80
Abbildung 59: Darstellung der Zielverbindungen durch <i>O</i> -Methylierung	81
Abbildung 60: Vergleich der ¹ H-NMR-Signale der Methoxy-Protonen der Derivate 55 , 61 und 65	83
Abbildung 61: Aufsicht auf die GSK-3β-Adenin-Bindungsregion mit gedockten 1-Aza-9-oxafluorenen	89
Abbildung 62: Bindungsmodus des benzoanellierten Derivates 24 an der CDK1 und an der CDK5/p25	90
Abbildung 63: Bindungsmodus der Verbindung 55 an der GSK-3β	92
Abbildung 64: Bindungsmodus der Verbindung 49 an der GSK-3β	93
Abbildung 65: Ausgewählte Verbindungen für bioanalytische Untersuchungen	97

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Therapieoptionen in der Behandlung der Alzheimer Demenz nach <i>Anand et al.</i>	5
Tabelle 2:	Einteilung der AD-assoziierten Tau-Proteinkinasen nach <i>Martin et al.</i>	14
Tabelle 3:	Physikochemische Eigenschaften und vorhergesagte Überwindung der Blut-Hirn-Schranke (<i>clogBB</i>) ausgewählter GSK-3 β -Inhibitoren.....	31
Tabelle 4:	Chemische Verschiebung δ (ppm) der 1,4-Dihydropyridin- und <i>N</i> -Acetyl-Protonen in den Rotameren von 8 und 9	45
Tabelle 5:	Ergebnisse der Umsetzung von 1,4-Dihydropyridin 8/9 mit unterschiedlich substituierten <i>p</i> -Chinonen.....	46
Tabelle 6:	Chemische Verschiebung δ (ppm) relevanter Signale in den ¹ H-NMR-Spektren von 20 – 23 und 27 – 30b	53
Tabelle 7:	<i>K_i</i> -Werte der im ³³ PanQinase [®] Assay untersuchten 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Benzyloxy- bzw. 3-Ethylesterfunktion	63
Tabelle 8:	<i>K_i</i> -Werte der im ³³ PanQinase [®] Assay untersuchten 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonylamid-Funktion	66
Tabelle 9:	Ergebnisübersicht zur Darstellung der Hydroxymethyl-Derivate 47 und 48 durch Reduktion der Ethylesterfunktion.....	77
Tabelle 10:	<i>K_i</i> -Werte der im ³³ PanQinase [®] Assay untersuchten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene mit 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest und/oder zwei Hydroxyfunktionen....	84
Tabelle 11:	<i>K_i</i> -Werte der im ³³ PanQinase [®] Assay untersuchten Azaoxafluorene mit 6-Methoxy- bzw. 3,6-Dimethoxy-Funktion	86
Tabelle 12:	<i>K_i</i> -Werte der im ³³ PanQinase [®] Assay untersuchten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene mit 3-Fluor-Rest	87

1 Einleitung

Die erste WHO (*World Health Organisation*) Ministerkonferenz zu Demenz (lat. *dementia*, „Fehlen des Verstandes“ bzw. „abnehmender Verstand“) fand am 16./17. März 2015 unter dem Motto „*Global Action Against Dementia*“ statt. Dadurch wurde weltweit Aufmerksamkeit auf ein Krankheitsbild mit epidemiologischen Ausmaßen gelenkt, für das bisher keine Heilungschance besteht. Aktuell sind nach Schätzungen der WHO und ADI (*Alzheimer's Disease International*) ca. 47 Mio. Menschen von einer Demenz betroffen. Auf Deutschland entfallen darauf etwa 1,5 Mio. erkrankte Menschen¹.

Demenz ist der Überbegriff für eine Reihe von Krankheitsbildern, welche meist erst im höheren Lebensalter auftreten, über Monate bis Jahre zu chronisch fortschreitenden degenerativen Veränderungen des Gehirns führen und mit dem Verlust kognitiver Fähigkeiten einhergehen². Zu den Symptomen gehören u. a. allmählich einsetzende und sich zunehmend verstärkende Verschlechterung der Gedächtnis- und Denkleistung, Störung des Urteils- und Lernvermögens sowie Verlust der Orientierung. Neben anfänglichen Persönlichkeitsveränderungen und Beeinträchtigungen des Sozialverhaltens werden im Laufe des Voranschreitens der Erkrankung alltägliche Dinge ohne Hilfe Dritter nicht mehr bewältigt. Durch das im späten Stadium zunehmende Schwinden natürlicher Reflexe, wie z. B. Kauen, Schlucken und Atmen, sowie einer mangelhaften Abwehrfähigkeit des Immunsystems, führen Komorbiditäten, Lungenentzündungen bzw. Infektionen letztendlich zum Tod³⁻⁶.

Mit der weltweit immer älter werdenden Gesellschaft steigt die Häufigkeit, eine Demenzerkrankung zu entwickeln, exponentiell an, wobei für das Jahr 2050 weltweit 115 Mio. Erkrankte prognostiziert werden⁷. Aufgrund dieser Tendenz ist die Forderung der WHO, ein größeres Augenmerk auf Demenzen zu legen und Impulsgeber zur Erforschung neurodegenerativer Erkrankungen sowie deren Therapie- und Diagnoseansätze zu sein, sinnvoll.

Demenzen werden nach ihren Grunderkrankungen in verschiedene Formen eingeteilt, wobei die Alzheimersche Erkrankung (Morbus Alzheimer) bei älteren Menschen die häufigste Demenzerkrankung ist, gefolgt von der Vaskulären Demenz, der Lewy-Körper-Demenz (einschließlich Parkinson-Demenz) und der Frontotemporalen Demenz. Häufig sind auch Mischformen vorzufinden^{7, 8}. Bildgebende Verfahren des Gehirns (Computer-Tomographie (CT), Kernspin-Tomographie (MRT), Positronen-Emissions-Tomographie (PET), Einzelphotonen-Emissions-Computer-Tomographie (SPECT), Elektroenzephalogramm (EEG)), Messungen von Laborwerten (Biomarker und genetische Veranlagung), Tests zur Überprüfung

der Hirnfunktion und des Verhaltens (z. B. Uhrentest, Mini Mental Status Test (MMST), Test mit Depressionsabgrenzung (TFDD)) ermöglichen in ihrer Gesamtheit eine zuverlässige Diagnose der Demenz. Die vollständige Absicherung der Demenzform und der damit zu Grunde liegenden Krankheit ist jedoch nur nach histopathologischer Untersuchung des Gehirns durch Biopsie (zu Lebzeiten) oder Autopsie (*post mortem*) möglich³.

Im Rahmen dieser Arbeit wird der Fokus auf die Alzheimer Demenz (AD) gelegt.

1.1 Die Alzheimer-Krankheit

Etwa zwei Drittel aller Demenzerkrankungen werden dem Morbus Alzheimer zugeordnet, darin einbezogen sind aber auch Mischformen hauptsächlich aus AD und Vaskulärer Demenz sowie AD und Lewy-Körper-Demenz, welche altersabhängig zwischen 2 – 10 % davon ausmachen^{3, 7}. Wie generell bei allen Demenzen ist das Alter der größte Risikofaktor an einer AD zu erkranken. So steigt z. B. die mittlere Prävalenzrate in Europa von 1,6 % aller 65- bis 69-Jährigen auf bis zu ca. 41 % der >90-Jährigen exponentiell stark an⁹. Andere untergeordnetere Risikofaktoren sind diesbezüglich eine positive Familienanamnese, eine vorangegangene Depression, Schädeltraumata und vaskuläre Schäden als Folge von Stoffwechselerkrankungen, wie Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie und Hypertonie^{10, 11}.

Der deutsche Psychiater und Neuropathologe Alois Alzheimer beschrieb in seinem Artikel „Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde“ (1907) als erster psychiatrische und histopathologische Auffälligkeiten einer Demenzerkrankung¹², welche seitdem nach ihm benannt wird. Diese neurodegenerative Krankheit besitzt histopathologische Merkmale, welche sich von denen anderer Formen der Demenz unterscheiden¹³⁻¹⁵.

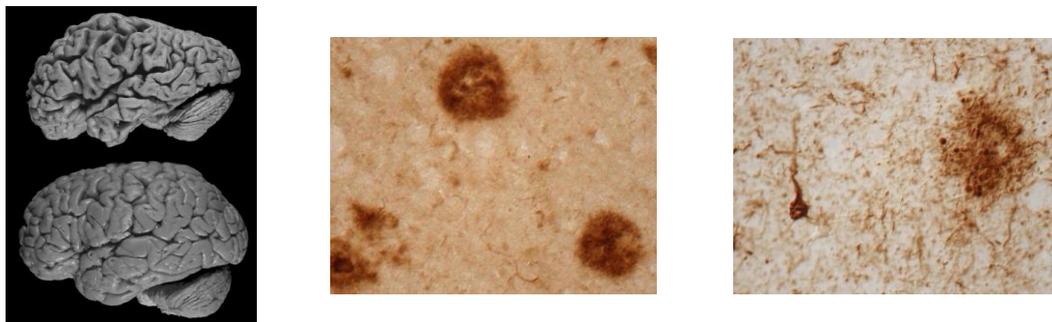


Abbildung 1: Histopathologische Merkmale der Alzheimerschen Erkrankung
Atrophie des Gehirns eines Patienten mit AD (links oben) im Vergleich zu einem gesunden Gehirn (links unten)⁸, Amyloid-Plaques und neurofibrilläre Tau-Proteinablagerungen unter dem Mikroskop (Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung, Leipzig, Neuroanatomie) (Mitte und rechts)

Neben der massiven Atrophie des Gehirns mit vertieften Windungsfurchen und vergrößerten Hirnkammern sind intra- und extrazelluläre Eiweißablagerungen auf der gesamten Hirnrinde zu

finden. Die intrazellulären Ablagerungen sind neurofibrilläre Bündel (*neurofibrillary tangles*, NFTs), welche aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein bestehen, die extrazellulären Ablagerungen sind Amyloid-Plaques aus aggregiertem β -Amyloid(A β)-Protein.

Vorgänge im Gehirn, die letztendlich zu diesen abnormen Formen der Proteine führen, sind bei gesunden Menschen durch entgegensteuernde Prozesse kontrolliert. Normalerweise ist die Konzentration der A β -Proteine von einem Gleichgewicht zwischen A β -Entstehung (Kapitel 1.1.2), A β -Transport aus dem Gehirn in das Blut (hauptsächlich *lipoprotein receptor-related protein*(LRP)-vermittelt) bzw. umgekehrt (hauptsächlich *receptor for advanced glycation endproducts*(RAGE)-vermittelt) sowie A β -Abbau (u. a. durch Neprilysin und *insulin-degrading enzyme*, IDE) reguliert^{16, 17} und die Phospho-/Dephosphorylierung des Tau-Proteins durch Kinasen-Phosphatasen-Gleichgewichte gesteuert^{18, 19}. Endogene und exogene Faktoren führen jedoch zu Ungleichgewichten in den physiologischen Abläufen und resultieren in den o. g. histopathologischen Veränderungen. Damit einhergehend ist die Fehlfunktion bzw. der Funktionsverlust dieser Proteine, insbesondere bei der Signalübertragung, der Versorgung und der Entwicklung der Neuronen, die Folge.

Zunächst findet eine Zerstörung der synaptischen Übertragungsstellen statt und führt letztendlich zum Untergang der Nervenzellen. Dieser betrifft u. a. cholinerge und glutamaterge Neuronen, besonders im *Nucleus basalis Meynert*, welche für das Gedächtnis- und Lernvermögen maßgeblich sind⁴. Der Nervenzellverlust führt zu einer neuronalen Dysfunktion durch die verminderte Konzentration an Acetylcholin (ACh) und extrazellulär erhöhter Konzentration an Glutamat. Die einzige bisher zugelassene medikamentöse Therapie der AD setzt dort an und besteht in der Modulation der Neurotransmission, wobei lediglich die Symptome behandelt werden, nicht aber der Krankheitsverlauf aufgehalten wird. Durch Erhöhung der Konzentration des Neurotransmitters ACh soll eine verbesserte Signalübertragung erreicht werden. Mit den für leichte bis mittelgradige AD zugelassenen Wirkstoffen Donepezil (Aricept[®]), Rivastigmin (Exelon[®]) und Galantamin (Reminyl[®]) wird die Verfügbarkeit von ACh im Gehirn erhöht, weil dessen Abbau durch Hemmung der Acetylcholinesterase (AChE) unterbunden wird. Tacrin (Cognex[®]), ein früherer Vertreter der AChE-Hemmer, wird aufgrund der Lebertoxizität nicht mehr eingesetzt. Als einziger bei AD im mittel- bis schwergradigen Stadium zugelassener Wirkstoff zählt Memantin (Axura[®], Ebixa[®], Memando[®]), ein nicht-kompetitiver *N*-Methyl-D-Aspartat(NMDA)-Antagonist. Die Hyperaktivität der NMDA-Rezeptoren und Überstimulation dieser durch erhöhte Konzentration an Glutamat führen zu einer Überladung der Nervenzellen mit Calciumionen, wodurch eine Calcium-induzierte Apoptose (Exzitotoxizität) ausgelöst wird. Memantin blockiert wegen einer spannungs-abhängigen Affinität die pathologisch verstärkt aktiven Rezeptoren⁴.

Die Vielzahl an Mechanismen, welche bei der Pathogenese der AD eine Rolle spielen, und deren Verknüpfung sind noch nicht vollständig geklärt. Die Übersicht nach *Anand et al.* (2014) verdeutlicht die Komplexität der Pathogenese bei der Alzheimer Demenz (Abbildung 2). Anhand wissenschaftlicher Erkenntnisse, welche über die letzten 100 Jahre gesammelt wurden, ist von einer multifaktoriell bedingten Ätiologie auszugehen, in welche genetische und umweltbedingte Faktoren, aber auch individuelle Verhaltensweisen (Lebensstil) und individueller Entwicklungsstand einfließen.

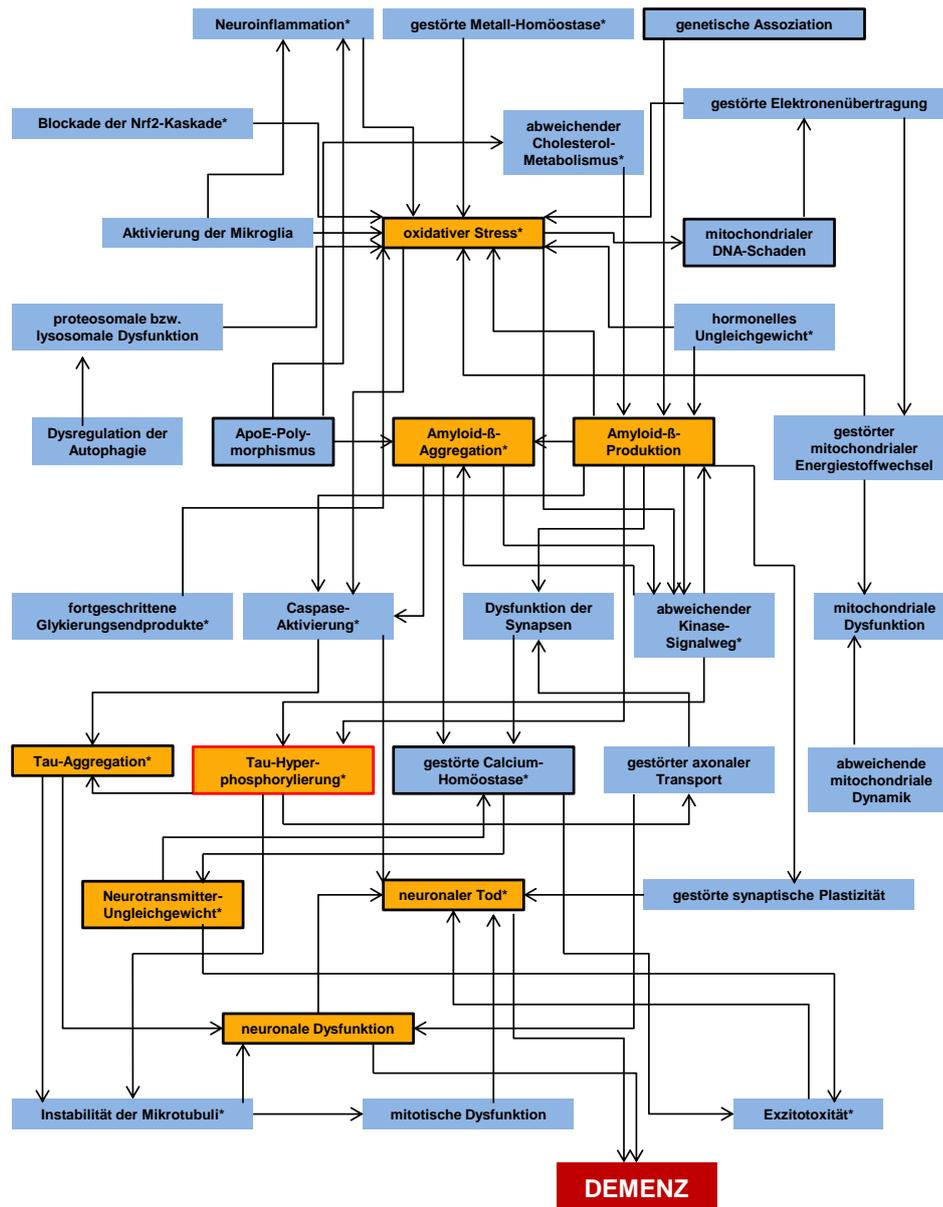


Abbildung 2: Pathogenese der Alzheimer Demenz (nach *Anand et al.*²⁰, deutsche Übersetzung DAZ 05/2015²¹)
 Die Abbildung zeigt das Zusammenspiel der vielen verschiedenen Mechanismen, die bei der Pathogenese der AD eine Rolle spielen. Die wichtigsten sind umrandet, davon durch rote Umrandung hervorgehoben die Tau-Hyperphosphorylierung, welche im Rahmen dieser Arbeit betrachtet wird. Gegen die mit * gekennzeichneten Mechanismen werden bereits Wirkstoffe und Therapieoptionen entwickelt.

Abgeleitet von der Komplexität der Pathogenese und der Dringlichkeit einer kausalen Therapie wird eine Vielzahl an Strategien zur Bekämpfung der AD verfolgt. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Forschungsansätze in präklinischer und klinischer Phase wieder, für welche vielversprechende Wirkungen zur Modifizierung der Krankheitsentwicklung diskutiert werden.

Tabelle 1: Therapieoptionen in der Behandlung der Alzheimer Demenz nach *Anand et al.*²⁰

Modulation der Neurotransmission <ul style="list-style-type: none"> - AChE-Inhibitoren - NMDA-Antagonist - GABA-Antagonisten - MAO-Inhibitoren - SSR-Inhibitoren - H₃-Rezeptor-Antagonisten - Adenosin_{2A}-Inhibitor 	Tau-basierte Therapien <ul style="list-style-type: none"> - Kinaseinhibitoren - Stabilisierung der Mikrotubuli - Verhinderung der Tau-Akkumulation - Abbau von NFTs - Tau-basierte Immuntherapie 	Amyloid-basierte Therapien <ul style="list-style-type: none"> - Aβ-Bildung reduzieren - Aβ-Transport modulieren - Aβ-Aggregation hemmen - Aβ-Aggregate spalten - Amyloid-basierte Immuntherapie
Modulation intrazellulärer Signal-Kaskaden	Reduzierung des oxidativen Stresses <ul style="list-style-type: none"> - Antioxidantien - Aktivierung endogener antioxidativer Mechanismen - Modulation des mitochondrialen Stoffwechselsystems 	Regulation der zellulären Calcium-Homöostase
Therapien gegen neuroinflammatorische Prozesse	Multitarget-Therapie <ul style="list-style-type: none"> - Kombination von Wirkstoffen - Wirkstoffe mit selektiver Polypharmakologie 	andere <ul style="list-style-type: none"> - Modulation neurotropher Faktoren - Modulation des Hormonhaushalts im Alter - Chelatoren - Epigenetische Modifikation - Reduktion erhöhter Cholesterolkonzentration - NO-Synthase Modulation - DNA-basierte Therapeutika

1.1.1 Tau-Hypothese

Die in allen eukaryotischen Zellen vorkommenden Mikrotubuli, deren Hauptbestandteile α - und β -Tubulin darstellen, sind mitverantwortlich für die Stabilisierung des Zytoskeletts, an der Weiterleitung von Signalen und an Transportvorgängen innerhalb der Zelle. Sie stellen keine starren Zellbestandteile dar, sondern unterliegen von Natur aus ständigen Auf- und Abbauprozessen im Zusammenspiel mit anderen Proteinen²². Das Tau-Protein, ein wichtiges, hauptsächlich in Neuriten vorkommendes Mikrotubuli-assoziiertes Protein (*microtubule-associated protein*), spielt vor allem bei der Polymerisation und Depolymerisation der Mikrotubuli eine bedeutende Rolle (siehe auch Kapitel 2.1). Die Aktivität des Proteins wird durch ein komplexes Gleichgewicht von Phosphorylierung und Dephosphorylierung durch Kinasen und Phosphatasen reguliert^{19, 23}.

Durch überexprimierte, hyperaktive Kinasen kommt es zu einem Ungleichgewicht. Das Tau-Protein erfährt eine Hyperphosphorylierung vor allem an der Mikrotubuli-bindenden-Region des Proteins und damit erfolgt ein Abdissoziieren vom Mikrotubulus. Durch weitere Bindung

von Phosphatgruppen kommt es zunächst zu einem Verlust der Wasserlöslichkeit und dann zur Aggregation in gepaarten helikalen Filamenten (Abbildung 3, PHFs), welche sich zu neurofibrillären Bündeln (NFTs) verdichten. Die pathologische Phosphorylierung des Tau-Proteins hat die Depolymerisation und das Aufreißen der ursprünglich helikal geformten Struktur der Mikrotubuli zur Folge. Die Stabilität des Zellskeletts, die Versorgung und Entwicklung der Zelle sowie der axonale Transport von Neurotransmittern sind gestört und führen letztendlich zum Untergang des Neurons^{23, 24}.

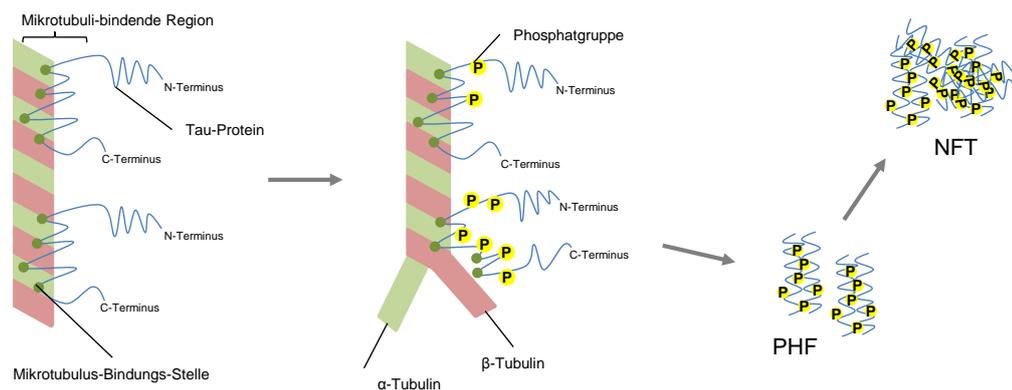


Abbildung 3: Entstehung der NFTs durch Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins

In der Forschung werden im Rahmen der Tau-Hypothese vielseitige Therapieansätze verfolgt²⁰. Neben der Stabilisierung der Mikrotubuli durch den in Phase I der klinischen Studie befindlichen Wirkstoff BMS-241027 (Epothilone D) und dem Abbau der Tau-Proteinablagerung werden die Inhibitoren des Hitzeschockproteins HSP90, welches die Faltung der Tau-Aggregate vermittelt und diese vor enzymatischer Spaltung schützt, untersucht. Hierbei konnten Curcumin und EC102 in Tierversuchen die Tau-Akkumulation signifikant verringern. Auch werden im Rahmen der aktiven und passiven Immuntherapie Fortschritte gemacht. So wurden in transgenen Mäusen nach passiver Vakzinierung mittels monoklonaler Antikörper gegen Tau-Oligomere verbesserte kognitive Leistungen beobachtet. Allerdings befinden sich diese Therapieansätze bisher nur in der präklinischen Phase. Vielversprechender scheint der Methylenblau-Abkömmling LMTXTM (Tau-Rx Therapeutics). Dieser verhindert pathologische Ansammlungen von NFTs durch Inhibierung der Tau-Tau-Interaktion. In einer klinischen Studie wurde über einen Zeitraum von 50 Wochen keine Progression der Alzheimer-Krankheit beobachtet^{25, 26}. Dieser Wirkstoff befindet sich mittlerweile in der Phase III. Ein weiterer Ansatz ist die Wiederherstellung des Gleichgewichts zwischen Phosphorylierung und Dephosphorylierung von Tau. Mit Ve-015 (Natriumselenit) befindet sich ein Aktivator des Enzyms Phosphatase 2A in Phase II der klinischen Studie. Durch dessen Aktivierung werden hauptsächlich Threonin- und Serinreste des Tau-Proteins, die pathologisch phosphoryliert

werden, dephosphoryliert. Der größte Fokus in dem Bereich Tau-basierter Therapien liegt allerdings in der Erforschung von Inhibitoren AD-relevanter Kinasen (siehe Kapitel 2.3). Neben der Entwicklung von Wirkstoffen wird damit auch ein wesentlicher Beitrag zum Verständnis der Beteiligung dieser Enzyme an der Entstehung bzw. der Progression der AD geleistet. Hier sind bisher nicht alle Zusammenhänge geklärt. Tideglusib (NP031112 oder NP-12) ist ein irreversibler Inhibitor der Glykogensynthase-Kinase(GSK) 3 β und hat in einer klinischen Phase II Studie leichte Verbesserung der kognitiven Funktionen und gute Verträglichkeit bei den Patienten bewiesen²⁷. In den vorab durchgeführten Tierversuchen mit transgenen Mäusen reduzierte NP-12 die Bildung von phosphoryliertem Tau-Protein. In der Pipeline präklinischer Evaluationen befindet sich hingegen eine Vielzahl an Inhibitoren AD-relevanter Kinasen.

1.1.2 Amyloid-Hypothese

Die für eine Alzheimer Demenz charakteristischen senilen Plaques (Amyloid-Plaques) bestehen aus aggregierten Amyloid-Peptiden. Diese Peptide werden aus dem Amyloid-Precursor-Protein (APP), einem integralen Membranglykoprotein, durch enzymatische Aktivität zweier Sekretasen, der β - und γ -Sekretase, gebildet. Zunächst spaltet die β -Sekretase vom APP extrazellulär ein C-terminales Peptid ab. Es resultiert das lösliche, nicht toxische sAPP β (*soluble* APP β) und das verkürzte APP, welches dann als C99-Peptid bezeichnet wird. Dieses wird in der Membran durch die γ -Sekretase gespalten, wobei hauptsächlich neben dem wenig toxischen A β ₄₀ die toxische Spezies A β ₄₂ entsteht²⁸. Diese neigt sehr stark zur Aggregation und bildet den Hauptbestandteil der Amyloid-Plaques (Abbildung 4, rechts).

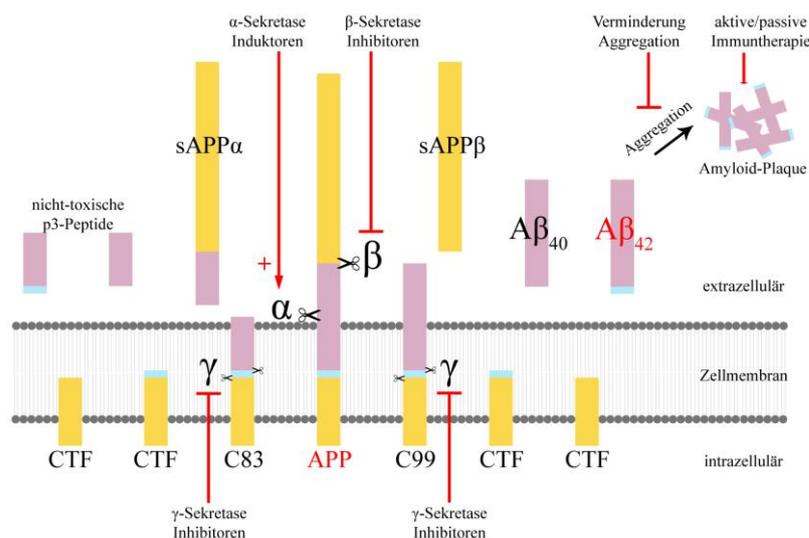


Abbildung 4: Bildung toxischer A β -Fragmente (rechts) aus dem APP und mögliche Anti-Amyloid-Therapieansätze

Frühere Zielstrukturen der Anti-Amyloid-Therapie waren Hemmstoffe der γ -Sekretase, wobei bei ersten Wirkstoffkandidaten wegen mangelnder Selektivität zwar eine Verminderung der A β -Bildung erreicht wurde, jedoch keine Verbesserung der Demenzsymptome. Die γ -Sekretase ist relativ unspezifisch und bevorzugt als Spaltsubstrate allgemein Proteine mit hydrophoben Aminosäuren. So spaltet sie nicht nur das C99-Peptid sondern auch ca. 50 andere Substrate wichtiger Signalwege, wie Notch-1, ein ebenfalls integrales Membranprotein, welches als Rezeptor auf Zelloberflächen jedoch eine zentrale Rolle in der Entwicklung von Nervenzellen spielt²⁹. Nicht-selektive γ -Sekretase-Inhibitoren hemmten sowohl die Spaltung von APP als auch von Notch und führten zu einer beobachteten Verschlechterung kognitiver Fähigkeiten. Dies kann mit der Hemmung der Notch-vermittelten Ausbildung funktioneller Synapsen begründet werden. Inhibitoren der zweiten Generation mit selektiver, weniger aktiver und nicht den Notch-Signalweg beeinträchtigender Wirkung, wie BMS-708163 (Avagacestat; Bristol-Myers Squibb) oder GSI-953 (Begacestat; Wyeth), befinden sich in klinischen Studien der Phase II mit bisher unveröffentlichten Ergebnissen^{20, 30}.

Die β -Sekretase stellt eine weitere Targetstruktur dar. Trotz der Vielzahl an Molekülen in der Wirkstoffforschung befinden sich nur sehr wenige Moleküle, die eine bessere Hirngängigkeit als die hochpotenten β -Sekretase-Inhibitoren der ersten Generation besitzen, in klinischen Studien. MK-8931 (Merck) befindet sich aktuell in Phase II/III und LY2886721 (Eli Lilly) in Phase I/II. Eine Hemmung der β -Sekretase führt letztendlich durch Verhinderung des β -/ γ -Spaltweges zu einer verminderten Bildung neurotoxischer A β -Peptide^{31, 32}.

Bei Alzheimer-Patienten ist die α -Sekretase-Aktivität und damit die Bildung des löslichen neuroprotektiven Peptids sAPP α (*soluble APP α*) reduziert (Abbildung 4, links). In der Folge wird vermehrt durch Aktivität von β - und γ -Sekretase aus dem APP das toxische A β ₄₂ gebildet. Durch Aktivitätssteigerung der α -Sekretase wird weniger der toxischen A β -Spezies und vermehrt sAPP α gebildet. Für das neuroprotektive sAPP α wird eine wichtige Rolle bei der Ausbildung und Funktionalität von Synapsen sowie bei Lern- und Erinnerungsvorgängen angenommen^{33, 34}. Etazolot ist ein Aktivator der α -Sekretase mit guter Verträglichkeit und ersten Anzeichen für eine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten³⁵. Aktuell befindet sich dieser Wirkstoff in Phase II der klinischen Prüfung.

Ein weiterer, in Phase II befindlicher Therapieansatz stellt die Verminderung der A β -Aggregation durch das Cyclohexanhexol-Derivat ELND005 (Scyllo-Inositol) dar. In ersten Studien wurde eine signifikante Abnahme von unlöslichem A β , eine Hemmung des Wachstums der Amyloid-Plaques sowie eine Verminderung des kognitiven Verfalls beobachtet³⁶.

Eine Beseitigung schwerlöslicher A β -Plaques wird durch immuntherapeutische Intervention versucht. Durch aktive Immuntherapie mit Impfstoffen der zweiten Generation werden statt des

vollständigen A β -Peptides (A β_{1-42}) nur Bruchstücke bzw. kurzkettige Sequenzen, welche nicht zwingend identisch mit der natürlichen Sequenz sind, verabreicht, um A β -spezifische Antikörper zu bilden³⁷. Diese führen zu verminderten A β -Konzentrationen und weniger Amyloid-Plaques. CAD106 zeigte in Phase II sehr gute Verträglichkeit und eine angemessene Immunantwort bei 75 % aller Probanden. Affitope AD-02/AD-03 (Affiris) und ACC-001 befinden sich ebenfalls in Phase II und verdeutlichten in vorangegangenen Tierversuchen eine signifikante Verminderung der A β -Mengen und verbesserte Kognition. Einen rascheren Effekt durch schnellere Immunantwort bringt die passive Immuntherapie mit monoklonalen Antikörpern. Einige wenige Kandidaten, wie Aducanumab (Biogen), Bapineuzumab, Solanezumab (Eli-Lilly) und Gantenerumab (Hoffmann-LaRoche) befinden sich in Phase II und III der klinischen Prüfung²⁰. Eine A β -Clearance mit einer Umverteilung von A β aus dem Gehirn in das Blut scheint damit zu gelingen, eine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten konnte trotz vielversprechender präklinischer Daten bisher nicht beobachtet werden³⁸.

Inwiefern die Amyloid-basierte Therapie zukünftig von Relevanz sein wird, wird sehr kontrovers diskutiert und kann daher noch nicht abgeschätzt werden. Sobald erste Symptome einer AD auftreten, scheint der Benefit dieser Therapieansätze für den Patienten bezüglich einer Aufrechterhaltung seiner kognitiven Fähigkeiten und Verlängerung der Überlebensdauer recht gering. Möglicherweise ist die Bildung der toxischen A β -Spezies und die Häufung seniler Plaques doch nicht ursächlich, sondern nur als Folge der Alzheimerschen Erkrankung anzusehen³⁹. Verknüpfungsstellen zur Tau-Pathologie bilden u. a. die Glykogensynthase-Kinase 3 und das Steuerprotein p25. Die hyperaktive GSK-3 wird durch Phosphorylierung von APP mit der vermehrten A β -Bildung in Verbindung gebracht^{40, 41}, wobei keine reine Kontrollfunktion angenommen wird, sondern eine Begünstigung der Substrateigenschaft des APPs für die β -Sekretase⁴². A β -Peptide induzieren die Bildung des Steuerproteins p25, welches durch Überaktivierung von CDK5 zur Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins führt⁴³.

Nach Betrachtung der Tau- und Amyloid-Hypothese stellen hyperaktive, überexprimierte Kinasen aufgrund ihrer zentralen Beteiligung an der Entstehung der für die Alzheimersche Erkrankung charakteristischen Proteinablagerungen attraktive Angriffspunkte einer Therapie dar und ermöglichen zugleich komplexe pathologische Kreisläufe der Krankheitsentstehung und -entwicklung besser zu verstehen.

2 Grundlagen

2.1 Das Tau-Protein

Das Tau-Protein, erstmals 1975 von *Weingarten et al.* beschrieben⁴⁴, gehört wie eingangs erwähnt zur Familie der Mikrotubuli-assoziierten Proteine und ist vor allem in Nervenzellen sowie unter pathologischen Bedingungen in Gliazellen, welche als Stütz- und Isolationsgerüst für Neuronen dienen, aber auch an der Homöostase im Gehirn sowie am Prozess der Informationsverarbeitung und –speicherung beteiligt sind⁴⁵, zu finden. Nicht-neuronale Zellen in peripheren Geweben von Herz, Niere, Lunge, Muskeln, Bauchspeicheldrüse, Hoden und Fibroblasten weisen nur Spuren der Tau-mRNA bzw. des Proteins selbst auf⁴⁶.

Tau übernimmt eine wichtige Rolle im Zusammenbau/-halt der Mikrotubuli durch Polymerisation und Depolymerisation der Tubulin-Untereinheiten. Damit werden neben der Stabilisierung des Zytoskeletts auch daran angeknüpfte Funktionen, wie das Wachstum und der axonale Transport von Vesikeln und Neurotransmittern, aufrecht erhalten. Ebenfalls trägt es zum Vernetzen der Mikrotubuli mit anderen Zellelementen und Proteinen bei^{46, 47}.

Ein Funktionsverlust des Tau-Proteins führt letztendlich zum Untergang des Neurons und resultiert in neurologischen Erkrankungen (Tauopathien). Diese fassen alle Leiden zusammen, die entweder durch Mutation des für das Tau-Protein codierenden Gens auf Chromosom 17 Genlocus q21⁴⁸ verursacht werden oder durch andere Prozesse zu Tau-Ablagerungen führen. Die häufigste und bekannteste Tauopathie ist die Alzheimersche Erkrankung mit bisher ungeklärter Pathogenese. Zu den durch Mutationen im Tau-Gen verursachten Krankheiten zählen u. a. die Pick-Krankheit, die progressive supranukleäre Blickparese und die kortikobasale Degeneration⁴⁹.

Im zentralen Nervensystem (ZNS) konnten 6 Isoformen des Tau-Proteins identifiziert werden, die durch alternatives Spleißen der prä-mRNA entstehen. Zwischen 352 und 441 Aminosäuren lang und mit einem molekularem Gewicht von 60 bis 74 kDa werden die Isoformen in vier Abschnitte unterteilt: die saure Region (*acidic region*) im N-terminalen Ende, die Prolin-reiche Region (*proline-rich region*), die Region mit Wiederholungsdomänen (*repeat domain*) und das C-terminale Ende. Maßgeblich beteiligt an der Tau-Mikrotubuli-Bindung sind der Abschnitt mit den Wiederholungsdomänen sowie Teile der Prolin-reichen Region, weshalb diese Abschnitte als Mikrotubuli-bindende Domäne (*microtubule-binding domain*) bezeichnet werden^{46, 50}.

Auch wenn exakte Bindungsstellen von Tau an den Mikrotubuli nicht bekannt sind⁵⁰, konnten Untersuchungen zeigen, dass durch Phosphorylierung vorhandener Serin/Threonin-Reste im

Tau-Protein Bindungsverluste und eine Destabilisierung des Zytoskeletts resultierten^{46, 47, 50}. Untersuchungen an der Tau-Isoform mit 441 Aminosäuren identifizierten insgesamt 85 Phosphorylierungsstellen (Abbildung 5), welche damit auch die deutliche Mehrheit an Angriffspunkten für post-translationale Veränderungen ausmachen. Weitere Modifizierungen des Proteins erfolgen durch Reaktionen mit Kohlenhydraten ohne Beteiligung von Enzymen (Glykation, 12 Stellen) bzw. mit Beteiligung von Enzymen (Glykosylierung, 11 Stellen) und durch Quervernetzungen innerhalb der Proteinstruktur (Polyaminierung durch Transglutaminasen, 8 Stellen)⁵¹. Von den 85 Phosphorylierungsstellen an Serin-, Threonin- und Tyrosin-Resten wurden 28 nur in AD-Gehirnen (rot), 16 in AD- und gesunden Gehirnen (blau) sowie 31 nur in gesunden Gehirnen (grün) phosphoryliert vorgefunden. Die restlichen 10 Stellen (schwarz) gelten als mutmaßliche Angriffspunkte für mögliche Phosphorylierungen^{19, 51}.

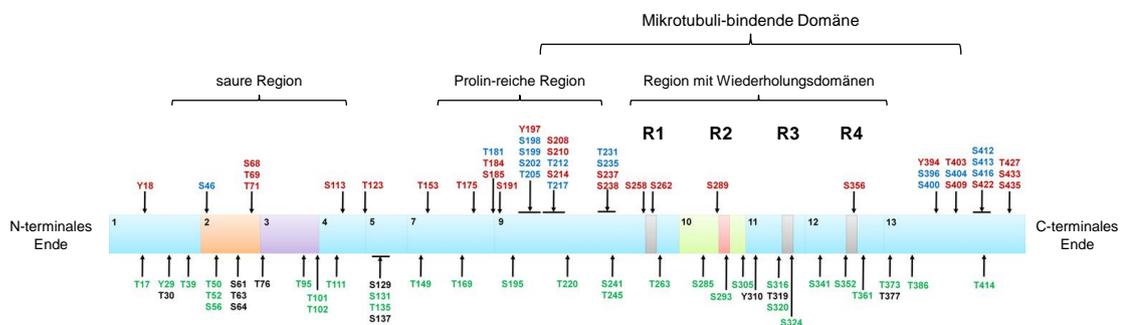


Abbildung 5: Tau-Protein-Isoform mit 441 Aminosäuren (adaptiert nach *Martin et al.*⁵¹) Die schematische Darstellung zeigt die verschiedenen Abschnitte des Proteins mit den Phosphorylierungsstellen. R1 - R4 bezeichnen die hochkonservierten 18 Aminosäure langen Wiederholungsdomänen.

Die Phosphorylierung von Tau wird durch Proteinkinasen vermittelt (Kapitel 2.2) und durch endogene Phosphatasen mittels Dephosphorylierung in ein physiologisches Gleichgewicht gebracht. Vor allem die Serin/Threonin-spezifischen Phosphatasen-Proteine (PP) 1, 2A, 2B (Calcineurin) und 2C wurden diesbezüglich identifiziert⁴⁶. Verminderte Phosphataseaktivität, aber wahrscheinlich mehr noch hyperaktive, überexprimierte Proteinkinasen, führen zu einem Ungleichgewicht^{19, 52}. Hyperphosphorylierte Tau-Proteine dissoziieren von den Mikrotubuli ab und verlieren ihre Wasserlöslichkeit, lange bevor sie sich zusätzlich abhängig von anderen post-translationalen Modifikationen zu gepaarten helikalen Filamenten (PHFs) zusammenlagern und zu neurofibrillären Bündeln (NFTs) verdichten^{46, 51} (Abbildung 6).

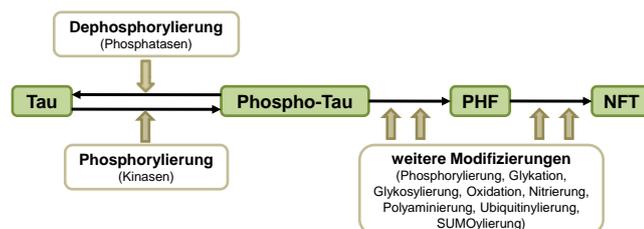


Abbildung 6: Vom Tau-Protein zum neurofibrillären Bündel – post-translationale Modifikationen

Die Dichte der NFTs korreliert mit dem Ausmaß der Demenz⁵³ und somit kann die Verhinderung deren Entstehung, beispielsweise durch Inhibitoren AD-relevanter Proteinkinasen, zum Verständnis der Pathogenese beitragen und als Therapieansatz zur Behandlung der Alzheimer-Erkrankung angesehen werden.

2.2 Proteinkinasen

Proteinkinasen gehören zur Enzymklasse der Transferasen und katalysieren die Übertragung der γ -Phosphatgruppe von Adenosintri-phosphat (ATP), seltener von Guanosintri-phosphat (GTP), auf die funktionelle Gruppe der Seitenketten bestimmter Aminosäuren. Je nach Substratspezifität gruppiert man diese ein in Serin/Threonin-Kinasen (Aminosäuren mit aliphatischer Hydroxygruppe), Tyrosinkinasen (Aminosäuren mit aromatischer Hydroxygruppe) und die kleinere Gruppe, zusammengefasst als „weitere Proteinkinasen“, welche die Phosphorylierung der Aminosäuren mit geladener Seitenkette (Arginin, Lysin, Histidin, Asparaginsäure und Glutaminsäure) ermöglicht⁵⁴. Die 518 verschiedenen Proteinkinasen, welche im menschlichen Genom codiert sind und nach Schätzung 30 % aller Proteine modifizieren, belegen den wichtigen Status dieser Enzymklasse und die entscheidende Rolle bei der Protein-Protein-Interaktion⁵⁵. Die Phosphorylierung führt durch Ladungsverteilung zur Konformationsänderung des Substrat-Proteins mit nachfolgenden Effekten, z. B. der Aktivierung oder Inaktivierung von Enzymen bzw. Transkriptionsfaktoren. Diese steuern folglich die Regulation zahlreicher zellulärer Prozesse, u. a. Transkription, Zellentwicklung und intrazelluläre Signalweiterleitung. Bei intrazellulären Signalübertragungen sind oftmals mehrere Kinasen hintereinander geschaltet, sogenannte Kinasekaskaden, wobei das Substrat einer Proteinkinase ebenfalls eine Kinase ist, welche durch Phosphorylierung aktiviert wird und ein weiteres Protein zu phosphorylieren vermag. Reguliert werden die Kaskaden durch ein Rückkopplungssignal, welches auf jeder Ebene erfolgen kann. Die Komplexität solcher Prozesse wird durch Verschaltung unterschiedlicher Kinasekaskaden untereinander und mit anderen Signalwegen erweitert⁵⁶.

Fehlregulationen dieser Enzyme haben wegen ihrer Bedeutung an der Signalweiterleitung und Regulation zellulärer Abläufe fatale Folgen und werden daher in ursächlichen Zusammenhang mit vielen Erkrankungen, wie Krebs, chronischen Entzündungen, Diabetes und neurodegenerativen Erkrankungen, zu denen die Alzheimer Demenz zählt, gebracht⁵⁷.

Bei aller Vielfalt an Aufgaben, welche die verschiedenen Kinasen erfüllen, ist, wie oben erwähnt, das ATP (seltener GTP) der gemeinsame Faktor. Aufgrund der chemischen Struktur des Nukleotids ist dessen Bindungsregion nur eingeschränkt variabel. Die ATP-Bindungstasche

wird folglich als hochkonserviert angesehen. Die größeren strukturellen Unterschiede finden sich zwischen Vertretern verschiedener Kinase-Familien, wohingegen innerhalb einer Familie deutlich mehr Übereinstimmungen der Aminosäuresequenz auftreten^{58, 59}. Zum besseren Verständnis wird an dieser Stelle kurz auf die Struktur der ATP-Bindungstasche von Proteinkinasen eingegangen, wobei in Abbildung 7 die relevanten Regionen schematisch dargestellt sind.

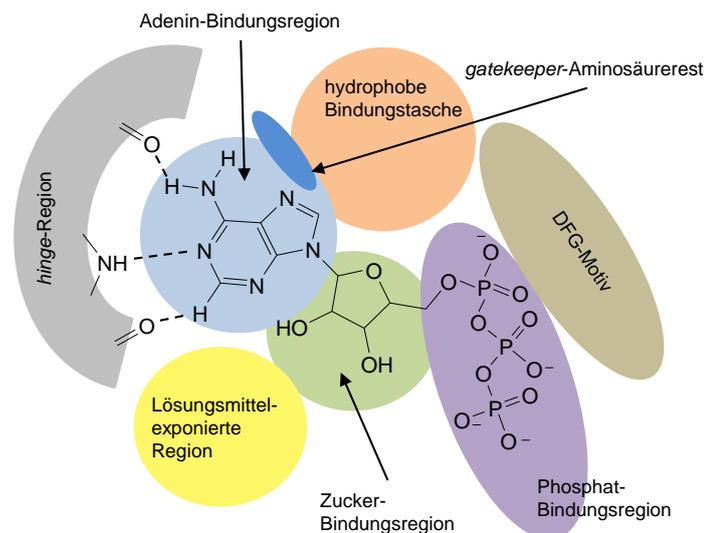


Abbildung 7: Regionen der ATP-Bindungstasche (adaptiert nach Vulpetti et al.⁶⁰)

Die Adenin-Bindungsregion bildet das Zentrum der ATP-Bindungstasche, in der der Purin-Teil des ATP-Moleküls durch Ausbildung dreier Wasserstoffbrückenbindungen zur flankierenden *hinge*(Scharnier)-Region (Verbindungsglied) zwischen N- und C-terminalem *loop* der Kinase aufgenommen wird. Dabei entsprechen die Bindungen zwischen dem Stickstoffatom an Pos. 1 des Purin-Grundgerüsts bzw. der Aminogruppe zum Enzym klassischen Wasserstoffbrückenbindungen. Die Interaktion des Wasserstoffatoms der CH-Bindung mit dem Sauerstoffatom einer Carbonylgruppe des Protein-Rückgrates(*backbone*) gilt hingegen als atypisch, aber möglich⁶¹. Voraussetzung dafür ist, dass sich die CH-Gruppe eines Heterozyklus in direkter Nachbarschaft zum Heteroatom befindet. Im weiteren Verlauf schließt sich die Zucker-Bindungsregion an, in welcher der Ribose-Rest des ATP aufgenommen wird, und die Phosphatbindungsregion für den Triphosphat-Teil. Beide gehören zu dem sogenannten *P-loop* der Kinase und zeigen notwendigerweise eine Häufung polarer Aminosäurereste auf. An der Phosphatgruppen-Übertragung auf das Substrat ist das Asp(D)-Phe(F)-Gly(G)-Motiv beteiligt. Diese besteht aus einer hochkonservierten Abfolge der drei Aminosäuren Asparaginsäure (Asp), Phenylalanin (Phe) und Glycin (Gly). Dazu benachbart und angrenzend an die Adenin-Bindungsregion befindet sich die hydrophobe Tasche mit dort gehäuft auftretenden

hydrophoben Aminosäuren. Am Eingang dazu befindet sich ausgehend von der Purin-Bindungsstelle ein Aminosäurerest, welcher die räumliche Trennung beider Bereiche unterstreicht. Dieser Rest wird als *gatekeeper* bzw. *gatekeeper*-Aminosäure bezeichnet. Die Lösungsmittel-exponierte Region ist der zur Oberfläche der ATP-Bindungstasche gerichtete Bereich, welcher, wie die hydrophobe Region, nicht für die Bindung des ATP am Enzym in Anspruch genommen wird.

2.2.1 AD-assozierte Tau-Proteinkinasen

Als AD-assozierte Tau-Proteinkinasen werden alle Kinasen zusammengefasst, welche das Tau-Protein zu phosphorylieren vermögen und in deren Folge beschriebene Prozesse der Tau-Hypothese (Kapitel 1.1.1) eingeleitet werden. Die Hyperaktivität und Überexpression dieser Enzyme wurde durch Untersuchungen an Gehirnen Erkrankter nachgewiesen, ebenso deren Lokalisation in unmittelbarer Nachbarschaft zu den histopathologischen Merkmalen der AD, vor allem den intrazellulären NFTs^{19, 62}. Den 85 identifizierten Phosphorylierungsstellen des Tau-Proteins (Kapitel 2.1) konnten etwa 20 Proteinkinasen zugeordnet werden, die sowohl im Physiologischen als auch Pathophysiologischen Tau phosphorylieren. Dabei können unterschiedliche Kinasen ein und dieselbe Phosphorylierungsstelle adressieren. Eine Einteilung erfolgt in Tyrosin(Tyr)- und Serin/Threonin(Ser/Thr)-phosphorylierende Kinasen, wobei in der letzten Gruppe nochmals in Prolin(Pro)- bzw. nicht Prolin-benachbart (mit bzw. ohne Ser/Thr-Pro-Motiv) unterschieden wird (Tabelle 2)¹⁹.

Tabelle 2: Einteilung der AD-assozierten Tau-Proteinkinasen nach *Martin et al.*¹⁹

PDPK (proline-directed protein kinases)	Non-PDPK (non-proline-directed protein kinases)	TPK (tyrosine protein kinases)
<ul style="list-style-type: none"> - Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3) - Cyclin-dependent protein kinase 5 (CDK5) - Mitogen-activated protein kinases <ul style="list-style-type: none"> - p38 - Extracellular signal-regulated kinases 1/2 (ERK1/2) - c-Jun N-terminal kinases 1/2/3 (JNK1/2/3) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tau-tubulin kinase 1/2 (TTBK1/2) - Casein kinase 1α/1β/1ϵ/2 (CK1α/1β/1ϵ/2) - Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A/2 (DYRK1A/2) - Microtubule affinity-regulating kinases (MARK) - Phosphorylase kinase (PhK) - Protein kinase A (PKA) - Protein kinase B/Akt (PKB/Akt) - Protein kinase C/N (PKC/N) - Ca²⁺/calmodulin-dependent protein Kinase II (CaMKII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Src family kinase (SFK) <ul style="list-style-type: none"> - Src - Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck) - Spleen tyrosine kinase (Syk) - Fyn - c-Abl kinase <ul style="list-style-type: none"> - Abl-related gene kinase (Arg)

Im Folgenden werden einige wichtige Vertreter in Hinblick auf deren Rolle an der AD-Pathologie näher betrachtet. Die Relevanz der Kinasen wird aus deren Anzahl an identifizierten Tau-Phosphorylierungsstellen bei AD-Patienten sowie bei AD-Patienten und gesunden Personen abgeleitet (Abbildung 8). Dabei gilt, je mehr Bindungsstellen vorhanden

sind, desto größer ist die Wechselwirkung des Enzyms mit dem Tau-Protein. Bei Hyperaktivität und/oder Überexpression der Kinasen resultiert unweigerlich eine höhere Gefahr pathologischer Hyperphosphorylierung mit anschließendem Verlust der natürlichen Funktion des Tau-Proteins.

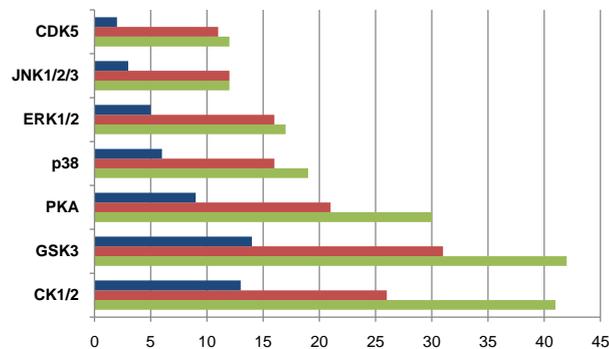


Abbildung 8: Proteinkinasen mit > 10 identifizierten AD-assoziierten Phosphorylierungsstellen am Tau-Protein¹⁹
Die Länge der Balken entspricht der Anzahl identifizierter Phosphorylierungsstellen am Tau-Protein durch die jeweilige Kinase. Die Gesamtanzahl ist grün, die davon sowohl in Gehirnen mit als auch ohne AD-Pathologie identifizierten Stellen sind orangerot bzw. nur in AD-Gehirnen gefundenen Phosphorylierungsstellen sind blau dargestellt.

2.2.1.1 Cyclin-abhängige Kinasen (CDK)

Die Cyclin-abhängigen Kinasen (*cyclin-dependent kinases*) gehören den Serin/Threonin-Kinasen an und bilden Enzymkomplexe mit den Cyclinen (Cyc) bzw. dazu homologen Proteinen, welche als regulatorische Untereinheiten fungieren. Nur durch diese Verbindung sind die Enzyme aktiv. Ursprünglich wurde den CDKs nur eine Schlüsselrolle an der Regulation des Zellzyklus zugeschrieben. Nachdem herausgefunden wurde, dass das menschliche Genom für 20 CDKs sowie 29 regulatorische, cyclinartige Proteine codiert und in dessen Folge eine Vielzahl an CDK-Regulatorprotein-Kombinationen möglich sind, zeigten Untersuchungen, dass diese Kinasen mannigfaltige Funktionen übernehmen⁶³. So sind die CDK1, 2, 3, 4 und 6 in Verbindung mit den Cyclinen A, B und E an der Regulation des Zellzyklus beteiligt, andere Kombinationen wie CDK7/Cyc H, CDK8/Cyc C, CDK9/Cyc T und CDK11/Cyc L sind als Transkriptionsfaktoren für die Nukleinsäuren-Vervielfältigung von Bedeutung⁶³⁻⁶⁵.

Eine besondere Stellung nimmt die CDK5 ein, weshalb sie auch eine tragende Rolle in der Phospho-Tau-Pathologie spielt. Aufgrund der sehr hohen Expressionsrate der CDK5 im Gehirn und da die notwendigen Regulatorproteine p35 und p39 fast ausschließlich im ZNS exprimiert werden, beschränkt sich die CDK5-Aktivität auf die Neuronen^{66, 67}. Dort erfüllen die Enzymkomplexe wichtige Funktionen in der Entwicklung des Nervensystems: Kontrolle des Neuritenwachstums, Regulierung der neuronalen Zellskelett-Dynamik, Steuerung von Transportvorgängen bzw. synaptischer Funktionen und Förderung der Apoptose^{19, 67}. Die Regulation der

CDK5-Aktivität erfolgt zum einen durch Phosphorylierungen am Enzymkomplex (CDK5 bzw. Untereinheit) zum anderen durch proteolytische Spaltung der regulatorischen Untereinheit p35 bzw. p39 mittels Calcium-abhängiger Calpain-Proteasen zu der p25- bzw. p29-Form. Die kürzeren Spaltprodukte sind stabilere Proteine und in der Folge entstehen stabile, hyperaktive CDK5-Komplexe^{19, 23}. Die aktivste Form, der CDK5/p25-Komplex, wurde in direkter Nachbarschaft zu NFTs gefunden und ist in der Lage, die Tau-Phosphorylierung und Neurodegeneration übermäßig zu induzieren^{67, 68}. Neben der direkten Phosphorylierung an mutmaßlich 11 AD-relevanten Stellen des Tau-Proteins hat das durch die CDK5 phosphorylierte Tau-Protein verbesserte Substrateigenschaft für weitere extensive Phosphorylierung durch die GSK-3 β . Desweiteren zeigten Untersuchungen eine durch CDK5 induzierte Erhöhung der A β -Level durch APP-Phosphorylierung und damit verbesserter Substrateigenschaft für die nachfolgende Spaltung durch die β -Sekretase^{19, 67}.

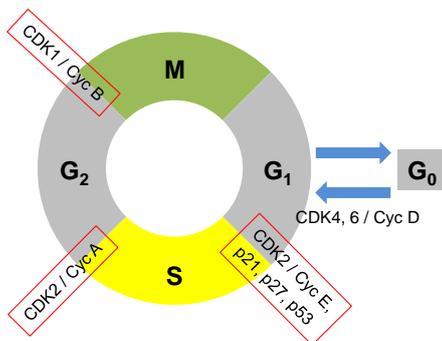


Abbildung 9: Wichtige CDK/Cyclin-Komplexe im Zellzyklus

Andere Cyclin-abhängige Kinasen, vor allem CDK1, 2 und 4, werden ebenfalls mit der AD-Pathologie in Zusammenhang gebracht, weil diese ungewöhnlicherweise in Nervenzellen bei Alzheimer Patienten gefunden wurden. Normalerweise sind Neuronen ausdifferenzierte Zellen, welche sich nicht weiter teilen und daher werden genannte Zellzyklus-regulierende Enzyme dort nicht exprimiert. Einmal entstandene Nervenzellen verweilen nach der M-Phase (Mitose) in

der G₀-Phase außerhalb des Kreislaufs der Zellteilung⁶⁹ (Abbildung 9).

Expression und Aktivierung u. a. von CDK4/D führt zum Wiedereintritt in die G₁-Phase des Zellzyklus und durch CDK2/E wird der Übergang in die S-Phase (DNA-Verdopplung) reguliert. Nach Übergang in die G₂-Phase, welcher durch CDK2/A kontrolliert wird, vermittelt abschließend die CDK1/B den Eintritt in die M-Phase. An diesen Übergangsstellen, den sogenannten Checkpoints (rot umrandet), kann für das von Natur aus in seiner Mitose-Kompetenz eingeschränkte Neuron CDK-beteiligt die Apoptose ausgelöst werden. Dieser programmierte Zelltod führt zum Untergang der Nervenzelle⁶⁹⁻⁷¹. Pharmakologische Untersuchungen konnten zeigen, dass durch Inhibitoren der CDKs deren Aktivität vermindert, neuronale Schäden verhindert und sogar rückgängig gemacht werden konnten⁶⁹.

Nach Auffassung von *Moh et al.* bilden sich die AD-typischen Ablagerungen erst dann, wenn durch chronische oxidative Schädigung der Nervenzellen im Gehirn der Apoptosesignalweg verhindert wird und in der Folge sich teilende, entartete, „unsterbliche“ Neuronen bilden (ähnlich den Tumorzellen). Nur diese können durch Fehlregulationen von Proteinen bzw.

Enzymen die histopathologischen Merkmale der Alzheimer-Krankheit (Amyloid-Plaques und NFTs) entwickeln⁷¹.

Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurden auf inhibitorische Wirkung an der CDK1/B, CDK2/E, CDK4/D und CDK5/p25 untersucht, da diese wie oben beschrieben vielversprechende pharmakologische Zielstrukturen darstellen.

2.2.1.2 Glykogensynthase-Kinase 3 (GSK-3)

Die Glykogensynthase-Kinase 3 (*glycogen synthase kinase-3*) ist eine Prolin-gerichtete Serin/Threonin-Kinase, d. h. diese phosphoryliert Substrate an Serin- und/oder Threoninresten, wobei diesen Aminosäuren immer ein Prolin folgt. Ihren Namen hat sie ihrem ersten identifizierten Substrat, der Glykogensynthase, zu verdanken, für die sie zunächst als regulierendes Enzym im Glykogen-Metabolismus beschrieben wurde⁷²⁻⁷⁴. Heute ist jedoch bekannt, dass dieses Enzym eine multifunktionale Kinase darstellt, welche viele Funktionen, u. a. im Rahmen der Zellproliferation, -entwicklung und -apoptose, steuert und dessen Dysregulation mit Erkrankungen, wie AD, Diabetes Typ II und Krebs, in Verbindung gebracht wird⁷⁵. Die beiden Isoformen GSK-3 α und GSK-3 β besitzen aufgrund von Unterschieden im C- und N-terminalen Ende zu 85 % die gleiche Aminosäuresequenz, wobei die katalytische Domäne zu 98 % übereinstimmt⁷⁶. Der Hauptunterschied liegt in dem 63 Aminosäuren längeren, glycinreichen N-terminalen Ende bei der GSK-3 α ⁷⁷. Die GSK-3-Isoformen werden in verschiedenen Geweben exprimiert, wobei sehr hohe Konzentrationen im Gehirn gemessen wurden⁷⁸. Von der GSK-3 β existiert eine in der katalytischen Domäne um 13 Aminosäuren verlängerte Isoform, die GSK-3 β 2. Deren Anteil an Total-GSK-3 β beträgt 15 % und sie wird als Neuronen-spezifische Variante beschrieben⁷⁹. Untersuchungen zeigten auch, dass die GSK-3 β 2 eine verminderte Aktivität an der Tau-Phosphorylierung besitzt, jedoch ist ihre Funktion noch nicht vollständig geklärt⁸⁰. Im Vergleich mit anderen Proteinkinasen liegt die GSK-3 in nicht-stimulierten Zellen permanent in aktivierter Form vor und wird erst durch an Rezeptoren interagierende externe Stimuli, wie z. B. Insulin oder Wachstumsfaktoren, ausgelöste Signalkaskaden inaktiviert. Daraufhin werden die Substrate nicht mehr phosphoryliert und somit der Einfluss an biochemischen Prozessen reguliert. Dies ist für den Insulin-, Wnt/ β -catenin- und Hedgehog-Signalweg sehr gut belegt^{75, 81-83}.

Damit die GSK-3 ein Substrat effizient phosphorylieren kann, muss dieses durch eine sogenannte *priming*-Kinase (vorgeschaltete Kinase, PK) vorphosphoryliert werden (Abbildung 10, **A**). Dies stellt jedoch keine absolute Notwendigkeit dar, denn auch nicht vorab phosphorylierte Substrate (nPS) können phosphoryliert werden (**B**). Die genannte

präphosphorylierte Stelle im Substrat ist vier Aminosäuren zur eigentlichen Prolin-gerichteten GSK-3 adressierten Stelle entfernt und bildet ein Ser/Thr-X-X-X-Ser/Thr-Pro-Motiv (X steht für eine beliebige Aminosäure). Die GSK-3-Substratbindungstasche besitzt zwei Interaktionsbereiche mit einem dem genannten Motiv entsprechenden Abstand. Sie bilden zum einen das katalytische Zentrum (Katalytische Domäne), an der die GSK-3-vermittelte Phosphorylierung abläuft, zum anderen die Bindungsdomäne (PS-Bindungsdomäne), mit der der präphosphorylierte Substratrest wechselwirkt. Die Regulierung der GSK-3-Aktivität erfolgt durch Phosphorylierungsprozesse am Enzym. Eine Phosphorylierung des Serin-Restes 21 (GSK-3 α) bzw. von Ser9 und/oder Ser389 (GSK-3 β) führt zu einer Inaktivierung. Aufgrund der Konformationsänderung entsteht ein Pseudosubstrat, welches durch Interaktion mit der eigenen Bindungsdomäne die eigentliche Substratbindung und dessen Phosphorylierung an der katalytischen Seite kompetitiv blockiert (C). Im Gegensatz dazu wird durch Phosphorylierung an Tyr279 (GSK-3 α) bzw. an Tyr216 (GSK-3 β) eine Aktivierung der Kinase eingeleitet^{77, 81, 83}. Proteinkinasen, welche die GSK-3 Isoenzyme zu phosphorylieren vermögen, sind u. a. Proteinkinase A/B/C, p70S6-/p85S6- und p90-ribosomal S6-Kinase. Die letzten beiden werden als Antwort auf p38 und ERK1/2 vermittelte Vorgänge aktiviert¹⁹.

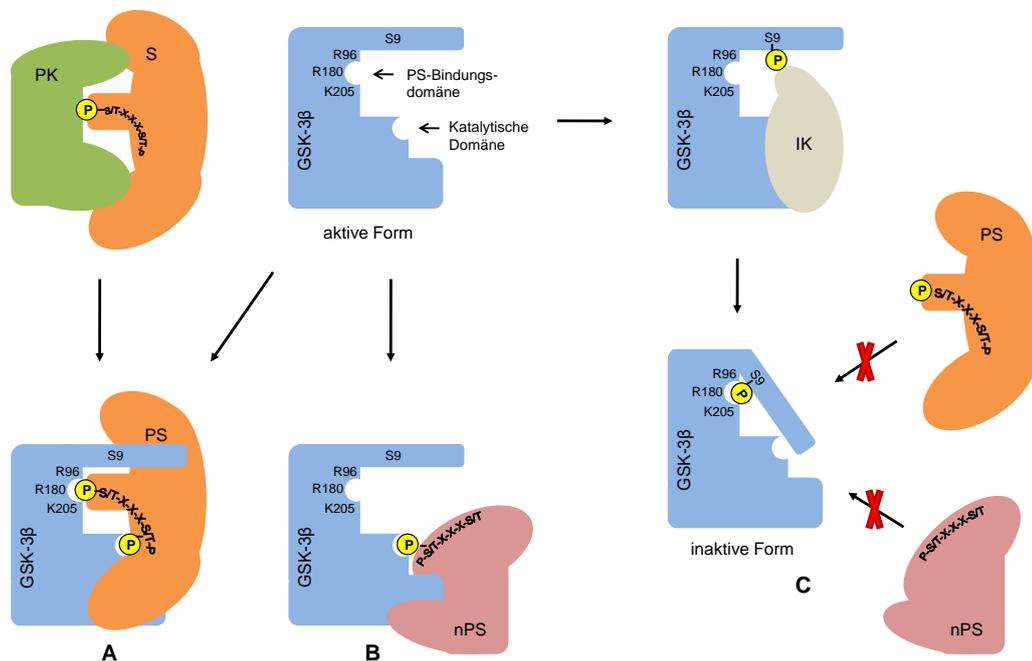


Abbildung 10: Regulierung der GSK-3 β -Aktivität durch Phosphorylierung am Serinrest 9 (nach *Doble et al.*⁸¹)

Die aktive Form der GSK-3 β kann sowohl durch vorgeschaltete Kinasen (PK) präphosphorylierte Substrate (PS) als auch nicht vorab phosphorylierte Substrate (nPS) phosphorylieren (A und B). Die Aminosäuren Arginin (R) 96 und 180 sowie Lysin (K) 205 bilden eine kleine Phosphatgruppe-bindende Tasche, welche als PS-Bindungsdomäne bezeichnet wird. Eine inaktivierende Kinase (IK) phosphoryliert Serin (S) 9 der GSK-3 β , in dessen Folge eine Konformationsänderung des Proteingerüsts eintritt. Die S9-Phosphatgruppe bindet als Pseudosubstrat an der PS-Bindungsdomäne, besetzt diese und der restliche N-terminale Teil des Proteins behindert sterisch die katalytische Domäne. Diese Inaktivierung unterbindet die Phosphorylierung jeglicher Substrate (C).

Mit 31 AD-relevanten Phosphorylierungsstellen am Tau-Protein werden durch die GSK-3 die meisten mit AD-assoziierten Stellen phosphoryliert und damit spielt sie eine zentrale Rolle in der Tau-Pathologie¹⁹. Vor allem die GSK-3 β wurde überexprimiert und hyperaktiv in Gehirnen von Alzheimer Patienten und zudem co-lokalisiert zu hyperphosphoryliertem Tau und NFTs gefunden^{84, 85}. Untersuchungen an Tiermodellen zeigten, dass durch Erhöhung der Aktivität der GSK-3 β die Tau-Hyperphosphorylierung, Neurodegeneration im Hippocampus, Gedächtnisdefizite und entzündliche Prozesse verstärkt wurden sowie eine verminderte Acetylcholin-Synthese resultierte⁸⁶. Außerdem bestätigten Zellversuche eine Beteiligung der GSK-3 an apoptotischen Vorgängen und es fanden sich Hinweise, dass durch GSK-3 β phosphoryliertes Tau zelltoxisch sein könnte⁸⁷. Toxische A β -Spezies vermögen außerdem die Aktivität der GSK-3 β zu verstärken, was wiederum zu einer Erhöhung der A β -Produktion führt⁸⁸. Diese wird zum einen durch APP-Phosphorylierung zum anderen durch Aktivierung von Präsenilin-1, welches ein Bestandteil des γ -Sekretase-Komplexes ist, erreicht⁸². Die Abbildung 11 veranschaulicht die Verflechtung der GSK-3 mit der AD-Pathologie.

Die synthetisierten Verbindungen wurden auf ihre Hemmwirkung an der GSK-3 β überprüft.

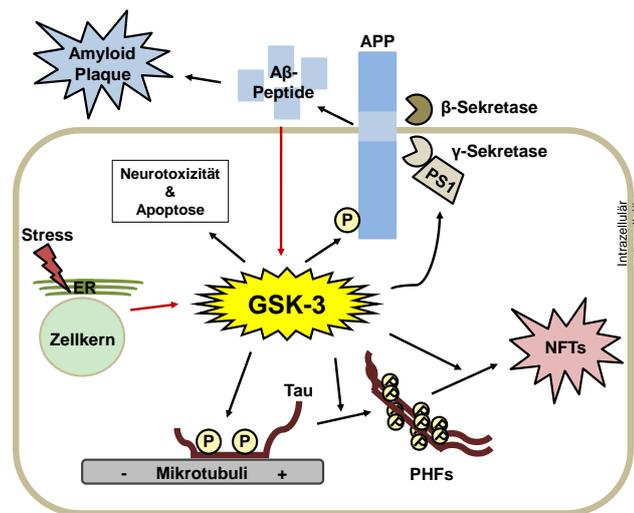


Abbildung 11: Glykogensynthase-Kinase 3 in der AD-Pathologie (nach Jope *et al.*⁸²)

Schematisch dargestellt sind die Verflechtungen der GSK-3 in der AD-Pathologie, u. a. an der Entstehung der histopathologischen Merkmale (Amyloid Plaques, NFTs) und der Neurodegeneration. Mit roten Pfeilen gekennzeichnet sind die GSK-3-Aktivität verstärkenden Faktoren. Neben den A β -Peptiden vermögen auch Stressoren des Endoplasmatischen Retikulums (ER) die GSK-3 β Aktivität/Expression zu erhöhen sowie durch fehlerhafte Proteinfaltungen die Neurotoxizität zu steigern⁸⁹.

2.2.1.3 Mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAP-K)

Die Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (*mitogen-activated protein kinases*) sind Schlüsselenzyme des hochkonservierten MAP-Kinase-Weges, einem aus mindestens drei in Serie geschalteten Proteinkinasen bestehenden Signalweg. Sie aktivieren letztendlich die zelluläre Antwort auf einen Kaskade-aktivierenden Stimulus (Signal). Die Funktionen dieser

Enzyme umfassen die vielseitige Regulation wichtiger Entwicklungsprozesse, dazu zählen Zellteilung, -differenzierung und der programmierte Zelltod (Apoptose). Alle MAP-K sind Serin/Threonin-Kinasen, die durch Phosphorylierung an einem Threonin- und Tyrosinrest mit einer variablen, dazwischen befindlichen Aminosäure (Thr-X-Tyr-Motiv) aktiviert werden. Diese Aktivierung erfolgt durch eine MAPK-K, welche wiederum durch eine vorgeschaltete MAPKK-K aktiviert wird. Resultierend aus unterschiedlichen Stimuli und verschiedenen beteiligten Kinasen an der Signalkaskade werden Signalwege definiert, welche teilweise miteinander verknüpft sind^{90, 91}. Die Abbildung 12 gibt dazu einen vereinfachten Überblick.

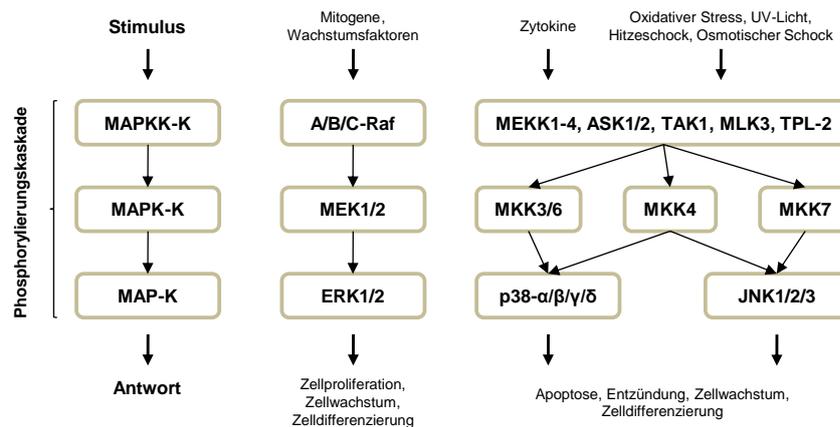


Abbildung 12: Vereinfachte schematische Darstellung der wichtigsten MAP-K-Kaskaden

Den MAP-Kinasen ERK, JNK und p38 sind Beteiligungen an der abnormalen Tau-Phosphorylierung nachgewiesen und auch in diesem Zusammenhang erhöhte Expressionslevel in den Gehirnen von AD-Patienten gefunden worden¹⁹. Zum besseren Verständnis deren Rolle werden die genannten Vertreter im Folgenden vorgestellt.

2.2.1.3.1 Extrazellulär-signalregulierte Kinase (ERK)

Namensgebend für die ERK ist ein notwendiges extrazelluläres Signal (z. B. Mitogene oder Wachstumsfaktoren), welches über einen Rezeptor in der Zellmembran die Phosphorylierungskaskade initiiert, in dessen Ergebnis die ERK aktiviert wird. Von den 8 bekannten Isoformen des Enzyms, werden die ERK1 (Aktivierung durch Phosphorylierung an Threonin 202 und Tyrosin 204; Thr-Glu-Tyr-Motiv) und die ERK2 (Aktivierung durch Phosphorylierung an Threonin 184 und Tyrosin 186; Thr-Glu-Tyr-Motiv)¹⁹ vermehrt in Neuronen exprimiert²³. Die zu 83 % in ihrer Aminosäuresequenz übereinstimmenden Isoformen ERK1/2 werden mit Phosphorylierungen von Neurofilamenten und des Tau-Proteins in Verbindung gebracht. So phosphoryliert beispielsweise im physiologisch normalen Zustand die ERK2 in stöchiometrischen Maßen die Wiederholungsdomäne (*multi-repeat domain*)

mittelgroßer Neurofilamente und sorgt somit für ein stabiles Zytoskelett vor allem in den Axonen^{23, 92}. Am Tau-Protein werden durch die ERK1/2 16 Phosphorylierungsstellen adressiert, davon werden 15 in einen Zusammenhang mit der AD gebracht¹⁹. Die Bindungsaffinität des durch ERK2 phosphorylierten Tau's zu den Mikrotubuli wird um den Faktor 10 vermindert, woraus eine Verringerung der Stabilität der Mikrotubuli resultiert⁹³. Für eine Fehlregulierung dieser Kinasen bei der AD und anderen Tauopathien sprechen auf der einen Seite hochregulierte ERK1/2-Level in Neuronen mit hyperphosphoryliertem Tau bzw. Neurofilamenten⁹⁴, auf der anderen Seite Ergebnisse von Studien an transgenen Mäusen. Die Untersuchungen an genmodifizierten Mäusen mit einer Störung des Cholesteroll-Metabolismus (Morbus Niemann-Pick Typ C) und den stark ausgeprägten klinischen Symptombildern (Akkumulierung von NFTs sowie fortschreitender Neurodegeneration) konnten zeigen, dass die Zunahmen phosphorylierter AD-relevanter Phosphorylierungsstellen am Tau-Protein mit einer signifikanten Erhöhung der aktiven ERK1/2-Level korrelierten. Aktivitäten und Expressionsraten anderer AD-relevanter Kinasen, wie GSK-3 β und CDK5/p35, waren nicht erhöht, daher ist von einer möglichen Relevanz dieser Kinasen bei der Pathogenese auszugehen^{23, 95}. Zellkultur-Studien, in denen Neuronen nach A β -Exposition auf Kinasen-induzierende Wirkung hin untersucht wurden, zeigten eine signifikante Aktivierung der ERK2 neben der GSK-3 β und CDK5, welche durch Tau-Hyperphosphorylierung letztendlich zum Untergang der Zellen führte²³. Ebenso aktivieren im Rahmen der Alzheimerschen Erkrankung auftretende Hypoxien die ERK⁹⁶.

Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurden auf inhibitorische Wirkung an der ERK2 untersucht.

2.2.1.3.2 c-Jun-N-terminale Kinasen (JNK)

Die c-Jun-N-terminale Kinasen, auch Stress-aktivierte Proteinkinasen (*stress-activated protein kinases*, SAPK) genannt, werden als letztes Glied der durch Zytokine, UV-Bestrahlung, Wachstumsfaktoren, Hitze-/Kälteschock, osmotischer/oxidativer Stress oder Xenobiotika ausgelösten Signalkaskade aktiviert. Die 10 bekannten Isoformen entstehen durch drei JNK-codierende Gene und alternatives Spleißen. So resultieren vier JNK1-, vier JNK2- und zwei JNK3-Varianten. Von diesen werden die JNK3 hauptsächlich im ZNS und die JNK1/2 im gesamten Organismus exprimiert^{62, 91}. Die Übereinstimmung der Aminosäuresequenz aller Isoformen liegt bei ca. 70 %, wobei die α - und β -Form des gleichen Gens zu 97% identisch ist. Allen gemeinsam ist zudem das Aktivierungsmotiv Thr-Pro-Tyr, welches am Threonin- und Tyrosinrest phosphoryliert werden muss⁹¹. Obwohl das c-Jun-Protein, dessen an Serin 63 und

73 phosphorylierte aktive Form in übermäßigen Mengen in direkter Nachbarschaft zu NFTs gefunden wurde und dadurch ebenso mit der Neurodegeneration in Verbindung gebracht wird, für aktivierte JNKs das bevorzugte Substrat darstellt⁹⁰, wird ebenfalls die Phosphorylierung des Tau-Proteins an 12 Aminosäureresten durch die JNK katalysiert. Diese werden alle als AD-relevant angesehen¹⁹. Vermehrt aktive JNKs wurden in Nervenzellen umgeben von A β -Ablagerungen co-lokalisiert zu hyperphosphoryliertem Tau gefunden⁹⁷, ebenso wie direkt in den Tau-Aggregaten⁹⁸. Auch wenn überaktivierte JNKs nicht allein für die Hyperphosphorylierung von Tau verantwortlich sind, sondern zusätzliche Phosphorylierungen z. B. durch die GSK-3 β nötig sind⁹⁹, spielen sie dennoch eine wichtige Rolle in der Tau-Pathologie. Untersuchungen an der JNK brachten weitere Verknüpfungen zur A β -Pathologie hervor. Die JNKs können die Aktivität der γ -Sekretase erhöhen, wodurch verstärkt A β -Peptide gebildet werden¹⁰⁰. Durch die Möglichkeit, dass A β -Peptide die MAP-Kinase-Kaskade auslösen und somit wiederum JNKs aktivieren können⁹¹, kann hier eine Art Teufelskreislauf im amyloiden APP-Spaltungsweg entstehen.

Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Zielstrukturen wurden an der JNK3 getestet, da diese die ZNS-spezifische Isoform darstellt.

2.2.1.3.3 p38

Die p38 ist eine letzte den MAP-Kinasen zugehörige Enzymgruppe, welche an der Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins beteiligt ist, sowie überaktiviert und benachbart zu NFTs in Gehirnen von AD-Patienten gefunden wurde¹⁰¹. Es sind 4 Isoformen des Enzyms bekannt, die α -, β -, γ - und δ -Isoform. Ihre Aktivierung erfolgt durch Threonin- und Tyrosin-Phosphorylierung eines Thr-Gly-Tyr-Motivs nach Durchlaufen einer Kinasekaskade ausgelöst durch extrazelluläre Stressoren bzw. Zytokine⁹⁰. Die Aktivierung durch Autophosphorylierung ist ebenso möglich¹⁰². Eine wichtige Rolle spielen diese Kinasen in der Regulierung der Apoptose, wobei deren Expression u. a. durch Destabilisierung des Zytoskeletts (z. B. bei der Tau-Pathologie), Entzündungsmediatoren (Tumor Nekrose Faktor α (TNF α) sowie Interleukin-1 β (IL-1 β)) und A β induziert wird¹⁹. Die p38-Isoformen können allerdings auch selbst die Zytokin-Expression (TNF α und IL-1 β) steuern⁶². Da die Pathogenese der AD in Ihrer Vollständigkeit ungeklärt ist, wird diese auch mit Entzündungsgeschehen in Zusammenhang gebracht. Hier kann p38 ein Bindeglied darstellen. Untersuchungen an Gehirnen von AD-Patienten zeigten erhöhte TNF α - und IL-1 β -Konzentrationen infolge der durch A β -Peptide induzierten Aktivierung von p38- α/β in Verbindung mit aktivierten Gliazellen^{103, 104}. Eine übermäßige Erhöhung dieser Wachstumsfaktoren kann letztendlich zur

Apoptose führen. Am besten dokumentiert ist allerdings die Beteiligung der p38-Isoformen α und β als Regulatoren abnormaler entzündlicher Stimulation nur bei Rheumatoider Arthritis und Entzündungen der Atemwege^{105, 106}. Für p38- γ und p38- δ wurde an den Entzündungsgeschehen bisher keine Beteiligung nachgewiesen⁶², dafür aber eine entscheidende Rolle bei der Tau-Mikrotubuli-Wechselwirkung. Studien identifizierten das Tau-Protein als Substrat der p38, wobei von den 21 zugeordneten Phosphorylierungsstellen 15 mit der Tau-Pathologie assoziiert werden¹⁹. Durch p38- γ und p38- δ (Homologie untereinander 70 % bzw. 62 % zu p38 α ⁶²) phosphoryliertes Tau führte zur größten Reduzierung der Tau-Mikrotubuli-Bindung im Vergleich zu JNK, p38- α oder - β katalysierter Phosphorylierung^{107, 108}. Diese Erkenntnis wurde in Studien an Neuroblastomzellen, in denen p38- γ überexprimiert wurde, nicht aber JNK oder andere p38-Isoformen, mit ebenfalls signifikant reduzierter Assoziation von Tau mit dem Zytoskelett bestätigt¹⁰⁹.

Die synthetisierten Verbindungen wurden an der p38- γ , wegen der exklusiveren Beteiligung an der Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins, auf ihre Hemmeigenschaften hin untersucht.

2.2.1.4 Casein Kinase (CK)

Die Casein Kinase 1 (CK1) mit ihren 7 Isoformen α , β , γ 1, γ 2, γ 3, δ und ϵ sowie die drei Isoformen der Casein Kinase 2 (CK2) α , α' und β bilden eine Gruppe multifunktionaler Enzyme. Entscheidend für die Beteiligung an der AD-Tau-Pathologie ist, dass sie ca. 54 % aller Phosphorylierungsstellen des Tau-Proteins phosphorylieren, weswegen sie die Mikrotubuli-Dynamik maßgeblich beeinflussen können. So werden 25 der 46 Stellen eine AD-Relevanz zugeschrieben¹⁹. Untersuchungen an AD-Patienten ergaben generell erhöhte CK1-Raten, wobei eine Häufung dieser co-lokalisiert zu NFTs beobachtet wurde¹¹⁰. Vor allem die CK1-Isoformen α , δ und ϵ werden vermehrt im Gehirn exprimiert und tragen somit stärker an der pathologischen Tau-Phosphorylierung bei^{19, 111}. In Gehirnen von Alzheimer-Patienten wurden CK1 δ mRNA-Werte 24-fach und die Aktivität der Kinase 30-fach erhöht gefunden¹¹², was deren Beteiligung an der Krankheitsentwicklung untermauert. A β -Peptide vermögen CKs zu aktivieren, mit der Folge die Tau-Pathologie zu fördern und außerdem die A β -Bildung zu erhöhen^{88, 113}. Bei der Spaltung von APP zu amyloidogenen A β -Peptiden spielt die CK1 ϵ als Aktivität-regulierendes Enzym der γ -Sekretase eine entscheidende Rolle. Entstehende lösliche oligomere A β -Peptide verstärken die CK2-Aktivität, was zu einer Störung des schnellen axonalen Transportes führt¹¹⁴. Ebenso vermögen hyperaktive CK2-Isoformen die Phosphorylierung von ApoE zu fördern, welches abermals CK2 aktivieren kann. Die *in vivo* nachgewiesene physiologische Interaktion von ApoE, CK2 und Tau-Protein^{115, 116} könnte somit

möglicherweise zu Ungunsten beeinflusst werden. CKs sind außerdem regulierende Enzyme für die Funktion der CDK5 und stellen Priming-Kinasen für die GSK-3 β , mit bedeutender Rolle im Insulin- und Wnt/ β -Catenin-Signalweg, dar^{111, 117}.

2.2.1.5 Proteinkinase A (PKA) und dual-spezifische Tyrosinphosphorylierung-regulierende Kinase 1A (DYRK1A)

Die Proteinkinase A liegt als Heterotetramer, bestehend aus zwei regulatorischen Untereinheiten mit 4 Isoformen und zwei katalytischen Untereinheiten mit 3 Isoformen, vor. Dadurch ergibt sich eine Vielzahl an Enzymkomplex-Kombinationen und eine hohe Variabilität bei PKA-regulierten Prozessen^{19, 118}. Dazu zählen hauptsächlich Energiestoffwechselprozesse aber auch die Kontrolle von Ionenkanälen und Weiterleitung durch Neurotransmitter vermittelte Signale. Aktiviert wird die PKA durch cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP), einem *second messenger*¹¹⁸. Dieses wird durch Stimulation eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors und der dadurch aktivierten membranständigen Adenylatcyclase, welche ATP in cAMP umwandelt, gebildet¹¹⁹. cAMP bindet an den regulatorischen Untereinheiten und durch Konformationsänderungen des Enzymkomplexes werden die beiden katalytischen Untereinheiten abgespalten, die dann Substrate mithilfe von ATP phosphorylieren können¹¹⁸. Eine Vielzahl an Substraten der PKA sind bekannt, so werden z. B. andere mit der AD in Verbindung gebrachte Enzyme, wie PKB, PKC und GSK-3, sowie das Tau-Protein und der Transkriptionsfaktor *cAMP response element binding protein* (CREB), welcher an Lern- und Gedächtnisvorgängen beteiligt ist¹²⁰, phosphoryliert^{19, 121}. Allen Substraten gemeinsam ist ein Arg-Arg-X-Ser-Motiv, welches adressiert wird¹²². Bei Untersuchungen an Gehirnen von AD-Patienten wurden vermehrt aktive PKAs neben den NFTs gefunden¹²³ sowie 17 der 25 durch die PKA phosphorylierten Aminosäurereste des Tau-Proteins als AD-relevant identifiziert¹⁹. Desweiteren bildet durch PKA phosphoryliertes Tau ein besseres Substrat für nachfolgende Phosphorylierung durch die GSK-3¹²⁴. Die PKA-vermittelte Hyperphosphorylierung von Tau, dem damit einhergehenden Funktionsverlust und daraus resultierenden Defizit beim räumlichen Gedächtnis konnte durch Forskolin (Diterpen aus dem Harfenstrauch *Plectranthus barbatus*), einem Aktivator der Adenylatcyclase, durch Erhöhung von cAMP und nachfolgender PKA-Aktivierung nachgewiesen werden^{121, 125}. Ebenfalls wurde ein Einfluss durch die β -Sekretase unabhängig vom Vorhandensein von A β -Peptiden am cAMP/PKA/CREB-Signalweg nachgewiesen¹²⁶. Die Inhibierung der PKA erscheint auf den ersten Blick vielversprechend, jedoch wegen möglichen negativen Konsequenzen für den Lern- und Gedächtnisprozess nicht optimal. Diese bei AD-Patienten beeinträchtigten Funktionen könnten in der Folge verminderter

Phosphorylierung von CREB noch weiter verstärkt werden und würden diesbezüglich keinen Benefit darstellen¹²⁷. Dies gilt ebenfalls für die der Non-PDPK-Gruppe angehörende DYRK1A, deren mRNA-Expression durch A β -Peptide induziert wird. Sie vermag das Tau-Protein, getriggert durch die GSK-3 β , pathologisch zu phosphorylieren und ebenso CREB durch Phosphorylierung zu aktivieren¹²⁸.

2.3 Inhibitoren AD-relevanter Proteinkinasen

Seitdem hyperphosphoryliertes Tau-Protein mit der Entstehung und dem Voranschreiten der Alzheimerschen Erkrankung in Verbindung gebracht wurde, rückte die Entwicklung geeigneter Proteinkinase-Inhibitoren immer weiter in den Fokus der Wirkstoffforschung. Der am intensivsten verfolgte Ansatz ist die Entwicklung niedermolekularer, ATP-kompetitiver Inhibitoren an der CDK5, GSK-3 β und den mit der AD assoziierten MAP-Kinasen (ERK, JNK und p38). Da die Struktur der ATP-Bindungstasche hochkonserviert ist (Kapitel 2.2), besteht hier die Herausforderung durch gezielte Substitutionsmuster selektive Hemmstoffe zu entwickeln, die nur eine Kinase hemmen, um folglich unerwünschte Wirkungen zu vermeiden. Als essentiell für die Aktivität eines Wirkstoffes werden Interaktionen im Bereich der Adenin-Bindungsregion angesehen, wobei die hydrophobe sowie die Lösungsmittel-exponierte Region zur Beeinflussung von Affinität und Selektivität genutzt werden kann.

Dementsprechend lässt sich in der Literatur eine große Anzahl vielfältig substituierter Grundstrukturen finden^{19, 62, 127, 129}, von denen im Folgenden interessante Vertreter vorgestellt werden. Diese Ausführung erhebt jedoch keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Die meisten CDK-Inhibitoren, wie z. B. Flavopiridol und Roscovitin, stellen nicht-CDK5-selektive Vertreter dar und werden aufgrund ihrer dadurch vermehrt aktiven Rolle in der Regulation des Zellzyklus und damit zytostatischer Aktivität als mögliche Krebstherapeutika untersucht. Diese hemmen die CDKs 1, 4 und 9 im submikromolekularen Bereich und mit schwächerer Potenz zusätzlich die CDKs 2 und 7 (Flavopiridol) bzw. in ähnlicher Potenz die CDKs 1, 2, 5, 7 und 9 (Roscovitin)¹³⁰. Das Erreichen der Selektivität für eine einzelne CDK, z. B. der CDK5, scheint aufgrund der sehr hohen Sequenzhomologie der ATP-Bindungstasche innerhalb der CDK-Familie das größte Hindernis darzustellen. Durchaus leichter zu erreichen ist jedoch die Selektivität zu anderen Kinase-Familien, wie z. B. der GSK-3 oder der MAP-K. So ist beispielsweise die inhibitorische Wirkung von Roscovitin an der CDK5 ($IC_{50} = 0,28 \mu M$) ähnlich der an den CDKs 1, 2, 7 und 9, jedoch dort 11-, 14-, 39- und 214-fach aktiver im Vergleich zu den anderen Tau-Kinasen DYRK1A, CK1 $\delta/1\epsilon$, ERK2 und GSK-3¹³¹. Variationen, z. B. ein 2-Pyridyl-Substituent in Pos. 4 des Benzylaminsubstituenten von Roscovitin, brachten

zwar eine Verdopplung der Aktivität an der CDK5, führten aber auch bei Untersuchungen an menschlichen Neuroblastomzellen zu einer 32-fachen Toxizität. Der Anstieg der Potenz geht auch mit Aktivitätssteigerung an anderen Kinasen, vor allem der CDK2, einher¹³². Letztendlich wurde den Roscovitin-Analoga immer wieder eine verstärkte zytotoxische Wirkung nachgewiesen, wodurch deren Einsatz als Zytostatikum eher in Frage kommt.

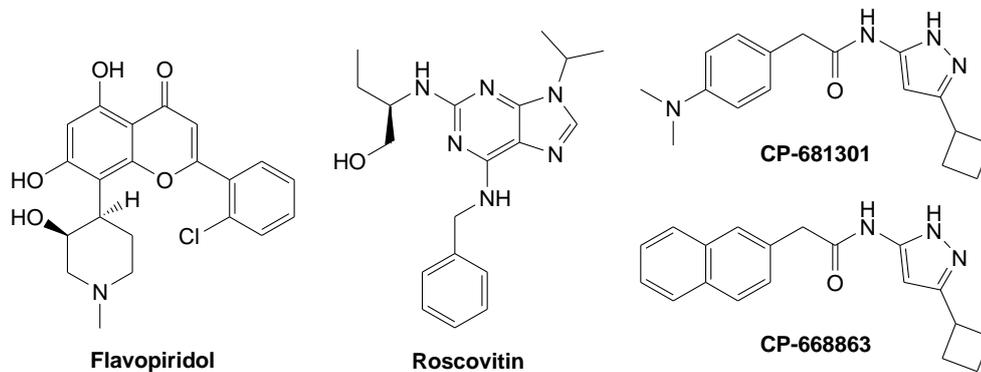


Abbildung 13: Inhibitoren der CDKs

Mit CP-681301 und CP-668863 (Pfizer) wurden CDK5-selektive Inhibitoren mit K_i -Werten von 2,9 und 13,7 nM¹³³ entwickelt, die zudem die Blut-Hirn-Schranke (*blood brain barrier*, BBB) überwinden können⁶². Für CP-681301 wurde außerdem berichtet, dass diese Verbindung bei induzierter p25-Überexpression eine Erhöhung der A β -Konzentration verhinderte, indem durch Unterbinden der CDK5/p25-vermittelten APP-Phosphorylierung dessen Substrateigenschaft für die β -Sekretase vermindert wurde¹³⁴.

Lithium wurde als erster GSK-3 β selektiver Inhibitor mit einem K_i -Wert von 2 mM und Blut-Hirn-Schranken-Gängigkeit identifiziert¹³⁵. Die Wirkung umfasst neben der direkten Interaktion am Enzym – Lithium konkurriert mit Magnesium in der ATP-Bindungstasche¹³⁶ – auch die indirekte Beeinflussung durch Akt/PKB-Aktivierung mit nachfolgender Phosphorylierung der Serinreste 9 (GSK-3 β) und 21 (GSK-3 α)^{137, 138}, infolge dessen die GSK-3 inaktiviert wird. Untersuchungen an Tiermodellen bestätigten eine Verminderung der Tau-Phosphorylierung und Verhinderung der Tau-Aggregation¹³⁹. Jedoch konnte bei Studien an Patienten mit milder AD keine Verbesserung der kognitiven Funktionen nachgewiesen werden¹⁴⁰. Daher beschränkt sich weiterhin die Zulassung von Lithiumsalzen auf folgende Indikationen: Behandlung manischer Episoden und akuter Depressionen (Lithiofor[®], Quilonorm[®]), zusätzlich dazu zur Prophylaxe bipolarer affektiver Störungen (Hypnorex[®]) und außerdem bei anfallsweise bzw. chronisch auftretendem Cluster-Kopfschmerz (Quilonum[®])¹⁴¹. Mit AR-A014418 wurde ein selektiver Inhibitor der GSK-3 β ($IC_{50} = 104 \pm 27$ nM) entwickelt, welcher 960-fach stärker die GSK-3 β hemmt als die CDKs 2 und 5 und dessen Selektivität an einem 26 Kinasen umfassenden Enzymassay überprüft wurde^{19, 142}. Zellversuche zeigten eine

signifikante Verminderung der Tau-Phosphorylierung an durch GSK-3 β adressierten Stellen im Tau-Protein. Außerdem verhinderte AR-A014418 die durch A β induzierte Neurodegeneration im Hippocampus¹⁴².

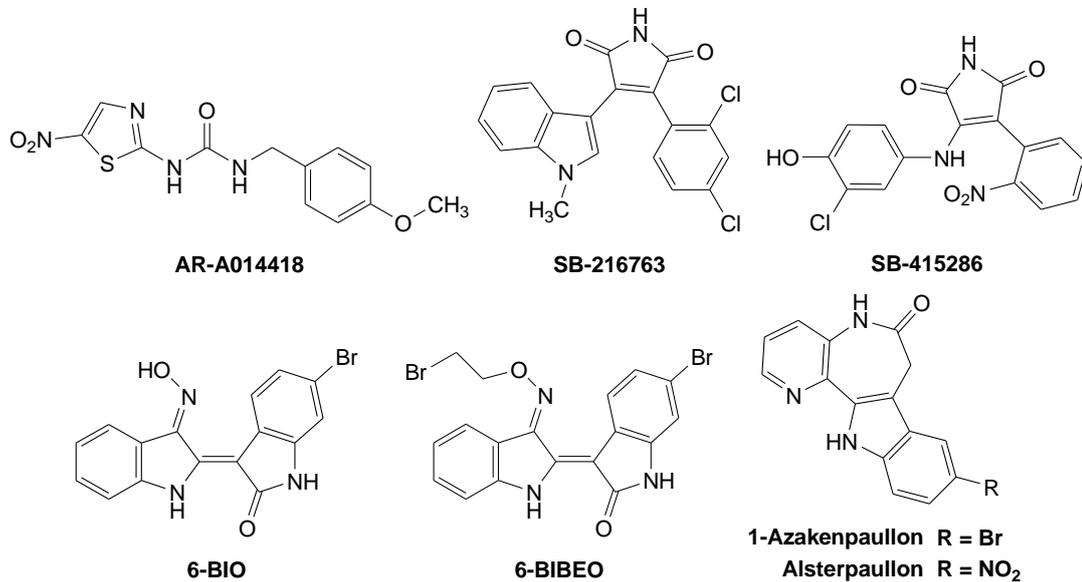


Abbildung 14: GSK-3 β -selektive Inhibitoren

Im Rahmen der Wirkstoffentwicklung wurden mehrere Leitstrukturen, zu den wichtigsten gehören Paullone, Indirubine und Maleimide, identifiziert. Vielversprechende Inhibitoren der Maleimid-Familie sind die beiden Bisarylmaleimide SB-216763 und SB-415286 (Eli Lilly & Co.) mit 160 - 10.000 facher Aktivität an der GSK-3 (mit Präferenz zur Isoform GSK-3 α)^{19, 143} im Vergleich zu anderen Kinasen, wie den CDKs 2 und 4 und der PKCBII¹⁴⁴. In tierexperimentellen Studien, bei denen das räumliche Lernen der Tiere untersucht wurde, wurden für beide Verbindungen Verbesserungen beobachtet, jedoch brachte die Anwendung genannter Substanzen in der Kontrollgruppe ohne AD-pathologische Merkmale nachteilige Effekte mit sich. Diese äußerten sich durch verstärktes ängstliches Verhalten.¹⁴⁵

Unter den Indirubin-Derivaten wurde 6-Bromindirubin-3'-oxim (6-BIO) als sehr potenter, selektiver Inhibitor der GSK-3 β beschrieben ($IC_{50} = 5$ nM)¹⁴⁶, allerdings mit hohem zelltoxischen Potential ($LD_{50} = 9$ μ M)^{145, 146}. Die Modifizierung der Struktur am 3'-Oxim-Rest führte u. a. zum 6-Bromindirubin-3'-(2-bromethyl)-oxim (6-BIBEO). Diese Verbindung wies eine schwächere Bindungsaffinität auf, wodurch die Neurotoxizität bei Zelluntersuchungen gesenkt werden konnte, und war um den Faktor 333 wirksamer an der GSK-3 β ($IC_{50} = 140$ nM) im Vergleich zur CDK5¹⁹. Die Verminderung der Tau-Phosphorylierung konnte *in vitro* für das Indirubin-3'-oxim nachgewiesen werden¹⁴².

Als GSK-3 β - und CDK-selektive Inhibitoren gelten die Paullone. Hier erreichten Verbindungen Hemmeigenschaften an den genannten Kinasen in submikromolaren bis nanomolaren

Konzentrationen an einem 9 Enzyme umfassenden Assay. In diesem wurde für das 1-Azakenpaullon zudem eine 13-fach höhere Wirksamkeit an der GSK-3 β im Vergleich zur CDK5 nachgewiesen¹⁴⁷. Bei Zellversuchen mit einem anderen potenten Wirkstoff, dem Alsterpaullon als CDK5 und GSK-3 β Inhibitor, wurde eine Verminderung sowohl der Tau-Phosphorylierung an AD-charakteristischen Tau-Protein-Aminosäureresten¹⁴⁸ als auch der A β -Bildung⁴⁰ beobachtet. Bisher befinden sich Vertreter der vorgestellten Leitstrukturen nur in der präklinischen Phase der Alzheimer-Arzneistoffentwicklung, da oftmals zytotoxische Wirkungen festgestellt wurden.

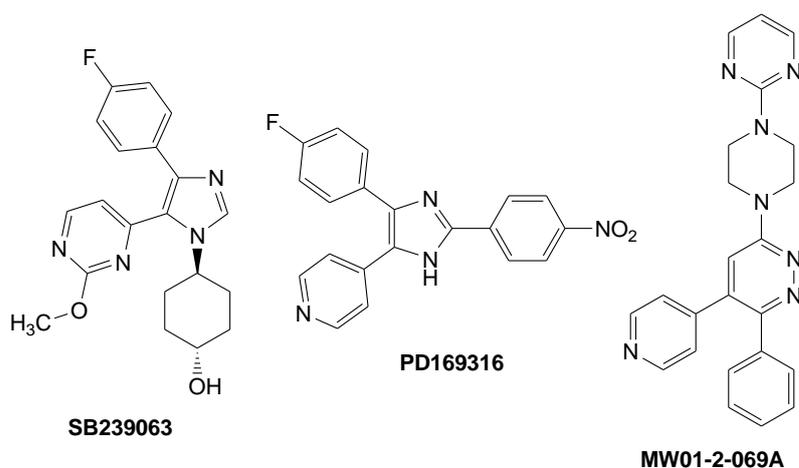


Abbildung 15: p38-selektive Inhibitoren

Mit SB239063 steht ein nanomolarer Inhibitor der p38 ($IC_{50} = 44$ nM) zur Verfügung. Er ist dort um den Faktor 227 wirksamer als an der ERK und JNK¹⁴⁹, jedoch ist dessen Selektivität gegenüber anderen AD-relevanten Kinasen unzureichend geklärt. SB239063 ist in der Lage die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine zu reduzieren¹⁰⁶. Diese können u. a. verstärkt die MAPK-Kaskade und folglich Proteinkinasen aktivieren und letztendlich zur Apoptose von Zellen führen (Kapitel 2.2.1.3). Ein weiterer Inhibitor der p38 stellt die Verbindung PD169316 dar, für welchen in tierexperimentellen Studien Verbesserungen des Lern- und Orientierungsvermögens beschrieben wurden¹⁵⁰. Hierbei wurde durch A β induziertes, überexprimiertes p38 gehemmt und somit einer Verschlechterung kognitiver Fähigkeiten entgegengewirkt. Mit MW01-2-069A wurde ein BBB-überwindender, in submikromolaren Konzentrationen wirksamer p38- α -selektiver Inhibitor identifiziert, für den eine Verbesserung der A β -induzierten synaptischen Dysfunktion beobachtet werden konnte¹⁵¹.

FR180204, ein Pyrazol-[3,4-*c*]-pyridazin-Derivat, ist aktuell der einzige potente ERK2-selektive Inhibitor. Diese Verbindung hemmt die ERK1 und ERK2 bei $IC_{50} = 560$ nM bzw. $IC_{50} = 330$ nM und ist an der ERK2 32-fach stärker wirksam als an p38 sowie mindestens 100-fach gegenüber anderen Kinasen¹⁵². Eine Untersuchung der Selektivität gegenüber den

CDKs und der GSK existiert jedoch nicht. Die Aminofunktion an Pos. 3' ist ausschlaggebend für die Wirksamkeit, denn ein Derivat mit einer 3'-OH-Gruppe besitzt keine ERK1/2 Aktivität mehr. Desweiteren scheint die verdrehte co-planare Form des Molekülgrundgerüsts sehr vorteilhaft für die Interaktion in der ATP-Bindungstasche der ERK2²³.

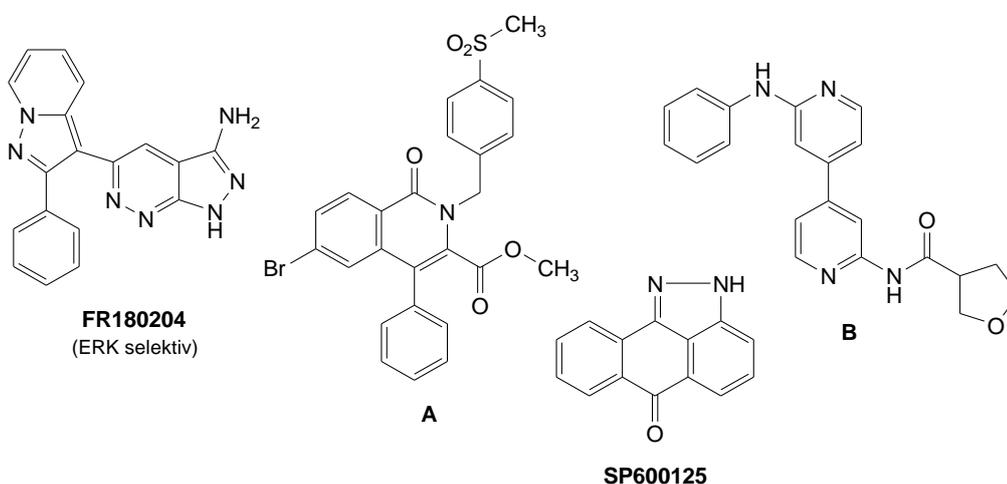


Abbildung 16: ERK- bzw. JNK-selektive Inhibitoren

Es gibt eine Vielzahl an neuen Leitstrukturen (z. B. Aminopyrimidine¹⁵³, 4-Anilinpyrimidine¹⁵⁴, 1,9-Dihydro-9-hydroxy-pyrazol-[3,4-*b*]-chinolin-4-one¹⁵⁵, Piperazinamide¹⁵⁶, Aminopyridin-carboxamide¹⁵⁷ und Isochinolone^{158, 159}) in der Entwicklung selektiver JNK-Inhibitoren, die dort im Vergleich zur Aktivität an der p38 um ein Vielfaches wirksamer sind. In den meisten Fällen sind jedoch nur unzureichende Selektivitätsuntersuchungen beschrieben. Beispielhaft hierzu das Isochinolon-Derivat **A** (Abbildung 16), welches an allen drei JNK-Isoformen ($IC_{50} = 30$ nM) aktiv und dort um den Faktor 500 wirksamer ist als an der p38. Diese Wirkstoffgruppe wird allerdings aktuell nur auf dem Gebiet der Herz-Forschung untersucht^{158, 159}. SP600125, ein Anthracyrazolon-Derivat, ist ein selektiver, in nanomolaren Konzentrationen aktiver JNK-Inhibitor mit mindestens 100-fach stärkerer Wirksamkeit gegenüber anderen 19 phosphorylierenden Enzymen, u. a. p38, ERK2 und PKA. Desweiteren ergaben tierexperimentelle Studien, dass die Substanz oral applizierbar ist und signifikant die JNK-induzierte Zytokin-Expression (TNF α) reduziert¹⁶⁰. Vorteilhaft würde sich ein JNK3-Isoform-selektiver Inhibitor erweisen, da diese Isoform als Gehirn-spezifisch gilt. Für eine Reihe von 2'-Anilin-4,4'-bipyridin-Derivaten wurde JNK3-Isoform-Selektivität beschrieben, unter ihnen **B** (Astra-Zeneca). Diese Verbindung ist an der JNK3 ($IC_{50} = 7$ nM) 55- bzw. 26-fach wirksamer gegenüber JNK1 und p38¹⁶¹. Damit ist zwar ein guter Ansatz gegeben, jedoch anhand der geringen Anzahl getesteter Kinasen das Selektivitätsprofil noch unzureichend belegt.

Nur für 2 % aller in der Entwicklung befindlichen Inhibitoren AD-relevanter Kinasen wurde eine Überwindung der Blut-Hirn-Schranke experimentell nachgewiesen. Damit trotzdem Aussagen getroffen werden können, ob eine „Arzneistoff-Fähigkeit“ (bzgl. der Aufnahme und Bioverfügbarkeit) vorliegt, werden die damit assoziierten physikochemischen Eigenschaften mittels computerbasierter Methoden berechnet. So werden mit hoher Genauigkeit entscheidende Merkmale, wie z. B. der *clogP*- (berechneter Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient) und der *PSA*-Wert (*polar surface area*; Summe der räumlichen Oberfläche polarer Atome, z. B. N und O mit gebundenen Wasserstoffatomen) errechnet und in Verbindung mit dem strukturellen Molekülaufbau Vorhersagen zur Fähigkeit der Überwindung der BBB sowie zur systemischen Verfügbarkeit nach oraler Gabe gemacht. Die Parameter zur Bewertung bzw. Bedingungen diese Eigenschaft zu erfüllen wurden durch groß angelegte Vergleichsanalysen in Substanzdatenbanken ermittelt. Hierbei werden Übereinstimmungen und Ähnlichkeiten, z. B. aus experimentellen Untersuchungen, zusammengefasst und mit wiederkehrenden Strukturmerkmalen korreliert, um letztendlich Bedingungen zu definieren.

Mit der 5er-Regel nach *Lipinski et al.*¹⁶² wurde 1997 die erste Faustregel für die orale Bioverfügbarkeit einer chemischen Verbindung aufgestellt. Bei seinen Untersuchungen stellte er fest, dass die meisten Arzneistoffe relativ kleine, lipophile Moleküle sind und leitete davon ab, dass Substanzen eine gute orale Bioverfügbarkeit besitzen, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind:

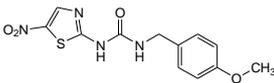
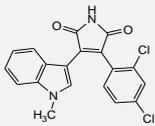
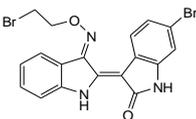
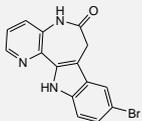
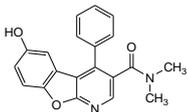
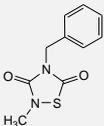
- Molekülmasse < 500 g/mol
- $clogP \leq 5$
- Anzahl Wasserstoffbrückendonatoren (HBD) im Molekül ≤ 5
- Anzahl Wasserstoffbrückenakzeptoren (HBA) im Molekül ≤ 10

Zur besseren Beurteilung, ob eine chemische Struktur eine „Arzneistoff-Fähigkeit“ aufweist, wurden und werden diese Regeln immer wieder erweitert^{163, 164}. Durch Vergleichsanalysen der strukturgebundenen Molekülmerkmale oral applizierbarer Verbindungen mit denen ZNS-gängiger Wirkstoffe¹⁶⁵ konnten auch hier Überschneidungen gefunden werden. So konnten notwendige Bedingungen einer chemischen Struktur zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke definiert werden^{23, 166}:

- Molekülmasse < 450 g/mol
- $clogP < 5$ (besser: $1 < clogP < 3$)¹⁶⁷
- HBD im Molekül < 3
- HBA im Molekül < 7
- Anzahl frei-drehbarer Bindungen im Molekül < 8
- $PSA < 90 \text{ \AA}^2$ (besser: $< 70 \text{ \AA}^2$)¹⁶⁷

Beispielhaft sind in Tabelle 3 einige Vertreter der GSK-3 β -Inhibitoren aufgeführt. Zusätzlich sind ebenfalls die Werte des einzigen aktuell in der klinischen Prüfung befindlichen GSK-3 β -Inhibitors Tideglusib (oral verfügbar und ZNS-gängig) mit angegeben.

Tabelle 3: Physikochemische Eigenschaften und vorhergesagte Überwindung der Blut-Hirn-Schranke (clogBB) ausgewählter GSK-3 β -Inhibitoren

Struktur	clogP [*]	PSA [#] (Å ²)	M _r (g/mol)	nON (HBA)	nOHNH (HBD) [†]	clogP – n O,N ¹	clogBB ²
	2,1	120,6	308	8	2	-5,9	-1,33
AR-A014418							
	5,0	60,1	371	4	1	5,0	0,01
SB 216763							
	5,7	73,3	463	5	2	0,7	-0,08
6-BIBEO							
	3,4	59,2	328	4	2	-0,6	-0,22
1-Azakenpauillon							
	2,9	74,2	332	5	1	-2,1	-0,52
Ic							
	2,3	50,0	222	4	0	-1,7	-025
Tideglusib							

^{*}clogP, tPSA berechnet mit ChemDraw Ultra, Version 9.0, ChembridgeSoft; [#]als PSA-Werte wurden tPSA-Werte* (fragment-basierte Methode) verwendet, Korrelationskoeffizient 3D-PSA/tPSA ist 0,99¹⁶⁸; ¹Anzahl O und N Atome (Wasserstoffbrücken-akzeptoren); [†]Anzahl OH- und NH-Funktionen (Wasserstoffbrückendonatoren); ¹ist clogP – nON > 0, dann ist clogBB wahrscheinlich > -1¹⁶⁷; ²Formel: clogBB = -0,0148 PSA + 0,152 clogP + 0,139¹⁶⁹, clogBB-Werte sollten > -1 (besser > -0,3) sein

Zusammenfassen lässt sich, dass bisher eine große Anzahl an mehr oder weniger selektiven Inhibitoren identifiziert und weiterentwickelt wurden. Einige von ihnen stellen hochpotente Verbindungen dar, jedoch besitzen gerade diese oftmals ein hohes zelltoxisches Potential. Vor allem bei den Inhibitoren der MAP-Kinasen sind Untersuchungen, die AD-Pathologie betreffend, noch unzureichend. Außerdem ist nur bei den wenigsten Verbindungen eine für die

AD-Therapie notwendige Überwindung der Blut-Hirn-Schranke nachgewiesen worden. Letztendlich äußert sich das darin, dass es bisher kein ATP-kompetitiver Inhibitor im Rahmen der AD-Therapie in die klinische Phase der Prüfung geschafft hat. Aufgrund der multifaktoriellen Pathogenese und den durch verschiedene Kinasen quervernetzten biochemischen Prozessen scheinen möglicherweise Inhibitoren mit dualem oder gar multifunktionalem Wirkmechanismus sowie moderater Aktivität für den therapeutischen Einsatz sinnvoller. Dafür spricht, dass mehrere Kinasen bei der AD überexprimiert und/oder hyperaktiv sind und diese möglicherweise nur auf ein physiologisches Maß herunterreguliert werden müssen, damit das Gleichgewicht Phospho-Tau-/Tau-Protein wiederhergestellt wird. Die Entwicklung monoselektiver, hochpotenter Inhibitoren scheint hingegen eher nötig als pharmakologisches Werkzeug, um die Beteiligung der Kinasen an Prozessen zu untersuchen.

2.3.1 1-Aza-9-oxafluorene als Inhibitoren AD-relevanter Proteinkinasen

Die ersten 1-Aza-9-oxafluorene **I** (Abbildung 17) unserer Arbeitsgruppe wurden zunächst als Sauerstoffanaloga des 1-Azacarbazols, mit der Zielstellung diesen ebenfalls eine Antitumorwirkung nachweisen zu können, synthetisiert.

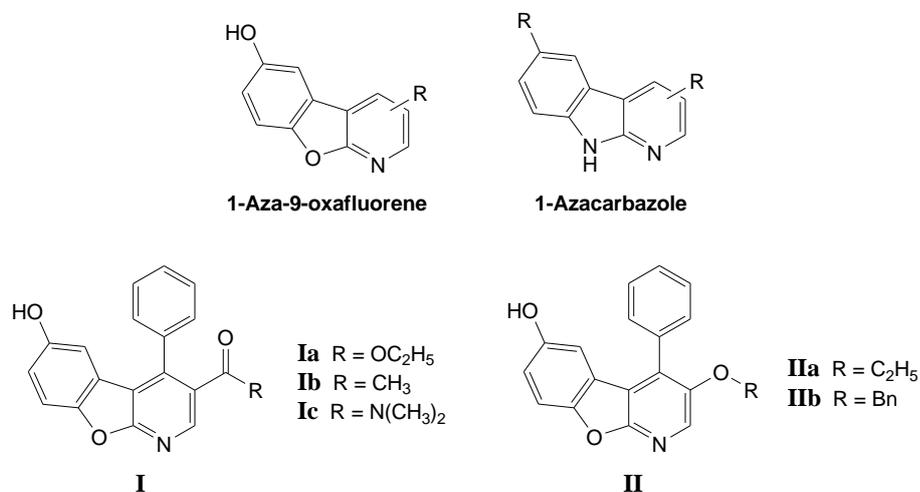


Abbildung 17: Erste selektive Kinaseinhibitoren mit 1-Aza-9-oxafluoren-Grundstruktur

Eine Reihe an Derivaten war im Antitumor-Screen des NCI (*National Cancer Institute*, USA) in einigen Krebszelllinien zytostatisch aktiv¹⁷⁰ und zeigten im untersuchten Konzentrationsbereich keine zytotoxischen Eigenschaften. Durch Struktur-Wirkungsbeziehungen konnten der 4-Phenylring und die 6-Hydroxyfunktion als für die Wirkung erforderliche Strukturmerkmale abgeleitet werden¹⁷¹. Mithilfe des COMPARE-Algorithmus des NCI wurde eine Vergleichsanalyse der zytostatischen Hemmeigenschaften mit den NCI-Substanzdatenbanken

durchgeführt. Denn Substanzen, die in gleichen Zelllinien ähnliche Wirkstärken aufweisen, können einen ähnlichen Wirkmechanismus besitzen. Im Ergebnis daraus wurden DNA-Bindungseigenschaften oder die Hemmung von Proteinkinasen für die zytostatische Wirkung vermutet. Nachfolgende Untersuchungen der aktiven 1-Aza-9-oxafluorene mittels einem Ethidiumbromid-Verdrängungstest zum Nachweis DNA-interkalierender Eigenschaften sowie weiteren DNA-Bindungsstudien, die mithilfe von UV-Photometrie und DNA-Schmelzkurven DNA-Ligand-Interaktionen messbar machen, schlossen jedoch eine DNA-Bindung aus¹⁷². Ein erster Kinaseinhibitionsassay identifizierte die Verbindungen, u. a. **Ia** (im Rahmen dieser Arbeit als **27** bezeichnet) und **Ib**, als schwach wirksame CDK-Inhibitoren mit CDK1-Selektivität und minimaler Restaktivität an der CDK5/p25¹⁷¹. Erste Strukturvariationen z. B. die Einführung eines 4-Methoxy-Substituenten im essentiellen 4-Phenylring führten zu einer leichten Steigerung der Wirkung. Mit Einführung einer Alkoxy- statt der Carbonyl-Funktion in Pos. 3 des 1-Aza-9-oxafluorens verschob sich allerdings das Kinasen-Hemmuster weg von der CDK1/B hin zur CDK5/p25 (IC_{50} in unteren mikromolaren Konzentrationen). Desweiteren wurde erstmals auch eine Hemmung der GSK-3 β bei ähnlichen mikromolaren Konzentrationen beobachtet¹⁷³. Die steigende Aktivität der Verbindungen speziell an der CDK5/p25 und der GSK-3 β , zwei mit der AD assoziierte Kinasen, rückte vermehrt die Entwicklung und Evaluierung der 1-Aza-9-oxafluorene als Inhibitor-Leitstrukturen dieser Kinasen in den Fokus. So zeigte das 3-Benzyl-oxo-Derivat **IIb** (im Rahmen dieser Arbeit als **20** bezeichnet) eine moderate Affinität zur GSK-3 β ($K_i = 5,8 \pm 1,2 \mu\text{M}$) ohne eine Hemmung der CDK5/p25 ($K_i > 1000 \mu\text{M}$)¹⁷⁴. Für die Struktur **IIa** wurde bei ähnlicher Konzentration zusätzlich eine inhibitorische Wirkung an der CDK5/p25 gefunden¹⁷³. Mit der Einführung einer Carboxylamid-Funktion an Pos. 3 wurde eine nahezu monoselektive GSK-3 β -Hemmung erreicht. Dies veranschaulicht die Verbindung **Ic** ($K_i = 1,5 \pm 0,2 \mu\text{M}$ an der GSK-3 β), welche mit berechneten SQ-Werten (Selektivitätsindex: Quotient der K_i -Werte der jeweils zu vergleichenden Kinasen) > 667 gegenüber den CDKs 1/B, 2/E und 5/p25, ebenso gegenüber den mitgetesteten PKC-Isoformen und der Tyrosinrezeptor-Kinase EGFR, durch ein Kinaseinhibitionsassay identifiziert worden war¹⁷⁴. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurde für die 1-Aza-9-oxafluorene ein ATP-kompetitiver Wirkungsmechanismus nachgewiesen. Mittels dem Linearisierungsverfahren nach Lineweaver-Burk wurde bei Auftragung $1/v$ gegen $1/[S]$ bei verschiedenen Inhibitor-Konzentrationen eine Schar von Geraden mit einem gemeinsamen Schnittpunkt auf der y-Achse des Diagramms erhalten¹⁷². Dieser ist die notwendige Bedingung für einen kompetitiven Hemmmechanismus.

Für erste Dockinguntersuchungen wurden 14 Kristallstrukturen der GSK-3 β in der aktiven Konformation herangezogen, in deren Ergebnis ein bevorzugter Bindungsmodus aufgezeigt werden konnte (Abbildung 18).

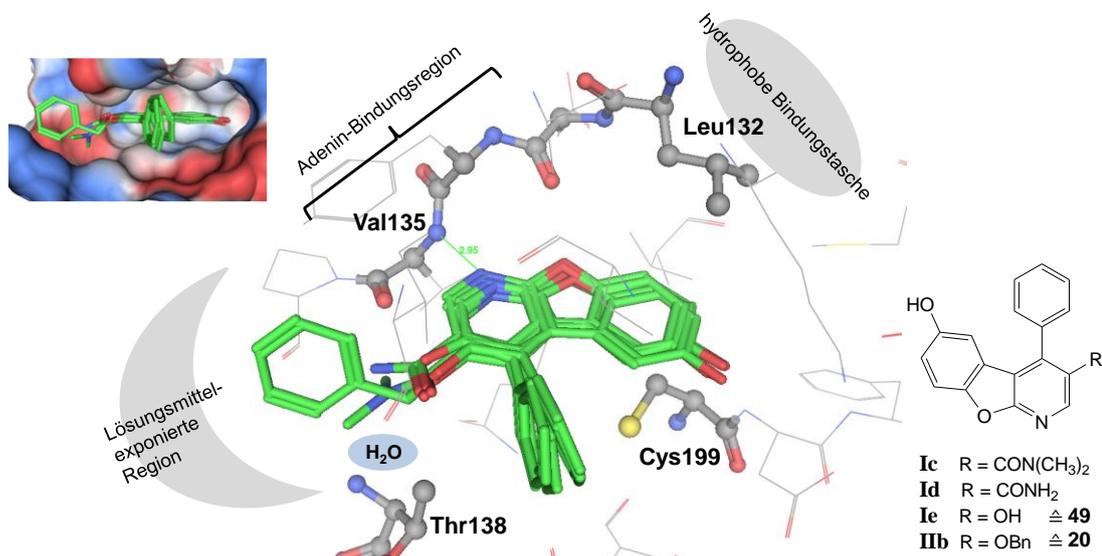


Abbildung 18: Erste Docking-Ergebnisse der 1-Aza-9-oxafluorene an der GSK-3 β . Die für die Interaktion wesentlichen Aminosäurereste sind als „Ball-Stick-Modell“ und die gedockten Inhibitoren sind als „Stick-Modell“ in grün dargestellt. Das kleine Bild (oben links) zeigt die Aufsicht auf die Adenin-Bindungsregion der GSK-3 β .

So bildet der Stickstoff des planaren Ringsystems eine essentielle Wasserstoffbrücke mit dem Rückgrat-NH von Val135 aus, wobei der planare 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörper ober- und unterhalb von Val118 und Leu188 mittels Van-der-Waals-Wechselwirkungen stabilisiert wird (nicht dargestellt). Eine zweite stabile Wasserstoffbrückenbindung konnte zwischen der 6-Hydroxygruppe und dem *backbone*-NH des Cys199 beobachtet werden. Die *gatekeeper*-Aminosäure Leu132 verhindert durch sterische Effekte den Zugang zur hydrophoben Bindungstasche und führt dazu, dass die 3-Benzoyloxyfunktion der Verbindung **IIb** (\triangleq **20**) in Richtung Arg141 im Bereich der Lösungsmittel-exponierten Region positioniert ist. Die potentere Hemmwirkung der 3-Amid-substituierten Derivate wurde mit der zusätzlichen Ausbildung einer weiteren Wasserstoffbrücke über ein Wassermolekül mit Thr138 und damit einer stärkeren Interaktion mit der ATP-Bindungstasche begründet¹⁷⁴. Der voluminöse, senkrecht zum planaren 1-Aza-9-oxafluoren-Grundgerüst stehende 4-Phenylsubstituent zeigt von der Adenin-Bindungsregion weg und weist selbst nur ein untergeordnetes Interaktionspotential am Enzym auf.

Ebenfalls wurden erste Dockinguntersuchungen (vier Kristallstrukturen in aktiver Konformation) an der CDK5 durchgeführt und auch hier ein gemeinsamer Bindungsmodus gefunden (Abbildung 19). Die Orientierung der Inhibitoren in der ATP-Bindungstasche

entspricht der Ausrichtung an der GSK-3 β , wobei unterschiedliche Aminosäuren folgendes Bild ergeben: *gatekeeper*-Aminosäure = Phe80 (Leu132), essentielle Interaktion an der Adenin-Bindungsstelle = Cys83 (Val135), Aminosäurerest zur Ausbildung der Wasserstoffbrücke über ein Wassermolekül zur 3-Amidfunktion = Asp86 (Thr138) und Aminosäurerest zur Ausbildung der Wasserstoffbrücke zur 6-Hydroxygruppe = Ala143 (Cys199) – in Klammern angegeben die Aminosäurereste der GSK-3 β . Aufgrund der Ausrichtung von Asp86 in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region (Fehlen von Thr138) und des voluminöseren *gatekeepers* Phe80 ragen hier die 1-Aza-9-oxafluorene etwas weiter aus der ATP-Bindungstasche heraus.

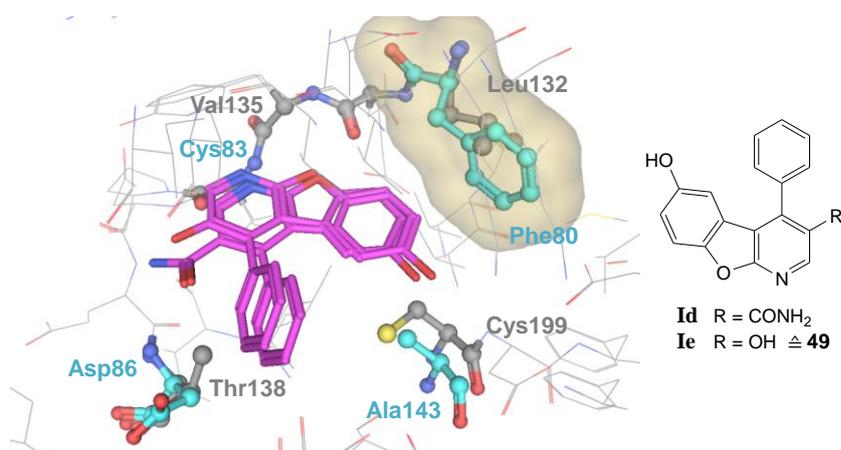


Abbildung 19: Docking-Lösung für die 1-Aza-9-oxafluorene an der CDK5 und der GSK-3 β (überlagert)
 Die wichtigen Aminosäuren der GSK-3 β sind grau, die der CDK5 sind cyan gefärbt („Ball-Stick-Modell“). Die gedockten Inhibitoren sind magentafarben („Stick-Modell“) dargestellt. Das Volumen von Phe80 ist über die Conollyoberfläche dargestellt und verdeutlicht die „sterische Begrenzung“.

Bezug nehmend auf die Problematik, dass den wenigsten Inhibitoren die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke experimentell nachgewiesen wurde, konnte jedoch für einen Großteil der 1-Aza-9-oxafluorene unter Berücksichtigung der in Kapitel 2.3 genannten strukturellen Bedingungen eine „ZNS-Arzneistoff-Fähigkeit“ abgeleitet werden. So erfüllt beispielsweise die potente GSK-3 β -selektive Verbindung **Ic** alle theoretischen Voraussetzungen, die für eine orale Bioverfügbarkeit und BBB-Überwindung nötig sind (Tabelle 3, siehe Kapitel 2.3).

3 Zielstellung der Arbeit

Grundlage der hier vorliegenden Arbeit bildete eine von *Hilgeroth et al.* beschriebene Cyclisierungsreaktion, welche beim Versuch der Oxidation symmetrisch mehrfach substituierter 1,4-Dihydropyridine mittels *p*-Benzochinon zu 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluorenen führte¹⁷⁵ (Abbildung 20).

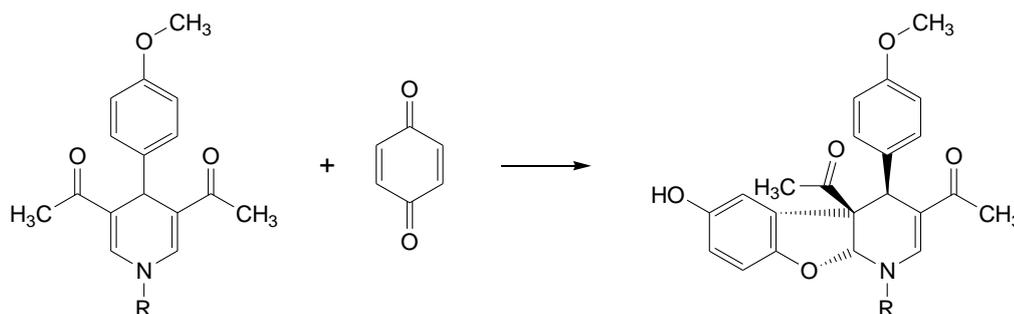


Abbildung 20: Synthese der 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluorene durch Cycloaddition nach *Hilgeroth et al.*¹⁷⁵

Voigt etablierte daraufhin in unserer Arbeitsgruppe eine „Ein-Topf-Reaktion“ zur Darstellung unterschiedlich substituierter 1-Aza-9-oxafluorene. Im Rahmen seiner Untersuchungen wurden 3,4-disubstituierte *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine mit einem 1,23-fachen Überschuss an *p*-Benzochinon versetzt, um in einem Reaktionsansatz ohne Isolation der Tetrahydro-Intermediate zu den vollständig aromatisierten 3,4-disubstituierten 6-Hydroxy-1-aza-9-oxafluorenen zu gelangen (Abbildung 21).

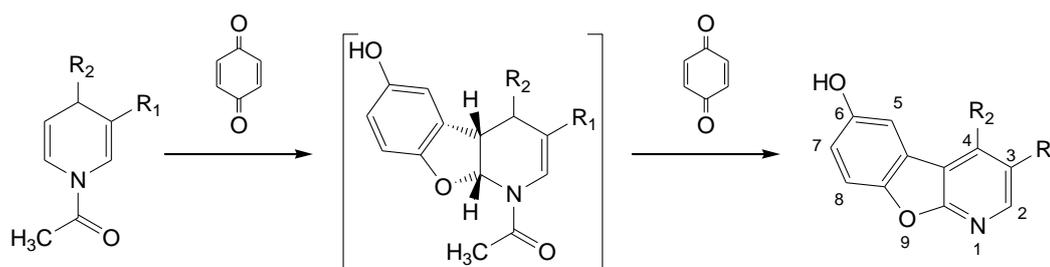


Abbildung 21: Synthese der 6-Hydroxy-1-aza-9-oxafluorene als „Ein-Topf-Reaktion“ nach *Voigt et al.*¹⁷²

Ein erstes Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Tauglichkeit dieser „Ein-Topf-Reaktion“ dahingehend zu überprüfen, ob durch Verwendung unterschiedlich substituierter *para*-Chinone 1-Aza-9-oxafluorene mit Substituenten an Pos. 5, 7 bzw. 8 erhalten werden können. Damit sollten Derivate von **27** (CDK-Inhibitor) und **20** (CDK/GSK-3 β -Inhibitor) entstehen, welche in Bezug auf Lipophilie, Polarität und Größe der Substituenten an den genannten Positionen im aromatischen Trizyklus variieren. Es sollte neben 2-Methyl-, 2-Methoxy-, 2,6-Dimethoxy-,

2-Chlor- und 2-Brom-*p*-benzochinon auch das 1,4-Naphthochinon verwendet werden, um benzoanellierte 1-Aza-9-oxafluorene (Derivate mit Tetrazyklus) zu erhalten. Weiterhin sollte unter Verwendung von 5-Methoxy- und 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinon geprüft werden, ob sich ebenfalls über diesen Syntheseweg der tetrazyklische Grundkörper variieren lässt. All diese Variationen sollen das Potential des Azaoxafluoren-Grundgerüsts zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen bzw. hydrophoben Wechselwirkungen im Bereich der Adenin-Bindungsregion und der hydrophoben Bindungstasche der ATP-Bindungsstelle von Proteinkinasen erhöhen.

Da erste 4-Phenyl-substituierte 1-Aza-9-oxafluorene mit Carbonylamid- bzw. Dimethylcarbamid-Rest an Pos. 3 als potente und selektive GSK-3 β -Inhibitoren identifiziert wurden, sollten auch hier weiterführende strukturelle Modifizierungen vorgenommen werden. Mit der Verlängerung der aliphatischen Amidreste (Ethyl- und Propylrest) und der Einführung voluminöser Gruppen (Phenyl-, Benzyl-, Diethyl- und Dipropylrest) sowie einer endständigen Aminofunktion nach einem Ethylen-Spacer sollten weitere Interaktionsmöglichkeiten mit der ATP-Bindungstasche geschaffen werden, um die Selektivität der Verbindungen zu beeinflussen und deren inhibitorische Wirkung zu erhöhen.

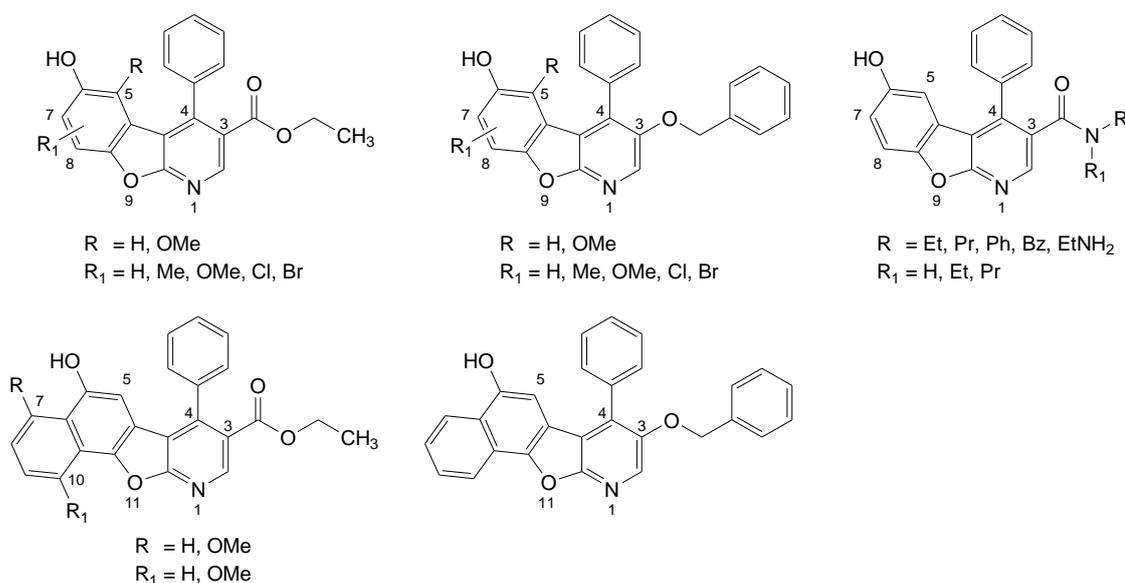


Abbildung 22: Zielstrukturen des ersten Teils der Arbeit

Im Anschluss sollten die dargestellten Verbindungen in Kooperation mit der ProQinase GmbH (Freiburg im Breisgau) auf ihre inhibitorischen Eigenschaften an einer Reihe von AD-assoziierten, speziell an der Tau-Protein-Phosphorylierung beteiligten Kinasen untersucht werden. Ebenfalls sollten die Interaktionen der synthetisierten Inhibitoren mit den Kinasen durch Dockingstudien näher charakterisiert werden. Dies wurde in Kooperation mit der

Arbeitsgruppe von Prof. Dr. W. Sippl am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt.

Im zweiten Teil der Arbeit sollten an ausgewählten Strukturen mit tri- und tetrazyklischem Grundkörper Feinoptimierungen vorgenommen werden, um Aussagen zum Einfluss von an Pos. 3 und 6 befindlichen funktionellen Gruppen zu treffen. Insbesondere wurde ein Augenmerk auf Wasserstoffbrückendonator-Substituenten in Form alkoholischer Reste im Vergleich zu Wasserstoffbrückenakzeptor-Funktionen in Form von Methoxygruppen an genannten Positionen und in verschiedenen Konstellationen gelegt. Zudem sollte eine Reihe 3-Fluor- und 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierter Derivate entstehen, um diese Variationen zu erweitern.

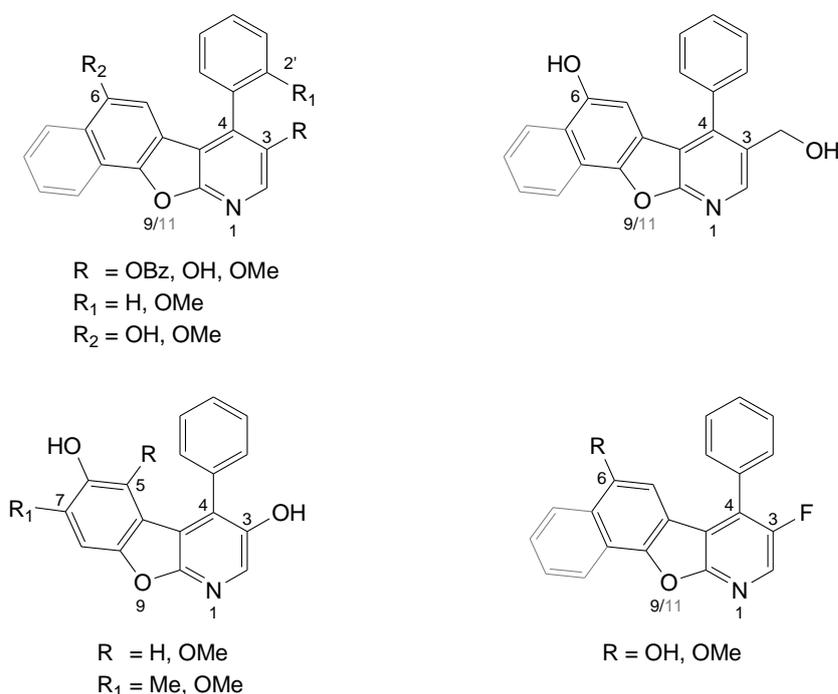


Abbildung 23: Zielstrukturen des zweiten Teils der Arbeit

Ebenfalls sollten auch hier wieder ausgewählte Verbindungen bei der ProQinase GmbH im Kinaseassay auf ihre Hemmeigenschaften untersucht und Dockingstudien zum Bindungsmodus der Derivate durchgeführt werden. Abschließend sollten aus allen synthetisierten Zielstrukturen interessante Verbindungen ausgewählt werden, welche im Rahmen der Kooperation mit der Arbeitsgruppe um PD Dr. M. Holzer am Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung der Universität Leipzig weiter evaluiert werden sollten. Im Anschluss an diese Arbeit sollten dort die zelluläre Toxizität, die Hemmung der Tau-Protein-Phosphorylierung und die Membrangängigkeit der Inhibitoren untersucht werden.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese (I)

4.1.1 Synthese der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene

4.1.1.1 Synthesekonzept

Die Darstellung der Zielstrukturen basiert auf einem 2-Stufen-Synthesekonzept ausgehend von an Pos. 3 substituierten Pyridinderivaten (Abbildung 24).

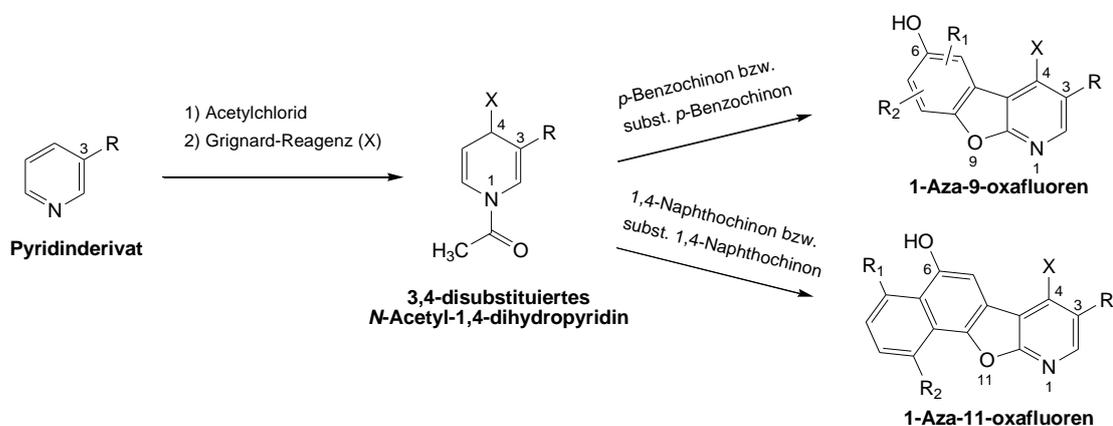


Abbildung 24: 2-Stufen-Synthesekonzept zur Darstellung der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene

In der ersten Reaktionsstufe erfolgt die Synthese der 3,4-disubstituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine. Diese können über eine Pyridinring-aktivierende *N*-Acetylierung mit anschließender regioselektiver Grignard-Addition an Pos. 4 in trockenem Tetrahydrofuran bei tiefen Temperaturen (-40 °C) dargestellt werden (Kapitel 4.1.1.3).

Comins et al. hatte mit seinen Arbeiten zur regioselektiven Grignard-Addition an Pyridinen die Grundlage zur Synthese der 3,4-disubstituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine gelegt. Durch die Acetylierung am Ring-Stickstoff wird der Pyridinring an Pos. 2, 4 und 6 im gebildeten Pyridiniumion für eine nukleophile Addition von Grignard-Reagenzien derart aktiviert (Abbildung 25), dass selbst beim Vorhandensein anderer reaktiver Gruppen im Molekül, wie

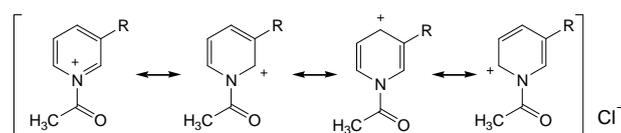


Abbildung 25: Mesomere Grenzstrukturen des Pyridiniumions

z. B. von Halogenen, Ketonen und Estern, bei tiefen Reaktionstemperaturen (< -20 °C) ein quantitativer Angriff am Pyridinring erfolgt^{176, 177}.

Durch die Zugabe katalytischer Mengen an Kupfer-(I)-iodid (CuI) und Temperaturen von $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ erfolgt der nukleophile Angriff des Grignard-Reagenzes nahezu regioselektiv an der Pos. 4 des Pyridiniumrings¹⁷⁶⁻¹⁸⁰. Durch den Einsatz von $\text{CuI}\cdot\text{SMe}_2$ konnte die Löslichkeit des CuI und folglich dessen Effektivität noch weiter gesteigert werden¹⁸¹. In späteren Arbeiten wird als Katalysator $\text{CuI}\cdot 2\text{LiCl}$ verwendet, welches ohne Geruchsbelästigung durch in ersten Versuchen genutztes Dimethylsulfid als katalytisch gleichwertig anzusehen ist^{181, 182}. Katalysator und Grignard-Verbindung bilden intermediär organische Kupfermagnesium-Verbindungen (*NORMANT*-Reagenzien) mit hoher Reaktivität.

Die Wahl der Säurechloride hat ebenfalls einen Einfluss auf die Regioselektivität sowie auf die Ausbeute bei Grignard-Additionen an substituierten Pyridinen^{176, 178} und ebenso auf die Stabilität der entstehenden Verbindungen. In vorangegangenen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe konnten durch die Verwendung von Chlorameisensäurephenylester als Pyridinring-aktivierendes Reagenz zwar regioselektiv 4-substituierte, oxidationsunempfindliche *N*-Phenoxy-carbonyl-1,4-dihydropyridine in hohen Ausbeuten (80 - 90 %) synthetisiert werden, jedoch stellten sich diese als ungeeignet für den nachfolgenden Reaktionsschritt heraus. Nur aus 3-Chlor- und 3-Brom-substituierten *N*-Phenoxy-carbonyl-1,4-dihydropyridinen konnten 1-Aza-9-oxafluorene erhalten werden, andere Derivate waren darüber nicht zugänglich¹⁷². Daher wurde an der Verwendung von Acetylchlorid im Rahmen dieser Arbeit festgehalten.

In einem zweiten Reaktionsschritt werden die so gebildeten 3,4-disubstituierten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine bei Raumtemperatur im Dioxan/Perchlorsäure-Gemisch mit einem Überschuss an verschiedenen *para*-Chinonen in einer Cycloaddition mit anschließender Oxidation zu den gewünschten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorenen umgesetzt (Kapitel 4.1.1.4).

Die dazu von *Voigt et al.* etablierte „Ein-Topf-Reaktion“ verläuft vermutlich zunächst über eine Sonderform der *MICHAEL*-Addition zwischen Dihydropyridin und *p*-Benzochinon. Durch die Enaminpartialstruktur der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine ist die Elektronendichte an C-3 und C-5 erhöht (A, Abbildung 26). Aufgrund von Substituenten an Pos. 3 wird dieser mögliche Angriffspunkt sterisch gehindert, bzw. dieser Ladungseffekt durch Konjugation mit der Carbonylgruppe des Ethylester-Substituenten (Verbindung **8**) sogar abgeschwächt. Daher ist die Pos. 5 diesbezüglich stärker aktiviert. Im sauren Reaktionsmilieu liegt das Chinon protoniert vor, wodurch sich eine mesomeriestabilisierte positive Ladung im Ring formulieren lässt (B, beispielhaft *p*-Benzochinon). Folglich findet der Angriff des partiell negativ geladenen C-5 des 1,4-Dihydropyridins am positiv geladenen Kohlenstoffatom des *p*-Benzochinons statt. Dieser Bildung des instabilen *MICHAEL*-Adduktes schließt sich der Ringschluss an. Hierbei erfolgt der nukleophile Angriff des *p*-Benzochinon-Sauerstoffs am elektronenarmen C-6 des 1,4-Dihydropyridins und bildet das Cycloadditionsprodukt, das 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-

tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren. Das im Überschuss zugegebene *p*-Benzochinon oxidiert dieses unter *N*-Desacetylierung zum 1-Aza-9-oxafluoren.

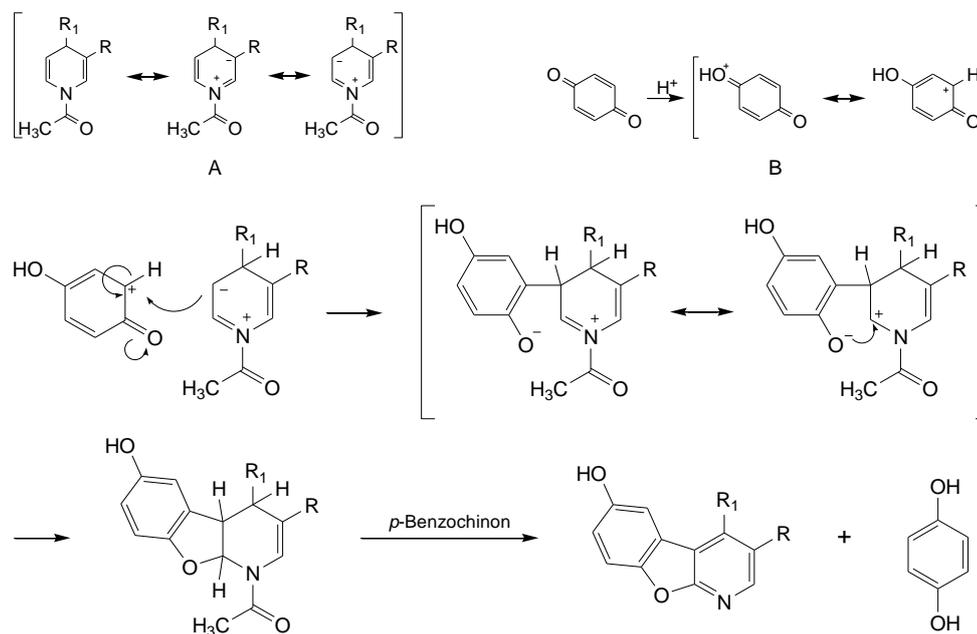


Abbildung 26: Bildung der 1-Aza-9-oxafluorene - vermuteter Reaktionsmechanismus -

Die nach dem beschriebenen 2-Stufen-Synthesekonzept entstehenden 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene stellen zum einen Zielstrukturen dar, dienen zum anderen aber auch als Ausgangsverbindungen für weitere Strukturvariationen (Kapitel 4.1.2.1 und 4.4.1).

4.1.1.2 Synthese der kommerziell nicht verfügbaren Reaktanten

Im Rahmen des synthetischen Teils dieser Arbeit wurden substituierte *p*-Benzochinone und das 3-Benzoyloxy-pyridin verwendet, welche kommerziell nicht erhältlich waren und daher zunächst dargestellt werden mussten. Im Folgenden soll ihre Synthese kurz beschrieben werden.

4.1.1.2.1 Synthese der substituierten *p*-Benzochinone (1c und 1f)

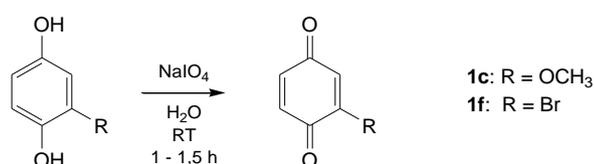


Abbildung 27: Synthese der *p*-Benzochinone **1c** und **1f**

Nach literaturbekannter Methode¹⁸³ erfolgte die Darstellung von 2-Methoxy- und 2-Brom-*p*-benzochinon durch Oxidation der analogen Hydrochinone mithilfe von

Natriumperiodat. Dieses kann zugunsten einer schnellen, quantitativ ablaufenden Reaktion im Überschuss verwendet werden, da die entstehenden 1,4-Benzochinone im Vergleich zu 1,2-Benzochinonen, die unter Ringöffnung zu *cis,cis*-Muconsäure-Derivaten weiter reagieren, gegenüber dem Oxidationsmittel stabil sind. Zur Umsetzung wurde das jeweilige Hydrochinon in einer wässrigen Natriumperiodatlösung bei Raumtemperatur für 1 – 1,5 Stunden kräftig gerührt und gelegentlich geschüttelt. Die resultierenden gelben Lösungen mit kräftig gelbem Niederschlag wurden extrahiert und die Verbindungen **1c** und **1f** nach Umkristallisation aus Ethanol als gelbe Feststoffe (Ausbeute > 98 %) erhalten. Die Verbindungen sublimieren bei Raumtemperatur und wurden daher im Kühlschrank unter Argon-Atmosphäre aufbewahrt.

4.1.1.2.2 Synthese des 3-Benzyloxypyridins

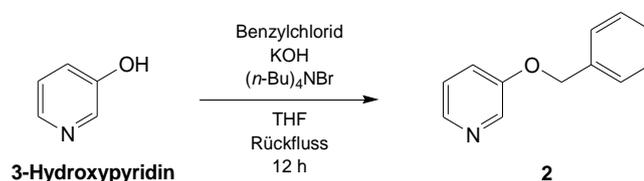


Abbildung 28: Synthese des 3-Benzyloxy pyridins **2**

Zur Synthese der geplanten 3-Benzyloxy-substituierten Azaoxafluoren-Derivate wurde zunächst das 3-Benzyloxy pyridin (**2**) hergestellt. Unter Phasentransferbedingungen erfolgte dessen Darstellung durch Veretherung von 3-Hydroxypyridin mit Benzylchlorid in Tetrahydrofuran, wobei Kaliumhydroxid als Base und katalytische Mengen Tetrabutylammoniumbromid verwendet wurden¹⁸². Das Tetrabutylammoniumbromid beschleunigt die Umsetzung in dem es, in Anlehnung an eine *FINKELSTEIN*-Reaktion, durch Umhalogenierung das Benzylchlorid in das reaktivere Benzylbromid überführt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung wurde **2** als gelb-bräunliches Öl in 58%iger Ausbeute erhalten.

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

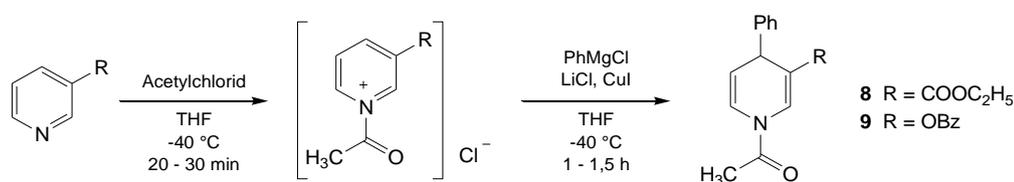


Abbildung 29: Darstellung der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine **8** und **9**

Die Synthese der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine **8** und **9** erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von *Comins et al.*¹⁷⁸ Dazu wurden die an Pos. 3 substituierten Pyridinderivate,

3-Benzyloxyppyridin (**2**) bzw. Ethylnicotinat, unter Argon-Atmosphäre in trockenem THF gelöst, der Ansatz im Kältebad auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ heruntergekühlt und durch langsame Zugabe des frisch destillierten Acetylchlorids zu den rötlich gefärbten, entsprechenden *N*-Acetylpyridiniumverbindungen umgesetzt. Ohne Isolation dieser Zwischenverbindungen wurde in Gegenwart katalytischer Mengen $\text{CuI}\cdot 2\text{LiCl}$ und unter Aufrechterhaltung der tiefen Reaktionstemperatur das Grignard-Reagenz Phenylmagnesiumchlorid langsam zugetropft. Hierbei wurde generell bis zum Verschwinden der Rotfärbung ein leichter Überschuss benötigt. Nach Aufarbeitung, säulenchromatographischer Auftrennung der resultierenden Produktgemische und Kristallisation aus Methanol betrug die Ausbeute der Zielstrukturen 75 % (**8**) bzw. 52 % (**9**). Die dargestellten *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine sind instabile Moleküle und werden bei Raumtemperatur innerhalb von Stunden bis Tagen zu den Pyridinverbindungen **72** und **70** oxidiert. Am anfälligsten dafür ist Verbindung **9**. Schon bei dessen Aufarbeitung konnte die Bildung des Oxidationsproduktes mittels DC beobachtet werden. Aufgrund des elektronenschiebenden 3-Benzyloxy-Substituenten wird die Elektronendichte im Dihydropyridinring erhöht und die Oxidationsanfälligkeit steigt. Verbindung **8** neigt vergleichsweise weniger stark zur Oxidation, da der elektronenziehende 3-Ethylester-Substituent stabilisierend auf die Dihydropyridinring-Grundstruktur wirkt. Hier besteht die Möglichkeit zur Erweiterung der Ladungsverteilung auf das Sauerstoffatom am Carbonyl-C an Pos. 3. Durch Aufbewahrung der Substanzen im Gefrierschrank unter Argon-Schutzatmosphäre war allerdings die Stabilität über den gesamten Zeitraum der Arbeit gewährleistet.

Für die *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine **8** und **9** existieren zwei Rotationsisomere (*E*- und *Z*-Form) und aufgrund des Chiralitätszentrums an Pos. 4, entstanden durch die nicht stereoselektiv verlaufende Grignard-Addition, liegen diese zusätzlich als *R*- und *S*-Enantiomere im Verhältnis 1:1 vor.

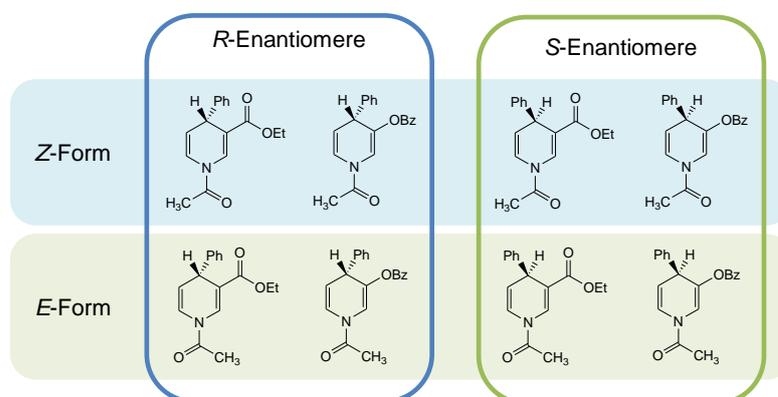


Abbildung 30: Enantio-/Rotamere der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine **8** und **9**

Die Enantiomere sind bei Verwendung der üblichen achiralen Lösungsmittel im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nicht zu unterscheiden, jedoch konnten Arbeiten unserer Arbeitsgruppe zur

Photodimerisierung von *N*-Alkyl-1,4-dihydropyridinen, welche ebenfalls über die oben beschriebene Grignard-Addition entstanden, die Existenz beider Enantiomere belegen¹⁸⁴⁻¹⁸⁶. Die beiden Rotationsisomere entstehen aufgrund der Behinderung der freien Drehbarkeit durch den partiellen Doppelbindungscharakter der N-C-Bindung im *N*-Acetylrest des Moleküls und liegen daher gleichzeitig als *E*- und *Z*-Form vor.

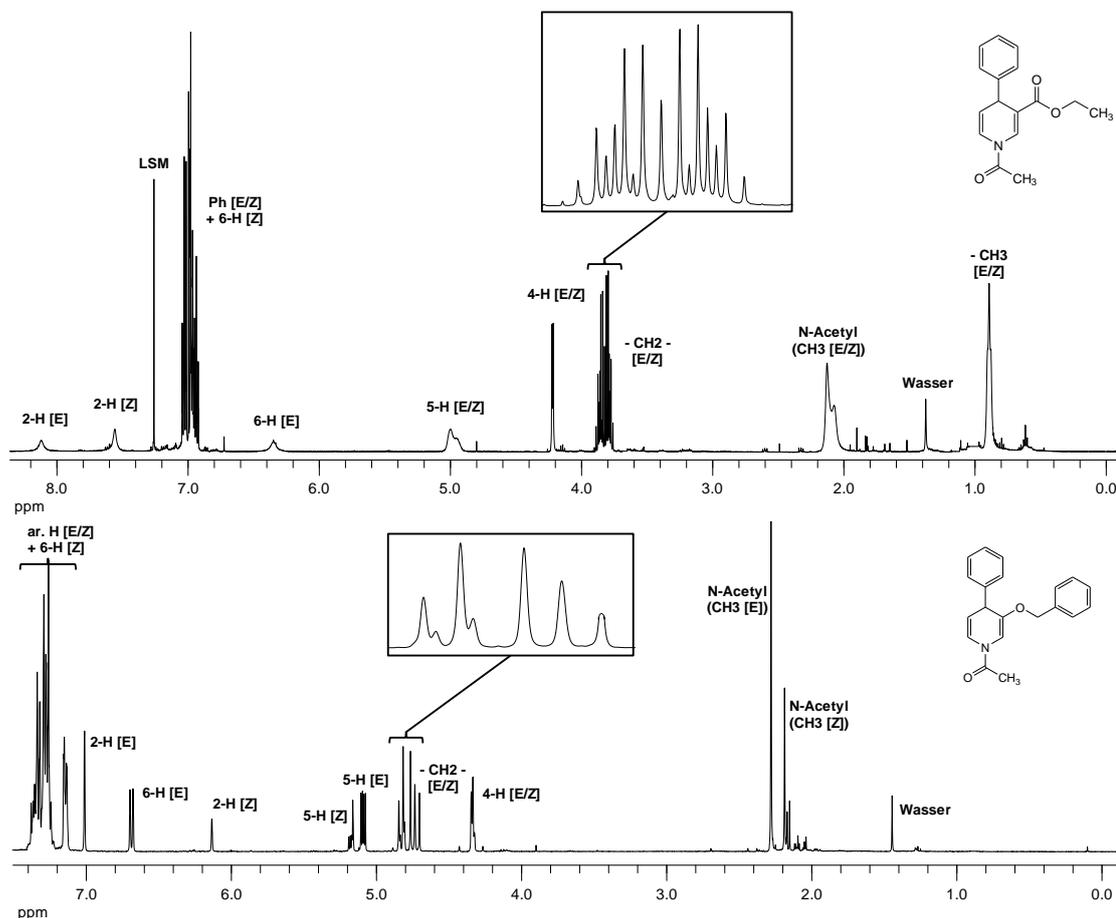


Abbildung 31: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren von **8** und **9**
 oben: Verbindung **8** in CDCl_3 (500 MHz); vergrößert ist der AB-Teil des ABX3-Systems der Ethylestergruppe;
 unten: Verbindung **9** in CDCl_3 (400 MHz); vergrößert ist der AB-Teil des AB-Systems der Benzyl- CH_2 -Gruppe

Die Signale der vom Rotamereneffekt betroffenen Protonen im Dihydropyridinring mit der Ethylestergruppe (**8**) ergeben im ^1H -NMR-Spektrum breite, unscharfe Signale (Abbildung 31, oben). Dies liegt im Vergleich zum 3-Benzyloxy-substituierten Derivat **9** an der vinylogenen Amidpartialstruktur und dem daraus resultierenden schwächeren partiellen Doppelbindungscharakter der o. g. N-C-Bindung. Der Wegfall dieser vinylogenen Amidpartialstruktur resultiert in einer stärker reduzierten Drehbarkeit der *N*-Acetylgruppe und daraus ergeben sich differenziertere Signale im ^1H -NMR-Spektrum von **9** (Abbildung 31, unten). So sind auch hier größtenteils die Signale der 1,4-Dihydropyridin-Protonen doppelt vorhanden und zusätzlich ergeben die Protonen der *N*-Acetylgruppe zwei Singulets (Tabelle 4). Die Signale können anhand ihrer Integralhöhe den Rotameren zugeordnet werden. Wegen der magnetischen Anisotropie der

Carbonylgruppe werden der Doppelbindung des *N*-Acetylrestes zugewandte Protonen abgeschirmt (hochfeldverschoben) und abgewandte Protonen entschirmt (tieffeldverschoben).

Tabelle 4: Chemische Verschiebung δ (ppm) der 1,4-Dihydropyridin- und *N*-Acetyl-Protonen in den Rotameren von **8** und **9**

	2-H		4-H		5-H		6-H		<i>N</i> -Acetyl-CH ₃	
	Z-Form	E-Form	Z-Form	E-Form	Z-Form	E-Form	Z-Form	E-Form	Z-Form	E-Form
8	7,56	8,12	4,22		5,04 - 4,90 (breit)		7,06 - 6,91 [†]	6,35	2,13	2,07
9	6,13	7,01	4,32	4,34	5,18	5,09	7,39 - 7,23 [†]	6,69	2,19	2,28

[†]vom Multipllett der aromatischen Protonen überlagertes Signal

Durch die Nähe zum Chiralitätszentrum an Pos. 4 wird die magnetische Äquivalenz des Methylenprotonenpaares der Benzyloxy- und Ethylestergruppe aufgehoben. Hier ergeben sich weitere Besonderheiten im ¹H-NMR-Spektrum. Das erwartete Singulett für die Methylenprotonen des Benzyloxy-Substituenten der Verbindung **9** erscheint als zwei leicht überlagerte AB-Systeme, bei $\delta = 4,79$ ppm und $\delta = 4,77$ ppm, mit unterschiedlicher Breite und geminaler Kopplungskonstante für die zugeordneten *E*- und *Z*-Rotamere (*E*-Form: $\Delta\delta_{A/B} = 0,075$ ppm, $^2J_{A/B} = 11,9$ Hz; *Z*-Form: $\Delta\delta_{A/B} = 0,097$ ppm, $^2J_{A/B} = 12,3$ Hz). Im ¹H-NMR-Spektrum von Derivat **8** ergeben die Ethylprotonen Signale vom ABX₃-Typ statt als ein Quartett und ein Triplett aufgelöst zu werden. Der AB-Teil erscheint als symmetrisches Multipllett bei $\delta = 3,83$ ppm, bestehend aus einem Quartett von AB-Systemen mit Intensitätsverteilung 1:3:3:1. Die geminale Kopplung der Methylenprotonen beträgt $^2J_{A/B} = 10,8$ Hz, die vicinale Kopplung mit den Protonen der Methylgruppe $^3J_{CH_2/CH_3} = 7,1$ Hz. Der X₃-Teil erscheint bei $\delta = 0,89$ ppm als breites Triplett mit $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$ Hz.

4.1.1.4 Synthese der Azaoxafluoren-Zielstrukturen

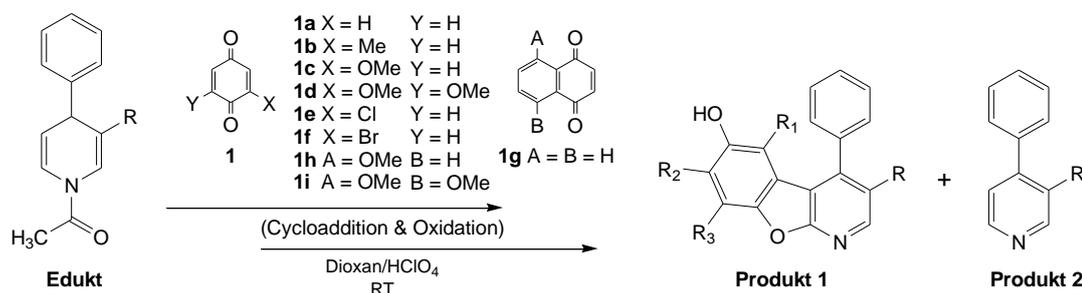


Abbildung 32: Synthese der 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene mithilfe unterschiedlich substituierter *p*-Chinone (\rightarrow Tabelle 5)

Die Darstellung der 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene erfolgte nach der in unserer Arbeitsgruppe etablierten „Ein-Topf-Methode“. Hierbei wird das *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridin, gelöst in Dioxan und 3- bis 5%igen Zusatz an Perchlorsäure, mit einem Überschuss *p*-Chinon direkt und ohne Isolation des Zwischenproduktes zur Zielverbindung (Produkt 1) umgesetzt.

Das *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridin **8** bzw. **9** (Abbildung 32, Edukt) und das jeweilige *p*-Chinon (**1a-g**) wurden unter Argon-Schutzatmosphäre in 1,4-Dioxan gelöst. Dort hinein wurde langsam ein Dioxan/Perchlorsäure-Gemisch - das Mischungsverhältnis ist in den experimentellen Daten angegeben - zugetropft und anschließend wurde der Ansatz bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsverläufe wurden bis zur vollständigen Abreaktion der Edukte und Intermediate dünnschichtchromatographisch überwacht. Hilfreich erwies sich hierbei die visuelle Detektierbarkeit der Edukte, Zwischenprodukte und Produkte unter UV-Licht bei 254 und 366 nm. Die 1,4-Dihydropyridine und Azaoxafluorene besitzen im Gegensatz zu den fluoreszenzlöschenden Tetrahydro-Intermediaten sowie Pyridinderivaten eine hellblaue Eigenfluoreszenz aufgrund der Vielzahl an konjugierten Doppelbindungen im Molekül.

Waren die Reaktionen abgeschlossen, wurden die Ansätze aufgearbeitet und daraufhin in der Regel Gemische des gewünschten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorens (Produkt 1) und des 4-Phenylpyridins (Produkt 2), welches durch Oxidation des 1,4-Dihydropyridins gebildet wurde, erhalten. Mittels Säulenchromatographie konnten die Zielverbindungen aus den Gemischen isoliert und nach Umkristallisation als beige bis schwach bräunliche Feststoffe gewonnen werden. Die Tabelle 5 stellt die Ergebnisse dieser Reaktionen übersichtlich dar.

Tabelle 5: Ergebnisse der Umsetzung von 1,4-Dihydropyridin **8/9** mit unterschiedlich substituierten *p*-Chinonen (→ Abbildung 32)

Edukt	Chinon	Produkt 1 (Ausbeute)	Produkt 2 (Ausbeute)	R	R ₁	R ₂	R ₃	ΔT
9	1a	20 (4,9 %)	70 (56 %)	OBz	H	H	H	24 h
9	1b	21 (0,9 %)	70 (56 %)	OBz	H	CH ₃	H	7 d
9	1c	22 (0,9 %)	70 (53 %)	OBz	H	OCH ₃	H	24 h
9	1d	23 (1 %)	70 (39 %)	OBz	OCH ₃	OCH ₃	H	24 h
9	1e	—	70 (68 %)	OBz	H	Cl	H	24 h
9	1f	—	70 (70 %)	OBz	H	Br	H	24 h
9	1g	24 (5,8 %)	70 (43 %)	OBz	H	-CH=CH-CH=CH-		3 d
8	1a	27 (9,8 %)	72 (40 %)	COOEt	H	H	H	36 d
8	1b	28a (2,1 %) 28b (0,5 %)	72 (42 %)	COOEt	H	CH ₃	H	70 d
8	1c	—	72 (50 %)	COOEt	H	OMe	H	50 d
8	1d	—	72 (33 %)	COOEt	H	OMe	OMe	50 d
8	1e	29a (0,7 %) 29b (1,0 %)	72 (59 %)	COOEt	H	Cl	H	120 d
8	1f	30a (0,5 %) 30b (1,2 %)	72 (63 %)	COOEt	H	Br	H	150 d
8	1g	31 (4,8 %)	72 (38 %)	COOEt	H	-CH=CH-CH=CH-		32 d
8	1h ^a	32 (4,1 %)	72 (32 %)	COOEt	H	-CH=CH-CH=CH- + 7-OMe		78 d
8	1i ^b	33 (9,4 %)	72 (36 %)	COOEt	H	-CH=CH-CH=CH- + 7,10-Di-OMe		67 d

^a5-Methoxy-1,4-naphthochinon; ^b5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinon

Bei der Umsetzung von **9** mit den verschiedenen Chinonen (**1a-g**) überwog die Oxidation zu dem 4-Phenylpyridin **70** deutlich. Je nach Ansatz wurde das Oxidationsprodukt mit Ausbeuten von 43 – 70 % aus den Produktgemischen isoliert. Die gewünschten Azaoxafluorene fielen dabei nur in geringen Mengen zwischen 0,9 und 5,8 % an oder wurden wie bei Verwendung der Halogen-substituierten *p*-Benzochinone (**1e/f**) gar nicht gebildet. Somit stellt die Oxidation, welche ab Beginn der Reaktion mit der Cycloaddition konkurriert, die primär ablaufende Reaktion dar. Beim Vergleich des Redoxverhaltens der Chinon/Hydrochinon-Paare, genauer der Oxidationsstärke der 1,4-Chinone, mit den Ausbeuten der angefallenen 3,4-disubstituierten Pyridine ist erkennbar, dass bei Verwendung der stärksten oxidationsfördernden 1,4-Chinone, 2-Chlor- und 2-Brom-*p*-benzochinon (**1e** und **1f**), auch die höchsten Ausbeuten an 3-Benzyloxy-4-phenylpyridin (**70**) zu 70 bzw. 68 % im Vergleich zum Ansatz mit dem schwächsten verwendeten Oxidationsmittel, dem 2,6-Dimethoxy-*p*-benzochinon (**1d**), zu 39 % resultierten. Die Zielverbindungen **20** und **24** wurden in schlechten Ausbeuten zu 4,9 bzw. 5,8 % isoliert, bei der Umsetzung mit dem 2-Methyl-, dem 2-Methoxy- und dem 2,6-Dimethoxy-*p*-benzochinon (**1b-d**) waren die Ausbeuten der Zielverbindungen (ca. 1 %) noch einmal geringer. Die Reaktionen mit den einfach substituierten *p*-Benzochinonen (2-Methyl- bzw. 2-Methoxygruppe) brachten an Pos. 7 substituierte 1-Aza-9-oxafluorene hervor, da die dem Substituenten abgewandte Seite des 1,4-Chinons für den nukleophilen Angriff aus sterischen Gründen und induktiven Effekten vorteilhafter erscheint.

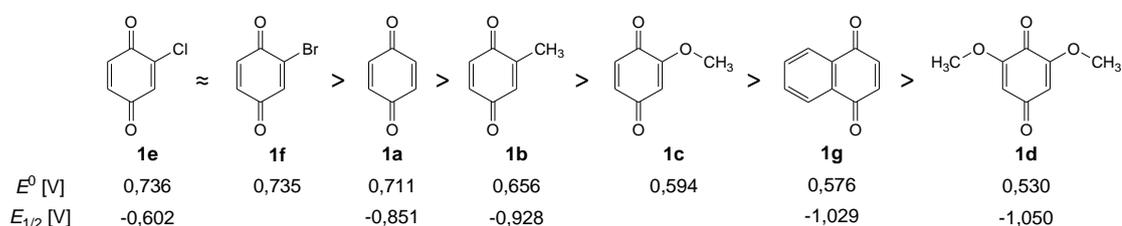


Abbildung 33: Reihung der *para*-Chinone in abnehmender oxidierender Wirkung
 E^0 : Standardelektrodenpotential^{187, 188}, $E_{1/2}$: Halbstufenpotential¹⁸⁹

Bei der Umsetzung des 3-Ethylester-substituierten 1,4-Dihydropyridins **8** mit den 1,4-Chinonen (**1a-i**) konnte ein anderes Reaktionsverhalten beobachtet werden, wengleich auch hier die Oxidation des *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridins zum 4-Phenylpyridinderivat **72** überwog. Im Vergleich zu den Ansätzen mit dem 3-Benzyloxy-substituierten Edukt (**9**), bei denen die Reaktionszeiträume zwischen 1 und 7 Tagen lagen, dauerten die vollständigen Umsetzungen von **8** zu den Zielstrukturen mehrere Wochen, Zeiträume zwischen 32 und 150 Tagen, wobei mehrfach anteilig das Chinon zugegeben werden musste, weil dieses zum korrespondierenden Hydrochinon abreagiert war bzw. säurekatalysiert polymerisierte. Der 3-Ethylester-Substituent hat einen elektronenziehenden Effekt mit Einfluss auf die Elektronendichte im

1,4-Dihydropyridin-Ring. Zum einen ist dadurch die Oxidation zum 4-Phenylpyridinderivat vermindert, zum anderen die Oxidation des gebildeten Tetrahydro-Azaoxafluorens zum Azaoxafluoren selbst verlangsamt. Weiterhin ist durch Konjugation mit der Carbonylgruppe und mesomeren Effekten die Bildung des Nucleophils beeinflusst, wodurch die Reaktivität für die *MICHAEL*-Addition gemindert wird. Auffällig bei den Umsetzungen des Edukts **8** war zudem die Bildung einer Vielzahl an Verbindungen mit fluoreszenzlöschenden bzw. bläulich fluoreszierenden Eigenschaften auf den DC-Folien. Diese konnten jedoch säulenchromatographisch nicht vollständig aufgetrennt und folglich deren Identität nicht aufgeklärt werden.

Bemerkenswert war bei der Umsetzung von Edukt **8** mit 2-Methyl-, 2-Chlor- und 2-Brom-*p*-benzochinon (**1b/e/f**) die säulenchromatographische Isolation der gebildeten 7- und 8-Stellungsisomere neben dem Oxidationsprodukt **72**. Allerdings war der überwiegende Anteil der Zielstrukturen **28** – **30** nicht vollständig in die jeweiligen Stellungsisomere auftrennbar (Gesamtausbeute, siehe Experimenteller Teil). Auch hier war wieder die dem Substituenten abgewandte Seite des 1,4-Chinons für die Addition zum Cyclisierungsprodukt bestimmend. Bei den halogenierten 1-Aza-9-oxafluorenen **29** und **30** lag die Ausbeute der an Pos. 8 substituierten Produkte etwa um 0,6 % höher als im Vergleich zu den an Pos. 7 substituierten Verbindungen. Im Fall der Methyl-derivate war es umgekehrt, hier wurde **28a** in 2,1%iger Ausbeute und **28b** zu 0,5 % erhalten. Die Umsetzung mit 2-Methoxy- bzw. 2,6-Dimethoxy-*p*-benzochinon (**1c/d**) führte nicht zu den gewünschten Zielverbindungen, nur das 4-Phenylpyridinderivat konnte in 50- bzw. 33%iger Ausbeute isoliert werden. Die Bildung des 1-Aza-11-oxafluorens **31** bei den 3-Ethylester-substituierten Derivaten war mit 32 Tagen am schnellsten und resultierte in einem gut zu trennenden Gemisch aus der Zielverbindung mit einer Ausbeute von 4,8 % und dem 4-Phenylpyridin **72** zu 38 %. Um zu überprüfen inwiefern bei gleichem Syntheseweg Reste am anellierten Benzolring möglich sind, wurde zusätzlich das 1,4-Dihydropyridin **8** unter genannten Reaktionsbedingungen mit 5-Methoxy- (**1h**) bzw. 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinon (**1i**) umgesetzt. Die Reaktionen brachten die gewünschten Zielstrukturen **32** und **33** zu 4,1- bzw. 9,4%iger Ausbeute hervor.

Die tetrazyklischen 1-Aza-11-oxafluorene, wie auch die Zielstrukturen aus den Umsetzungen mit unsubstituiertem *p*-Benzochinon wurden in vergleichsweise höheren Ausbeuten erhalten.

Durch ¹H-NMR-Spektren konnten die Substitutionsmuster der dargestellten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene abgesichert werden. Gegebenenfalls wurden diese Zuordnungen durch zusätzliche Aufnahmen von ¹H, ¹H-Korrelationsspektren (¹H, ¹H-COSY) bestätigt.

Das Azaoxafluoren-Grundgerüst stellt ein vollständig aromatisches Ringsystem dar, dessen entschirmende Wirkung des durch den Ringstrom induzierten Magnetfeldes die Signale der Protonen 2-H, 5-H, 7-H, 8-H (bei dem Tetrazyklus auch von 9-H sowie 10-H) und der Protonen

des 4-Phenylsubstituenten im Tieffeld bei höheren ppm-Werten erscheinen lässt. Durch die Substituenten am bzw. Heteroatome im Grundgerüst sind für die Protonen an Pos. 2, 5, 7 und 8 (sowie 9, 10) charakteristische Verschiebungen und Aufspaltungsmuster zu erkennen (Abbildung 34).

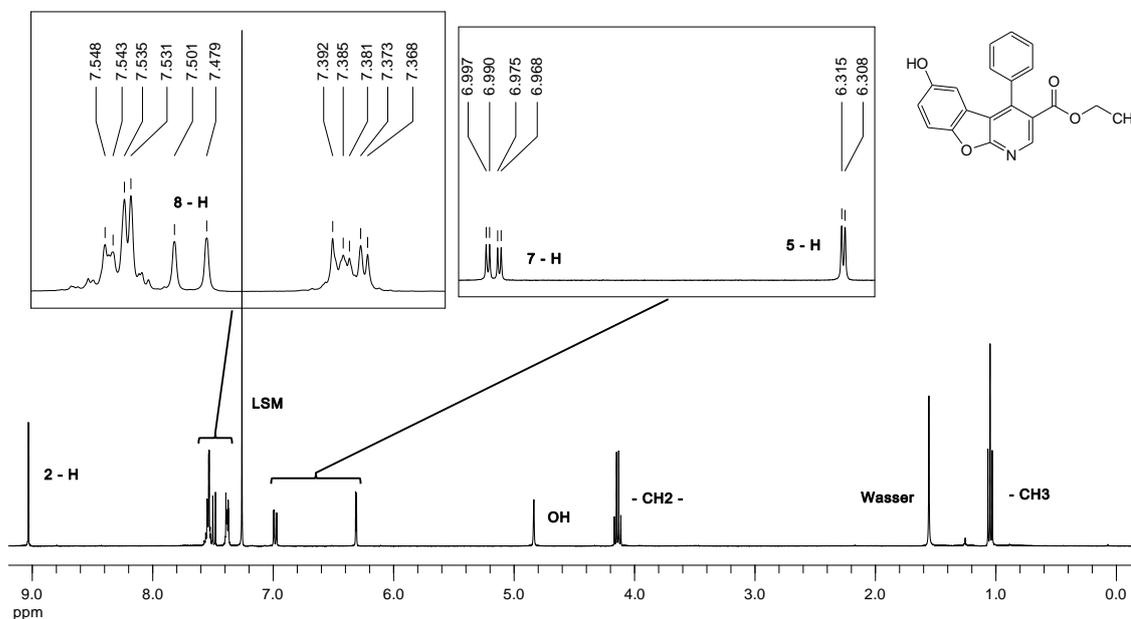


Abbildung 34: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **27** in CDCl_3 (400 MHz)

Von den genannten Protonen erscheint das Resonanzsignal für das Proton an Pos. 2 bei größten ppm-Werten, da das Stickstoffatom in Nachbarschaft die entschirmende Wirkung des aromatischen Systems verstärkt. Für dieses Proton resultiert im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ein Singulett, weil kein Kopplungspartner vorhanden ist.

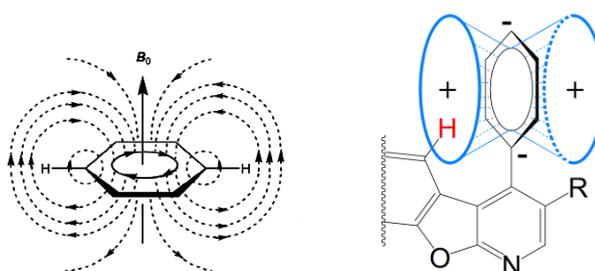


Abbildung 35: Ringstrom-induziertes Magnetfeld
Ringstrommodell am Benzolring¹⁹⁰ (links); Abschirmkegel des
4-Phenylsubstituenten, rot dargestellt das 5-H (rechts)

Im 4-Phenylrest wird wegen des magnetischen Kraftflusses durch den Ring ein Ringstrom der π -Elektronen erzeugt, welcher wiederum ein Gegenfeld induziert. Die Folge ist, dass am Aromaten gebundene Protonen entschirmt und Protonen unter- und oberhalb der Ringebene durch Abschwächung des B_0 -Feldes abgeschirmt werden¹⁹⁰ (Abbildung 35). Durch die Nähe zum 4-Phenylsubstituenten, der durch eine frei drehbare C-C-Einfachbindung an dem

Azaoxafluoren-Grundgerüst gebunden ist, wird das Signal des Protons an Pos. 5 bei Betrachtung aller aromatischen Protonen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum am weitesten in das Hochfeld verschoben. Da aufgrund kleinerer ppm-Werte das 5-H im Abschirmkegel liegt, muss folglich der 4-Phenylrest senkrecht zur Ebene des planaren Fluoren-Grundgerüsts stehen.

Durch Berechnung energieminimierter Modelle der Verbindungen **20**, **23** und **27** mithilfe des Programms *Avogadro 1.1.1* (OpenSource, 2013) unter Nutzung der MMFF94-Kraftfeldmethode wurden Torsionswinkel von 83° , 69° und 94° bestimmt (Abbildung 36) und damit dessen o. g. Ausrichtung sowie die daraus resultierende Hochfeldverschiebung des 5-H-Signals bestätigt. Vorangegangene Arbeiten unserer Arbeitsgruppe beschrieben zum einen beim Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von 6-Hydroxy-1,4,4a,9a-tetrahydro-1-aza-9-oxafluorenen mit den korrespondierenden 1-Aza-9-oxafluorenen den Einfluss des 4-Phenylringes auf das Proton an Pos. 5, zum anderen das Ausbleiben der Abschirmung bei Derivaten mit 4-Methylsubstituent¹⁷².

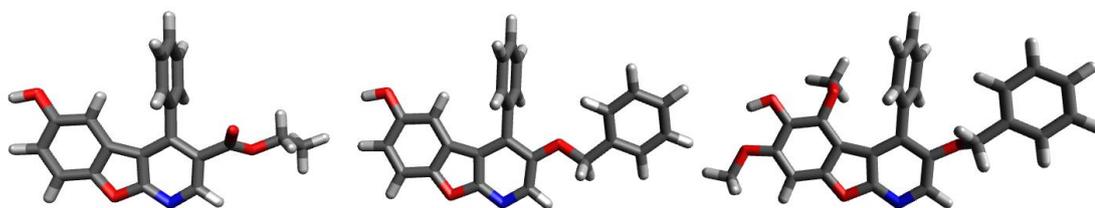


Abbildung 36: Energieminimierte Modelle der Verbindungen **27**, **20** und **23** - Torsionswinkel: 94° , 83° und 69° (von links nach rechts)

Auch für die Protonen des 4-Phenylringes hat das durch den Ringstrom im Pyridinring induzierte Magnetfeld und damit dessen Abschirmkegel einen Einfluss auf die chemische Verschiebung der Signale. So sind die Protonen an Pos. 2' und 6' als Multiplett weiter im Hochfeld zu finden als das Multiplett für die Protonen an Pos. 3', 4' und 5'.

Das 5-H-Signal der Azaoxafluorene erscheint durch Fernkopplung (*long-range-Kopplung*) mit dem Proton 7-H als Dublett mit einer Kopplungskonstante $^4J_{5/7} = 2,4 - 2,6$ Hz. Der Einfluss der benachbarten 6-OH-Funktion verstärkt hier zusätzlich die beschriebene Hochfeldverschiebung. Das Signal für Proton 7-H erfährt durch leichte abschirmende Wirkung der 6-Hydroxygruppe im Vergleich zum 8-H-Signal einen schwachen Hochfeld-Drift. Aufgrund der o. g. Fernkopplung und der vicinalen Kopplung mit dem Proton 8-H ergibt sich folglich ein Doppeldublett mit $^4J_{7/5} = 2,4 - 2,6$ Hz und $^3J_{7/8} \approx 8,8$ Hz. Das 8-H erscheint im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum wiederum nur als ein Dublett mit $^3J_{8/7} \approx 8,8$ Hz. Im Gegensatz zu den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der 1,4-Dihydropyridine, welche zeitgleich als *E*- bzw. *Z*-Konformere vorliegen, wird für die Ethylgruppe der 3-Ethylester-Verbindungen statt des ABX_3 -Systems erwartungsgemäß ein Quartett und ein Triplet, sowie für die Methylengruppe der 3-Benzoyloxy-Derivate statt des AB -Systems erwartungsgemäß ein Singulett gefunden. Die Lage und

Auflösung der Hydroxyprotonen ist abhängig von Temperatur und verwendetem Lösungsmittel. Bei Messungen in Chloroform (CDCl_3) werden breite Singulets mit Integral < 1 gefunden (schneller Protonen-Deuteronen-Austausch). Messungen in DMSO- d_6 ergeben schärfere Singulets mit Integral ≈ 1 (langsamer Protonen-Deuteronen-Austausch). Das Signal der 6-OH-Funktion ließ sich durch erneute Messung nach Zugabe von Methanol- d_4 bzw. D_2O zuordnen. Hiermit wird der Austausch des Hydroxyprotons gegen Deuterium begünstigt, woraufhin ein Verschwinden des OH-Kernresonanzsignals im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum die Folge ist. Zusätzlich konnten auch durch spätere *O*-Derivatisierung, wie in Kapitel 4.4.1.4.2 beschrieben, das Fehlen dieses Signals beobachtet und damit die Zuordnung bestätigt werden.

Die Einführung von Substituenten an Pos. 5, 7 bzw. 8 des 1-Aza-9-oxafluorens hat zur Folge, dass Signale des unsubstituierten Derivates verschwinden und bei Betrachtung verbleibender Signale und deren Aufspaltungsmuster auf die Stellung im Molekül geschlossen werden kann (Tabelle 6). Am Beispiel von **28a** und **28b** soll die Vorgehensweise kurz erläutert werden.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **28a** (Abbildung 37) resultiert für das 5-H-Signal ein Singulett bei $\delta = 6,24$ ppm, da durch den Methylsubstituenten gebunden an Pos. 7 keine Fernkopplung stattfindet. Das Signal für das 8-H erscheint durch seinen unbeeinflussten Charakter als Aromaten-Proton im Multipllett ($\delta = 7,38 - 7,35$ ppm) zusammen mit Protonen des 4-Phenylrings. Das bestätigt der Vergleich der Integrale und der damit ableitbaren Anzahl an Protonen. Im Gegensatz zum unsubstituierten Derivat **27** findet sich ein zusätzliches Singulett mit dem Integral 3 bei $\delta = 2,34$ ppm, welches dem Kernresonanzsignal der Wasserstoffkerne der Methylgruppe entspricht.

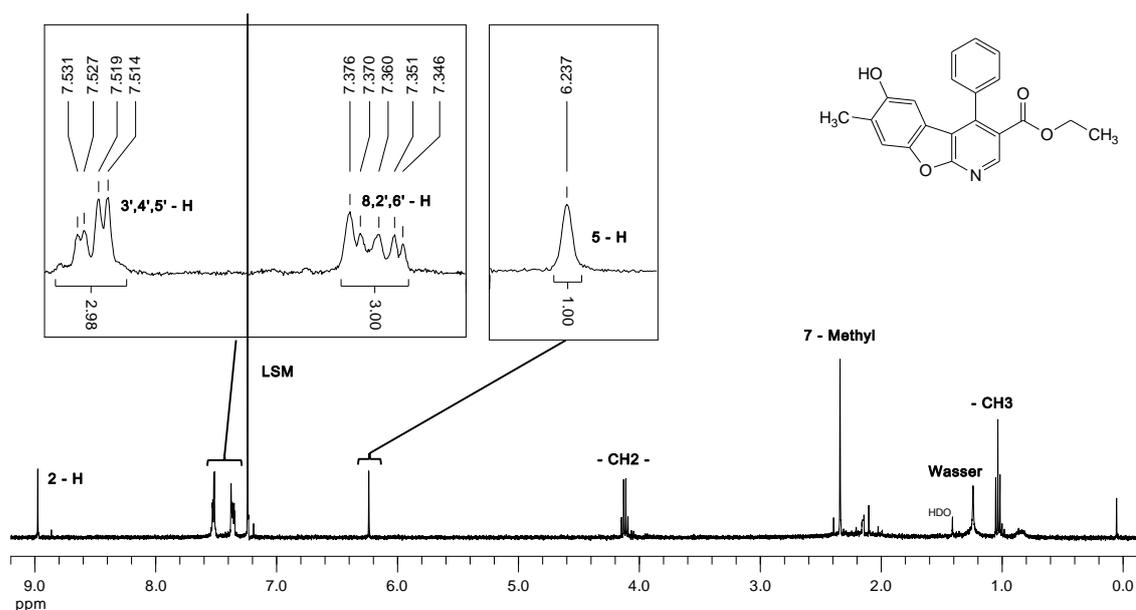


Abbildung 37: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **28a** in CDCl_3 (400 MHz), 6-OH Signal mit D_2O „gelöscht“

Im Spektrum von **28b** ist hingegen das Signal der Protonen der Methylgruppe weiter im Tieffeld bei $\delta = 2,53$ ppm zu finden. Das bestätigt die Substitution an Pos. 8, da anders als beim 7-Methylderivat die abschirmende Wirkung der *ortho*-Hydroxygruppe fehlt. Gefestigt wird die Identifizierung dieser Verbindung als 8-Stellungsisomer damit, dass das Multiplett im Bereich von $\delta = 7,35 - 7,33$ ppm ein Proton weniger umfasst und dass durch das Auftreten zweier Dubletts mit gemeinsamer Kopplung über 4 Bindungen mit ${}^4J = 2,5$ Hz auf die Anwesenheit des Protons an Pos. 5 ($\delta = 6,11$ ppm, d, 1 H) und Pos. 7 ($\delta = 6,79$ ppm, d, 1 H) im Molekül geschlossen werden kann (Abbildung 38).

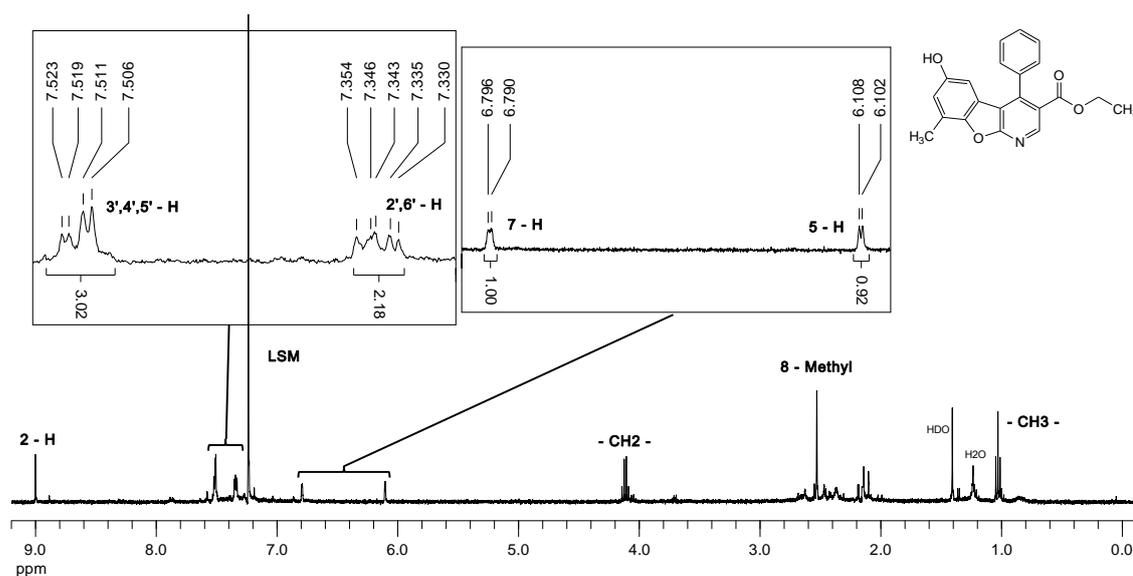


Abbildung 38: ${}^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **28b** in CDCl_3 (400 MHz), 6-OH Signal mit D_2O „gelöscht“

Der beschriebene Abschirmeffekt des 4-Phenylsubstituenten auf die Pos. 5 im Molekül wurde auch im Spektrum der 5,7-Dimethoxy-substituierten Verbindung **23** beobachtet. Hier ergeben sich statt einem Signal für beide Methoxygruppen zwei Singulets. Die im Molekül vorhandene 5-Methoxygruppe wird folglich ebenfalls schwach abgeschirmt ($\delta = 3,88$ ppm), die 7-Methoxygruppe hingegen nicht ($\delta = 3,95$ ppm).

Bei den tetrazyklischen Azaoxafluorenen **24** und **31** resultieren für die Protonen an Pos. 7 und 10 im Bereich von $\delta = 8,2 - 8,4$ ppm jeweils ein Dublett, wobei durch den abschirmenden Effekt der 6-Hydroxyfunktion das ins Hochfeld verschobene Signal dem 7-H zugeordnet werden konnte. Die Kopplungskonstanten zu den benachbarten Protonen 8 und 9, deren Signale teilweise durch die Multipletts der 4-Phenyl-Protonen überlagert werden, ergeben Werte von ${}^3J_{7/8}/{}^3J_{10/9} = 8,2 - 8,4$ Hz und entsprechen damit literaturbekannten Angaben zu Naphthalen und -derivaten¹⁹⁰. Das 7,10-Dimethoxy-substituierte Derivat **33** besitzt für die 8- und 9-Protonen ein Signal vom AB-Typ.

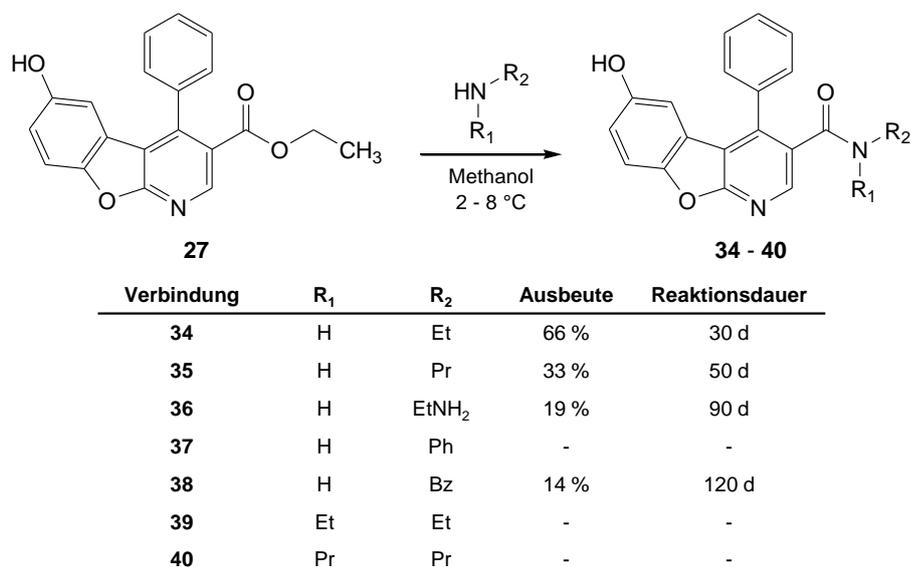
Tabelle 6: Chemische Verschiebung δ (ppm) relevanter Signale in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von **20** – **23** und **27** – **30b**

Verbindung	Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum				
	Pos. 2	Pos. 5	Pos. 7	Pos. 8	CH_3/OCH_3
20 [#]	8,33 (s)	6,68 (d) ($^4J_{5/7} = 2,6$ Hz)	6,93 (dd) ($^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz)	7,51 (d) ($^3J_{8/7} = 8,9$ Hz)	-
21 [#]	8,24 (s)	6,60 (s)	-S-	7,40 (s)	2,19 (s)
22 [#]	8,35 (s)	6,76 (s)	-S-	7,47 – 7,30 (m) [*]	3,90 (s)
23 [#]	7,98 (s)	-S-	-S-	7,14 (s)	3,95 (s) 3,88 (s)
27 [†]	9,03 (s)	6,31 (d) ($^4J_{5/7} = 2,6$ Hz)	6,98 (dd) ($^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz)	7,49 (d) ($^3J_{8/7} = 8,8$ Hz)	-
28a [†]	8,89 (s)	6,24 (s)	-S-	7,38 – 7,35 (m) [*]	2,34 (s)
28b [†]	9,00 (s)	6,11 (d) ($^4J_{5/7} = 2,5$ Hz)	6,79 (d) ($^4J_{7/5} = 2,5$ Hz)	-S-	2,53 (s)
29a [†]	9,12 (s)	6,86 (s)	-S-	8,05 (s)	-
29b [†]	9,07 (s)	6,21 (d) ($^4J_{5/7} = 2,5$ Hz)	7,04 (d) ($^4J_{7/5} = 2,5$ Hz)	-S-	-
30a [†]	9,01 (s)	6,53 (s)	-S-	7,75 (s)	-
30b [†]	9,05 (s)	6,27 (d) ($^4J_{5/7} = 2,4$ Hz)	7,20 (d) ($^4J_{7/5} = 2,4$ Hz)	-S-	-

[#]aufgenommen in DMSO-d₆; [†]aufgenommen in CDCl₃; *vom Multiplett aromatischer Protonen überlagertes Signal; -S-: gebundener Substituent

4.1.2 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonylamid-Funktion

4.1.2.1 Synthese der 3-Carbonylamid-substituierten Derivate durch Aminolyse

Abbildung 39: Aminolyse des Ethylester-Derivates **27** zu den Zielstrukturen **34** – **40**

Die Darstellung der 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonylamid-Funktion erfolgte durch Aminolyse des Ethylester-Derivates **27**. Dazu wurde die Verbindung **27** in Methanol gelöst und

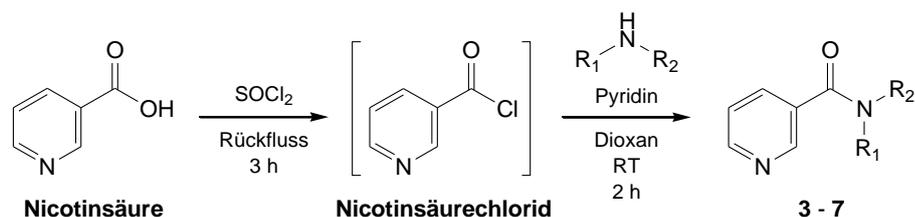
jeweils mit 40%iger wässriger (bei Phasentrennung methanolischer) Aminlösung versetzt. Verwendet wurden Ethylamin, Propylamin, Ethylendiamin, Anilin, Benzylamin, Diethylamin und Dipropylamin. Die Ansätze wurden im Kühlschrank bei 2 – 8 °C aufbewahrt und gelegentlich geschüttelt. Die Umsetzung konnte aufgrund der hellblauen Eigenfluoreszenz von Edukt und Produkt mittels der DC kontrolliert werden.

Entscheidend für die Reaktivität sind neben der Basizität der Amine, welche durch den +I- bzw. -I-Effekt und durch die Ausbildung einer Hydrathülle im wässrigen Milieu beeinflusst wird, auch das molekulare Raumvolumen der Reaktionspartner und den damit verbundenen sterischen Effekten. In aliphatischen Aminen ist die Elektronendichte aufgrund des +I-Effektes auf das Stickstoffatom konzentriert, wobei die Basizität im Vergleich zum Ammoniak zunimmt und einen Angriff auf das partiell positiv geladene Kohlenstoffatom des Esters begünstigt wird. Hingegen wird die Basizität bei aromatischen Aminen durch den -I-Effekt des aromatischen Ringsystems deutlich vermindert und der sterische Effekt nimmt zu. So war die Umsetzung von **27** mit den primären Aminen Ethylamin (zu Zielstruktur **34**), Propylamin (zu **35**), Ethylendiamin (zu **36**) und Benzylamin (zu **38**) erfolgreich realisierbar. Die Verbindung **34** wurde nach 30 Tagen in 66%iger Ausbeute isoliert. Die Umsetzungen zu **35**, **36** und **38** erstreckten sich über mehrere Wochen und ergaben mäßige Ausbeuten von 33 %, 19 % und 14 %. Die Verwendung des Anilins (zu **37**) führte aufgrund der erniedrigten Basizität (-I-Effekt des Aromaten) und der sterischen Hinderung nicht zum gewünschten 1-Aza-9-oxafluoren-Derivat. Auch die Umsetzung mit sekundären Aminen Diethylamin (zu **39**) und Dipropylamin (zu **40**) waren wegen der sterischen Hinderung nicht erfolgreich, auch wenn hier die größte Basizität (starker +I-Effekt) zu erwarten war. Diese Reaktionen wurden nach 150 Tagen abgebrochen, wobei zu > 70 % die Edukte aus den Ansätzen zurückgewonnen werden konnten.

4.1.2.2 Alternative Syntheseroute zur Darstellung von 3-Carbonylamid-Derivaten

Da nicht alle gewünschten Carbonylamid-substituierten Verbindungen durch die Aminolyse der Ethylesterfunktion der Verbindung **27** zugänglich waren und zudem die Reaktionszeiten mit mehreren Wochen unbefriedigend lang waren, wurde versucht das 2-Stufen-Synthesekonzept (Kapitel 4.1.1.1) ausgehend vom Nicotinsäureamid anzuwenden.

4.1.2.2.1 Darstellung der Nicotinsäureamide



Verbindung	R ₁	R ₂	Ausbeute
3	H	Pr	75 %
4	H	Ph	61 %
5	H	Bz	69 %
6	Et	Et	67 %
7	Pr	Pr	82 %

Abbildung 40: Synthese der Nicotinsäureamide 3 - 7

Als Ausgangsstoff für eine Vorschrift nach *Pochet et al.*¹⁹¹ wurde die günstige, kommerziell verfügbare Nicotinsäure gewählt, welche durch Reaktion mit Thionylchlorid in das reaktivere Nicotinsäurechlorid überführt wurde. Das Chloridion stellt im Vergleich zur Hydroxygruppe der Säurefunktion die bessere Abgangsgruppe dar und durch dessen –I-Effekt wird die positive Partiaalladung des Carbonyl-Kohlenstoffatoms verstärkt. Ohne Isolation des gebildeten Nicotinsäurechlorides wurde dieses mit dem jeweiligen Amin umgesetzt. Hierbei diente wasserfreies Pyridin als Hilfsbase um bei der Reaktion frei werdende Protonen zu binden. Die Nicotinsäureamide 3 – 7 konnten über diesen Weg in guten Ausbeuten erhalten werden.

Neben den charakteristischen Signalen im ¹H-NMR-Spektrum für 3-substituierte Pyridin-Protonen (Abbildung 41, blau dargestellt) und den austauschbaren NH-Protonen sekundärer Amide (siehe Protonen-Deuteronen-Austausch der OH-Gruppe, Kapitel 4.1.1.4) wurden bei den Amidresten, aufgrund eingeschränkter Rotation der Amid-CN-Bindung durch den partiellen Doppelbindungscharakter, stellungsabhängige chemische Verschiebungen beobachtet. Bei den sekundären Amidresten sind die Substituenten zum Carbonyl-Sauerstoff Z-ständig angeordnet¹⁹⁰ und durch differenzierte Signale gekennzeichnet. Für die tertiären Amide 6 und 7 wurden doppelte, unscharfe Signale für die Ethyl- bzw. Propylreste erhalten, wobei die Protonen der Z-ständig angeordneten Substituenten abgeschirmt (Hochfeldverschiebung), die der E-ständig

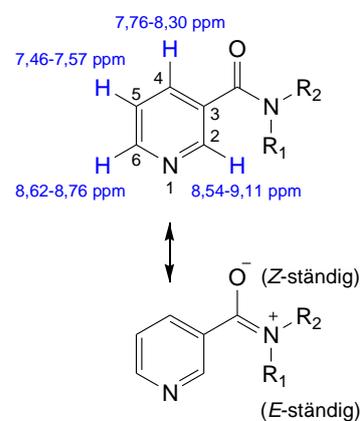


Abbildung 41: Nicotinsäureamid - partielle Doppelbindung

angeordneten Reste entschirmt (Tiefeldverschiebung) erscheinen (beispielhaft das ^1H -NMR-Spektrum von **7**, Abbildung 42 oben). Diese magnetische Anisotropie in den Alkyl-Substituenten ist auch im ^{13}C -NMR-Spektrum sichtbar, wobei ebenfalls Doppelsignale der Kohlenstoffatome resultieren (Abbildung 42 unten).

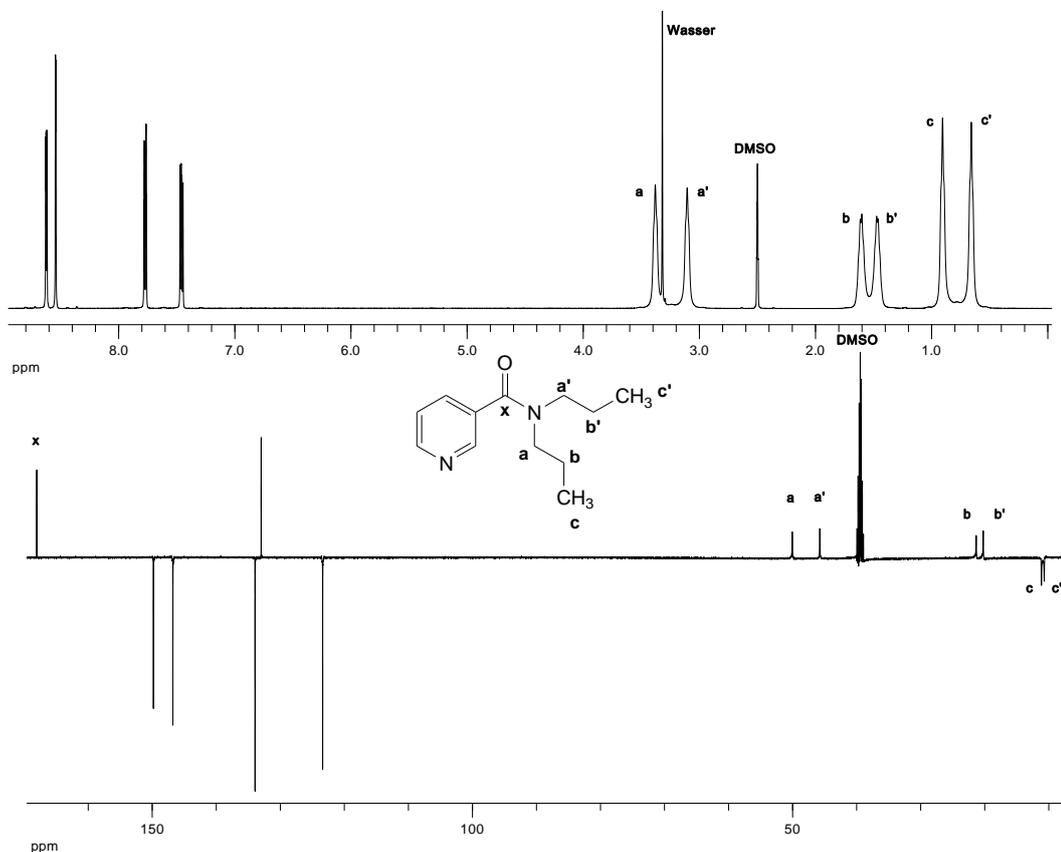


Abbildung 42: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz, oben) und APT- ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz, unten) von Verbindung **7** in DMSO- d_6

Das APT-Spektrum (*attached proton test*) enthält Informationen zur Anzahl direkt gebundener Protonen am signalgebenden Kohlenstoffatom, wobei CH_3 - und CH -Gruppen mit negativer (nach unten gerichteter), CH_2 -Gruppen und quartäre C-Atome mit positiver (nach oben gerichteter) Signalintensität erscheinen.

Der partielle Doppelbindungscharakter kann ebenso in einem homonuklearen ^1H , ^1H -Korrelationspektrum beobachtet werden, welches aufgenommen wird, um Konnektivitäten eines Moleküls anzuzeigen. Mit dieser lassen sich auch in Spektren höherer Ordnungen Aussagen über Kopplungen im Molekül treffen. Bei diesem Experiment resultiert ein zu einer Diagonalen symmetrisches Diagramm, auf dessen Achsen die ^1H -chemischen Verschiebungen aufgetragen sind. Die Diagonalsignale (Abbildung 43, blaue Diagonale) entsprechen den Signalen des 1D- ^1H -NMR-Spektrums, die Kreuzsignale (gestrichelte Linien in rot, grün und magenta) beruhen auf der skalaren Spin-Spin-Kopplung. Im Ergebnis erhält man für jede skalare Kopplung zwischen zwei Kernen 2 Diagonal- und 2 Kreuzsignale, welche durch Verbinden ein Rechteck ergeben. Somit kann man Kerne, dessen Signale gemeinsam auf einer gestrichelten Linie liegen, als Kopplungspartner ableiten.

Beispielhaft ist in Abbildung 43 das ^1H , ^1H -Korrelationsspektrum von Verbindung **7** dargestellt. Bunt hervorgehoben wurde die Zuordnung der koppelnden Kerne der Alkylreste (gestrichelte Linien in rot, grün und magenta).

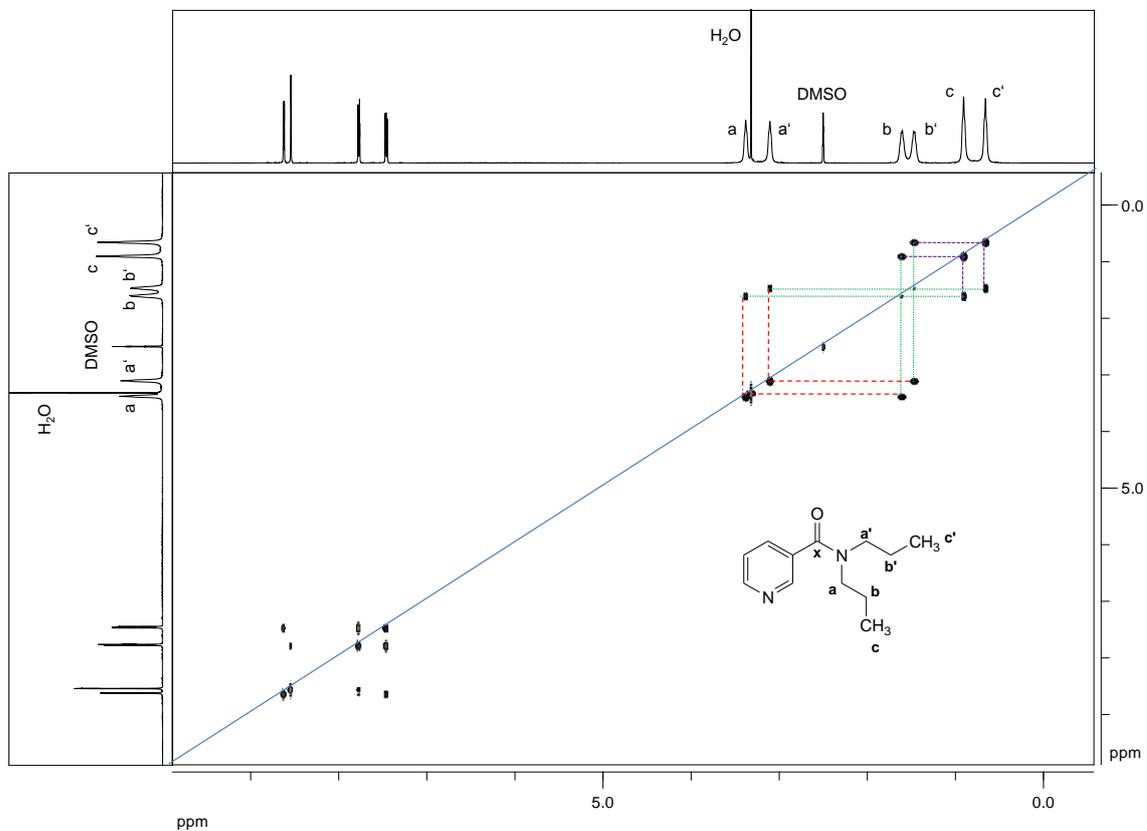
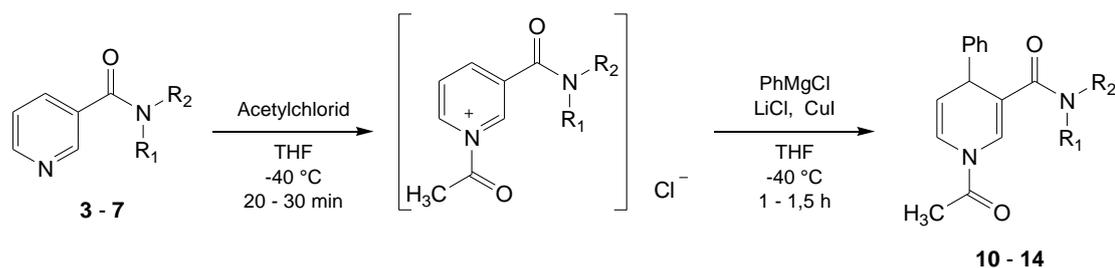


Abbildung 43: ^1H , ^1H -Korrelationsspektrum von Verbindung **7** in DMSO-d_6 (500 MHz)
 blau: Diagonalsignale; rot: Kreuzsignal Kopplung der Kerne a_b bzw. $a'b'$; grün: Kreuzsignal Kopplung der Kerne $a_b c$ bzw. $a'b'c'$; magenta: Kreuzsignal Kopplung der Kerne c_b bzw. $c'b'$

Da Ethylamin im Rahmen dieser Arbeit nur als 70%ige wässrige Lösung vorhanden war, wurde auf dessen Verwendung verzichtet. Eine Reaktion von Säurechloriden mit Wasser bzw. wasserhaltigen Reagenzien führt unter heftigen Reaktionen wieder zu Carbonsäuren.

Ebenfalls nicht durchgeführt wurde die Umsetzung mit Ethylendiamin, da hier N,N' -(Ethan-1,2-diyl)-dinicotinamid als Hauptprodukt erwartet wurde, welches nicht als Ausgangsverbindung weiterer Synthesen dienen sollte.

4.1.2.2.2 Darstellung der 1,4-Dihydropyridine mit 3-Carbonylamid-Funktion



Verbindung	R ₁	R ₂	Ausbeute
10	H	Pr	16 %
11	H	Ph	29 %
12	H	Bz	35 %
13	Et	Et	36 %
14	Pr	Pr	41 %

Abbildung 44: Darstellung der *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine mit 3-Carbonylamidrest (**10** – **14**) durch Grignard-Addition

Die *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine mit 3-Carbonylamid-Funktion **10** – **14** konnten analog zu der in Kapitel 4.1.1.3 beschriebenen Vorgehensweise synthetisiert werden. Nach *N*-Acetylierung am Pyridin-Stickstoff resultierten rötliche Lösungen des Pyridinium-Ions und daher erfolgte die Zugabe des Grignard-Reagenzes ebenfalls nach optischer Indikation. Nach Aufarbeitung wurden die Zielstrukturen mittels Säulenchromatographie aus den Produktgemischen isoliert. Außer **14**, welches als gelbliches Öl erhalten wurde, resultierten alle Zielverbindungen nach Kristallisation aus Methanol als weiße Feststoffe. Diese waren weniger stark oxidationsempfindlich als 3-Benzoyloxy-substituierte 1,4-Dihydropyridin-Derivate, wurden aber trotzdem bei tiefen Temperaturen und unter Argon-Atmosphäre gelagert.

Zwar konnten alle Zielverbindungen erfolgreich synthetisiert werden, jedoch entstanden bei den Reaktionen säulenchromatographisch schwer zu trennende Produktgemische. In der Folge waren die erzielten Ausbeuten im Vergleich zu anderen Derivaten dieser Verbindungsklasse schlechter. Ein Grund hierfür ist der partielle Doppelbindungscharakter der Amid-CN-Bindung und die daraus darstellbare positive Ladung am 3-Amid-Stickstoff, an dem das Grignard-Reagenz zusätzlich angreifen und beispielsweise zu quartären Verbindungen reagieren kann. Innerhalb der Syntheseriehe selbst wurden ebenso Unterschiede bei den Produkt-Ausbeuten beobachtet, wobei sich herausstellte, dass das Wasserstoffatom am 3-Amid-Stickstoff der sekundären Amide **10** – **12** den stärkeren Einfluss auf das Reaktionsverhalten besitzt. Das Grignard-Reagenz Phenylmagnesiumchlorid greift hier bevorzugt als Base an, wobei das NH-Proton abgespalten wird und Benzol entsteht. Das unterstreicht die geringere Ausbeute im Vergleich zu den tertiären Amidinen **13** und **14**. Aufgrund der fehlenden sterischen Effekte der voluminöseren Amidreste in **11** – **14** gegenüber dem zweiten reaktiven Zentrum im Molekül

scheint es nachvollziehbar, dass das Derivat **10** mit geringstem Produkt-Ergebnis (16 %) erhalten wurde.

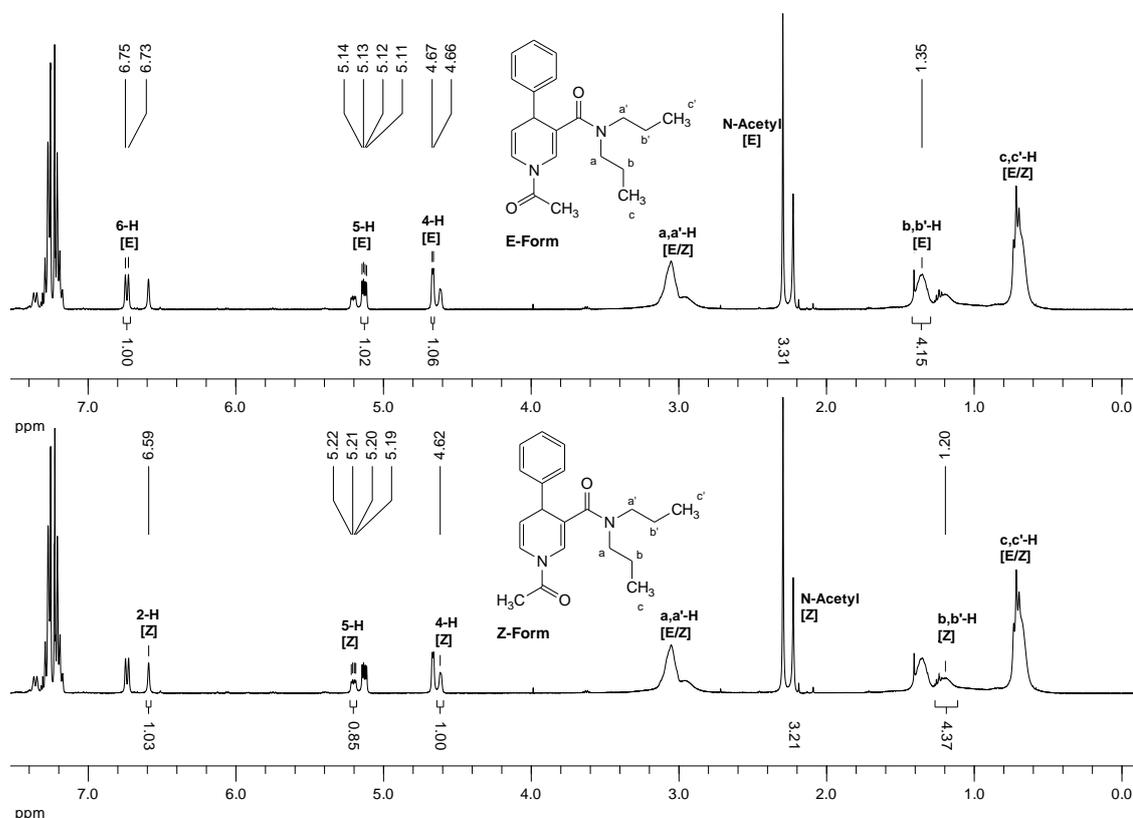
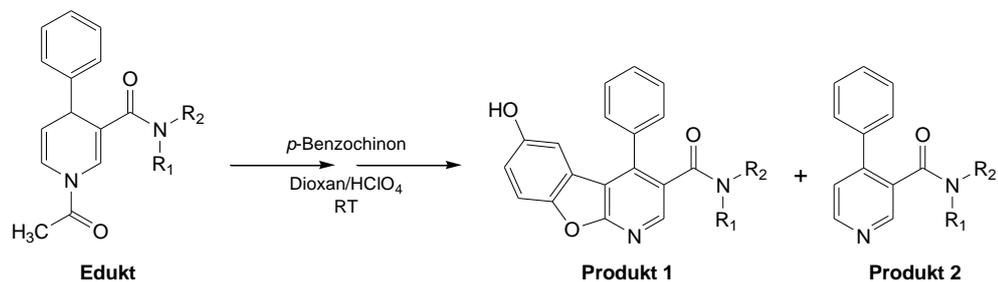


Abbildung 45: ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **14** in CDCl_3 (400 MHz)

Dargestellt ist das gleiche Spektrum von **14**, einmal wurden die Signale dem *E*-Rotamer zugeordnet (oben), einmal dem *Z*-Rotamer (unten)

In den ^1H -NMR-Spektren konnten analog den Spektren der 3-Ethylester- und 3-Benzoyloxy-substituierten 1,4-Dihydropyridine doppelte Signale der vom Rotamereneffekt betroffenen Protonen gefunden werden. Zwar erscheinen die meisten davon als breite „Singulets“ bzw. undifferenzierte Multipletts, jedoch ist die Zuordnung dieser zu den Rotationsisomeren (*E/Z*-Form) durch Vergleich der Integrale möglich. Eine Bestätigung erfolgte durch ^1H , ^1H -COSY-Spektren, Betrachtung der chemischen Verschiebung und der Berücksichtigung austauschbarer NH-Protonen bei den sekundären Amid-Derivaten (**10–12**). In den ^1H -NMR-Spektren der tertiären Amide (**13** und **14**) konnten die doppelten Signale der vom Rotamereneffekt betroffenen 1,4-Dihydropyridin-Protonen differenzierter dargestellt werden. Die vormals in den Spektren der zugehörigen Nicotinsäureamide (**6** und **7**) zweifach vorkommenden Signale der Alkylprotonen (Kapitel 4.1.2.2.1) überlagern sich allerdings und führen zu breiten, unscharfen Signalen (Abbildung 45; a,a'-H, b,b'-H, c,c'-H).

4.1.2.2.3 3-Carbonylamid-Zielstrukturen aus *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen

Edukt	Produkt 1 (Ausbeute)	Produkt 2 (Ausbeute)	R ₁	R ₂	Reaktionsdauer
10	35 (1,3 %)	73 (62 %)	H	Pr	7 d
11	37 (5,1 %)	74 (45 %)	H	Ph	10 d
12	38 (2,7 %)	75 (43 %)	H	Bz	14 d
13	39 (1 %)	76 (47 %)	Et	Et	14 d
14	40 (3,1 %)	77 (51 %)	Pr	Pr	14 d

Abbildung 46: Darstellung 3-Carbonylamid-substituierter 1-Aza-9-oxafluorene aus *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridinen

Die 3-Carbonylamid-substituierten Zielstrukturen (**35**, **37** – **40**) wurden wie in Kapitel 4.1.1.4 beschrieben mit *p*-Benzochinon im Perchlorsäure/Dioxan-Gemisch bei Raumtemperatur zu den entsprechenden 1-Aza-9-oxafluorenen umgesetzt. Außer bei Verbindung **37** mussten zur vollständigen Oxidation der Tetrahydro-Intermediate jeweils 1/3 der Ausgangsmenge *p*-Benzochinon zugegeben werden. Nach 7 bis 14 Tagen wurden die gebildeten Produktgemische aufgearbeitet und säulenchromatographisch isoliert. Bei allen Umsetzungen überwog die Oxidation der 1,4-Dihydropyridine, wobei die 4-Phenylderivate **73** – **77** zu 44 % bis 67 % gewonnen werden konnten. Nur in kleiner Menge (1 – 5,1 %) wurden die gewünschten Zielverbindungen erhalten. Auf den DCs wurden, ähnlich der Umsetzung von **8** mit *p*-Chinonen, mehrere fluoreszenz-löschende und bläulich fluoreszierende *spots* detektiert, die aber ebenfalls säulenchromatographisch nicht vollständig auftrennbar waren und folglich in ihrer Identität nicht aufgeklärt werden konnten. Die durch Aminolyse der 3-Ethylesterfunktion in Verbindung **27** nicht zugänglichen Zielstrukturen **37**, **39** und **40** konnten über diesen Weg zu 5,1 %, 1 % sowie 3,1 % Ausbeute erhalten werden.

Die Darstellung der 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonylamid-Funktion ist über diesen alternativen Syntheseweg realisierbar, jedoch ist ein Vergleich beider Methoden im Rahmen dieser Arbeit nur für die Verbindungen **35** und **38** möglich. Bei der Betrachtung der Gesamtausbeuten von ca. 2,4 % (**35**) und 1 % (**38**) bei der Aminolyse-Strategie, ausgehend vom Ethylnicotinat, im Vergleich zu ca. 1,6 % (**35**) und 0,7 % (**38**) bei der Synthese in 3 Stufen, ausgehend von der Nicotinsäure, ist kein bemerkenswerter Unterschied festzustellen. Allerdings sind die Darstellungen über die 3-Stufen-Synthese (Netto-Reaktionszeit: ca. 7,5 Tage (**35**) und ca. 14,5 Tage (**38**)) deutlich schneller realisierbar als über den Aminolyse-Weg (86 Tage (**35**)).

und 156 Tage (**38**)) ohne ein Mehr an Arbeitsaufwand. Für zukünftige weiterführende Arbeiten kann diese Alternative genutzt werden, um auch hier durch Verwendung unterschiedlich substituierter *para*-Chinone 3-Amid-Derivate mit Substituenten am Grundgerüst zu erhalten.

4.1.2.3 Strukturabsicherung der 3-Carbonylamid-Zielverbindungen

Die charakteristischen Signale des Grundgerüsts der 4-Phenyl-substituierten 1-Aza-9-oxafluorene sowie des austauschbaren 6-Hydroxy-Protons wurden auch in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der 3-Carbonylamid-substituierten Derivate wiedergefunden (Kapitel 4.1.1.4).

In den sekundären Amiden (**34**, **35**, **36** und **38**) ist mit dem NH-Proton ein weiterer austauschbarer Wasserstoffkern im Molekül vorhanden, welcher mit vicinalen CH-Protonen des Alkyl- bzw. Benzylrestes koppeln kann. Die Kopplungskonstanten konnten im Bereich $^3J = 5,3 - 6,5 \text{ Hz}$ bestimmt werden und entsprechen literaturbekannten Angaben¹⁹⁰. Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der tertiären Amide (**39** und **40**) weisen lösungsmittelabhängig weiterhin breite, teilweise doppelte und wenig differenzierte Signale für die Alkylprotonen auf. Die eingeschränkte freie Drehbarkeit der N-C-Bindung im 3-Carbonylamid-Rest führt je nach Bindungsarm und Orientierung zur Carbonylfunktion zu unterschiedlichem Verhalten im Magnetfeld, jedoch lässt mit steigender Entfernung zur Amid-Gruppe dieser Einfluss nach und die Signale überlagern sich. Die Abbildung 47 zeigt beispielhaft das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 1-Aza-9-oxafluorens **40** mit 3-Dipropylamid-Rest.

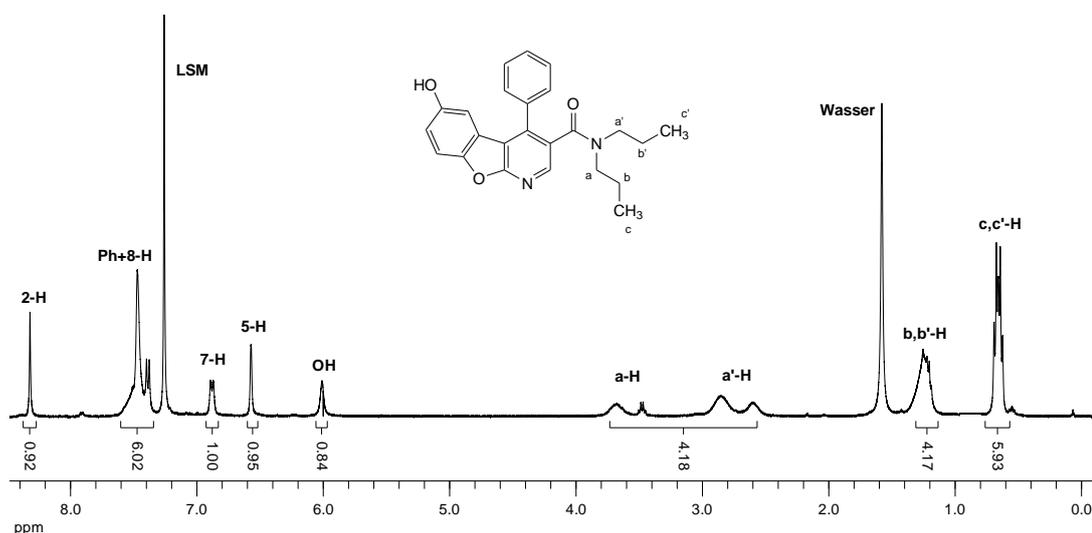


Abbildung 47: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **40** in CDCl_3 (400 MHz)

Die Protonen der Methylengruppe a' des zu C=O Z-ständig angeordneten Propylrestes werden aufgrund der magnetischen Anisotropie der Carbonylgruppe abgeschirmt (Hochfeldverschiebung des Signals). Die Protonen der C=O abgewandten Methylengruppe a (*E*-ständiger Propylrest) sind hingegen entschirmt (Tiefeldverschiebung). Die geminalen Protonen erfahren ebenfalls verschiedene Beeinflussung, wodurch sich die Signale a-H und a'-H jeweils noch einmal aufspalten. Je größer der Abstand zur Carbonylgruppe ist, desto mehr wird dieser Einfluss vermindert, die Signale überlagern sich und führen zu undifferenzierten breiten Multipletts (b,b'-H und c,c'-H).

4.2 Ergebnisse des Kinaseinhibitionsassays (I)

In Zusammenarbeit mit der ProQinase GmbH (Freiburg im Breisgau) wurde ein Großteil der dargestellten Zielverbindungen auf ihre kinaseinhibitorische Wirkung untersucht. Zur Anwendung kam der dort entwickelte radiometrische ³³PanQinase[®] Assay. In diesem kann die Aktivität einer Kinase bestimmt werden, in dem ein Peptidsubstrat mit der zu untersuchenden Kinase in Anwesenheit von [γ -³³P]-ATP als Phosphat-Donator inkubiert wird und mithilfe eines Szintillationszählers das gebundene radioaktive ³³P-Phosphat (³³P_i) im Substrat quantifiziert wird. Zur Bestimmung der inhibitorischen Aktivität an der Kinase wird der Assay in Gegenwart der zu untersuchenden Verbindungen durchgeführt. Für jede Testsubstanz wurden 10 unterschiedliche Konzentrationen im Bereich von 3 nM bis 0,1 mM und zwei Kontrollwerte - Abwesenheit der zu testenden Verbindung (*high control*) und ohne Kinase (*low control*) - vermessen. Im Anschluss wurde für jede Konzentration die erfasste prozentuale Restaktivität des Enzyms nach Gleichung 1 berechnet.

$$\text{prozentuale Restaktivität} = \frac{\text{Messwert} - \text{low control}}{\text{high control} - \text{low control}} \times 100$$

Gleichung 1: Berechnung der prozentualen Restaktivität

In einem Diagramm wurden die zehn für eine Verbindung erhaltenen Restaktivitätswerte gegen die Konzentration dieser aufgetragen und aus der resultierenden sigmoidalen Kurve mithilfe der Software *Workflow* (Quattro Research GmbH) der IC₅₀-Wert bestimmt. Der IC₅₀-Wert gibt die Konzentration einer Substanz an, bei der eine 50%ige Hemmung des Enzyms erreicht wird und wird als Maß für die Stärke der inhibitorischen Wirkung angesehen.

Die Messungen wurden an den folgenden Kinasen CDK1/B, CDK2/E, CDK4/D, CDK5/p25, GSK-3 β , ERK2, JNK3 und p38- γ durchgeführt, wobei die Bestimmung der IC₅₀-Werte als Doppelbestimmung erfolgte.

Da die IC₅₀-Werte stark von den Versuchsbedingungen, wie z. B. der verwendeten Substratkonzentration und Herkunft der Kinasen, abhängen und daher keine Absolutwerte darstellen, ist ein Vergleich der IC₅₀-Werte zur Beurteilung der Wirkstärke streng genommen nur mithilfe von *in vitro*-Bioassays unter denselben Versuchsbedingungen möglich¹¹⁹. Da aber verschiedene Testsysteme mit zumeist unterschiedlichen ATP-Konzentrationen (0,1 – 40 μ M) im Einsatz sind und eine Übertragung auf *in vivo*-Daten (ATP-Konzentrationen im unteren mM Bereich) möglich sein sollte, wird die Affinitätskonstante (K_i -Wert), eine von der Substratkonzentration unabhängige Größe, zur Beschreibung der inhibitorischen Potenz verwendet. Anhand der Gleichung 2 wurden aus den ermittelten IC₅₀-Werten entsprechende K_i -Werte berechnet^{192, 193}. Voraussetzung für die Anwendbarkeit ist ein kompetitiver Hemm-

mechanismus, welcher für das 3-Benzyloxy-substituierte 1-Aza-9-oxafluoren **20** bestätigt wurde¹⁷², und die enzymkinetische Bestimmung der Michaelis-Menten-Konstante K_m .

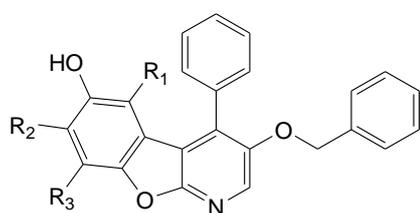
$$K_i = \frac{IC_{50} - \frac{1}{2} \times [E_{total}]}{1 + \frac{[S]}{K_m}}$$

Gleichung 2: K_i -Wert-Berechnung

$[E_{total}]$... aktive Enzymkonzentration gesamt

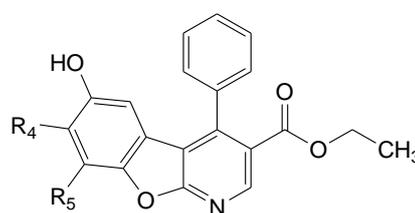
$[S]$... Substratkonzentration

Alle angegebenen K_i -Werte stellen arithmetische Mittelwerte der bestimmten Einzelwerte einer Verbindung dar und wurden um die absolute Abweichung vom Mittelwert ergänzt. Im Experimentellen Teil sind die IC_{50} -Einzelwerte tabellarisch aufgeführt.



I

Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃
20	H	H	H
21	H	Me	H
22	H	OMe	H
23	OMe	OMe	H
24	H	Benzo-anelliert	



II

Verbindung	R ₄	R ₅
27	H	H
28a	Me	H
28b	H	Me
30b	H	Br
31	Benzo-anelliert	
32	Benzo-anelliert + 7-OMe	
33	Benzo-anelliert + 7,10-DiOMe	

Tabelle 7: K_i -Werte der im ³³PanQinase[®] Assay untersuchten 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Benzyloxy- bzw. 3-Ethylesterfunktion

	K_i -Werte [μ M]								
	CDK1/B	CDK2/E	CDK4/D	CDK5/p25	GSK-3 β	ERK2	JNK3	p38- γ	
I	20 [*]	2,3 \pm 0,3	6,4 \pm 0,2	36,6 \pm 8,3	n.a.	5,8 \pm 1,2	n.b.	n.b.	n.b.
	21	1,3 \pm 0,2	n.b.	n.b.	25,3 \pm 10,1	5,8 \pm 1,2	9,4 \pm 0,1	0,31 \pm 0,11	11,1 \pm 0,2
	22	1,9 \pm 0,4	n.b.	n.b.	13,8 \pm 1,4	n.a.	15,4 \pm 0,07	0,17 \pm 0,02	n.a.
	23	0,24 \pm 0,04	n.b.	n.b.	13,5 \pm 7,9	5,4 \pm 3,3	2,6 \pm 0,2	0,76 \pm 0,27	2,1 \pm 0,08
	24	0,088 \pm 0,01	n.b.	n.b.	2,1 \pm 0,2	1,6 \pm 0,2	1,5 \pm 0,07	0,67 \pm 0,06	1,2 \pm 0,09
II	27	n.a.	n.a.	44,5 \pm 3,7	14,4 \pm 1,2	n.a.	222 \pm 48,0	2,5 \pm 0,2	8,9 \pm 0,3
	28a	12,2 \pm 0,3	n.a.	67,6 \pm 7,1	n.a.	n.a.	n.a.	6,8 \pm 3,0	n.a.
	28b	1,8 \pm 0,2	9,1 \pm 0,2	36,8 \pm 4,3	12,8 \pm 0,9	n.a.	5,9 \pm 0,1	0,41 \pm 0,07	8,4 \pm 0,5
	30b	n.a.	n.a.	69,7 \pm 5,5	n.a.	n.a.	17,5 \pm 0,2	1,8 \pm 0,3	n.a.
	31	0,6 \pm 0,05	9,3 \pm 0,9	18,5 \pm 2,0	11,2 \pm 0,2	4,4 \pm 0,1	4,2 \pm 0,4	0,48 \pm 0,02	4,5 \pm 0,4
	32	1,7 \pm 0,4	11,0 \pm 0,2	85,9 \pm 56,3	47,6 \pm 31,4	4,8 \pm 3,5	17,7 \pm 7,2	1,2 \pm 0,3	70,1 \pm 65,1
	33	7,6 \pm 1,3	11,0 \pm 0,7	82,2 \pm 17,3	n.a.	n.a.	30,8 \pm 13,2	0,9 \pm 0,03	n.a.

^{*}Werte aus Literatur¹⁷⁴; n.a.: nicht aktiv ($K_i > 1000 \mu$ M); n.b.: nicht bestimmt

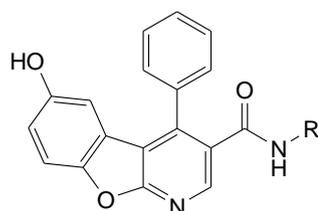
Die Verbindung **20**, ein R_{1/2/3}-unsubstituiertes Derivat mit 3-Benzoyloxyfunktion, besitzt mikromolekulare Affinität zur CDK1/B, CDK2/E und GSK-3 β sowie schwächere Wirkung an der CDK4/D. Mit Einführung einer Methylgruppe an Pos. 7 des trizyklischen Grundkörpers (**21**) wird eine Hemmung der CDK5/p25 ($K_i = 25,3 \pm 10,1 \mu\text{M}$) beobachtet, ohne die Affinität zur GSK-3 β bzw. kaum die Aktivität an der CDK1/B zu beeinflussen. Wird der Methylrest gegen eine Methoxygruppe (**22**) ausgetauscht, steigt die inhibitorische Aktivität an der CDK5/p25 leicht an ($K_i = 13,8 \pm 1,4 \mu\text{M}$) und resultiert im Wirkungsverlust an der GSK-3 β . Eine zweite Methoxy-Funktion im Molekül an Pos. 5 (**23**) führt bei ähnlicher Wirkung an der CDK5/p25 zu einer Verschiebung der Affinitätskonstante K_i für die CDK1/B in den submikromolaren Bereich und wiederum zu einer GSK-3 β -Hemmung ($K_i = 5,4 \pm 3,3 \mu\text{M}$). Die Verbesserung der inhibitorischen Wirkung an der CDK1/B und CDK5/p25 kann zum einen aufgrund sterischer Effekte, zum anderen durch begünstigte hydrophobe Interaktionen mit dem Protein-Rückgrat der ATP-Bindungstasche resultieren. Die Verbindung **24** untermauert diese Vermutung, denn das benzoanellierte Derivat zeigt die stärkste Affinität zur CDK1/B ($K_i = 0,088 \pm 0,01 \mu\text{M}$) bei ebenfalls signifikant verbesserter Wirkung an der CDK5/p25. Diese Struktur-Modifizierung bewirkt zusätzlich eine verbesserte Hemmung der GSK-3 β um den Faktor 3.

Bei den MAP-Kinasen ERK2 und p38- γ wird, mit steigendem Substitutionsgrad durch hydrophobe Substituenten in den Azaoxafluoren-Grundstrukturen, bei den Verbindungen **21**, **23** und **24** eine Verbesserung der moderaten inhibitorischen Aktivität durch Verringerung der K_i -Werte beobachtet. Die Struktur **22** bildet eine Ausnahme, denn hier führt die als Wasserstoffbrückenakzeptor fungierende Methoxygruppe an Pos. 7 zum Wirkverlust an der p38- γ bei ebenso verminderter Affinität zur ERK2. Die JNK3 inhibieren alle Verbindungen (**21** – **24**) in submikromolaren Konzentrationen, davon Substanz **22** mit $K_i = 0,17 \pm 0,02 \mu\text{M}$.

Die Einführung der 3-Ethylesterfunktion in das Molekül führt beim R_{4/5}-unsubstituierten Derivat **27** im Vergleich zu dem analogen 3-Benzoyloxy-Derivat **20** zum Wirkverlust an der CDK1/B, CDK2/E und GSK-3 β sowie zu abgeschwächter Affinität zur CDK4/D und CDK5/p25. Die JNK3 und die p38- γ werden im einstellig mikromolaren Konzentrationsbereich inhibiert. Der in das Molekül eingebrachte 7-Methylsubstituent (**28a**) verschiebt das Hemmmuster weg von der CDK5/p25 hin zur CDK1/B bei ähnlicher Aktivität an der CDK4/D. Zudem wird unter den getesteten MAP-Kinasen ausschließlich die JNK3 ($K_i = 6,8 \pm 3,0 \mu\text{M}$) gehemmt. Im Vergleich von **21** mit **28a** ist das 3-Benzoyloxy-substituierte Derivat **21** der potentere Multikinaseinhibitor, **28a** ist dafür ein JNK3- und CDK1/B-dualselektiver Inhibitor. Bei dem Stellungsisomer **28b** (Methylgruppe an Pos. 8) wird das Hemmmuster, abgesehen von der Inaktivität an der GSK-3 β , auf alle getesteten Kinasen erweitert und die inhibitorische

Wirkung zudem gesteigert. Hieraus ist ableitbar, dass die durch den 8-Methylsubstituenten vermittelte hydrophobe Wechselwirkung mit dem Protein-Rückgrat der *hinge*-Region der CDK- sowie der MAP-K-Familie stärker ausgeprägt ist und eine Verschiebung (**28a**) oder ein Ausbleiben (**27**) dieser Interaktionsmöglichkeit zur Abschwächung bzw. zum Wirkverlust bei Mitgliedern dieser Enzymfamilie führt. Der Austausch der Methylgruppe gegen einen Brom-Substituenten an Pos. 8 (**30b**) führt zur deutlichen Verringerung der inhibitorischen Wirkung bis hin zum Aktivitätsverlust an den meisten Kinasen. Nur die JNK3 ($K_i = 1,8 \pm 0,3 \mu\text{M}$) und ERK2 ($K_i = 17,5 \pm 0,2 \mu\text{M}$) werden nennenswert gehemmt. Ein voluminöser, potentieller Wasserstoffbrückenakzeptor scheint an dieser Stelle unpassend zu sein. Mit dem zweiten Vertreter der tetrazyklischen Azaoxafluorene, der Verbindung **31**, resultierte ein potenter Multikinaseinhibitor mit erhöhter Affinität zur CDK1/B und JNK3, deren K_i -Werte in höheren nanomolaren Bereichen ($K_i = 0,6 \pm 0,05 \mu\text{M}$ bzw. $K_i = 0,48 \pm 0,02 \mu\text{M}$) liegen. Von den getesteten Zielverbindungen mit 3-Ethylesterfunktion ist **31** zudem die erste Substanz mit mikromolarer inhibitorischer Wirkung an der GSK-3 β ($K_i = 4,4 \pm 0,1 \mu\text{M}$). Das ist insofern bemerkenswert, da die Derivate mit 7- bzw. 8-Methylsubstituenten (**28a** bzw. **28b**), welche ebenfalls Potential zum Ausbilden hydrophober Wechselwirkungen besitzen, an der GSK-3 β nicht aktiv sind. Zur Überprüfung inwiefern weitere Affinitätssteigerungen des 3-Ethylester-substituierten Tetrazyklus möglich sind, wurde ein Wasserstoffbrückenakzeptor in Form einer Methoxygruppe am anellierten Benzolring an Pos. 7 eingebracht (**32**), wobei ähnliche Wirkungen an der CDK2/E und der GSK-3 β erzielt werden, währenddessen die Affinität zu den anderen Kinasen jedoch sank. Eine zweite Methoxygruppe an Pos. 10 (**33**) führte im Vergleich zu dem mono-methoxylierten Derivat bei ähnlicher Affinität an den CDKs 2/E, 4/D sowie an der JNK3 zum Wirkverlust an der CDK5/p25, GSK-3 β und p38- γ . Die vorteilhafte hydrophobe Wechselwirkung des anellierten Benzolringes mit den Aminosäuren des Protein-Rückgrats der meisten Kinasen wird anscheinend durch die Methoxy-Substituenten gestört. Die Gegenüberstellung der Verbindungen **24** und **31** mit den trizyklischen Derivaten zeigt, dass diese aufgrund des voluminöseren Molekülbaus und der Möglichkeit intensiver hydrophober Wechselwirkungen mit dem Protein-*backbone* generell potentere Inhibitoren mit kleineren K_i -Werten an den getesteten Kinasen darstellen. Der Vergleich von **24** mit **31** zeigt, dass erstere generell affiner an der CDK1/B (7-mal), CDK5/p25 (5-mal) und GSK-3 β (2,5-mal) sowie um den Faktor 2 aktiver an den MAP-K mit Ausnahme der JNK3 ist. Möglicherweise erhöht der elektronenschiebende Effekt der 3-Benzylxyfunktion die Basizität (Ladungsdichte) im Stickstoffatom und begünstigt damit die Ausbildung der essentiellen Wasserstoffbrücke mit dem Rückgrat-NH von Leu83 (CDK1), Cys83 (CDK5/p25) bzw. Val135 (GSK-3 β). Im Gegensatz dazu hat die 3-Ethylesterfunktion

elektronenziehende Eigenschaften, wodurch die ausgebildete Bindung zum Protein schwächer sein kann. Dieser Effekt wird bei Betrachtung der beiden 7-Methyl-substituierten Derivate **21** und **28a** sowie der unsubstituierten Verbindungen **20** und **27** (mit Ausnahme der CDK5/p25 und der MAP-K (n.b. für **20**)) bestätigt.



Verbindung	R
BJ69	H
BJ68	Me
34	Et
35	Pr
36	EtNH ₂
38	Bz

Tabelle 8: K_i -Werte der im ³³PanQinase[®] Assay untersuchten 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonylamid-Funktion

	K_i -Werte [μ M]							
	CDK1/B	CDK2/E	CDK4/D	CDK5/p25	GSK-3 β	ERK2	JNK3	p38- γ
BJ69 [*]	n.a.	n.a.	462 \pm 130	293 \pm 17,0	4,1 \pm 0,4	n.b.	n.b.	n.b.
BJ68	n.a.	n.b.	n.b.	n.a.	9,0 \pm 0,3	n.a.	57,3 \pm 5,6	1,0 \pm 0,3
34	2,1 \pm 0,5	n.b.	n.b.	17,0 \pm 0,8	n.b. ^{Lösl.}	16,2 \pm 0,5	157 \pm 18,2	13,2 \pm 8,1
35	1,7 \pm 0,3	n.b.	n.b.	14,6 \pm 0,4	4,4 \pm 0,3	18,9 \pm 4,1	10,3 \pm 7,0	7,1 \pm 0,7
36	2,0 \pm 0,4	n.b.	n.b.	12,9 \pm 0,6	4,8 \pm 0,2	14,8 \pm 0,6	1,4 \pm 0,1	9,9 \pm 1,2
38	1,5 \pm 0,1	n.a.	56,2 \pm 1,1	182 \pm 4,9	n.a.	6,6 \pm 1,0	0,9 \pm 0,03	7,4 \pm 0,3

^{*}Werte aus Literatur¹⁷⁴; n.a.: nicht aktiv ($K_i > 1000 \mu$ M); n.b.: nicht bestimmt/bestimmbar; ^{Lösl.}Löslichkeitsprobleme

Eines der ersten 3-Carbonylamid-substituierten 1-Aza-9-oxafluorene (**BJ69**) wurde in einem fünf Kinasen umfassenden Assay als ein GSK-3 β -selektiver Inhibitor ($K_i = 4,1 \pm 0,4 \mu$ M) mit SQ-Werten > 71 gegenüber den CDKs 5/p25 und 4/D identifiziert¹⁷⁴. Nun wurden neue sekundäre Amid-Derivate auf ihre inhibitorische Aktivität untersucht. Das *N*-Methylamid (**BJ68**) ist in einstellig mikromolaren Konzentrationen an der GSK-3 β und der p38- γ sowie schwächer an der JNK3 inhibitorisch wirksam. Die Verlängerung des Alkylrestes um ein bzw. zwei Methylengruppen (**34** bzw. **35**) bewirkt eine Erweiterung des Wirkspektrums auf alle getesteten Kinasen, wobei überraschend stark eine Hemmung an der CDK1/B ($K_i = 2,1 \pm 0,5 \mu$ M bzw. $1,7 \pm 0,3 \mu$ M) beobachtet wurde. Mit Ausnahme der JNK3 und der GSK-3 β wurden bei den zwei letztgenannten Verbindungen ähnliche Affinitätskonstanten an den Kinasen ermittelt. Ein ähnliches Hemmprofil weist im Vergleich mit **35** das Aminoethylamid **36** auf. Bis auf eine leichte Verbesserung an der JNK3 ($K_i = 1,4 \pm 0,1 \mu$ M) konnte keine Veränderung der Wirkung beobachtet werden. Diese Verbindung ist insofern interessant, da durch die endständige Aminofunktion die Wasserlöslichkeit verbessert wurde, ohne Einschnitte in der Aktivität zu bewirken. Das *N*-Benzylcarbonylamid **38** besitzt unter den Amid-Derivaten mit die beste

inhibitorische Wirkung an allen drei MAP-Kinasen sowie der CDK1/B ($K_i = 1,5 \pm 0,1 \mu\text{M}$) und bestärkt in diesem Fall die Wichtigkeit sterischer Effekte und hydrophober Interaktionen mit den Enzymen, vermittelt durch größere Reste an Pos. 3 der Azaoxafluorene. Allerdings geht diese Verbesserung mit einer deutlichen Aktivitätsminderung an der CDK5/p25 ($K_i = 182 \pm 4,9 \mu\text{M}$) und mit Wirkverlust an der GSK-3 β einher.

Schon geringe strukturelle Variationen im Molekül führen zu Veränderungen im Selektivitätsprofil, daher sind allgemeine Tendenzen zur Entwicklung der inhibitorischen Aktivität gegenüber einzelner Kinasen in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster kaum ableitbar. Jedoch lassen sich aus den Ergebnissen der ersten Testung einige allgemeine gruppenspezifische Aussagen zusammenfassen.

Derivate mit 3-Benzoyloxyfunktion stellen etwas potentere Inhibitoren dar als die Vertreter mit 3-Ethylester- bzw. 3-Carbonylamid-Rest. Außerdem sind alle neuen Verbindungen an der JNK3 in (sub)mikromolaren Konzentrationen wirksam. Die 1-Aza-11-oxafluorene ohne Substituenten am anellierten Benzolring sind die wirksamsten Multikinaseinhibitoren.

Gruppe der 3-Benzoyloxy-Derivate

Die Verbindungen sind alle gute bis sehr gute Inhibitoren der JNK3, mit K_i -Werten zwischen $0,17 \pm 0,02 \mu\text{M}$ (**22**) und $0,76 \pm 0,27 \mu\text{M}$ (**23**) und der CDK1/B, mit K_i -Werten zwischen $0,088 \pm 0,01 \mu\text{M}$ (**24**) und $2,3 \pm 0,3 \mu\text{M}$ (**20**). Die Vergrößerung des Azaoxafluoren-Grundgerüsts durch Substituenten mit steigendem Volumen führt zu einer Verstärkung der inhibitorischen Wirkung an den getesteten Vertretern der CDK-Familie. Mit Ausnahme der Struktur **22** gilt dies ebenso für die GSK-3 β , die ERK2 und die p38- γ . Die Verbindung mit einer Methoxygruppe an Pos. 7 (**22**) ist JNK3-selektiv ($K_i = 0,17 \pm 0,02 \mu\text{M}$) und das Dimethoxy-substituierte (**23**) sowie benzoanellierte Derivat (**24**) sind die potentesten Multikinaseinhibitoren AD-relevanter Kinasen mit erhöhter CDK1/B-Präferenz (K_i -Werten in nanomolaren Konzentrationen).

Gruppe der 3-Ethylester-Derivate

Alle Verbindungen sind gute Inhibitoren der JNK3, mit K_i -Werten zwischen $0,41 \pm 0,07 \mu\text{M}$ (**28b**) und $6,8 \pm 3,0 \mu\text{M}$ (**28a**). Mit steigender Größe des Substituenten am Grundgerüst und der Lage einer Methylgruppe an Pos. 8 statt 7 kann eine Erhöhung der Hemmwirkung am getesteten Kinasespektrum beobachtet werden (Ausnahme **30b**). Sobald sich zusätzliche Substituenten am anellierten Benzolring, in Form eines 7-Methoxy- (**32**) bzw. 7,10-Dimethoxy-Restes (**33**), befinden, verringert sich die Wirksamkeit der Verbindungen. Voraussetzung der GSK-3 β -Hemmung ist ein tetrazyklischer Grundkörper (**31**) ggf. mit zusätzlicher 7-Methoxy-Funktion (**32**). Die Verbindungen **28a** und **30b** sind selektive Inhibitoren der JNK3

und CDK1/B bzw. der JNK3. Desweiteren wurde mit dem 1-Aza-11-oxafluoren **31** auch in dieser Gruppe ein potenter Multikinaseinhibitor identifiziert.

Gruppe der 3-Amid-Derivate

Eine Verlängerung bzw. Vergrößerung der Amidreste an Pos. 3 der neu synthetisierten 1-Aza-9-oxafluorene führt an allen getesteten Kinasen zu einer Steigerung der inhibitorischen Wirkung. Eine Ausnahme bildet die Verbindung **38** an der CDK5/p25 und an der GSK-3 β . Das Derivat **BJ68** konnte als moderater, selektiver Inhibitor der p38- γ ($K_i = 1,0 \pm 0,3 \mu\text{M}$) mit Selektivitätsindex $\text{SQ} > 9$ gegenüber der GSK-3 β und $\text{SQ} > 57$ gegenüber der JNK3 identifiziert werden. Die Verbindung **38** ist ein Hemmer der CDK1/B und JNK3 und das Aminoethylamid **36** stellt sich als potentester Multikinaseinhibitor dieser Gruppe dar.

4.3 Zwischenfazit

Im ersten Teil der Arbeit ist es gelungen mittels der "Ein-Topf-Reaktion" nach *Voigt* erstmalig an Pos. 5, 7 bzw. 8 substituierte 6-Hydroxy-4-phenyl-1-aza-9-oxafluorene darzustellen sowie tetrazyklische Grundkörper zu erhalten. Ebenso konnten Strukturvariationen am anellierten Benzolring der 1-Aza-11-oxafluorene vorgenommen werden. Darüber hinaus stellt dieser Syntheseweg eine interessante Alternativroute dar 3-Carbonylamid-substituierte Derivate zu gewinnen. Auf der einen Seite konnten damit Zielverbindungen, die durch Aminolyse der Ethylester-Ausgangsverbindung **27** nicht erfolgreich realisierbar waren, synthetisiert werden. Auf der anderen Seite erfolgte die Darstellung von 3-Amid-substituierten 1-Aza-9-oxafluoren in kürzeren Reaktionszeiten. Dies kann in zukünftigen Arbeiten auch als Arbeitsgrundlage für weiterführende Strukturvariationen dienen.

In dem ³³PanQinase[®] Assay der ProQinase GmbH konnten den Verbindungen vielversprechende inhibitorische Wirkungen an Alzheimer Demenz assoziierten Kinasen nachgewiesen werden. Kleinste strukturelle Veränderungen im Molekül führten zu hoher Diversität im Selektivitätsprofil, wobei sich die 3-Benzyloxy-substituierten Verbindungen als die potenteren Inhibitoren präsentierten. Die 1-Aza-11-oxafluorene ohne Substituenten am anellierten Benzolring (**24** und **31**) gehören zu den am stärksten wirksamen Vertretern. Demnach stellen vermutlich hydrophobe Interaktionen mit den Aminosäuren des Protein-Rückgrats der Kinasen und sterische Effekte wichtige Bindungsmerkmale dar.

4.4 Synthese (II)

4.4.1 Strukturell variierte 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene

Im zweiten Teil der Arbeit sollten an ausgewählten Verbindungen mit tri- und tetrazyklischem Azaoxafluoren-Grundgerüst Strukturoptimierungen vorgenommen werden. Ein Hauptaugenmerk lag hierbei in der Darstellung von Verbindungen mit zwei Alkoholfunktionen, jeweils eine in jeder Längsseite des Moleküls. Außerdem sollten die OH-Gruppen in den 3,6-Dihydroxy-substituierten Verbindungen sowie die 6-Hydroxygruppe der 3-Benzyloxy-Derivate *O*-methyliert werden. Mit diesen Substitutionsmustern lassen sich die Einflüsse von Wasserstoffbrückendonator- bzw. Wasserstoffbrückenakzeptor-Funktionen und von sterischen Effekten auf das Bindungsgeschehen in der ATP-Bindungstasche untersuchen, um auch hier Struktur-Wirkungsbeziehungen ableiten zu können.

Desweiteren sollten Azaoxafluorene mit 3-Fluor- bzw. 4-(2-Methoxyphenyl)-Substituent entstehen. Der Fluor-Rest erhöht die Lipophilie der Verbindung und besitzt im Gegensatz zur Benzyloxygruppe keinen nennenswerten sterischen Effekt. Weiterhin ist in etwa die Größe einer Hydroxygruppe mit der eines Fluor-Restes vergleichbar. Dieser fungiert jedoch nicht als Wasserstoffbrückendonator sondern als -akzeptor. Außerdem lassen sich durch die starke Elektronegativität des Fluors und dessen elektronenziehenden Effekt die vermuteten Einflüsse auf die Basizität des Ring-Stickstoffs und dessen Relevanz bei der Inhibitor-Kinase-Interaktion bestätigen. Die 2-Methoxygruppe im 4-Phenylring agiert zum einen als Wasserstoffbrückenakzeptor und lässt zum anderen hydrophobe Interaktionen im *P-loop* der Enzyme zu. Hier galt es hauptsächlich die mögliche sterische Hinderung zu untersuchen.

4.4.1.1 Synthese der 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierten Azaoxafluoren-Derivate

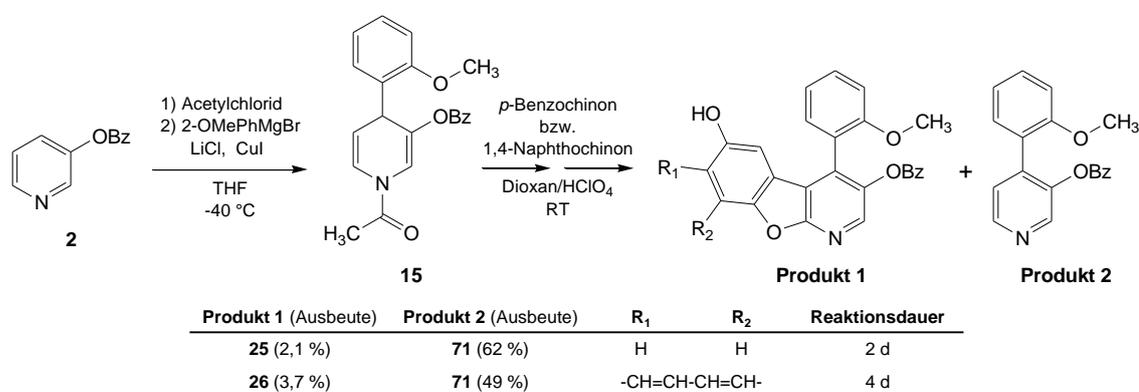


Abbildung 48: Darstellung 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierter 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene

Zur Darstellung der Verbindungen **25** und **26** wurde zunächst das 3-Benzoyloxy-pyridin (**2**), wie in Kapitel 4.1.1.3 beschrieben, mit 2-Methoxyphenylmagnesiumbromid zum *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridin **15** in 74%iger Ausbeute umgesetzt. Diese wiederum oxidationsanfällige Verbindung wurde nachfolgend im Perchlorsäure/Dioxan-Gemisch bei Raumtemperatur sowohl mit *p*-Benzochinon als auch mit 1,4-Naphthochinon zu den entsprechenden Azaoxafluorenen umgesetzt. Beide Reaktionsansätze resultierten als gut säulenchromatographisch zu trennende Gemische aus dem Oxidationsprodukt des 1,4-Dihydropyridins (Verbindung **71**) und den gewünschten Zielverbindungen. Im Ergebnis wurde **25** nach 2 Tagen in 2,1%iger Ausbeute und **26** nach 4 Tagen, wobei zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates 2 Tage nach Reaktionsbeginn 1/3 der Ausgangsmenge 1,4-Naphthochinon zugegeben werden musste, in 3,7%iger Ausbeute erhalten. Die Verwendung des schwächeren Oxidationsmittels 1,4-Naphthochinon resultierte in längerer Reaktionsdauer, etwas besserer Ausbeute an Zielprodukt und verminderter Oxidation des 1,4-Dihydropyridins **15** zu **71** (49 % vs. 62 %).

Waren die Kernresonanzsignale der Protonen des unsubstituierten 4-Phenylrestes im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum durch sich überlagernde Signale als Multipletts charakterisiert, wurden bei dem 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest klare Aufspaltungsmuster erkennbar. Beispielhaft wird dies am $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **25** verdeutlicht (Abbildung 49).

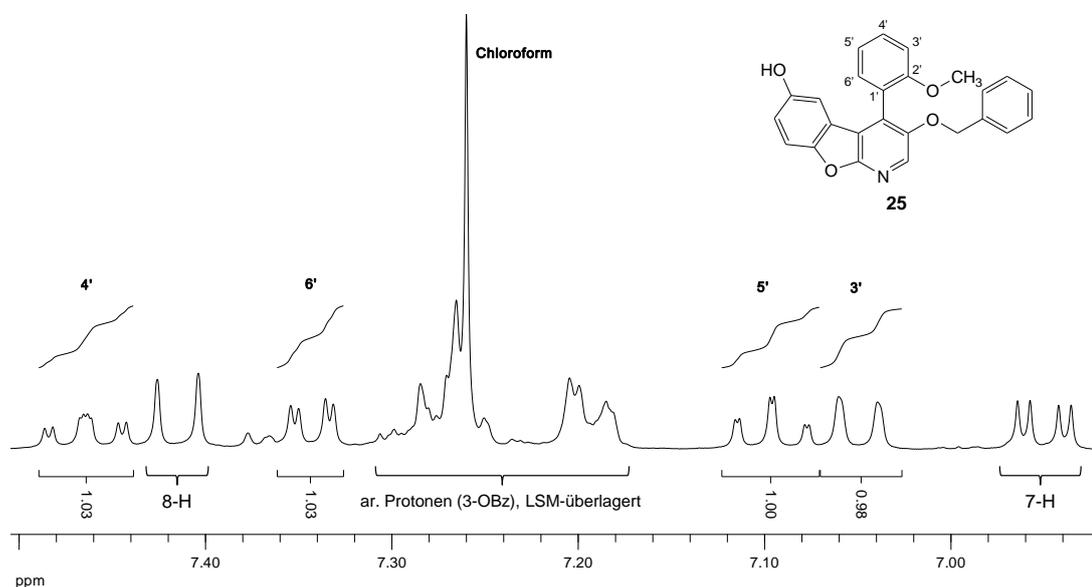


Abbildung 49: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **25** in CDCl_3 (400 MHz)

Die Methoxygruppe, ein Elektronendonator, erhöht im π -System des Aromaten durch mesomere Effekte die Elektronendichte in *ortho*- und *para*-Position, woraus eine Hochfeldverschiebung der Signale der dort gebundenen Protonen resultiert. Das Signal für 3'-H (*ortho*) erscheint bei $\delta = 7,05$ ppm, das für 5'-H (*para*) bei $\delta = 7,10$ ppm und damit bei kleineren ppm-Werten als die

Signale der Protonen in *meta*-Position ($4'$ -H: $\delta = 7,46$ ppm; $6'$ -H: $\delta = 7,34$ ppm). Die Nah- und Fernkopplungen der Protonen konnten die Zuordnungen der Signale bestätigen. So wurden die vicinalen Kopplungskonstanten für $3'/4' = 4'/3'$ zu ${}^3J = 8,3$ Hz, für $4'/5' = 5'/4'$ zu ${}^3J = 7,5$ Hz und für $5'/6' = 6'/5'$ zu ${}^3J = 7,5$ Hz ermittelt sowie die Fernkopplung $4'/6' = 6'/4'$ zu ${}^4J = 1,7$ Hz bestimmt. Die gefundene Fernkopplung für $5'/3'$ zu ${}^4J = 0,9$ Hz aus dem Dublett von Triplets (dt) bei $\delta = 7,10$ ppm des $5'$ -Protons wurde allerdings im Signal des $3'$ -Protons nicht aufgelöst. Erwartungsgemäß erscheint das Signal der chemisch äquivalenten Methoxy-Wasserstoffkerne als ein Singulett mit dem Integral 3 bei $\delta = 3,69$ ppm am weitesten im Hochfeld. Die Resonanzsignale der restlichen Protonen im Molekül entsprechen in etwa der Verschiebung und dem Aufspaltungsmuster der analogen Derivate mit 4-Phenylrest.

4.4.1.2 Synthese der 3-Fluor-substituierten Azaoxafluorene

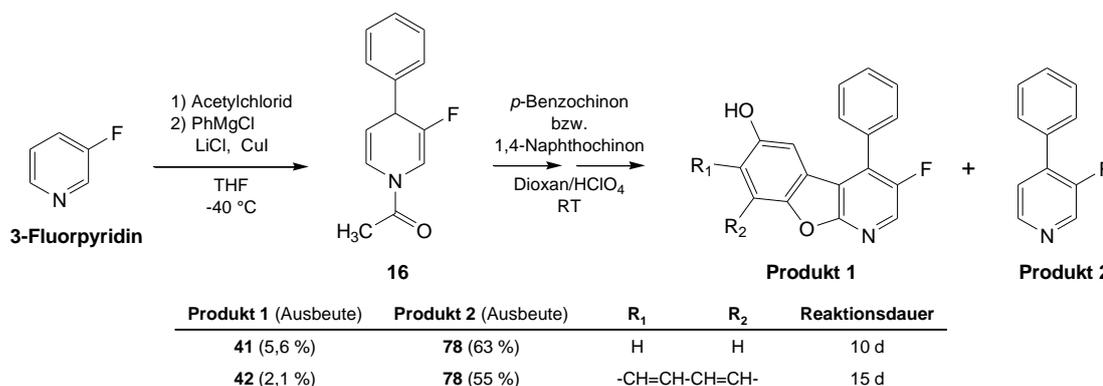


Abbildung 50: Darstellung 3-Fluor-substituierter 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene

Ausgehend von dem kommerziell verfügbaren 3-Fluorpyridin fand auch hier wieder das 2-Stufen-Synthesekonzept Anwendung. Nach *N*-Acetylierung und anschließender Grignard-Addition, unter Verwendung von Phenylmagnesiumchlorid, wurde das 3-Fluor-substituierte *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridin **16** in 61%iger Ausbeute erhalten. Ähnlich dem 3-Ethylester-Derivat **8** ist diese Verbindung stabiler gegenüber Oxidation und bestätigt, dass ein elektronenziehender Substituent stabilisierend auf den 1,4-Dihydropyridin-Ring wirkt.

Anschließend wurde Verbindung **16** nach der „Ein-Topf-Methode“ bei Raumtemperatur im Perchlorsäure/Dioxan-Gemisch jeweils mit *p*-Benzoquinon und 1,4-Naphthoquinon umgesetzt. Notwendigerweise mussten bei beiden Ansätzen zur vollständigen Umsetzung nach 24 Stunden und im Fall des 1-Aza-11-oxafluorens **42** nochmals nach 7 Tagen jeweils 1/3 der Ausgangsmenge des Chinons zugegeben werden. Es resultierten Produktgemische, die sich säulenchromatographisch sehr gut auftrennen ließen, wobei das Oxidationsprodukt des

3-Fluor-substituierten 1,4-Dihydropyridins (Verbindung **78**) in höheren Ausbeuten als die gewünschten Zielprodukte **41** bzw. **42** erhalten wurden.

Fluor kommt neben anderen Isotopen als stabiles ^{19}F -Isotop mit der Spin-Quantenzahl $I = \frac{1}{2}$ und einer natürlichen Häufigkeit von 100 % vor. Damit erfüllt es wesentliche Bedingungen für heteronukleare Spin-Spin-Kopplung in der NMR-Spektroskopie, in diesem Fall speziell die Kopplung mit Wasserstoffkernen. Beispielsweise wurde im ^1H -NMR-Spektrum des 3-Fluor-substituierten 1-Aza-9-oxafluorens **41** für das Proton an Pos. 2 kein Singulett gefunden, sondern ein Dublett mit der Kopplungskonstante $^3J_{2\text{F}} = 2,3 \text{ Hz}$ (Abbildung 51). Diese entspricht Literaturwerten für Kopplungskonstanten substituierter Fluorpyridine¹⁹⁴. Durch die Nachbarschaft zum Pyridin-Stickstoff, mit seinem elektronegativen Effekt und Einfluss auf die Ladungsverschiebung im Pyridinring, resultieren kleine $^3J_{\text{H/F}}$ -Werte, die deutlich geringer sind als beispielsweise die $^3J_{\text{H/F}}$ -Kopplungskonstante in Fluorbenzen ($^3J_{\text{H/F}} = 9,0 \text{ Hz}$ ¹⁹⁰). Im Spektrum von **42** überlagern sich die Signale für das 2- und 10-H, wodurch diese nur als Multiplett charakterisiert werden konnten. Das Auftreten der heteronuklearen Kopplung wurde auch in den ^1H -NMR-Spektren von **16** ($^3J_{2\text{F}} = 2,7 \text{ Hz}$) sowie **78** ($^3J_{2\text{F}} = 2,6 \text{ Hz}$) beobachtet und lässt sich ebenso in den 6-Methoxy-substituierten 3-Fluor-Derivaten (Kapitel 4.4.1.4.2) wiederfinden.

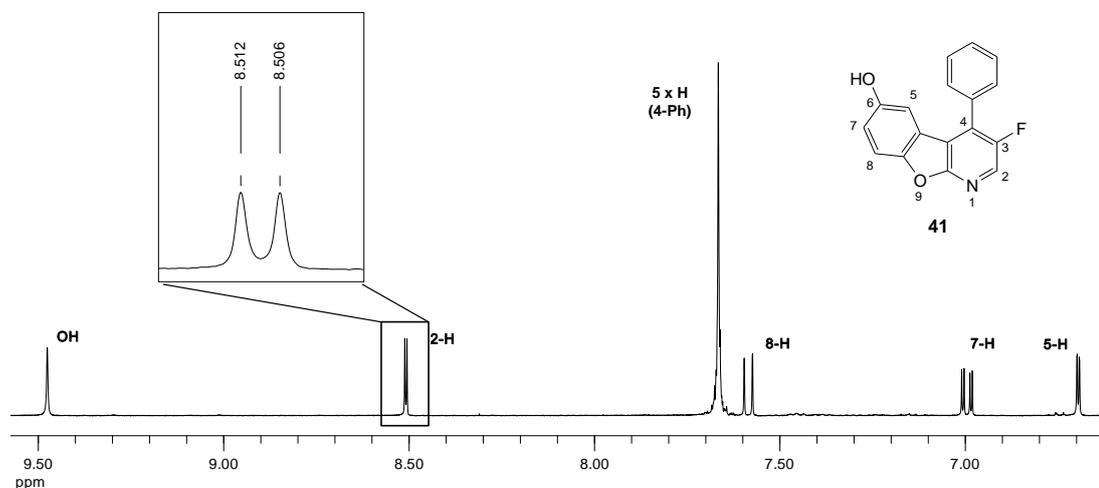


Abbildung 51: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **41** in DMSO- d_6 (400 MHz)

4.4.1.3 3-Hydroxymethyl-Derivate durch Reduktion der 3-Ethylesterfunktion

Um aus den Verbindungen **27** und **31** die gewünschten 3-Hydroxymethyl-substituierten Derivate zu erhalten, sollte die 3-Ethylesterfunktion reduziert werden. Eine geeignete Methode dafür ist die Reduktion mittels komplexer Hydride, z. B. Lithiumaluminiumhydrid, bei der auch kleinste Mengen Edukt unter milden Reaktionsbedingungen zu Produkten in hohen Ausbeuten umgesetzt werden können. Selbst reaktionsträgere Säurecarbonyl-Derivate, wie Ester,

Carbonsäuren und Amide, können so problemlos zu den primären Alkoholen reduziert werden¹⁹⁵ (Abbildung 52).

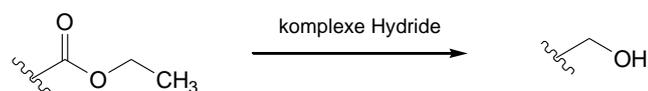


Abbildung 52: Reduktion der Ethylesterfunktion

Die Verbindungen **27** und **31** besitzen jeweils eine phenolische Hydroxygruppe an Pos. 6, wobei das schwach azide Wasserstoffatom einen bevorzugten Angriffspunkt für das Reduktionsmittel darstellt. Folglich könnten die Reaktionen nicht zu den gewünschten Zielverbindungen sondern zu Lithiumaluminiumphenolat-Salzen und molekularem Wasserstoff führen. Daher wurden drei unterschiedliche Strategien (Methode **a**, **b**, **c**, Abbildung 53) verfolgt.

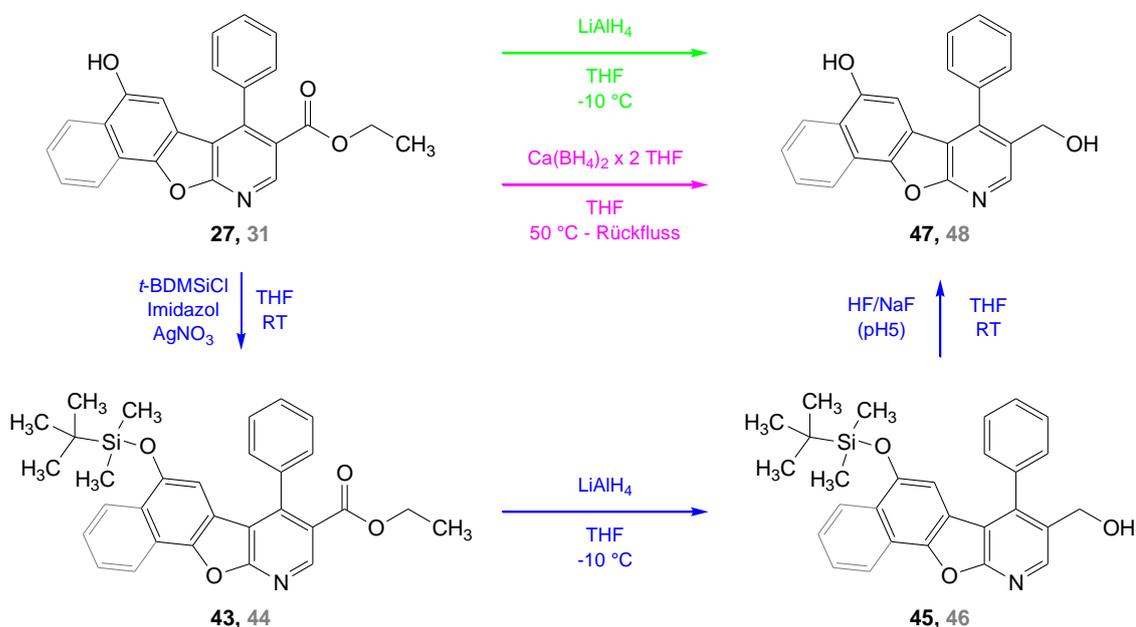


Abbildung 53: Methodenübersicht zur Reduktion der Ethylester-Derivate **27** und **31** (grün = Methode **a**, magenta = Methode **b**, blau = Methode **c**)

- Die Reduktionen sollten in trockenem Tetrahydrofuran bei -10 °C mittels Lithiumaluminiumhydrid durchgeführt werden. Damit kann überprüft werden, ob trotz Anwesenheit einer Hydroxygruppe im Molekül eine Umsetzung möglich ist.
- Die Reduktionen sollten in trockenem Tetrahydrofuran bei 50 °C mittels eines Calciumborhydrid-THF-Komplexes durchgeführt werden. Dieser gilt als milderer und feuchtigkeitsstabilerer Reaktant. Für die Reduktion von Methyl-2-Hydroxybenzoat wurde damit eine 95%ige Ausbeute an 2-Hydroxybenzylalkohol erreicht¹⁹⁶.

Bei *Green & Wuts*¹⁹⁷ sowie *Kocienski*¹⁹⁸ wird die Vielzahl an unterschiedlichen Schutzgruppen in der organischen Chemie ausführlich dargestellt, wobei neben deren Einsatzmöglichkeiten

ebenso die Methoden zur Einführung aber auch zur Entfernung erläutert werden. Am häufigsten werden Ether-, gefolgt von Ester- und Carbonatverbindungen zum Schutz von Alkohol-funktionen in das Molekül eingeführt. Seit den 1970'er Jahren hat sich in der erstgenannten Gruppe ein Trend entwickelt, welcher bis heute anhält: die Verwendung einer Silyl-Ether-Schutzgruppe in verschiedenen Erscheinungsformen.

Zum Schutz der 6-Hydroxygruppe im Azaoxafluoren bietet sich daher die Bildung eines Silyl-Ethers, wie z. B. dem Trimethylsilylether (TMS-Ether) bzw. *t*-Butyldimethylsilylether (TBDMS-Ether), an. Diese beiden werden als stabil gegenüber reaktiven Grignard- und Wittig-Reagenzien sowie als stabil gegenüber Reduktionen mit Lithiumaluminiumhydrid bei tiefen Temperaturen beschrieben. Ferner findet das Entschützen unter milden Reaktionsbedingungen im schwach Sauren, Fluoridionen-katalysiert statt und führt zu Produkten mit hoher Ausbeute. Da die Bildung des TBDMS-Ethers im Vergleich zu dem TMS-Ether unter schonenderen Reaktionsbedingungen stattfindet und das Entschützen ertragreicher ist¹⁹⁷, wurde auf *tert*-Butyldimethylsilylchlorid als „Schutz-Reagenz“ zurückgegriffen.

- c) Zunächst sollte die phenolische Hydroxygruppe an Pos. 6 mittels *tert*-Butyldimethylsilylchlorid geschützt werden. Die resultierenden 6-(*t*-Butyldimethylsilyloxy)-Derivate sollten anschließend bei -10 °C in THF mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert und letztendlich bei Raumtemperatur mithilfe eines HF/NaF-Puffers zur ursprünglichen 6-Hydroxyfunktion entschützt werden.

Umsetzungen nach Methode a

Die Edukte **27** bzw. **31** wurden unter Argon-Atmosphäre jeweils in wasserfreiem THF gelöst und im Kältebad auf -10 °C heruntergekühlt. Dort hinein wurde langsam mithilfe einer Spritze die Lithiumaluminiumhydrid-Lösung gegeben. Die Ansätze verfärbten sich allmählich leicht gelblich und nach 2 Stunden war die Reaktion abgeschlossen. Neben wachsartigen Anhaftungen am Kolbengrund war dünnschichtchromatographisch in den Überständen jeweils nur ein schwacher, blau fluoreszierender *spot* zu erkennen mit deutlich kleinerem R_f-Wert (Laufhöhe relativ zur Lösungsmittelfront) als der Substanzfleck der Ausgangsverbindung (Differenz 0,55 (bei **27**) bzw. 0,73 (bei **31**) in Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)). Es wurde im Sauren aufgearbeitet, wobei sich die Anhaftungen lösten. Nach Extraktion wurden die Lösungen mittels DC nochmals überprüft und in beiden fand sich der *spot* der Ausgangsverbindung wieder. Durch säulenchromatographische Aufreinigung und Kristallisation aus Ether wurden die Zielverbindungen **47** und **48** in 44- bzw. 38%iger Ausbeute erhalten, zusätzlich auch die Edukte zu 39 % (**27**) und 51 % (**31**) zurückgewonnen. Die wachsartigen Anhaftungen, welche im Zuge der Zugabe von Lithiumaluminiumhydrid entstanden, waren vermutlich in THF schlecht

lösliche Lithiumaluminiumphenolat-Salze, die sich dadurch der Umsetzung entziehen konnten und welche durch saure Hydrolyse beim Aufarbeiten zu den Eduktmolekülen, mit wiederum guter Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, sowie Lithium- und Aluminiumhydroxid umgewandelt wurden.

Umsetzungen nach Methode b

Die Verbindungen **27** und **31** wurden jeweils unter Argon-Atmosphäre in trockenem THF gelöst und nach Zugabe von Calciumborhydrid · 2 THF bei 50 °C gerührt. Dünnschichtchromatographisch konnte zwar ein Anlaufen der Reaktionen beobachtet werden, jedoch stoppten die Umsetzungen nach 2 Tagen. Die erneute Zugabe der halben Ausgangsmenge des Reaktanten brachte keine Synthesefortschritte, woraufhin zur Verkürzung der Reaktionszeit für weitere 2 Tage zum Rückfluss erhitzt wurde. In der Folge wurde die Bildung weiterer Produkte detektiert, was dazu führte, dass die Reaktionen abgebrochen und aufgearbeitet wurden. Hydrolyse und Extraktion der Ansätze ergaben Produktgemische, die mittels Säulenchromatographie nicht vollständig zu trennen waren. Die gewünschten Azaoxafluoren-Derivate konnten nicht in wägbaren Mengen isoliert werden. Als Molpeak im ESI-Spektrum konnte allerdings deren Entstehung bestätigt werden. Die Edukte wurden schwach verunreinigt zu 64 % (**27**) und 70 % (**31**) zurückgewonnen.

Umsetzungen nach Methode c

Zum Schützen der 6-Hydroxyfunktion in den Verbindungen **27** bzw. **31** wurden diese jeweils mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und Imidazol (verwendet als Hilfsbase) in THF gelöst und bei Raumtemperatur gerührt¹⁹⁹. Nach 2 Tagen waren die Reaktionen abgeschlossen und die bräunlich gefärbten Ansätze wurden aufgearbeitet. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurden die geschützten Verbindungen **43** (zu 73 %) und **44** (zu 81 %) isoliert und aus Essigester zu weißen Feststoffen umkristallisiert. Zur Verbesserung der Ausbeuten wurden bei der Wiederholung der Reaktionen zusätzlich zu Beginn fein gepulvertes Silbernitrat, welches partiell in THF löslich ist und freiwerdende Chloridionen durch Ausfällung als Silberchlorid aus dem Ansatz entfernt, zugegeben. Dadurch konnte die Dauer beider Reaktionen vermindert und die Ausbeuten verbessert werden. Hiernach resultierten innerhalb von 12 bzw. 9 Stunden bräunliche Lösungen mit weißem Niederschlag (AgCl ↓) und die Umsetzungen waren nahezu quantitativ (Ausbeuten > 97 %).

Die *t*-Butyldimethylsilylether-geschützten Derivate **43** und **44** wurden anschließend, wie in Methode **a** beschrieben, mit Lithiumaluminiumhydrid bei –10 °C innerhalb von 2 Stunden reduziert. Die ebenfalls leicht gelblich gefärbten Ansätze waren jedoch frei von Niederschlägen.

Nach Aufarbeitung und Umkristallisation aus Essigester wurden die Verbindungen **45** und **46** in sehr guten Ausbeuten (> 89 %) als weiße Feststoffe erhalten.

Abschließend wurden bei Raumtemperatur die TBDMS-Schutzgruppen durch Zugabe eines auf pH 5 eingestellten wässrigen NaF/HF-Puffers zu den jeweils in THF gelösten Verbindungen **45** und **46** abgespalten¹⁹⁹. Nach 11 bzw. 12 Stunden war das Entschützen abgeschlossen und nach Extraktion mit Chloroform, anschließender säulenchromatographischer Reinigung und Umkristallisation wurden die Zielverbindungen **47** als weißes Pulver in 76%iger und **48** als hellbeiges Pulver in 83%iger Ausbeute gewonnen.

Die Strukturabsicherung erfolgte mittels ¹H- sowie ¹³C-NMR und bestätigte die Substitutionsmuster der synthetisierten Verbindungen. Abbildung 54 zeigt beispielhaft eine Übersicht der ¹H-NMR-Spektren der Ausgangsverbindung (**A**), der beiden Zwischenprodukte (**B**, **C**) und der Zielstruktur (**D**), welche durch Umsetzung des 3-Ethylester-substituierten 1-Aza-11-oxafluorens **31** nach Methode **c** erhalten wurden.

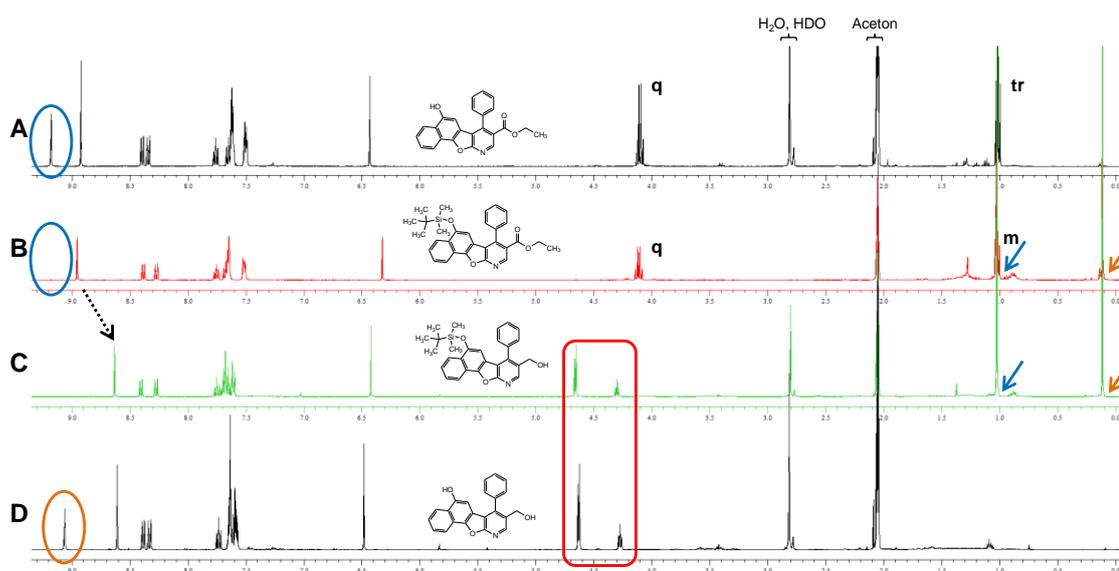


Abbildung 54: Vergleich der ¹H-NMR-Spektren von **31** (A), **44** (B), **46** (C) und **48** (D) in Aceton-d₆ (400 MHz, δ in ppm)

Die Einführung der TBDMS-Ethergruppe bewirkt ein Verschwinden des Signals der 6-Hydroxygruppe (blaues Oval) und führt zu zwei neuen Signalen im Spektrum, für die *tert*-Butyl- (blauer Pfeil) und für die Dimethylprotonen (orangener Pfeil). Die 3-Ethylestergruppe von **31** (Spektrum A) mit dem Quartett (q) der Methylenprotonen ($^3J = 7,1$ Hz) und dem Triplet (tr) der Methylprotonen ($^3J = 7,1$ Hz) ist gegenüber der Reaktion stabil. So wird das Quartett (q) im Spektrum **B** (von Verbindung **44**) erneut gefunden, jedoch das ursprüngliche Triplet der Methylprotonen durch Überlagerung mit dem Signal für die 9 *tert*-Butyl-Protonen als Multiplett (m) mit dem Integral 12 ($\cong 12$ Protonen) zusammengefasst. Im ¹³C-NMR-Spektrum wurden Signale bei $\delta = 27,2$ ppm für die primären Kohlenstoffatome der

tert-Butyl-Gruppe, bei $\delta = 19,9$ ppm für das quartäre *tert*-Butyl-C-Atom und bei $\delta = 3,3$ ppm für die primären Dimethylprotonen gefunden. Dass es sich bei den $^1\text{H-NMR}$ -Signalen für die Schutzgruppe um 2 Singulets (blauer und orangener Pfeil) handelt und dementsprechend durch Vorhandensein dieser Signale die Schutzgruppe stabil gegenüber der Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid ist, zeigt Spektrum **C** (von Verbindung **46**). Erwartungsgemäß verschwinden hier die Peaks der Ethyl-Protonen (q + tr) und an gleicher Stelle wie in Spektrum **B** sind die Singulets der genannten Schutzgruppen-Protonen mit Integral 9 (blauer Pfeil) und Integral 6 (orangener Pfeil) zu finden. Die durch die Reduktion entstandene 3-Hydroxymethylgruppe führt im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum für die OH-Gruppe zu einem Triplett mit der Kopplungskonstante $^3J_{\text{OH/CH}_2} = 5,4$ Hz und für die Methylenprotonen zu einem Dublett mit $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 5,4$ Hz (rotes abgerundetes Rechteck). Nach dem Entschützen wird im Spektrum **D** (von Verbindung **48**) das Singulett für die 6-Hydroxygruppe zurückerhalten (orangenes Oval) und die Signale der TBDMS-Schutzgruppe verschwinden (ebenfalls im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum). Für das Proton an Pos. 2 konnte mit Wegfall der abschirmenden Wirkung der Carbonylgruppe eine auffällige Hochfeldverschiebung (schwarz gepunkteter Pfeil) des Singulets mit einer Differenz von $-0,44$ ppm beobachtet werden, wohingegen die restlichen Signale des Grundgerüsts annähernd gleich blieben. Der Wegfall der Signale für das Carbonyl-C ($\delta = 164,3$ ppm) und das primäre Methyl-C ($\delta = 15,0$ ppm) des Ethylesters sowie das leicht ins Hochfeld verschobene Signal für das sekundäre Methylen-C (von $\delta = 62,6$ ppm (**44**) zu $\delta = 61,2$ ppm (**46**)) wurden in den $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren beobachtet.

Vergleich der Methoden a - c

Tabelle 9: Ergebnisübersicht zur Darstellung der Hydroxymethyl-Derivate **47** und **48** durch Reduktion der Ethylesterfunktion

Edukt	Methode	Zielverbindung	Ausbeute (Reaktionsdauer)
27	a	47	44 % (2 h)
27	b	47	n.e. ¹
27	c	47	50 % (58 h) ² / 66 % (25 h) ³
31	a	48	38 % (2 h)
31	b	48	n.e. ¹
31	c	48	65 % (56 h) ² / 80 % (23 h) ³

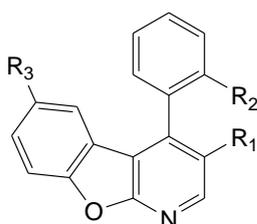
Ausbeute = Gesamtausbeute (Produkt aller Teilausbeuten); Reaktionsdauer = Summe der Netto-Reaktionszeiten; ¹nicht ermittelbar, Reaktionsabbruch nach 4 Tagen; ²Schützen der phenolischen Hydroxygruppe nach Lit.¹⁹⁹; ³nach Lit.¹⁹⁹ und Zusatz von AgNO_3

Die Tabelle 9 fasst die Ergebnisse der Versuche zur Synthese 3-Hydroxymethyl-substituierter 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene nach Methoden **a** – **c** zusammen. Die direkte Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid bildet zwar die schnellste Umsetzung, resultierte jedoch nur in mäßigen Ausbeuten (**a**). Der Austausch des Reduktionsmittels zu einem milderem Reaktanten,

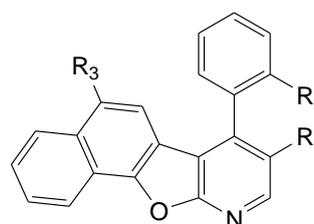
dem Calciumborhydrid · 2 THF, brachte nicht die gewünschte Verbesserung und führte zu Produktgemischen, aus denen die Zielverbindungen nicht isoliert werden konnten (**b**). Am besten geeignet ist die Reduktion vorab TBDMS-Ether-geschützter Verbindungen mit Lithiumaluminiumhydrid, wobei ausgezeichnete Ergebnisse erzielt wurden. Das Einführen sowie Abspalten der Schutzgruppe ist unproblematisch und durch Zugabe von fein gepulvertem Silbernitrat zu den Ansätzen, die zu den geschützten Derivaten **43** und **44** führten, wurden die Reaktionszeiten deutlich verkürzt und nahezu quantitative Umsetzungen erreicht.

4.4.1.4 Strukturvariation durch *O*-Debenzylierung und/oder *O*-Methylierung

Durch Variationen an den Verbindungen **20**, **24**, **25** und **26** sollte ein homogenes Substitutionsmuster entstehen, welches in Bezug auf Lipophilie, Polarität sowie Größe der Substituenten in Pos. 3, 4 und 6 des Azaoxafluoren-Grundkörpers Veränderungen aufweist (Abbildung 55).



20 R₁ = OBz R₂ = H R₃ = OH
25 R₁ = OBz R₂ = OMe R₃ = OH



24 R₁ = OBz R₂ = H R₃ = OH
26 R₁ = OBz R₂ = OMe R₃ = OH

Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃
49	OH	H	OH
51	OH	OMe	OH
55	OBz	H	OMe
57	OBz	OMe	OMe
61	OH	H	OMe
63	OH	OMe	OMe
65	OMe	H	OMe
67	OMe	OMe	OMe

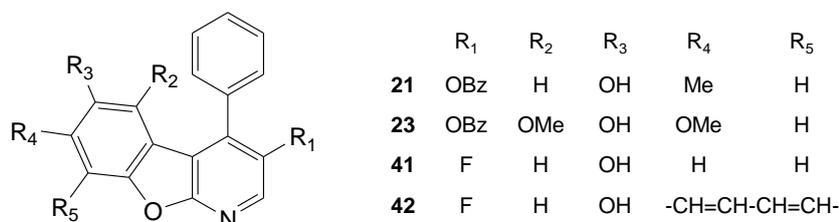
Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃
50	OH	H	OH
52	OH	OMe	OH
56	OBz	H	OMe
58	OBz	OMe	OMe
62	OH	H	OMe
64	OH	OMe	OMe
66	OMe	H	OMe
68	OMe	OMe	OMe

Abbildung 55: Strukturvariationen aus **20**, **24**, **25** und **26**

Durch *O*-Debenzylierung sollten polarere 3,6-Dihydroxy-Derivate entstehen, welche auf beiden Längsseiten gleichermaßen Wasserstoffbrücken ausbilden können. Mittels *O*-Methylierung kann die Notwendigkeit einer bzw. zweier Wasserstoffbrückendonator-Funktionen (OH-Gruppen) im Molekül überprüft werden, ebenso wie die Option, ob auch kleinere hydrophobe Substituenten mit Wasserstoffbrückenakzeptor-Funktion (Methoxygruppen)

sterische Wechselwirkungen in der ATP-Bindungstasche der Kinasen besitzen. Je nach Kombination und Reihenfolge beider Reaktionen sollten 3-Benzyloxy-6-methoxy-, 3-Hydroxy-6-methoxy-, 3,6-Dihydroxy- und 3,6-Dimethoxy-Derivate dargestellt werden.

Desweiteren sollten die am Benzolring des 1-Aza-9-oxafluorens substituierten Verbindungen **21** und **23** zu den 3,6-Dihydroxy-Derivaten umgewandelt und die Strukturen mit einem 3-Fluor-Substituenten (**41** und **42**) *O*-methyliert werden.



Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
53	OH	H	OH	Me	H
54	OH	OMe	OH	OMe	H
59	F	H	OMe	H	H
60	F	H	OMe	-CH=CH-CH=CH-	

Abbildung 56: Strukturvariationen aus **21**, **23**, **41** und **42**

4.4.1.4.1 *O*-Debenzylierung

Zur Entfernung des Benzyl-Substituenten, welcher u. a. bei ersten Versuchen notwendigerweise als OH-Schutzgruppe vor der Grignard-Addition eingeführt wurde, wird in der Literatur eine Vielzahl an Methoden beschrieben^{197, 198}. Die einfachste Variante bildet die hydrogenolytische *O*-Debenzylierung mit Wasserstoff an einem Übergangsmetall-Katalysator, z. B. dem Palladium-Kohle-Katalysator (Pd/C). Bei dieser Methode werden keine Methylether gespalten, was für eine Verwendung im Rahmen dieser Arbeit spricht, da auch Derivate unter Beibehaltung der Methoxygruppen umgesetzt werden sollten.

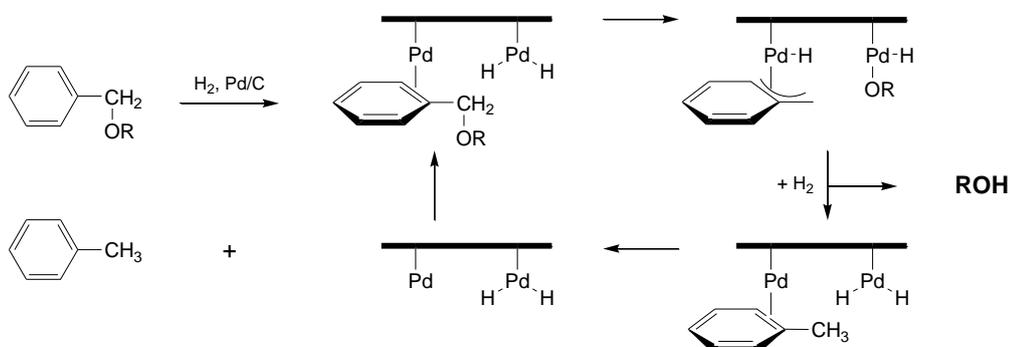
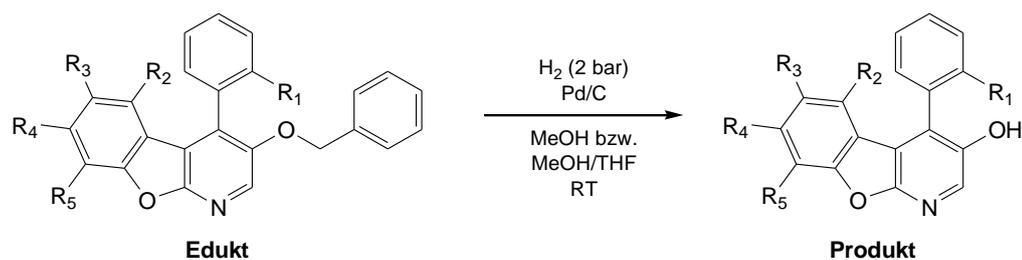


Abbildung 57: Katalytische Hydrogenolyse von Benzyloxyethern¹⁹⁸



Edukt	Produkt	Ausbeute	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Reaktionsdauer
20	49	93 %	H	H	OH	H	H	3 h
24	50	91 %	H	H	OH	-CH=CH-CH=CH-		2 h
25	51	75 %	OMe	H	OH	H	H	3 h
26	52	88 %	OMe	H	OH	-CH=CH-CH=CH-		3 h
21	53	82 %	H	H	OH	Me	H	3 h
23	54	86 %	H	OMe	OH	OMe	H	4 h
55	61	95 %	H	H	OMe	H	H	3 h
56	62	81 %	H	H	OMe	-CH=CH-CH=CH-		3 h
57	63	76 %	OMe	H	OMe	H	H	3 h
58	64	86 %	OMe	H	OMe	-CH=CH-CH=CH-		5h

Abbildung 58: Darstellung der Zielverbindungen durch *O*-Debenzylierung

Die verwendeten Edukte wurden jeweils in Methanol bzw. bei unzureichender Löslichkeit in einem Methanol/THF-Gemisch gelöst, mit dem Pd/C-Katalysator versetzt und unter einer 2 bar Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur geschüttelt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, bis nach 2 – 5 Stunden die Umsetzungen abgeschlossen waren. Da der sehr fein gepulverte Pd/C-Katalysator nicht vollständig durch Papierfilter zurückgehalten werden konnte, wurde im Rahmen der Aufarbeitung auf die Kieselgelfiltration zurückgegriffen. Nach Entfernung der Lösungsmittel und Umkristallisation wurden alle Zielverbindungen als Feststoffe erhalten. Alle Reaktionen verliefen problemlos und die Produkte wurden in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten.

Im ¹H-NMR-Spektrum wurden die Zielverbindungen auf das Fehlen der Benzyl-Protonen und das Hinzukommen eines weiteren Singulett-Signals für das OH-Proton untersucht. In den Multipletts der Protonen unsubstituierter Aromaten, speziell im Bereich $\delta = 7,40 - 7,20$ ppm, wurde eine Verringerung der Integrale bzw. das Wegfallen von Signalen, welche in den Ausgangsverbindungen 5 Protonen entsprechen, sowie das Verschwinden der Signale für die Methylenprotonen im Bereich $\delta = 5,30 - 5,04$ ppm beobachtet. Als austauschbares Proton resultiert für jede Hydroxygruppe ein relativ breites Singulett, das durch Zugabe von deuteriertem Methanol bzw. D₂O vollständig gelöscht werden kann. Die OH-Signale erscheinen im Spektrum zwischen $\delta = 9,72$ ppm und $\delta = 4,99$ ppm (Literatur: $\delta = 13,4 - 4,2$ ppm¹⁹⁰). Bei den Zielstrukturen mit zwei Hydroxygruppen wurde versucht die beiden Signale den Pos. 3

bzw. 6 zuzuordnen, indem diese mit der Verschiebung des einen OH-Signals im Spektrum der Ausgangsverbindung verglichen wurden.

4.4.1.4.2 O-Methylierung

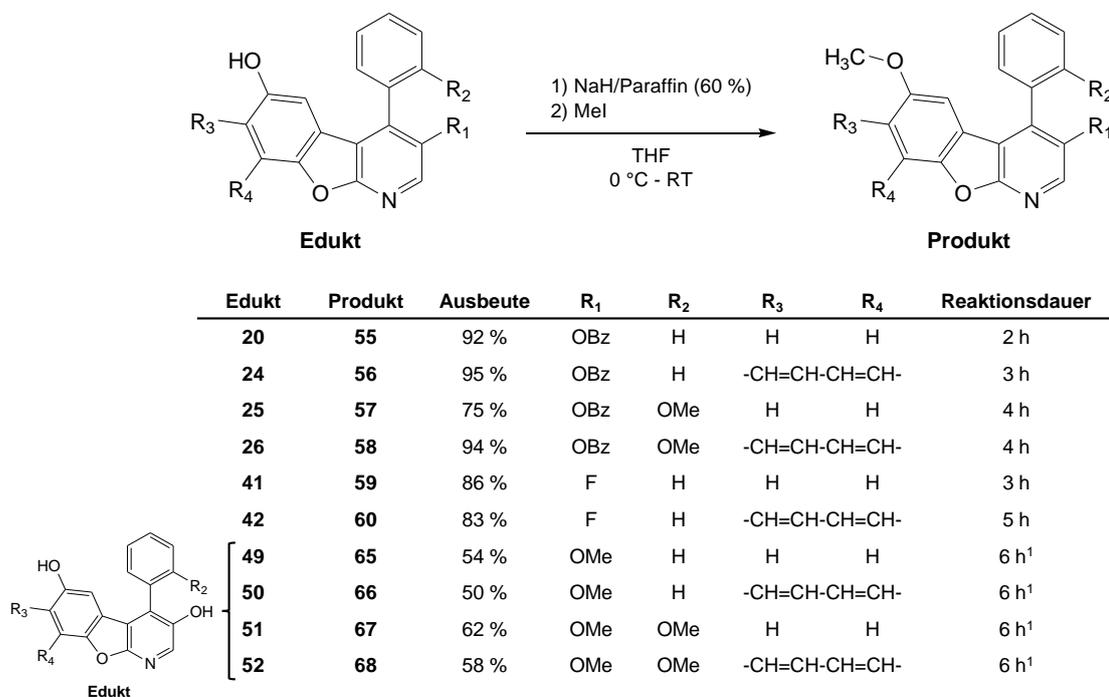


Abbildung 59: Darstellung der Zielverbindungen durch O-Methylierung
¹Abbruch der Reaktion

Die *WILLIAMSON*-Synthese ist in der organischen Chemie ein häufig angewandter Syntheseweg aliphatische, gemischt aliphatisch-aromatische und aromatische Ether darzustellen. Dazu werden alkoholische Verbindungen mit Halogenalkanen umgesetzt. Am besten geeignet erwiesen sich primäre Iod- oder Bromalkane, da diese als Elektrophil am reaktivsten sind ($I > Br > Cl > F$) und bei schneller Umsetzung zum gewünschten Produkt in hoher Ausbeute führen. Die Ethersynthese verläuft in zwei Schritten. Zunächst findet die Bildung der Alkoholat-/Phenolationen statt. Dies geschieht durch Umsetzung des Alkohols mit elementarem Natrium, Kalium oder deren entsprechenden Hydriden. Alternativ besteht auch die Möglichkeit NaOH, KOH oder K_2CO_3 zu verwenden. Anschließend wird das Elektrophil zugegeben und durch eine nukleophile Substitution, wobei das Halogenatom des Halogenalkans durch das Alkohol-/Phenolat substituiert wird, entsteht der Ether²⁰⁰.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden O-Methylierungen im Mikromaßstab durchgeführt, infolgedessen auf Natriumhydrid zurückgegriffen wurde, da dieses bei Verwendung kleinster Mengen als pulverförmige Suspension in Paraffin besser wägbare und stabiler gegenüber Luftfeuchtigkeit

ist, zudem Reaktionen bei Raumtemperatur ermöglicht. Die Ausgangsverbindungen wurden unter Argon-Atmosphäre in wasserfreiem THF gelöst, im Eisbad auf 0 °C heruntergekühlt und mit Natriumhydrid in Paraffinöl (60%ig) versetzt. Nach 15 min Rühren bei 0 °C wurde ebenfalls 15 min bei Raumtemperatur gerührt (bis zum Ende der Gas-Entwicklung ($H_2 \uparrow$)) und in die gräulichen Suspensionen mittels einer Mikroliterspritze Iodmethan zugegeben. In der Folge verfärbten sich die Ansätze orange bis braun. Nach dünnschichtchromatographischer Kontrolle liefen alle Reaktionen problemlos innerhalb von 2 – 5 Stunden ab. Die gewünschten Zielverbindungen wurden in sehr guter Ausbeute nach Hydrolyse in Eiswasser, Extraktion mit Chloroform und säulenchromatographischer Reinigung mit anschließender Umkristallisation als beige Feststoffe (**57**, hellorange) erhalten.

Etwas abweichend verhielten sich die Reaktionen bei gleichzeitiger *O*-Methylierung zweier Hydroxyfunktionen ausgehend von den 3,6-Dihydroxy-substituierten Derivaten (**49** – **52**). Hier wurden aufgrund der zwei Reaktionszentren im Molekül doppelte Mengen an Natriumhydrid in Paraffin (60%ig) und Iodmethan verwendet. Auffällig bei den Umsetzungen war die Bildung von Produktgemischen. Auf den DCs konnten 3 Produkte detektiert werden, woraufhin vermutet wurde, dass es sich neben den gewünschten Zielverbindungen noch um die beiden möglichen mono-*O*-methylierten Produkte handeln könnte. Variationen der Anteile an Reaktanten und der Reaktionstemperatur führten jedoch zu keiner erkennbaren Verbesserung. Aus den Produktgemischen wurden in Ausbeuten zwischen 50 und 62 % die Zielverbindungen mittels präparativer Dünnschichtchromatographie isoliert. Die zwei anderen auf DC tiefer laufenden Verbindungen, Strukturen mit annähernd gleichem R_f -Wert, konnten nur als Gemische gewonnen werden. Beispielsweise zeigte das ESI-Massenspektrum eines solchen Gemisches, aus Ansatz von **50** zu **66**, nur einen Molpeak ($m/z = 364,1 [M+Na]^+ 100 \%$) mit Übereinstimmung der ESI-Masse der mono-*O*-methylierten Verbindung **60**, jedoch konnte die Identität im 1H -NMR-Spektrum nicht zweifelsfrei geklärt werden. Da nur geringe Mengen der Edukte vorhanden waren und die gewünschten 3,6-Dimethoxy-Derivate als Hauptprodukte gewonnen werden konnten, wurde diese Aufklärung nicht weiter verfolgt.

Die erfolgreiche einfache *O*-Methylierung zeigt sich in den 1H -NMR-Spektren dadurch, dass die Singulett-Signale, die in den Spektren der Ausgangsverbindungen nachweislich durch Protonen-Deuteronen-Austausch den 6-Hydroxy-Protonen zugeordnet werden konnten, nicht mehr zu finden waren und dafür im Hochfeld bei $\delta = 3,80 - 3,63$ ppm die Methoxy-Protonen als Singulett mit dem Integral 3 ($\cong 3$ Protonen) erhalten wurden. Im Fall der Verbindungen mit (2-Methoxyphenyl)-Rest an Pos. 4 wurden zwei Signale für jeweils 3 Protonen in dem oben genannten Bereich gefunden.

Die *O*-Methylierung an zwei Positionen im Molekül führt in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zu zwei neuen Singulett-Signalen im Bereich $\delta = 3,94 - 3,63$ ppm jeweils mit dem Integral 3 und zum Ausbleiben der Resonanzsignale der 3- und 6-Hydroxyprotonen. Im Fall der Verbindungen **65** und **66** wurde die Zuordnung durch Vergleiche mit den Methoxy-Signalen der dazugehörigen 3-Benzoyloxy-6-methoxy- und 3-Hydroxy-6-methoxy-Derivate vorgenommen (Abbildung 60). Im Fall der 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierten Verbindungen **67** und **68** konnte dies nur eingeschränkt durchgeführt werden, da die Signale der insgesamt drei Methoxygruppen sehr variabel erscheinen.

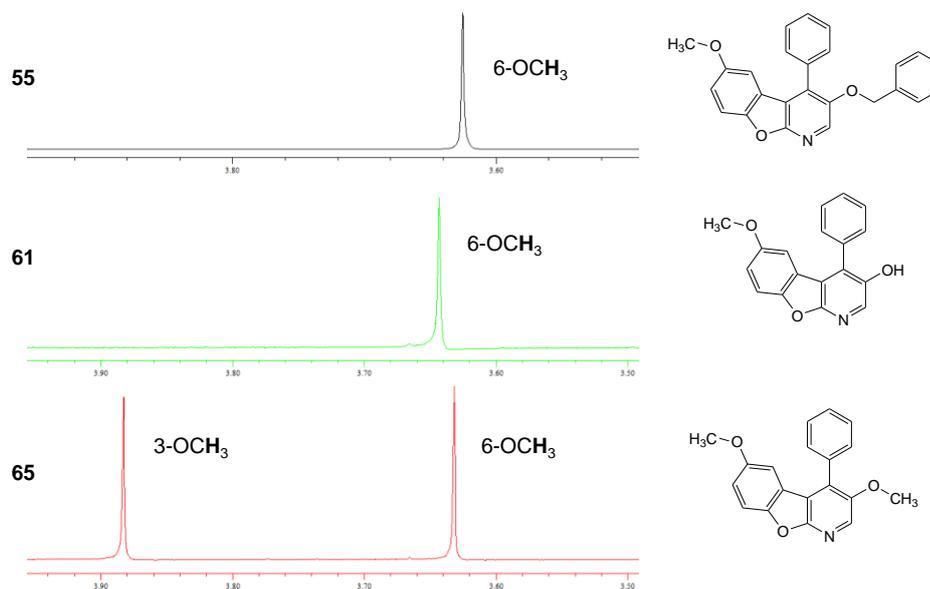
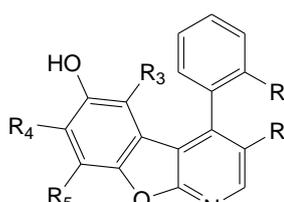


Abbildung 60: Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Signale der Methoxy-Protonen der Derivate **55**, **61** und **65** aufgenommen in CDCl_3 (400 MHz, δ in ppm). Dargestellt sind die relevanten Ausschnitte der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (vollständige Spektren im Anhang).

4.5 Ergebnisse des Kinaseinhibitionsassays (II)

Wie auch im ersten Teil dieser Arbeit kam der radiometrische ^{33}P PanQinase[®] Assay (Kapitel 4.2) zur Anwendung um einen Großteil der variierten Zielverbindungen auf ihre kinaseinhibitorische Wirkung zu untersuchen.



Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
20	OBz	H	H	H	H
24	OBz	H	H	-CH=CH-CH=CH-	
25	OBz	OMe	H	H	H
26	OBz	OMe	H	-CH=CH-CH=CH-	
49	OH	H	H	H	H
50	OH	H	H	-CH=CH-CH=CH-	
51	OH	OMe	H	H	H
52	OH	OMe	H	-CH=CH-CH=CH-	
53	OH	H	H	Me	H
54	OH	H	OMe	OMe	H
47	CH ₂ OH	H	H	H	H

Tabelle 10: K_i -Werte der im ^{33}P PanQinase[®] Assay untersuchten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene mit 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest und/oder zwei Hydroxyfunktionen

	K_i -Werte [μM]							
	CDK1/B	CDK2/E	CDK4/D	CDK5/p25	GSK-3 β	ERK2	JNK3	p38- γ
20 [*]	2,3 \pm 0,3	6,4 \pm 0,2	36,6 \pm 8,3	n.a.	5,8 \pm 1,2	n.b.	n.b.	n.b.
24 [#]	0,088 \pm 0,01	n.b.	n.b.	2,1 \pm 0,2	1,6 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1	0,67 \pm 0,06	1,2 \pm 0,09
25	n.a.	n.b.	n.b.	n.a.	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
26	6,0 \pm 0,4	n.b.	n.b.	n.a.	n.a.	19,8 \pm 8,8	n.b.	n.b.
49	0,01 \pm 3E-4	0,6 \pm 0,08	21,5 \pm 4,2	0,11 \pm 0,04	0,02 \pm 2E-4	48,4 \pm 6,7	0,02 \pm 1E-3	0,05 \pm 0,01
50	0,77 \pm 0,06	10,8 \pm 0,5	26,4 \pm 0,5	0,07 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	2,6 \pm 1,1	0,02 \pm 1E-4	0,04 \pm 0,01
51	2,0 \pm 0,5	n.b.	n.b.	56,0 \pm 8,5	n.a.	9,6 \pm 1,1	n.b.	n.b.
52	n.a.	n.b.	n.b.	n.a.	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
53	16,5 \pm 13,9	86,4 \pm 1,4	n.a.	164 \pm 14,6	5,2 \pm 0,1	417 \pm 278	12,8 \pm 0,4	n.a.
54	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	2,8 \pm 0,3	n.a.
47	n.a.	15,9 \pm 0,5	n.a.	n.a.	n.a.	29,0 \pm 4,8	n.a.	79,8 \pm 1,7

^{*}Werte aus Literatur¹⁷⁴; [#]Werte aus Kapitel 4.2; n.a.: nicht aktiv ($K_i > 1000 \mu\text{M}$); n.b.: nicht bestimmt

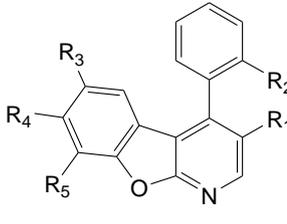
Die *O*-Debenzylierung der Verbindung **20** führte zu dem potenten 3,6-Dihydroxy-substituierten Derivat **49** und geht mit einer sehr deutlichen Aktivitätssteigerung an der CDK1/B und der GSK-3 β einher. Hier werden, wie an der JNK3 und p38- γ , Affinitätskonstanten in unteren nanomolaren Konzentrationen erreicht. Auffällig ist zudem die schlagartig auftretende inhibitorische Wirkung an der CDK5/p25 ($K_i = 0,11 \pm 0,04 \mu\text{M}$). Vermutlich ermöglicht die Ausbildung zweier Hydroxyfunktion-vermittelter Wasserstoffbrückenbindungen an den Längsseiten des Moleküls eine intensivere Interaktion mit den Aminosäuren der ATP-Bindungstasche.

Ein Methylen-Spacer zwischen OH-Gruppe und Trizyklus an Pos. 3 (Verbindung **47**) führt zum Verlust der Hemmwirkung mit Ausnahme einer moderaten Restaktivität an der CDK2/E, ERK2 und p38- γ ($K_i \geq 15,9 \pm 0,5 \mu\text{M}$). Anzunehmen ist, dass damit die Ausbildung der längsseitigen Wasserstoffbrücken verhindert wird bzw. die ebenfalls an einigen Kinasen tolerierte hydrophobe Wechselwirkung eines 3-Benzoyloxy-Substituenten (**20**) für eine optimale Bindung am katalytischen Zentrum fehlt. Ein Methylrest in Pos. 7 des 3,6-Dihydroxy-1-aza-9-oxafluorens resultiert ebenso in einer markanten Aktivitätsminderung. Einzig an der GSK-3 β wurde für die Substanz **53** eine einstellige mikromolare Affinitätskonstante ermittelt ($K_i = 5,2 \pm 0,1 \mu\text{M}$). Das 5,7-Dimethoxy-Derivat **54** ist ein monoselektiver JNK3-Inhibitor ($K_i = 2,8 \pm 0,3 \mu\text{M}$) mit Inaktivität an den anderen getesteten Kinasen. Schon kleine hydrophobe Reste (Methylgruppe, Methoxygruppen) besitzen ausreichende sterische Effekte um die Bindungsaffinität des Inhibitor-Moleküls zu den Enzymen entscheidend zu beeinflussen. Trotz der hohen Ähnlichkeit der ATP-Bindungstaschen wird bei dem Derivat **54** an der JNK3 allerdings ein offenbar einzigartiger Bindungsmodus erreicht. Überraschenderweise tritt bei dem benzoanellierten Azaoxafluoren **50** eine Hemmung aller Kinasen auf. Hier resultieren im Vergleich zu **49** ähnliche K_i -Werte an der CDK4/D, CDK5/p25, GSK-3 β , JNK3 und p38- γ , wobei die letzten vier genannten Kinasen in nanomolaren Konzentrationen inhibiert werden. An der ERK2 ist diese Verbindung zwar 19-fach stärker wirksam als Derivat **49**, jedoch 77-fach schwächer gegenüber der CDK1/B. Großflächige hydrophobe Wechselwirkungen mit dem Protein-Rückgrat der Adenin-Bindungsregion der Kinasen scheinen erneut vorteilhaft zu sein. Der Austausch des 4-Phenyl- gegen einen 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest hat aufgrund sterischer Effekte im *P-loop* ebenfalls Auswirkungen auf die inhibitorische Wirkung. Ist die Verbindung **25** noch an allen getesteten Kinasen inaktiv, wird durch zusätzliche Benzoanellierung am Grundgerüst (**26**) eine Hemmung der CDK1/B und ERK2 in mikromolaren Konzentrationen erreicht. Die *O*-Debenzylierung des 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierten 1-Aza-11-oxafluorens **26** führt zum inaktiven Derivat **52**. Interessanterweise ist die analoge trizyklische Struktur **51** erneut ein moderater Hemmer der CDK1/B und ERK2 mit Restaktivität an der CDK5/p25.

Gruppe der Derivate mit zwei Hydroxygruppen (inkl. Vertreter mit 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest)

Der potenteste nanomolare Multikinaseinhibitor an der CDK1/B, CDK5/p25, GSK-3 β , JNK3 und p38- γ ist die Verbindung **49** und der an der CDK5/p25, GSK-3 β , JNK3 und p38- γ ist die Verbindung **50**. Die Vergrößerung des 1-Aza-9-oxafluorens durch $R_{3/4/5}$ -Substituenten (Methylgruppe, Methoxygruppen) führt teilweise sehr stark zur Verminderung der Wirksamkeit und/oder Inaktivität. Das Derivat **54** ist jedoch ein monoselektiver JNK3-Inhibitor ($K_i = 2,8 \pm 0,3 \mu\text{M}$) und **53** ist ein moderater GSK-3 β -Hemmer ($K_i = 5,2 \pm 0,1 \mu\text{M}$) mit schwächerer Aktivität an der CDK1/B und JNK3. Der 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest im Molekül

ist hauptsächlich Inhibitor-inaktivierend, wobei durch diesen bei einigen wirksamen Vertretern trotzdem eine gewisse CDK1/B- und ERK2-Selektivität erreicht wird.



Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
55	OBz	H	OMe	H	H
57	OBz	OMe	OMe	H	H
61	OH	H	OMe	H	H
63	OH	OMe	OMe	H	H
64	OH	OMe	OMe	-CH=CH-CH=CH-	
65	OMe	H	OMe	H	H
66	OMe	H	OMe	-CH=CH-CH=CH-	
67	OMe	OMe	OMe	H	H
68	OMe	OMe	OMe	-CH=CH-CH=CH-	

Tabelle 11: K_i -Werte der im ³³PanQinase[®] Assay untersuchten Azaoxafluorene mit 6-Methoxy- bzw. 3,6-Dimethoxy-Funktion

	K_i -Werte [μ M]							
	CDK1/B	CDK2/E	CDK4/D	CDK5/p25	GSK-3 β	ERK2	JNK3	p38- γ
55	n.a.	n.a.	n.a.	26,1 \pm 1,9	0,02 \pm 2E-4	12,4 \pm 3,0	0,05 \pm 0,02	0,05 \pm 0,01
57	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	384 \pm 167	n.a.	n.a.
61	n.a.	n.a.	137 \pm 4,0	n.a.	n.a.	10,7 \pm 2,4	n.a.	n.a.
63	n.a.	n.b.	n.b.	n.a.	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
64	n.a.	n.b.	n.b.	13,9 \pm 0,5	84,1 \pm 7,9	17,7 \pm 3,6	n.b.	n.b.
65	n.a.	143 \pm 4,8	n.a.	n.a.	n.a.	11,4 \pm 0,3	n.a.	n.a.
66	1,7 \pm 0,2	119 \pm 46,6	71,3 \pm 2,3	n.a.	4,8 \pm 0,1	11,3 \pm 1,0	n.a.	6,7 \pm 0,1
67	n.a.	n.b.	n.b.	n.a.	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
68	n.a.	n.b.	n.b.	n.a.	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.

n.a.: nicht aktiv ($K_i > 1000 \mu$ M); n.b.: nicht bestimmt

Der Wegfall der 6-Hydroxyfunktion durch *O*-Methylierung verändert die Hemmeigenschaften der Zielstrukturen erheblich. So wird in Verbindung **55** das Kinase-Hemmprofil innerhalb der CDK-Familie zugunsten der CDK5/p25 verschoben ($K_i = 26,1 \pm 1,9 \mu$ M). Die im 6-OH-substituierten Derivat **20** ermittelte inhibitorische Wirkung an den CDKs 1/B, 2/E und 4/D geht dabei vollständig verloren. Die Modifizierung bewirkt zudem eine 290-fach verstärkte Affinität zur GSK-3 β , wobei die K_i -Werte, wie an der JNK3 und der p38- γ , im nanomolaren Konzentrationsbereich liegen. Ein 2-Methoxyphenyl-Rest an Pos.4 im 3-Benzyloxy-6-methoxy-1-aza-9-oxafluoren führt zu einem unwirksamen Vertreter (Verbindung **57**).

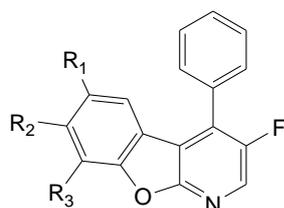
Der Austausch des 3-Benzyloxy-Substituenten von Struktur **55** und **57** gegen eine Hydroxyfunktion führte zu den 3-Hydroxy-6-methoxy-Derivaten **61** und **63**. Die Verbindung **61** besitzt eine moderate Hemmwirkung an der ERK2 mit schwacher Restaktivität an der CDK4/D, verliert aber sonst jegliche Affinität zu den anderen getesteten Kinasen. Der alternative 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest im Azaoxafluoren **63** führt zu vollständiger Inaktivität.

Durch zusätzliche Benzoanellierung am Grundgerüst besitzt das 1-Aza-11-oxafluoren **64** wiederum eine moderate bis schwache Aktivität an der CDK5/p25, GSK-3 β und ERK2.

Die *O*-Methylierung an Pos. 3 führt in Verbindung **65** neben ähnlicher inhibitorischer Wirkung an der ERK2 (wie **61**) zu einer Verschiebung der Hemmaktivität von der CDK4/D auf die CDK2/E und ist ansonsten nicht weiter aktiv. Das analog substituierte tetrazyklische Derivat **66** besitzt wiederum eine breite, moderate bis schwache Wirksamkeit am Kinasespektrum mit Ausnahme der CDK5/p25 und JNK3. Auffällig ist, dass bei diesen Strukturänderungen zum ersten Mal auch die CDK1/B ($K_i = 1,7 \pm 0,2 \mu\text{M}$) adressiert wurde. 3,6-Dimethoxy-substituierte 1-Aza-9- und 1-Aza-11-oxafluorene mit 4-(2-Methoxyphenyl)-Rest (**67** und **68**) sind hingegen unwirksam und belegen im vorliegenden Fall den ungünstigen sterischen Effekt der 2'-Methoxygruppe in der ATP-Bindungstasche (Ausnahme: Verbindung **64**).

Gruppe der Derivate mit 6-Methoxy- und 3,6-Dimethoxy-Rest

Die Verbindung **55** ist ein in nanomolaren Konzentrationen wirksamer GSK-3 β -selektiver Inhibitor ($K_i = 0,02 \pm 2 \cdot 10^{-4} \mu\text{M}$ und SQ-Werten von 248 (zur ERK2) und 522 (zur CDK5/p25)) mit zusätzlicher potenter Wirkung an der JNK3 und p38- γ . Die Derivate **61** und **65** stellen ERK2-monoselektive Inhibitoren dar ($K_i = 10,7 \pm 2,4 \mu\text{M}$ bzw. $K_i = 11,4 \pm 0,3 \mu\text{M}$) und besitzen schwache Restaktivitäten an der CDK4/D bzw. CDK2/E. Mit Ausnahme der Verbindung **64** sind alle 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierten Derivate unwirksam. Ein moderater Multikinase-Hemmer an der CDK1/B, GSK-3 β , ERK2 und p38- γ ist das 3,6-Dimethoxy-1-aza-11-oxafluoren **66**. Bei dem Gros der Verbindungen mit 6-Methoxyrest stellt sich der Wegfall der 3-Benzoyloxyfunktion bzw. die Verkleinerung (3-Methoxygruppe) als ungünstig heraus. Hier wird der sterische Effekt des Inhibitor-Moleküls und die hydrophobe Interaktion in der ATP-Bindungstasche nachteilig beeinflusst.



Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃
41	OH	H	H
42	OH	-CH=CH-CH=CH-	
59	OMe	H	H
60	OMe	-CH=CH-CH=CH-	

Tabelle 12: K_i -Werte der im ³³PanQinase[®] Assay untersuchten 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene mit 3-Fluor-Rest

	K_i -Werte [μM]							
	CDK1/B	CDK2/E	CDK4/D	CDK5/p25	GSK-3 β	ERK2	JNK3	p38- γ
41	1,4 \pm 0,2	725 \pm 397	258 \pm 16,5	n.a.	0,39 \pm 0,09	497 \pm 48,5	n.a.	n.a.
59	n.a.	432 \pm 112	n.a.	n.a.	n.a.	30,2 \pm 11,5	n.a.	n.a.
42	1,1 \pm 0,6	77,8 \pm 7,8	47,0 \pm 9,6	158 \pm 53,7	194 \pm 47,9	5,6 \pm 0,4	n.a.	2,3 \pm 1,1
60	32,3 \pm 1,7	n.a.	n.a.	n.a.	111 \pm 6,4	n.a.	n.a.	4,6 \pm 0,4

n.a.: nicht aktiv ($K_i > 1000 \mu\text{M}$)

Der Austausch der 3-Hydroxyfunktion gegen einen Fluor-Substituenten in Verbindung **41** bewirkt trotz ähnlicher Molekülgröße wie bei **49** an allen getesteten Kinasen eine Abschwächung der Wirkung und eine Inaktivität an der CDK5/p25, JNK3 und p38- γ . Es erfolgt dennoch eine nanomolare GSK-3 β - ($K_i = 0,39 \pm 0,09 \mu\text{M}$) und mikromolare CDK1/B-Hemmung ($K_i = 1,4 \pm 0,2 \mu\text{M}$). In der Literatur wurde für das 3-Chlor-substituierte Derivat gar keine inhibitorische Aktivität sowie für die 3-Brom-Struktur nur leichte inhibitorische Wirkung an der CDK2/A und CDK4/D nachgewiesen¹⁷². Daraus kann geschlussfolgert werden, dass sich zur Hemmung der CDK1/B und GSK-3 β ein kleinerer Halogensubstituent ($\text{F} < \text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$) als sterisch vorteilhaft erweist und ein Wasserstoffbrückenakzeptor an dieser Position sinnvoll ist. Fluor besitzt die höchste Elektronegativität ($\text{I} (2,6) < \text{Br} (2,8) < \text{Cl} (3,0) < \text{F} (4,0)$), daher zieht es am stärksten Bindungselektronen zu sich und begünstigt folglich die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung. Ebenso wird durch diesen starken Elektronenzug eine erniedrigte Basizität des Ring-Stickstoffs des Azaoxafluorens mit dem Effekt einer verminderten Bindungsstärke zum Protein-*backbone* erreicht, welches sich durch höhere K_i -Werte im Vergleich zu Verbindung **49** äußert. Die Vergrößerung des aromatischen Ringsystems in Derivat **42** führt bei ähnlichen K_i -Werten an der CDK1/B zu einer Verbesserung der inhibitorischen Wirkung, z. B. an der ERK2 (Faktor 88), mit Erweiterung des Wirkspektrums auf die CDK5/p25 ($K_i = 158,3 \pm 53,7 \mu\text{M}$) und p38- γ ($K_i = 2,3 \pm 1,1 \mu\text{M}$). Einzig an der GSK-3 β führt diese Modifizierung zu einer Verschlechterung der Affinität um den Faktor 498.

Mit Einführung der Methoxy-Funktion an Pos. 6 im Trizyklus (**59**) wird, wie bei dem 3-Benzoyloxy-substituierten Derivat **55**, ein Wirkverlust an den CDKs 1/B und 4/D beobachtet, welcher sich im vorliegenden Fall zusätzlich noch auf die CDK5/p25 und GSK-3 β ausdehnt. Das 3-Fluor-substituierte 6-Methoxy-1-Aza-9-oxafluoren **59** ist jedoch ein moderat wirksamer selektiver ERK2-Inhibitor ($K_i = 30,2 \pm 11,5 \mu\text{M}$, SQ zur CDK2/E = 14). Abgesehen von der GSK-3 β bewirkt die *O*-Methylierung bei dem tetrazyklischen Derivat **60** ebenso eine Affinitätsverminderung an den Kinasen, besitzt allerdings ein anderes Hemmprofil als der Trizyklus **59**.

Gruppe der Derivate mit 3-Fluor-Rest

Das 3-Fluor-substituierte 1-Aza-9-oxafluoren **41** besitzt CDK1/B- und GSK-3 β -dualselektive Eigenschaften (SQ > 184 gegenüber anderen Kinasen), wobei durch Benzoanellierung ein Multikinaseinhibitor an der CDK1/B, ERK2 und p38- γ entsteht. Die *O*-Methylierung der 6-Hydroxyfunktion führt größtenteils zur Abschwächung der Wirkung, abgesehen von Verbindung **59** an der ERK/2 und **60** an der GSK-3 β . Struktur **59** ist ein moderater ERK2-selektiver Inhibitor und **60** ist ein selektiver Hemmer der p38- γ ($K_i = 4,6 \pm 0,4 \mu\text{M}$, SQ = 7 zur CDK1/B). Alle 3-Fluor-Derivate waren an der JNK3 inaktiv.

4.6 Dockinguntersuchungen

Um die Interaktionen der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Substanzen mit dem aktiven Zentrum der betreffenden Kinasen näher zu untersuchen, sollten Dockinguntersuchungen durchgeführt werden. Durch diese können Erkenntnisse über den möglichen Bindungsmodus gewonnen werden, um die unterschiedliche inhibitorische Wirksamkeit der Verbindungen zu erklären, und Vorschläge für weitere Strukturoptimierungen erarbeitet werden.

Die Dockinguntersuchungen wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. W. Sippl am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt. Für die Untersuchungen wurden ausgewählte Verbindungen an den Röntgenkristallstrukturen der CDK2, CDK5/p25 bzw. GSK-3 β gedockt. Hierbei diente die CDK2-Röntgenkristallstruktur aufgrund ihrer sehr nahen Verwandtschaft zur CDK1 als homologes Modell dieser²⁰¹. Unter Verwendung von 2FVD²⁰² (CDK2 im Komplex mit einem Diaminopyrimidin-Inhibitor), 1UNL²⁰³ (CDK5/p25 im Komplex mit *R*-Roscovitin) und 3GB2²⁰⁴ (GSK-3 β im Komplex mit einem 1,3,4-Oxadiazol-Inhibitor) in aktiver Konformation erfolgte die Entnahme der Kristallstrukturen aus der Protein-Datenbank. Für das Docking wurden die co-kristallisierten Liganden aus den Kristallstrukturen entfernt, Wasserstoffatome hinzugefügt, da diese bei der Röntgenstrukturanalyse aufgrund der geringen Elektronendichte nicht erkennbar sind, und die Konformationsenergie der Kristallstrukturen mit dem Programm *MOE2010.10* (Chemical Computing Group, Inc.: Montreal, Kanada, 2010) unter Nutzung der MMFF94-Kraftfeldmethode minimiert. Das Programm ermöglichte ebenso energieminierte Strukturen der Verbindungen zu erstellen und anschließend diese mithilfe des Programms *GOLD 5.0* (Cambridge Crystallographic Data Centre: Cambridge, UK, 2011) in das aktive Zentrum der drei Kinasen zu docken. Als zentrale Bindungsstelle wurde die in der Scharnier(*hinge*)-Region befindliche Aminosäure Leu83 (CDK1), Cys83 (CDK5/p25) bzw. Val135 (GSK-3 β) definiert. Die Ergebnisse wurden erneut mit dem Programm *MOE* auf verschiedene Weisen visualisiert.

Wurde bei ersten Dockinguntersuchungen der 1-Aza-9-oxafluorene (Kapitel 2.3.1) die Ausrichtung der 6-Hydroxyfunktion in Richtung der hydrophoben Bindungstasche (Abbildung 61, rechter Abschnitt der Kavität) und die Ausrichtung des Restes an Pos. 3 in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region angenommen (linker Abschnitt der Kavität), verdichteten sich in der Arbeit von

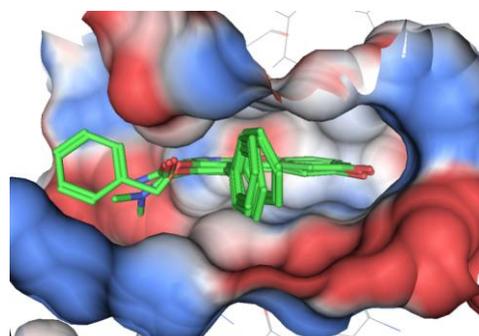


Abbildung 61: Aufsicht auf die GSK-3 β -Adenin-Bindungsregion mit gedockten 1-Aza-9-oxafluorenen

Krug erste Hinweise, dass eine zusätzliche Orientierung, bei dem der Grundkörper um 180° längsseitig gedreht war, möglich ist. Diese zweite Ausrichtung konnte beim Docking von 1-Aza-9-oxafluorenen in der ATP-Bindungstasche des EGFR (*epidermal growth factor receptor*) beobachtet werden²⁰⁵.

Die Einführung von Resten (Methyl-, Methoxygruppe) in Pos. 7 des 3-Benzoyloxy-substituierten 1-Aza-9-oxafluorens **20** führte zur Aktivität an der CDK5/p25 und zur Verbesserung der inhibitorischen Wirkung an der CDK1/B. Für den von Voigt angenommenen Bindungsmodus ist durch die *gatekeeper*-Aminosäure Phe80 am Eingang zum hydrophoben Bereich der ATP-Bindungstasche in der CDK5/p25 wie auch in der CDK1 ein raumfordernder Substituent nicht in der Lage die Affinität der Verbindung zum Enzym zu erhöhen. Limitiert durch sterische Hinderung ist demnach ein ausreichendes Vordringen des Moleküls an die Adenin-Bindungsregion nicht möglich. Entgegengesetzt dieser Erwartung und zudem durch Verbindung **24**, einem Derivat mit ausladendem benzoanellierten 1-Aza-9-oxafluoren-Grundgerüst mit nanomolarer Aktivität an der CDK1/B sowie verbesserter Affinität zur CDK5/p25 und GSK-3 β , bestätigt, ist von einer anderen Orientierung der Zielstrukturen als dem zunächst für **20** angenommenen Bindungsmodus in der ATP-Bindungstasche auszugehen.

Eine genauere Analyse des Bindungsmodus des 1-Aza-11-oxafluorens **24** an der CDK1 und CDK5/p25 ermöglicht Abbildung 62, die einen Einblick auf die ATP-Bindungstaschen aus Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region zeigt. Bemerkenswerterweise handelt es sich im Vergleich zu der für das Derivat **20** postulierten Orientierung um eine inverse Ausrichtung des Inhibitor-Moleküls.

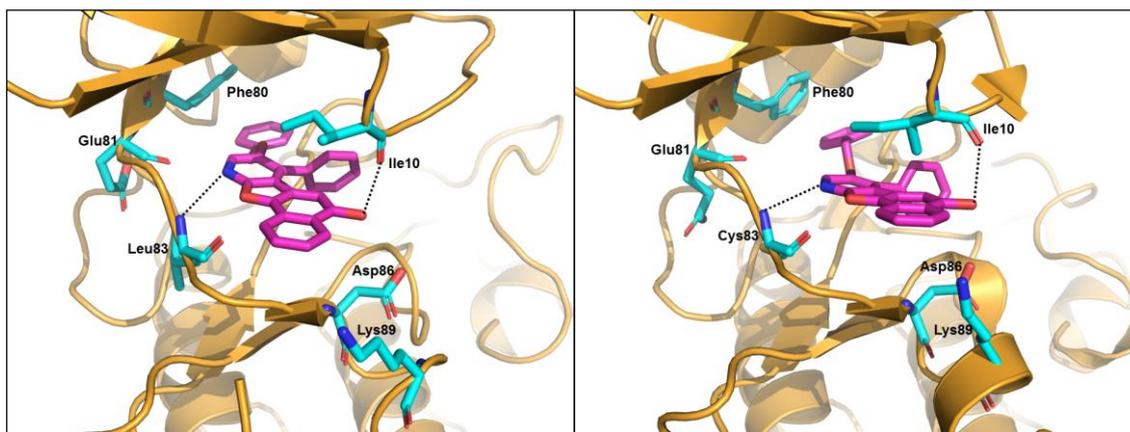


Abbildung 62: Bindungsmodus des benzoanellierten Derivates **24** an der CDK1 (links) und an der CDK5/p25 (rechts)
Das Peptid-Rückgrat des Proteins ist als gelbes Band, die für die Interaktion wesentlichen Aminosäurereste sind türkis und der Inhibitor ist magenta dargestellt. Die gestrichelten Linien verdeutlichen Wasserstoffbrückenbindungen, welche während der Simulation der Moleküldynamik für 20 ns stabil waren.

Zu erkennen ist, dass an beiden Kinasen das Stickstoffatom des Grundgerüsts eine Wasserstoffbrückenbindung zum NH-Atom von Leu83 (CDK1) bzw. Cys83 (CDK5/p25) in der

hinge-Region ausbildet. Im Fall der GSK-3 β entsteht hier eine Wasserstoffbrücke zu Val135. Diese Bindung ist von essentieller Bedeutung für eine Hemmung der Kinasen^{23, 60, 201} und wird im Fall der Azaoxafluorene in beiden Orientierungsrichtungen des Moleküls ausnahmslos ausgebildet. Sie kann damit als Dreh- und Angelpunkt für den Übergang von einer Orientierung zur anderen angesehen werden. Aus der Abbildung 62 lässt sich außerdem entnehmen, dass sich der 3-Benzoyloxy-Substituent im Bereich der hydrophoben Bindungsregion befindet und mit dem Phenylring der *gatekeeper*-Aminosäure Phe80 hydrophobe Wechselwirkungen eingehen kann, was die Orientierung des Inhibitors bestärkt. Auch wenn an der GSK-3 β kein so voluminöser *gatekeeper* zur Verfügung steht, sind ebenso durch den Alkanrest von Leu132 ähnliche hydrophobe Interaktionen möglich, welches sich in vermindernder Affinitätskonstante an dieser Kinase bei Verbindung **24** im Enzymassay widerspiegelt (Kapitel 4.2).

Die Ausbildung einer zweiten nach Moleküldynamik-Simulation stabilen Wasserstoffbrücke zwischen dem H-Atom der 6-Hydroxyfunktion und dem Sauerstoffatom der Carbonylgruppe von Ile10 führt zu einer Interaktion mit dem *P-loop*. Dieser Peptid-Abschnitt, zu welcher Ile10 (CDK1 und CDK5/p25) bzw. Ile62 (GSK-3 β) gehören, ist verantwortlich für die Phosphatbindung des ATPs und für die Phosphatgruppen-Übertragung (Asp-Phe-Gly- oder DFG-Motiv) auf das Substrat. Der Substituent an Pos. 4 des Azaoxafluorens wechselwirkt ebenso mit dem *P-loop* wodurch Veränderungen an dieser Stelle zu unterschiedlichen biologischen Aktivitäten führen können. Geht man von einem eingeschränkten räumlichen Platzverhältnis in dieser Region aus, wird durch zusätzliche Substituenten an dem 4-Phenylring, z. B. einer Methoxygruppe, eine negative Auswirkung auf die Affinität wegen sterischer Hinderung messbar. Das kann die größtenteils an der CDK1, CDK5/p25 und GSK-3 β inaktiven 4-(2-Methoxyphenyl)-substituierten Zielverbindungen erklären.

Eine Stabilisierung des planaren Azaoxafluoren-Grundkörpers erfolgt ober- und unterhalb durch Van-der-Waals-Wechselwirkungen (z. B. durch Val118 und Leu188 der GSK-3 β (nicht dargestellt)) und indem der anellierte Benzolring am 1-Aza-9-oxafluoren in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region von Asp86 (CDK1 und CDK5/p25) bzw. Thr138 (GSK-3 β) eingerahmt wird.

Entgegengesetzt der Auffassung, dass eine Hydroxyfunktion an Pos. 6 und ein 3-Benzoyloxyrest essentiell für potente inhibitorische Aktivität der Azaoxafluorene sind, wurden nach Strukturmodifikationen die 3,6-Dihydroxy-Derivate **49** und **50** sowie das 6-Methoxy-Derivat **55** erhalten, welche im Kinaseinhibitionsassay als deutlich potentere Inhibitoren identifiziert worden sind. Ein weiterer Gegenstand der Dockingstudien war daher die Untersuchung deren Bindungsmodi, wobei im Folgenden zunächst der Austausch der 6-Hydroxyfunktion gegen eine Methoxygruppe betrachtet wird (Abbildung 63).

Hierbei wird die gleiche oben erläuterte Orientierung des Inhibitors, wie auch die essentielle Wasserstoffbrücke mit der Aminosäure der *hinge*-Region und die hydrophobe Interaktion des 3-Benzoyloxyrestes mit dem *gatekeeper* zur hydrophoben Bindungstasche hin beobachtet. Jedoch entfällt aufgrund der *O*-Methylierung die Möglichkeit zur Ausbildung der stabilisierenden Wasserstoffbrückenbindung zur Carbonylfunktion von Ile10 (CDK1 und CDK5/p25) bzw. Ile62 (GSK-3 β). Dies kann das deutliche Absinken der Affinität an der CDK1 und CDK5/p25 für das 6-Methoxy-Derivat **55** untermauern. Interessanterweise konnte für den gleichen Inhibitor im Kinaseinhibitionsassay ein starker Anstieg der Affinität zur GSK-3 β ($K_i = 0,02 \pm 2E-4 \mu\text{M}$) ermittelt werden, wobei die Ausbildung einer stabilen Wasserstoffbrücke zwischen der NH-Funktion von Arg141 und der 6-Methoxygruppe eine tragende Rolle spielt. Für das analog substituierte tetrazyklische Derivat **56** konnte diese Wechselwirkung nicht beobachtet werden. Vermutlich ist dafür ein leichtes Eindrehen des Moleküls notwendig, welches aber im Bereich von Thr138 durch den voluminöseren anellierten Benzolring am 1-Aza-9-oxafluoren sterisch verhindert wird.

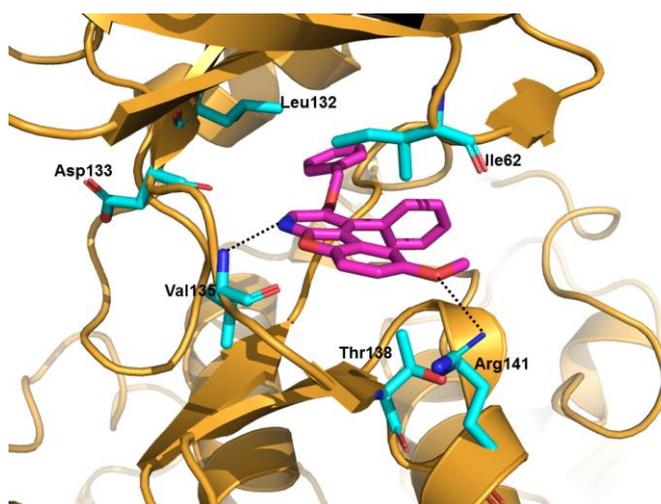


Abbildung 63: Bindungsmodus der Verbindung **55** an der GSK-3 β

Das Peptid-Rückgrat des Proteins ist als gelbes Band dargestellt. Die für die Interaktion wesentlichen Aminosäurereste sind türkis und der Inhibitor ist magenta hervorgehoben. Die gestrichelten Linien verdeutlichen Wasserstoffbrückenbindungen, welche während der Moleküldynamik-Simulation für 20 ns stabil waren.

Im Nachfolgenden wird der Bindungsmodus des potentesten Multikinaseinhibitors, dem 3,6-Dihydroxy-Derivat **49**, in der ATP-Bindungstasche der GSK-3 β betrachtet (Abbildung 64). Das Docking führte auch hier zur vormals genannten Ausrichtung des Inhibitors, wobei der 3-Hydroxy-Substituent in Richtung der hydrophoben Bindungsregion zeigt. Ebenfalls ist die essentielle Wasserstoffbrücke vom Ring-Stickstoff des 1-Aza-9-oxafluorens zum NH-Atom von Val135 zu finden. Einen signifikanten Beitrag zur hohen Bindungsaffinität an der GSK-3 β ($K_i = 0,02 \pm 2E-4 \mu\text{M}$) leistet zum einen die direkte Interaktion der 6-Hydroxygruppe mit der

NH-Funktion von Arg141, zum anderen eine Wasserstoffbrücke von der 3-Hydroxygruppe über ein inkorporiertes Wassermolekül (rote Kugel) zu Asp200 im hinteren Teil der ATP-Bindungstasche. Erstmals konnten im vorliegenden Fall drei stabile Wasserstoffbrücken identifiziert werden, in deren Folge ein optimales Vordringen des Inhibitors an die Adenin-Bindungsregion dirigiert wird.

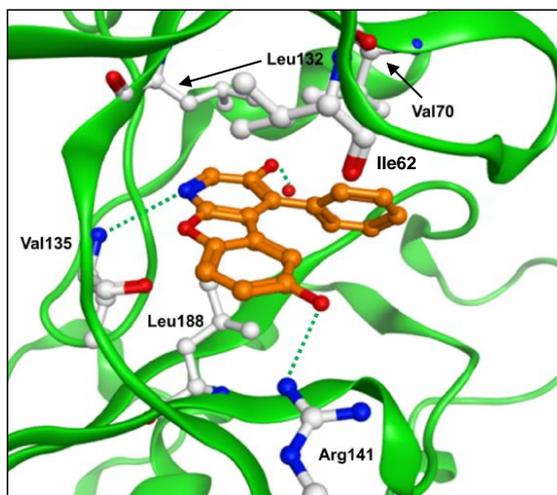


Abbildung 64: Bindungsmodus der Verbindung **49** an der GSK-3 β

Das Peptid-Rückgrat des Proteins ist als grünes Band, die für die Interaktion wesentlichen Aminosäurereste sind als „Ball-Stick-Modell“ und der Inhibitor ist gelb dargestellt. Die gestrichelten Linien verdeutlichen Wasserstoffbrückenbindungen, die nach Moleküldynamik-Simulation für 20 ns stabil waren.

Wird die Alkoholfunktion an Pos. 3 durch einen etwa ähnlich voluminösen Fluor-Rest ausgetauscht, sinkt die Affinität der resultierenden Verbindung **41** zur GSK-3 β um den Faktor 20 (Faktor 140 an der CDK1 bzw. Inaktivität an der CDK5/p25). Bei Annahme der gleichen Ausrichtung des Inhibitors in der ATP-Bindungstasche spielen daher weniger sterische Effekte als die durch die hohe Elektronegativität des Fluors vermittelten Einflüsse auf das Inhibitor-Molekül eine Rolle. Zum einen ist der Fluor-Substituent ein Wasserstoffbrückenakzeptor, zum anderen kann dessen starker Elektronenzug die Basizität (Ladungsdichte) des Ring-Stickstoffs vermindern und die essentielle Wasserstoffbrücke mit dem Rückgrat-NH von Val135 (Leu83 (CDK1)) instabil werden lassen (ggf. gar keine Ausbildung im Fall der CDK5/p25). Dies kann als attraktiver Anhaltspunkt einer Dockinguntersuchung angesehen werden, ebenso wie Studien an den 4-(2-Methoxyphenyl)-Derivaten, welche im Vergleich zu analog substituierten 4-Phenyl-Azaoxafluorenen in der Regel ohne nennenswerte Affinität zur GSK-3 β , CDK1/B und CDK5/p25 sind. Damit kann mögliches Interaktionspotential im Bereich des *P-loops* näher betrachtet werden, um daraus Vorschläge zu alternativen Substituenten, beispielsweise in Form von Heterozyklen, zu erarbeiten.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Tau-Proteinkinasen stellen aufgrund ihrer Schlüsselfunktionen bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen in Nervenzellen attraktive pharmakologische Zielstrukturen dar. Nach der Tau-Hypothese sind diese aufgrund von Deregulierungen an der Entstehung von hyperphosphoryliertem Tau beteiligt, in dessen Folge NFTs entstehen und zeitlich versetzt der Untergang des Neurons resultiert. Die NFTs gelten als histopathologisches Merkmal der Alzheimer Demenz und deren Häufung korreliert mit dem Stadium der AD. Folglich sind Tau-Proteinkinasen an der Entwicklung der Alzheimer Demenz beteiligt und gelten als potentielle Angriffspunkte für innovative Therapieoptionen, mindestens aber als Ansätze, das Verständnis der Pathogenese der Alzheimerschen Erkrankung zu verbessern. Neben den anfänglich mit der Tau-Hyperphosphorylierung assoziierten Kinasen CDK5 und GSK-3 β , werden heute ebenso die an der Kontrolle des Zellzyklus mitwirkenden CDKs 1, 2 und 4 sowie die MAP-Kinasen ERK2, JNK3 und p38- γ , die in Folge externer Stimuli aktiviert werden, als relevant erachtet.

Trotz der Identifikation von einer breiten Vielzahl an Verbindungen als Inhibitoren genannter Kinasen, befindet sich keiner im therapeutischen Einsatz bei der AD. Obwohl sich erste Vertreter in klinischen Studien befinden, sind, bei dem Hintergrund der multifaktoriellen Zusammenhänge, der benötigte Grad an Wirkstärke und die optimale Kinasen-Selektivität eines Wirkstoffkandidaten noch ungeklärt. Dies spiegeln auch die Forschungsergebnisse gescheiterter Verbindungen wider, bei denen in Studien zur Sicherheit der Wirkstoffe verstärkt auftretende unerwünschte Wirkungen beobachtet wurden. Aufgrund dessen sind einige hochpotente, monoselektive Inhibitoren für eine mögliche AD-Therapie bereits ausgeschlossen. Angesichts dieser Situation sind Erweiterungen des Spektrums an Leitstrukturen mit unterschiedlichen Wirkstärken und Selektivitätsprofilen zwingend erforderlich.

Die 1-Aza-9-oxafluorene stellen solch eine neue, interessante Inhibitor-Leitstruktur dar. Erste Vertreter hemmten die AD-assoziierten Kinasen CDK5/p25 und GSK-3 β sowie die CDK1/B in unteren mikromolaren bzw. oberen nanomolaren Konzentrationen ohne dabei zytotoxische Eigenschaften zu besitzen.

Im Rahmen dieser vorliegenden Arbeit sollten zunächst neuartig substituierte 6-Hydroxy-4-phenyl-1-aza-9-oxafluorene unter Beibehaltung des 3-Benzyl- und des 3-Ethylester-Restes, welche in Vorarbeiten als bedeutende Strukturmerkmale selektiver biologischer Wirksamkeit definiert wurden, entstehen. Die Grundlage hierfür bildete die in unserer Arbeitsgruppe

etablierte 2-Stufen-Synthese. Ausgehend von 3-substituierten Pyridinen konnten durch die regioselektive Grignard-Reaktion nach *Comins* unsymmetrisch 3,4-disubstituierte *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine erhalten werden, die als Edukte zur Synthese der 1-Aza-9-oxafluorene benötigt wurden. Diese wurden mit unterschiedlich substituierten *p*-Benzochinonen in einer "Ein-Topf-Reaktion" nach *Voigt* durch Cycloaddition mit anschließender Oxidation zu einer Serie 5-, 7- bzw. 8-(di)substituierter trizyklischer 1-Aza-9-oxafluorene umgesetzt. Die Verwendung von 1,4-Naphthochinon und -derivaten brachte hierbei erstmalig tetrazyklische Vertreter, die 1-Aza-11-oxafluorene, hervor. Eine Erweiterung der Substanzbibliothek bzgl. 3-Carbonylamid-substituierter 6-Hydroxy-4-phenyl-1-aza-9-oxafluorene wurde mittels Aminolyse der 3-Ethylester-Ausgangsverbindung **27** realisiert. Zusätzlich konnte aufgezeigt werden, dass die 2-Stufen-Synthese als zeitsparende Alternativroute zur Darstellung von 3-Carbonylamid-Derivaten dienen kann.

Die Testung der neuen Verbindungen im ³³PanQinase® Assay (getestete Kinasen: CDK1/B, CDK2/E, CDK4/D, CDK5/p25, GSK-3 β , ERK2, JNK3 und p38- γ) zeigte, dass nahezu alle Vertreter die untersuchten Kinasen im unteren mikromolaren, einige im submikromolaren Konzentrationsbereich hemmen. Das Selektivitätsprofil sowie die Stärke der Kinaseinhibition werden einerseits durch die Größe der Substituenten an Pos. 5, 7 bzw. 8 des planaren 1-Aza-9-oxafluoren-Grundgerüsts, andererseits durch den Substituenten an Pos. 3 beeinflusst, wobei sich die 3-Benzoyloxy-Derivate als die potenteren Inhibitoren etablierten. Mit Ausnahme der JNK3 gilt sowohl für die 3-Benzoyloxy-, als auch für die 3-Ethylester-Zielstrukturen, dass eine Verbindung an allen getesteten Kinasen umso wirksamer ist, je voluminöser der Rest am ankondensierten Benzolring des 1-Aza-9-oxafluorens ist. Somit stellen die tetrazyklischen Derivate **24** und **31** die potentesten Multikinaseinhibitoren des ersten Teils dar, wobei die Verbindung **24** eine gewisse nanomolare CDK1/B-Selektivität besitzt. Zusätzliche Substituenten am Tetrazyklus führen wiederum zur Verminderung der Aktivität.

Im zweiten Teil der Arbeit ist es gelungen weitere variierte Zielstrukturen zu synthetisieren. Ausgehend von den potenten 3-Benzoyloxy-substituierten Inhibitoren **20** (Trizyklus) und **24** (Tetrazyklus), entstanden durch *O*-Methylierung und/oder *O*-Debenzylierung 6-Methoxy-, 3,6-Dihydroxy-, 3-Hydroxy-6-methoxy- und 3,6-Dimethoxy-Derivate, um die Auswirkung veränderter Molekülgröße bzw. den Einfluss von veränderten Möglichkeiten zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu untersuchen. Desweiteren wurde im 4-Phenylring eine 2-Methoxygruppe eingefügt und analog der zuvor genannten Schritte diese als trizyklische bzw. tetrazyklische Vertreter variiert. Damit konnte der Einfluss des Substituenten an Pos. 4 bewertet werden. Im weiteren Verlauf entstanden 3-Fluor-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene, womit ein starker elektronischer Einfluss auf das Ringsystem bei kleinerem Molekülrest an

Pos. 3 untersucht werden konnte. Für die Darstellung der 3-Hydroxymethyl-Derivate **47** und **48** konnten durch Optimierung des Reaktionsschrittes zum Silylether-geschützten Intermediat beschleunigte Umsetzungen in höheren Ausbeuten erfolgreich realisiert werden.

Die Testung (³³PanQinase[®] Assay) einer breiten Auswahl der im zweiten Teil synthetisierten Verbindungen verdeutlichte, dass kleinste Veränderungen im Substitutionsmuster zu starken Veränderungen der Wirkstärke und des Selektivitätsprofils führen. Es wurde ein uneinheitliches Wirkprofil vorgefunden, welches kaum allgemeingültige Aussagen zur Struktur-Wirkungsbeziehung zulässt. Trotzdem lieferte auch diese Untersuchung interessante Ergebnisse.

So bewirkte eine Methoxygruppe an Pos. 6 bei **55** eine Verschiebung des Hemmmusters zu Gunsten der GSK-3 β , JNK3 und p38- γ mit K_i -Werten in unteren nanomolaren Konzentrationen. Die Kombination aus 3-Hydroxy- und 6-Methoxy-Funktion stellte sich hingegen als ungünstig heraus, da nur schwach- bis unwirksame Verbindungen entstanden. Ebenso wurde mit den 3,6-Dimethoxy-substituierten Derivaten keine Verbesserung der Hemmeigenschaften erreicht, obgleich **65** ein moderat wirksamer monoselektiver ERK2-Inhibitor ist. Als potenteste Multikinaseinhibitoren konnten die 3,6-Dihydroxy-4-phenyl-Derivate **49** und **50** (Tri- bzw. Tetrazyklus) identifiziert werden. Bei den 3,6-Diolen wurde zusätzlich beobachtet, dass kleinere Substituenten am ankondensierten Benzolring des 1-Aza-9-oxafluorens die Wirksamkeit verschlechtern. Bemerkenswert ist allerdings, dass sich hier das 5,7-Dimethoxy-Derivat **54** als ein JNK3-monoselektiver Inhibitor darstellt. Ein Methylen-Spacer zwischen Trizyklus und Hydroxyfunktion an Pos. 3 führte zum Verlust der Hemmaktivität an wichtigen AD-assoziierten Kinasen (CDK1/B, CDK5/p25 und GSK-3 β). Ebenso wurden für die Verbindungen mit elektronenziehenden Fluor-Rest verminderte Affinitäten zu den Kinasen festgestellt, wobei trotzdem das 3-Fluor-1-Aza-9-oxafluoren **41** ein dualer Inhibitor der CDK1/B und GSK-3 β ist. Eine Methoxygruppe in Pos. 2' führt in der Regel zu wenig wirksamen bis inaktiven Verbindungen und wird daher als ungünstig angesehen. Lediglich im trizyklischen 3,6-Dihydroxy-Derivat **51** und im 6-Methoxy-1-aza-11-oxafluoren **26** wird dieser toleriert und resultiert in CDK1/B-selektiven Verbindungen mit schwächerer Wirksamkeit an der ERK2.

Durch Dockinguntersuchungen in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. W. Sippl am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg konnten Informationen zum Bindungsmodus des potenten Kinaseinhibitors **24** gewonnen werden. Hier wurde ein zu ersten Dockingstudien inverser Bindungsmodus gefunden, der die kinaseinhibitorische Wirkung dieser Verbindung unterstreicht. Bestätigt wurde diese Orientierung durch Dockingexperimente mit dem 3,6-Dihydroxy-Derivat **49** und dem 6-Methoxy-Derivat **55**.

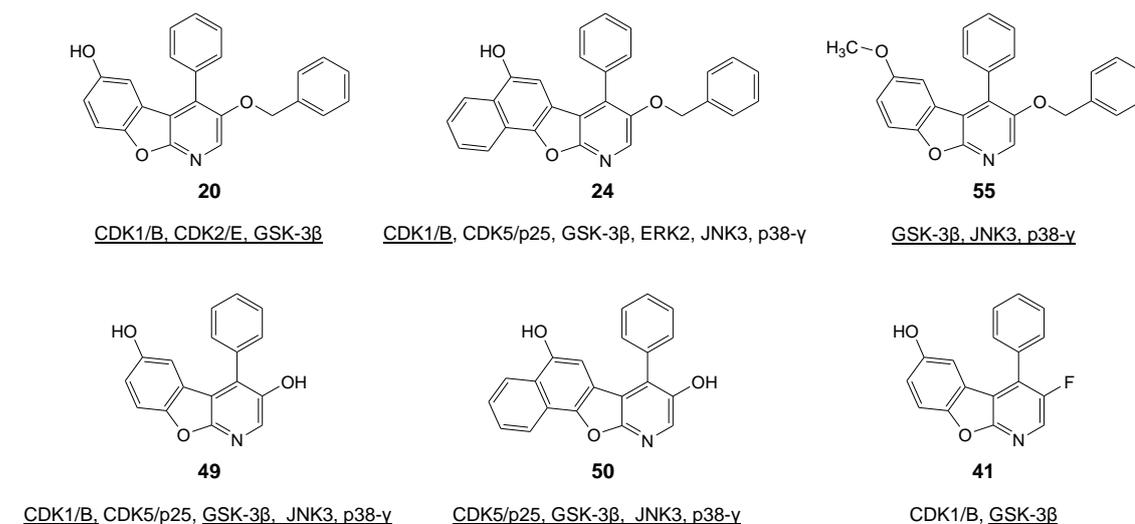


Abbildung 65: Ausgewählte Verbindungen für bioanalytische Untersuchungen

Die angegebenen Kinasen stellen die bevorzugten Targets der Inhibitoren dar (abgeleitet aus dem Kinaseinhibitionsassay). An den unterstrichenen Kinasen wurden jeweils die höchsten Affinitäten beobachtet, wobei im Fall mehrerer Enzyme an diesen annähernd gleiche K_i -Werte ermittelt wurden.

Sechs interessante Multikinaseinhibitoren (Abbildung 65), welche durch den Kinaseinhibitionsassay identifiziert wurden, werden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe um PD Dr. M. Holzer am Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung der Universität Leipzig hinsichtlich der Zelltoxizität und Membrangängigkeit sowie der Hemmung der Tau-Phosphorylierung in transfizierten murinen N2A Neuroblastomzellen, welche das humane Tau-Protein exprimieren, untersucht. Zur Bestimmung möglicher toxischer Eigenschaften der Inhibitoren kommt zum einen der MTT-Test zur Überprüfung der mitochondrialen Dehydrogenase-Aktivität und zum anderen ein Lactatdehydrogenaseassay zur Feststellung der Zellmembranintegrität zum Einsatz. Für die Membrangängigkeit und Ermittlung der effektiven wirksamen Konzentration nach Inkubation mit dem Inhibitor dient anschließend die Western-Blot-Analyse der Tau-Phosphorylierung mithilfe phosphorylierungsabhängiger Antikörper.

In naher Zukunft sollen die Wirksamkeit und die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke der Substanzen in tierexperimentellen Studien mit transgenen Mäusen mittels Verhaltenstestung der sensomotorischen Fähigkeiten sowie biochemischen und histologischen Untersuchungen des Gehirns bestätigt werden.

Ausgehend der in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen sollten in zukünftigen fortführenden Arbeiten weitere variierte Zielstrukturen mit 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluoren-Grundgerüst entstehen, um wirksame Derivate mit definierterem Selektivitätsprofil zu erhalten und weitere Struktur-Wirkungsbeziehungen ableiten zu können.

Die Einführung eines Heterozyklus mit vergleichbarem Raumvolumen eines Phenylringes an Pos. 4 stellt einen interessanten Ansatz dar, um damit die Ausbildung von Wasserstoffbrücken

zum P-loop der Kinasen zu untersuchen. Beispielhaft könnten hier Azine mit verschiedener Anzahl an Stickstoffatomen und unterschiedlicher Positionierung dieser die Substanzbibliothek sinnvoll erweitern. Durch Halogen-Metall-Austausch nach *Knochel*²⁰⁶ könnte ein Iod-substituiertes Azin mithilfe von Isopropylmagnesiumchlorid als ein *in situ* hergestelltes Grignard-Reagenz bei der Darstellung von 1,4-Dihydropyridinen zum Einsatz kommen, die im Anschluss zu den 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluoren umgesetzt werden.

Zur Überprüfung, ob eine zweite stabile Wasserstoffbrücke an der Adenin-Bindungsregion der ATP-Bindungstasche ausgebildet werden kann, um damit die Affinität der Inhibitoren zu den Kinasen zu erhöhen, würde eine Hydroxygruppe an Pos. 7 bzw. 8 im 1-Aza-9-oxafluoren eine geeignete Variation darstellen. Ähnlich der Aminofunktion im Adenin-Teil des ATP könnte eine OH-Gruppe eine zweite klassische Wasserstoffbrücke mit einem Sauerstoffatom einer Carbonylfunktion des Protein-Rückgrats eingehen. Die Zugänglichkeit wäre ebenso über die 2-Stufen-Synthese möglich, indem das 2-Benzoyloxy-*p*-Benzochinon verwendet werden würde und abschließend das entstehende 1-Aza-9-oxafluoren *O*-debenzyliert wird.

Ein weiterer attraktiver Ansatz ist die Modifikation an Pos. 6. Die *O*-Methylierung führte bereits bei Verbindung **55** zu einem hochpotenten Multikinaseinhibitor an der GSK-3 β -, JNK3- und p38- γ . Diesbezüglich sollte geprüft werden inwieweit durch größere Alkoxy-Reste eine weitere Steigerung der Wirksamkeit bzw. Selektivitätsbeeinflussung möglich ist. Andere Derivatisierungen der 6-Hydroxyfunktion in Form von Acyl- oder Sulfoxyl-Gruppen bieten ebenfalls Spielraum für neue Variationen. Da die benzoanellierten 1-Aza-9-oxafluorene in der Regel als die stärker wirksamen Verbindungen identifiziert wurden, sollte versucht werden am Grundgerüst des 1-Aza-11-oxafluorens in Pos. 8 und/oder 9 Substituenten einzufügen bzw. beispielsweise bei Verwendung von Phenanthren-1,4-dion die Darstellung eines um einen weiteren Benzolring vergrößerten Pentazyklus zu realisieren.

Darüber hinaus sollten weiterhin Dockinguntersuchungen und molekulares Modellieren herangezogen werden, um durch computergestützte Methoden die vielversprechenden Leitstrukturen zu optimieren und Einblicke in die Struktur-Wirkungsbeziehungen zu vertiefen.

6 Experimenteller Teil

6.1 Synthese und Charakterisierung der Verbindungen

6.1.1 Methoden, Geräte und Chemikalien

6.1.1.1 Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzpunkte/-bereiche erfolgte an einem *Boetius-Heiztischmikroskop* (*VEB Wägetechnik Rapido Radebeul/VEB Kombinat NAGEMA*). Es handelt sich um nicht korrigierte Werte.

6.1.1.2 NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren für ^1H -NMR mit 400 MHz Arbeitsfrequenz und ^{13}C -NMR mit 100 MHz wurden an einem *Gemini 2000* (*Varian*) teilweise an einem *VNMRS 400* (*Agilent Technologies*) aufgenommen. Die Aufnahmen der ^1H -NMR-Spektren mit 500 MHz Arbeitsfrequenz und ^{13}C -NMR mit 125 MHz erfolgten an einem *Inova Unity 500* (*Varian*). Als innerer Standard diente das Restresonanzsignal des verwendeten deuterierten Lösungsmittels. Die Auswertung und Interpretation der NMR-Spektren erfolgte mit dem Programm *Mestrec 4.9.9.9* (*Mestrelab Research, 2006*) und dem Spektrensimulationstool des Programms *ChemDraw Ultra 9.0* (*CambridgeSoft, Cambridge, USA, 2004*). Gegebenenfalls wurde die Zuordnung der Signale durch die Aufnahme von 2D-Spektren (^1H , ^1H -COSY) abgesichert.

Als Lösungsmittel dienten Aceton- d_6 , CDCl_3 bzw. DMSO- d_6 . Das Löschen (Quenchen) von Resonanzsignalen austauschbarer Protonen (Protonen-Deuteronen-Austausch) erfolgte durch Zugabe kleiner Volumina D_2O oder Methanol- d_4 .

^1H -NMR

Es sind zunächst die Arbeitsfrequenz und das verwendete deuterierte Lösungsmittel angegeben. Zu jedem Signal ist die chemische Verschiebung δ in ppm (*parts per million*) sowie in Klammern die Multiplizität, die integrierte Protonenanzahl, die Kopplungskonstante J in Hz und die chemische Zuordnung angegeben. Dabei gelten für die Multiplizitäten folgende Abkürzungen: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), m (Multipllett) und br (breites

Signal). Gegebenenfalls werden Kombinationen von Multiplizitäten, z. B. dd (Doppeldublett), verwendet und unscharfe Signale mit Anführungszeichen gekennzeichnet.

¹³C-NMR

Es sind zunächst die Arbeitsfrequenz und das verwendete deuterierte Lösungsmittel angegeben. Zu jedem Signal ist die chemische Verschiebung δ in ppm (*parts per million*) sowie in Klammern die chemische Zuordnung angegeben.

6.1.1.3 Massenspektrometrie

Die EI-Massenspektren wurden an einem *AMD 402 (AMD Intectra GmbH)* mit einer Ionisierungsenergie von 70 eV aufgenommen. Nach der Massenzahl wird die Mengenverteilung der Massensignale relativ zum größten Signal in Prozent und die chemische Interpretation angegeben.

Die ESI-Massenspektren wurden an einem *Finnigan LCQ Classic (Thermo Electron)* aufgenommen, wobei die Ionisierung in einem Elektronenspray bei 4,5 kV positiv und negativ erfolgte.

6.1.1.4 IR-Spektroskopie

Die ATR-Spektren wurden an einem FT-IR-Spektrometer *IFS 28 (Bruker Optik)*, die KBr-Spektren an einem FT-IR-Spektrometer *Spectrum BX (Perkin-Elmer)* gemessen. Für jedes Signal ist die Wellenzahl $\tilde{\nu}$ in cm^{-1} , die Intensität und in Klammern die chemische Interpretation angegeben. Die Abkürzungen bedeuten dabei: s = *strong* (stark), m = *medium* (mittel), w = *weak* (schwach), br = *broad* (breit) und sh = *shoulder* (Schulter). Bei der chemischen Interpretation steht C=C zusammenfassend für die Gerüstschwingung aromatischer Ringe.

6.1.1.5 Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden an einem *CHNS-932* Analyseautomaten (*LECO-Corporation*) durchgeführt, wobei der Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt im automatischen Mikroverfahren gemessen wurde.

6.1.1.6 Chromatographie

6.1.1.6.1 Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie wurde verwendet um Reaktionsverläufe zu überwachen und erste Bewertungen zur Identität und Reinheit isolierter Zwischen-, Neben- und Endprodukte abgeben zu können. Dafür standen Aluminiumfolien der Firma *Merck KGaA* zur Verfügung, welche mit Kieselgel 60 und dem Fluoreszenzindikator F₂₅₄ beschichtet sind. Die zu untersuchenden Substanzen/Substanzgemische wurden in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und mittels feiner Glaskapillaren aufgetragen. Als mobile Phase kamen Lösungsmittelgemische zum Einsatz, die in den jeweiligen Substanz-Charakterisierungen angegeben sind. Die Entwicklung erfolgte in Chromatographiekammern unter Kammersättigung. Nach Trocknung der Folien erfolgte die Detektion durch Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 366 nm. Hier wurden die Eigenfluoreszenzen bzw. die fluoreszenzlöschenden Eigenschaften der Verbindungen ausgenutzt. Angegeben sind die R_F-Werte (Laufhöhe relativ zur Lösungsmittelfront).

6.1.1.6.2 Präparative Dünnschichtchromatographie

Zum Teil wurden zur Trennung und Aufreinigung kleiner Substanzmengen (< 50 mg) PSC-Glasplatten der Firma *Merck KGaA* (Kieselgel 60 mit Fluoreszenzindikator F₂₅₄, Schichtdicke 0,5 bzw. 1 mm, 20x20 cm) verwendet.

6.1.1.6.3 Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie diente zur Trennung und Aufreinigung der Zwischen-, Neben- und Endprodukte und wurde bei Normaldruck an Kieselgel 60 F₂₅₄ der Firma *Merck KGaA* mit einem Korngrößenbereich von 63-200 µm durchgeführt. Die verwendeten Elutionsmittel sind in den jeweiligen Substanzbeschreibungen angegeben.

6.1.1.7 Verwendete Chemikalien und Lösungsmittel

Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel wurden nach literaturbekannten Methoden¹⁹⁵ getrocknet und frisch destilliert.

Chemikalien

Zur Synthese der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Verbindungen wurden folgende Chemikalien verwendet. Diese wurden entweder aus den Beständen des Instituts für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg bezogen oder kommerziell erworben (Bezugsquellen in Klammern).

1,4-Naphthochinon (*Sigma-Aldrich*)
2,6-Dimethoxy-1,4-benzochinon (*Sigma-Aldrich*)
2-Bromhydrochinon (*Sigma-Aldrich*)
2-Chlor-1,4-benzochinon (*Sigma-Aldrich*)
2-Methoxyhydrochinon (*Sigma-Aldrich*)
2-Methoxyphenylmagnesiumbromid 1 M in THF (*Sigma-Aldrich*)
2-Methyl-1,4-benzochinon (*Sigma-Aldrich*)
3-Fluorpyridin (*Sigma-Aldrich*)
3-Hydroxypyridin (*Sigma-Aldrich*)
Aceton
Aceton-D6 (*Euriso-Top*)
Acetylchlorid (*Acros Organics*)
Ammoniak 32 % (*Grüssing*)
Ammoniumchlorid (*Grüssing*)
Anilin
Benzylamin
Benzylchlorid
CDCl₃ (*Euriso-Top*)
Chloroform
Cyclohexan (*Grüssing*)
Dichlormethan (*Carl Roth*)
Diethylamin (*Sigma-Aldrich*)
Diethylether
Dioxan (*Carl Roth*)
Dipropylamin (*Sigma-Aldrich*)
DMSO-d₆ (*Euriso-Top*)
D₂O (*Euriso-Top*)
Essigsäureethylester (*Carl Roth*)
Ethanol
Ethylamin 70 % (*Sigma-Aldrich*)

Ethylendiamin (*Sigma-Aldrich*)
Ethylnicotinat (*Lancaster*)
Fluorwasserstoffsäure 40 % (*Sigma-Aldrich*)
Imidazol (*Sigma-Aldrich*)
Iodmethan
Kaliumhydroxid
Kupfer-(I)-iodid
Lithiumaluminiumhydrid 1 M in THF (*Sigma-Aldrich*)
Lithiumchlorid
Magnesiumsulfat, wasserfrei
Methanol
Methanol-d4 (*Sigma-Aldrich*)
Natrium (*Riedel-de Haën*)
Natriumchlorid (*Grüssing*)
Natriumhydrid 60%ige Suspension in Paraffinöl
Natriumhydroxid (*Grüssing*)
Natriumsulfat, wasserfrei (*Grüssing*)
Palladium an Aktivkohle 10 % (*Sigma-Aldrich*)
p-Benzochinon (*Sigma-Aldrich*)
Perchlorsäure 70 %
Petroleumbenzin 30/80 (*Grüssing*)
Phenylmagnesiumchlorid 2 M in THF (*Sigma-Aldrich*)
Propylamin (*Sigma-Aldrich*)
Pyridin
Salzsäure 37 % (*Grüssing*)
Seesand (*VK Labor- und Feinchemikalien*)
Silbernitrat
tert-Butyldimethylsilylchlorid (*Sigma-Aldrich*)
Tetrabutylammoniumbromid (*Acros Organics*)
Tetrahydrofuran (*Grüssing / Sigma-Aldrich*)
Thionylchlorid (*Acros Organics*)
Toluol

6.1.2 Beschreibung der Verbindungen

6.1.2.1 Allgemeine Angaben

Alle feuchtigkeits- und/oder luftempfindlichen Reaktionen wurden unter Argon-Atmosphäre in unter Vakuum ausgeheizten Apparaturen durchgeführt.

6.1.2.2 Allgemeine Arbeitsanweisungen

AAV 1

Darstellung der Nicotinsäureamide (Aminolyse von Carbonsäurechloriden)

6,16 g (50 mmol, 1 eq.) Nicotinsäure wurden mit 36,3 ml (0,5 mol, 10 eq.) Thionylchlorid versetzt und für 3 h unter Argon-Atmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Die zunächst weiße Suspension veränderte sich zu einer gelblichen Lösung. Der Überschuss an Thionylchlorid wurde auf dem Wasserbad abdestilliert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden letzte Reste an Thionylchlorid durch Zugabe von 30 ml trockenem Toluol und anschließender vollständigen Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Dieser Schritt wurde 2-mal wiederholt. Der weiß-graue Rückstand im Kolben wurde in 30 ml trockenem Dioxan suspendiert und nachfolgend mittels eines Tropftrichters langsam ein Gemisch aus 30 ml trockenem Dioxan, 4,5 ml (55 mmol, 1,1 eq.) wasserfreiem Pyridin und 55 mmol (1,1 eq.) des primären bzw. sekundären Amins zugetropft. Der Ansatz wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei nahezu allen verwendeten Aminen tritt eine Farbveränderung der Suspension im Reaktionsverlauf von weiß-grau zu gelb auf. Lediglich im Falle des Anilins wurde eine Veränderung der Färbung von gelb-grau zu orange beobachtet. Nach Abschluss der Reaktion wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer (*i. v.*) eingengt und der verbliebene Rückstand in 100 ml Chloroform gelöst. Nach dem Überführen in einen Scheidetrichter wurde 2-mal mit jeweils 50 ml 0,1 M HCl und einmal mit 50 ml Aqua dest. gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und *i. v.* zur Trockene eingengt. Die sekundären Amide **3**, **4** und **5** kristallisierten im Kolben aus und wurden umkristallisiert. Die tertiären Amide **6** und **7** wurden als ölige Rohprodukte säulenchromatographisch aufgereinigt. Die verwendeten Lösungsmittel bzw. Eluenten sind in den Substanzbeschreibungen aufgeführt.

AAV 2*Darstellung der N-Acetyl-1,4-dihydropyridine (Grignard-Addition)*

1 eq. des entsprechenden an Pos. 3 substituierten Pyridins, 0,1 eq. Kupfer-(I)-iodid und 0,2 eq. Lithiumchlorid wurden bei Raumtemperatur in 150 ml frisch destilliertem, trockenem THF unter Argon-Atmosphäre gelöst. Abhängig vom eingesetzten Pyridinderivat resultierten klare, gelbliche bis gelbe Lösungen. Im Anschluss wurde der Kolben in einem Methanol/Isopropanol-Kältebad mithilfe von Trockeneis auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ heruntergekühlt. Diese Temperatur wurde während der nächsten Schritte konstant gehalten. Es wurde mittels einer Spritze langsam 1 eq. frisch destilliertes Acetylchlorid zugetropft. Die Lösungen verfärbten sich dabei intensiv dunkelrot. Zur vollständigen Bildung der *N*-Acetylpyridinium-Zwischenverbindung wurde für 15 Minuten gerührt. Anschließend wurde langsam, ebenfalls mit einer Spritze, 1 eq. des entsprechenden Grignard-Reagenzes zugetropft. Gegebenenfalls wurde bis zum vollständigen Verschwinden der Rotfärbung ein leichter Überschuss benötigt. Nach weiteren 15 Minuten wurde der Kolben aus dem Kältebad genommen und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Unabhängig vom eingesetzten Pyridinderivat resultierte immer eine gelbe Lösung. Der Ansatz wurde in einen Scheidetrichter überführt und mit 100 ml wässriger Ammoniumchloridlösung 20 % (m/v) hydrolysiert und nachfolgend 3-mal mit Ether (100/100/50 ml) extrahiert. Im Anschluss wurden die vereinten organischen Phasen mit jeweils 100 ml ammoniakalischer Ammoniumchloridlösung (500 ml Ammoniumchloridlösung 20 % (m/v) und 500 ml konz. Ammoniak), Aqua dest., 10%iger Salzsäure (2-mal), Aqua dest. und einer gesättigten wässrigen Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt. Die dazu verwendeten Elutionsmittel sind in den Substanzbeschreibungen aufgeführt. Nahezu alle *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine, mit Ausnahme von **14**, konnten aus absolutem Methanol kristallisiert werden.

AAV 3*Darstellung der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene (Cycloaddition und Oxidation)*

1 eq. des entsprechenden 1,4-Dihydropyridins wurde in einem möglichst geringen Volumen frisch destilliertem, trockenem Dioxan unter Argon-Atmosphäre gelöst. Nach Zugabe von 1,23 eq. des entsprechenden 1,4-Benzo-/1,4-Naphthochinons wurde mittels eines Tropftrichters langsam ein Gemisch aus Dioxan und Perchlorsäure (70 %) zugetropft. Das Mischungsverhältnis und das Gesamtvolumen sind in den Substanzbeschreibungen angegeben. Charakteristisch für alle Umsetzungen war die Verfärbung der Reaktionsansätze innerhalb der ersten 24 Stunden zu weinroten Lösungen und im weiteren Verlauf der Reaktionen eine Farbveränderung zu braun-schwarz. Erste dünnschichtchromatographische Kontrollen nach 1 – 2 Tagen ergaben im Fall der leicht oxidierbaren 1,4-Dihydropyridine mit 3-Benzoyloxyfunktion in der Regel 2 Hauptprodukte: ein höher laufender blau fluoreszierender *spot* (1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluoren) und ein tiefer laufender fluoreszenzlöschender *spot* (3,4-disubstituiertes Pyridin). Daraufhin wurde der Ansatz aufgearbeitet. Waren neben den genannten *spots* noch Eduktspuren oder eine weitere etwa auf Höhe des Eduktes laufende fluoreszenzlöschende Verbindung (1,4,4a,9a-Tetrahydro-1-aza-9-oxafluoren bzw. 1,4,4a,11a-Tetrahydro-1-aza-11-oxafluoren) detektierbar, wurde, in Abhängigkeit vom Vorhandensein des Chinons auf der DC-Folie, 1/3 der Ausgangsmenge des 1,4-Benzo-/1,4-Naphthochinons hinzugegeben. Im Fall der 1,4-Dihydropyridine mit 3-Fluor- und 3-Carbonylfunktion wurde dieser Schritt ggf. mehrmals wiederholt, bis nach DC-Kontrolle die Reaktion abgebrochen werden konnte.

Zur Aufarbeitung wurde der Reaktionsansatz mit 20 ml Aqua dest. je 50 ml Dioxan versetzt, mit 1 M NaOH auf pH 8 – 9 eingestellt und in einen Scheidetrichter überführt. Anschließend wurde 3-mal mit dem halben Volumen Chloroform extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) wurde der verbleibende braun-schwarze, ölige Rückstand mittels Säulenchromatographie aufgetrennt und soweit möglich die Produkte auskristallisiert. Die verwendeten Eluenten bzw. Lösungsmittel sind in den Substanzbeschreibungen angegeben.

AAV 4

Darstellung der 1-Aza-9-oxafluorene mit 3-Carbonsäureamidfunktion (Aminolyse von Carbonsäureethylestern)

50 mg (0,15 mmol, 1 eq.) der Verbindung **27** wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 20 ml 40%iger Lösung des entsprechendenamins versetzt. Im Fall von Ethylamin, Propylamin, Ethylendiamin, Benzylamin und Diethylamin wurden wässrige Aminlösungen, im Fall von Anilin und Dipropylamin wurden methanolische Aminlösungen verwendet. Bis auf den Anilin-Versuch, welcher dunkelrot gefärbt war, waren alle Ansätze klare, gelbe Lösungen. Die Ansätze wurden im Kühlschrank bei 5 °C aufbewahrt, gelegentlich umgeschüttelt und regelmäßig dünnschichtchromatographisch überprüft. War das Edukt nicht mehr detektierbar, wurde aufgearbeitet. Dazu wurde der Reaktionsansatz mit 0,5 M HCl neutralisiert, in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 30 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) wurde der verbleibende Rückstand umkristallisiert oder mittels Säulenchromatographie aufgereinigt und auskristallisiert. Die verwendeten Eluenten bzw. Lösungsmittel sind in den Substanzbeschreibungen aufgeführt.

AAV 5

Darstellung der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene mit 6-Methoxy- bzw. 3,6-Dimethoxy-Funktion(en) (WILLIAMSON-Ethersynthese bzw. O-Methylierung)

1 eq. des entsprechenden 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorens wurde in 2–5 ml frisch destilliertem, trockenem THF bei Raumtemperatur unter Argon-Atmosphäre gelöst. Danach wurde der Kolben in einem Eisbad auf 0 °C heruntergekühlt und unter Rühren ein 7-molarer Überschuss je Hydroxyfunktion an Natriumhydrid in Paraffinöl (60%ig) zugegeben. Der Ansatz wurde 15 Minuten bei 0 °C und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasbildung mehr erkennbar war (H₂ ↑). Im Anschluss wurde mittels einer Mikroliter-Spritze ein 3-molarer Überschuss je Hydroxyfunktion an Iodmethan zugegeben. Nach 2–6 Stunden Rühren bei Raumtemperatur war die Umsetzung abgeschlossen und zum Ansatz wurden 10 ml Eiswasser gegeben. Nach Überführung in einen Scheidetrichter wurde 3-mal mit Chloroform (10/10/5 ml) extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit 15 ml Aqua dest. gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der bräunliche, wachsartige Rückstand wurde

säulenchromatographisch aufgereinigt und auskristallisiert. Die verwendeten Eluenten bzw. Lösungsmittel sind in den Substanzbeschreibungen angegeben.

AAV 6

Darstellung der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene mit 3-Hydroxy- bzw. 3,6-Dihydroxyfunktion(en) (O-Debenzylierung)

1 eq. des entsprechenden 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorens wurde in 20 ml frisch destilliertem, trockenem Methanol bei Raumtemperatur gelöst. Gegebenenfalls wurde bei schlechter Löslichkeit der Edukte bis zur vollständigen Auflösung schrittweise 1 ml THF zugegeben. Die Lösung wurde in ein Überdruck-geeignetes Hydriergefäß überführt und mit 0,3 eq. Palladium auf Kohle (10 %) versetzt. Der Ansatz wurde unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre auf einem Laborschüttler kontinuierlich bewegt, bis nach 2–5 Stunden die Umsetzung abgeschlossen war. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst mithilfe eines Papierfilters grob vom Pd/C-Katalysator getrennt und im Anschluss daran durch Kieselgelfiltration (5 cm Füllhöhe) vollständig davon befreit. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt und das Produkt auskristallisiert. Ggf. erfolgte zuvor die säulenchromatographische Auftrennung. Die verwendeten Lösungsmittel bzw. Eluenten sind in den Substanzbeschreibungen aufgeführt.

AAV 7

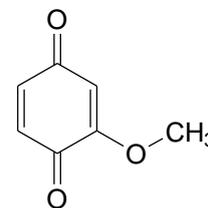
Darstellung der 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorene mit 3-Hydroxymethylfunktion (Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid)

1 eq. des entsprechenden („geschützten“) 1-Aza-9- bzw. 1-Aza-11-oxafluorens wurde unter Argon-Atmosphäre in 10 ml frisch destilliertem, trockenem THF gelöst. Der Kolben wurde im Methanol/Isopropanol-Kältebad auf -10 °C heruntergekühlt. Im Anschluss wurden mit einer Spritze langsam 3 eq. Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF) zugetropft. Der Ansatz wurde bei -10 °C für 2 h gerührt, wobei sich in allen Fällen die Farbe der Lösung allmählich von gelblich zu gelb-orange veränderte. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz mit 30 ml Eiswasser versetzt und nach Erwärmen auf Raumtemperatur in einen Scheidetrichter überführt. Im Anschluss erfolgte 3-mal die Extraktion mit jeweils 20 ml Chloroform. Die vereinte organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der verbleibende beige, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt und das resultierende Produkt auskristallisiert. Die verwendeten Eluenten bzw. Lösungsmittel sind in den Substanzbeschreibungen angegeben.

6.1.2.3 Synthese kommerziell nicht erhältlicher 1,4-Benzo-/1,4-Naphthochinone

2-Methoxy-1,4-benzochinon

Verbindung: **1c**
 Summenformel: $C_7H_6O_3$
 Molgewicht: 138,12 g/mol
 Darstellung:



3 g (21,4 mmol, 1 eq.) 2-Methoxy-1,4-hydrochinon wurden zu 300 ml einer wässrigen Natriumperiodatlösung (15,1 g, 70,6 mmol, 3,3 eq.) gegeben und bei Raumtemperatur kräftig geschüttelt. Nach 1 Stunde war die Oxidation abgeschlossen. Das Reaktionsgemisch, eine gelbe Lösung mit gelbem Niederschlag, wurde in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 75 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit 100 ml einer gesättigten, wässrigen Natriumchloridlösung gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt und der kristalline Rückstand aus Ethanol umkristallisiert. **1c** resultierte als gelber Feststoff.¹⁸³ Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank unter Argon-Atmosphäre, da die Verbindung bei RT langsam sublimiert.

Ausbeute: 99,4 %

Schmelzbereich: 143 – 145 °C [Lit.: 142 – 146 °C]¹⁸³

MS (EI): $m/z = 138$ [57, M^+]; 123 [15, $C_6H_3O_3^+$]; 110 [56, M^+-CO]; 108 [56, M^+-OCH_3]; 95 [35, $C_5H_3O_2^+$]; 82 [36, $C_5H_6O^+$]; 69 [100, $C_4H_5O^+$]; 54 [43, $C_4H_6^+$]

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3068 m, 3055 w (aromat. CH st); 2982 w, 2947 w, 2852 w (aliph. CH st); 1677 s (C=O st); 1646 s (C=O st); 1618 w, 1590 s (C=C st); 1460 w, 1377 w, 1358 m, 1314 m (CH δ); 1240 m, 1210 w (C-O-C st, aromat. Ether)

¹H-NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 6,75 - 6,68 (m, 2 H, 5,6-H); 5,95 (s, 1 H, 3-H); 3,84 (s, 3 H, 2-OCH₃)

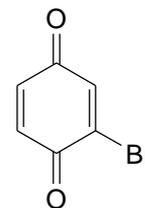
400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 6,80 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 10,1$ Hz, 6-H); 6,75 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 10,1$ Hz, $^4J_{5/3} = 2,2$ Hz, 5-H); 6,11 (d, 1 H, $^4J_{3/5} = 2,2$ Hz, 3-H); 3,78 (s, 3 H, 2-OCH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 187,3 (4-C); 181,2 (1-C); 158,2 (2-C); 136,5 (5-C); 134,4 (6-C); 107,3 (3-C); 56,1 (OCH₃)

R_f -Werte: 0,63 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)
 0,37 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)

2-Brom-1,4-benzochinon

Verbindung: **1f**
 Summenformel: $C_6H_3BrO_2$
 Molgewicht: 186,99 g/mol
 Darstellung:



3 g (15,9 mmol, 1 eq.) 2-Brom-1,4-hydrochinon wurden zu 300 ml einer wässrigen Natriumperiodatlösung (11,2 g, 52,5 mmol, 3,3 eq.) gegeben und bei Raumtemperatur kräftig geschüttelt. Nach 1,5 Stunden war die Oxidation abgeschlossen. Das Reaktionsgemisch, eine bräunliche Lösung mit gelbem Niederschlag, wurde in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 75 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit 100 ml einer gesättigten, wässrigen Natriumchloridlösung gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt und der kristalline Rückstand aus Ethanol umkristallisiert. **1f** resultierte als gelber Feststoff. Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank unter Argon-Atmosphäre, da die Verbindung bei RT langsam sublimiert (nach Lagervorschrift der Syntechem Co., Ltd.²⁰⁷).

Ausbeute: 98,2 %

Schmelzbereich: 54 – 55 °C [Lit.: 55 – 56 °C]²⁰⁸

MS (EI): $m/z = 188$ [53, M^+ (^{81}Br)]; 186 [49, M^+ (^{79}Br)]; 160 [18, $M^+ - CO$ (^{81}Br)]; 158 [17, $M^+ - CO$ (^{79}Br)]; 134 [11, $M^+ - C_2H_2, -CO$ (^{81}Br)]; 132 [13, $M^+ - C_2H_2, -CO$ (^{79}Br)]; 107 [15, $M^+ - Br$ (^{81}Br)]; 106 [14, $M^+ - HBr$ ($^{81}Br, ^{79}Br$)]; 105 [15, $M^+ - Br$ (^{79}Br)]; 81 [46, (^{81}Br) $^+$]; 79 [96, (^{79}Br) $^+$]; 54 [74, $C_4H_6^+$]; 53 [100, $C_4H_5^+$]; 51 [39, $C_4H_3^+$]

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3054 w, 3043 w (aromat. CH st); 1661 s (C=O st, mit α -Brom); 1641 w/sh (C=O st); 1580 s, 1494 w (C=C st); 1451 w, 1326 w, 1310 w (CH δ); 972 m (C-Br δ)

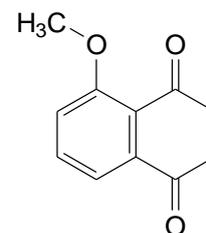
1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 7,53 (d, 1 H, $^4J_{3/5} = 2,4$ Hz, 3-H); 7,08 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 10,1$ Hz, 6-H); 6,93 (dd, 1 H, $^4J_{5/3} = 2,4$ Hz, $^3J_{5/6} = 10,1$ Hz, 5-H)

^{13}C -NMR: 100 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 184,8 (4-C); 179,1 (1-C); 137,7 (3-C); 136,3 (2-C); 136,2 (6-C); 135,7 (5-C)

R_f -Werte: 0,85 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)
 0,68 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)

5-Methoxy-1,4-naphthochinonVerbindung: **1h**Summenformel: $C_{11}H_8O_3$

Molgewicht: 188,18 g/mol

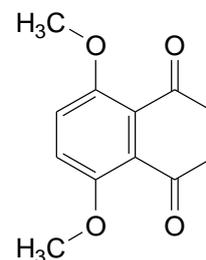
Darstellung: nach einer Vorschrift von *Wurm et al.*²⁰⁹

1 g (5,75 mmol, 1 eq.) 5-Hydroxy-1,4-naphthochinon wurde in 25 ml Dichlormethan mit 3 ml Iodmethan und 1 g Ag_2O für 2 h zum Sieden erhitzt. Danach erfolgte eine erneute Zugabe von 2 ml Iodmethan und 0,5 g Ag_2O , nach 1 h weitere 1 ml Iodmethan und 0,25 g Ag_2O . Nach insgesamt 4 h war die Reaktion abgeschlossen. Das Ag_2O wurde abfiltriert. Beim Einengen der Lösung kristallisierte **1h** zu gelben Nadeln aus. Die ermittelten Eigenschaften entsprachen den in der Literatur angegebenen und wurden nicht weiter charakterisiert.²¹⁰

Dieser Reaktant war in der Arbeitsgruppe im Substanzfundus vorhanden.

5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinonVerbindung: **1i**Summenformel: $C_{12}H_{10}O_4$

Molgewicht: 218,21 g/mol

Darstellung: nach einer Vorschrift von *Wurm et al.*²⁰⁹

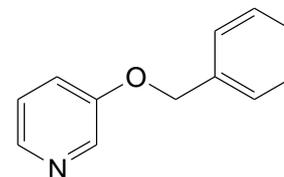
1 g (5,26 mmol, 1 eq.) 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon wurde in 25 ml Dichlormethan mit 3 ml Iodmethan und 1 g Ag_2O für 2 h zum Sieden erhitzt. Danach erfolgte eine erneute Zugabe von 2 ml Iodmethan und 0,5 g Ag_2O , nach 1 h weitere 1 ml Iodmethan und 0,25 g Ag_2O . Nach insgesamt 4 h ist die Reaktion abgeschlossen. Das Ag_2O wurde abfiltriert. Beim Einengen der Lösung kristallisiert **1i** zu orangenen Nadeln aus. Die ermittelten Eigenschaften entsprachen den in der Literatur angegebenen und wurden nicht weiter charakterisiert.²¹⁰

Dieser Reaktant war in der Arbeitsgruppe im Substanzfundus vorhanden.

6.1.2.4 Synthese 3-substituierter Pyridine

3-Benzoyloxy-pyridin

Verbindung: **2**
 Summenformel: $C_{12}H_{11}NO$
 Molgewicht: 185,22 g/mol



Darstellung:

5 g (52,5 mmol, 1 eq.) 3-Hydroxypyridin, 5,9 g (110 mmol, 2,1 eq.) pulverisiertes Kaliumhydroxid und 0,85 g (2,6 mmol, 0,05 eq.) Tetrabutylammoniumbromid wurden in 150 ml trockenem THF suspendiert. Nach Zugabe von 9,7 ml (84 mmol, 1,6 eq.) Benzylchlorid wurde der Reaktionsansatz unter Rückfluss für 12 h im Ölbad erhitzt. Nach Abschluss der Reaktion, welche dünnschichtchromatographisch verfolgt wurde, wurden 200 ml Aqua dest. zugegeben und zweimal mit 100 ml wässriger Salzsäure (10 %) extrahiert. Die vereinte wässrige Phase wurden mit Natronlauge (10 M) auf pH 9-10 eingestellt und 3-mal mit je 100 ml Chloroform extrahiert. Die vereinte organische Phase wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und nachfolgend das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der Rückstand, ein schwarz-braunes Öl, wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt. **2** resultierte als gelb-bräunliches Öl.

Ausbeute: 57,9 %

MS (ESI-positiv): $m/z = 186,31 [M+H]^+ 100 \%$

MS (EI): $m/z = 185 [92, M^+]; 91 [100, C_7H_7^+]; 65 [20, C_5H_5^+]$

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3061 w (aromat. CH st); 2931 w, 2872 w (aliph. CH st); 1573 s, 1474 m, 1453 s (C=C st); 1423 m, 1378 w (CH δ); 1258 s, 1226 s, 1048 m (C-O-C st aromat. Ether); 735 w, 694 m (CH δ monosubst. Aromat)

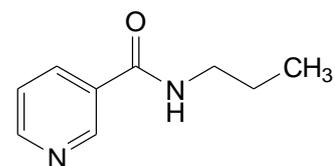
1H -NMR: 500 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,38 (d, 1 H, $^4J_{2/4} = 2,7$ Hz, 2-H); 8,21 (dd, 1 H, $^3J_{6/5} = 4,7$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,3$ Hz, 6-H); 7,41 - 7,30 (m, 5 H, 3-OCH₂C₆H₅); 7,21 (ddd, 1 H, $^3J_{4/5} = 8,4$ Hz, $^4J_{4/2} = 2,7$ Hz, $^4J_{4/6} = 1,3$ Hz, 4-H); 7,16 (dd, 1 H, $^3J_{5/4} = 8,4$ Hz, $^3J_{5/6} = 4,7$ Hz, 5-H); 5,06 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅)

^{13}C -NMR: 125 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 154,9 (3-C); 142,3 (6-C); 138,4 (2-C); 136,2 (1[#]-C); 128,7 (3[#]-C & 5[#]-C); 128,2 (4[#]-C); 127,5 (2[#]-C & 6[#]-C); 123,8 (5-C); 121,4 (4-C); 70,2 (CH₂)

R_f -Werte: 0,42 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,46 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

N-Propylnicotinamid

Verbindung: **3**
 Summenformel: C₉H₁₂N₂O
 Molgewicht: 164,20 g/mol
 Darstellung: nach AAV 1



6,16 g (50 mmol) Nicotinsäure wurden gemäß AAV 1 mit 4,5 ml (55 mmol) Propylamin umgesetzt. Das Produkt wurde nach dem Aufarbeiten aus Ether umkristallisiert. **3** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 75,2 %
 Schmelzbereich: 93 – 94 °C [Lit. 89 – 92 °C]²¹¹
 MS (ESI-positiv): m/z = 165,08 [M+H]⁺ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3302 m (NH st); 3066 w (aromat. CH st); 2964 m, 2933 w, 2874 w (aliph. CH st); 1640 s (C=O st); 1591 m (C=C st); 1544 s (NH δ); 1473 w, 1441 w (C=C st); 1417 w, 1383 w (CH δ); 1311 m (C-N st)

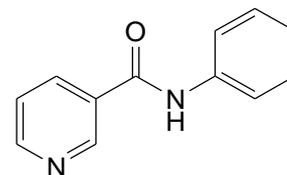
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 8,99 (s, 1 H, 2-H); 8,69 (d, 1 H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, 6-H); 8,63 (s br, 1 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 8,17 (d, 1 H, ³J_{4/5} = 7,9 Hz, 4-H); 7,49 (dd, 1 H, ³J_{5/4} = 7,9 Hz, ⁴J_{5/6} = 4,8 Hz, 5-H); 3,27 - 3,20 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 1,60 - 1,47 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 0,90 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 3-CONHCH₂CH₂CH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 164,5 (C=O); 151,5 (2-C); 148,2 (6-C); 134,7 (4-C); 130,0 (3-C); 123,3 (5-C); 40,9 (CONHCH₂CH₂CH₃); 22,2 (CONHCH₂CH₂CH₃); 11,3 (CONHCH₂CH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,06 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,16 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

N-Phenylnicotinamid

Verbindung:	4
Summenformel:	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O
Molgewicht:	198,22 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



6,16 g (50 mmol) Nicotinsäure wurden gemäß AAV 1 mit 5,0 ml (55 mmol) Anilin umgesetzt. Das Produkt wurde nach dem Aufarbeiten aus Hexan/Ether umkristallisiert. **4** resultierte als ein hellbeiger Feststoff.

Ausbeute:	61,2 %
Schmelzbereich:	118 – 120 °C [Lit. 119 – 120 °C] ²¹²
MS (ESI-positiv):	m/z = 199,26 [M+H] ⁺ 100 %
MS (ESI-negativ):	m/z = 197,33 [M-H] ⁻ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3348 m (NH st); 3054 w, 3042 w (aromat. CH st); 1653 s (C=O st); 1600 m (C=C st); 1526 m (NH δ); 1443 m (C=C st); 1325 m (C-N st); 751 m, 702 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 10,43 (s, 1 H, 3-CONHC₆H₅); 9,11 (d, 1 H, ⁴J_{2/4} = 2,1 Hz, 2-H); 8,76 (dd, 1 H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,6 Hz, 6-H); 8,30 (dt, 1 H, ³J_{4/5} = 7,9 Hz, ⁴J_{4/2} = 1,9 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,9 Hz, 4-H); 7,80 - 7,75 (m, 2 H, 2[#],6[#]-H); 7,57 (dd, 1 H, ³J_{5/4} = 7,9 Hz, ³J_{5/6} = 4,8 Hz, 5-H); 7,40 - 7,34 (m, 2 H, 3[#],5[#]-H); 7,16 - 7,10 (m, 1 H, 4[#]-H)

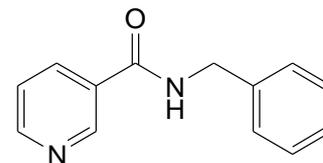
400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,11 (d, 1 H, ⁴J_{2/4} = 1,9 Hz, 2-H); 8,78 (dd, 1 H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,6 Hz, 6-H); 8,25 - 8,19 (m, 1 H, 4-H); 7,91 (s br, 1 H, 3-CONHC₆H₅); 7,67 - 7,62 (m, 2 H, 2[#],6[#]-H); 7,45 (ddd, 1 H, ³J_{5/4} = 7,9 Hz, ³J_{5/6} = 4,8 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,5 Hz, 5-H); 7,42 - 7,37 (m, 2 H, 3[#],5[#]-H); 7,22 - 7,16 (m, 1 H, 4[#]-H)

¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 163,9 (CONHC₆H₅); 151,9 (2-C); 148,5 (6-C); 138,7 (1[#]-C); 135,4 (4-C); 130,5 (3-C); 128,6 (3[#]-C & 5[#]-C); 123,9 (5-C); 123,4 (4[#]-C); 120,3 (2[#]-C & 6[#]-C)

R _f -Werte:	0,04 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
	0,11 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

N-Benzylnicotinamid

Verbindung: **5**
Summenformel: $C_{13}H_{12}N_2O$
Molgewicht: 212,25 g/mol
Darstellung: nach AAV 1



6,16 g (50 mmol) Nicotinsäure wurden gemäß AAV 1 mit 6,0 ml (55 mmol) Benzylamin umgesetzt. Das Produkt wurde nach dem Aufarbeiten aus Hexan/Ether umkristallisiert. **5** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 68,6 %
Schmelzbereich: 73 – 74 °C [Lit. 72 – 73 °C]²¹³
MS (ESI-positiv): $m/z = 213,28 [M+H]^+ 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3397 m (NH st); 3062 w, 3031 w (aromat. CH st); 2924 w (aliph. CH st); 1641 s (C=O st); 1591 m (C=C st); 1539 m (NH δ); 1475 m (C=C st); 1454 w, 1417 m, 1362 w (CH δ); 1301 m (C-N st); 733 w, 699 m (CH δ monosubst. Aromat)

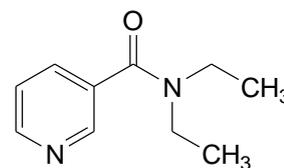
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 9,23 (t br, 1 H, ³J_{NH/CH₂} = 5,5 Hz, 3-CONHCH₂C₆H₅); 9,05 (dd, 1 H, ⁴J_{2/4} = 2,2 Hz, ⁵J_{2/5} = 0,5 Hz, 2-H); 8,71 (dd, 1 H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,6 Hz, 6-H); 8,23 (dt, 1 H, ³J_{4/5} = 8,0 Hz, ⁴J_{4/2} = 2,0 Hz, ⁴J_{4/6} = 2,0 Hz, 4-H); 7,51 (ddd, 1 H, ³J_{5/4} = 8,0 Hz, ³J_{5/6} = 4,8 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,5 Hz, 5-H); 7,34 (d, 4 H, J = 4,4 Hz, 2[#],3[#],5[#],6[#]-H); 7,28 - 7,22 (m, 1 H, 4[#]-H); 4,51 (d, 2 H, ³J_{CH₂/NH} = 5,9 Hz, 3-CONHCH₂C₆H₅)

¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 164,7 (C=O); 151,8 (2-C); 148,3 (6-C); 139,2 (1[#]-C); 134,9 (4-C); 129,7 (3-C); 128,2 (3[#]-C & 5[#]-C); 127,1 (2[#]-C & 6[#]-C); 126,7 (5-C); 123,3 (4[#]-C); 42,5 (CONHCH₂C₆H₅)

R_f-Werte: 0,06 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,19 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

***N,N*-Diethylnicotinamid**

Verbindung: **6**
 Summenformel: C₁₀H₁₄N₂O
 Molgewicht: 178,23 g/mol
 Darstellung: nach AAV 1



6,16 g (50 mmol) Nicotinsäure wurden gemäß AAV 1 mit 5,8 ml (55 mmol) Diethylamin umgesetzt. Das Produkt wurde nach dem Aufarbeiten säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt. **6** resultierte als eine gelbliche Flüssigkeit.

Ausbeute: 66,9 %

MS (ESI-positiv): m/z = 179,24 [M+H]⁺ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3031 w (aromat. CH st); 2974 m, 2935 w, 2876 w (aliph. CH st); 1622 s (C=O st); 1588 m, 1482 w, 1457 w (C=C-Valenz); 1428 m, 1410 m, 1382 w (CH δ); 1286 m (C-N st)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,59 (m, 2 H, 2-H, 6-H); 7,66 (td, 1 H, ³J_{4/5} = 7,8 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,5 Hz, ⁴J_{4/2} = 1,5 Hz, 4-H); 7,29 (dd, 1 H, ³J_{5/4} = 7,8 Hz, ³J_{5/6} = 4,7 Hz, 5-H); 3,51 (s br, 2 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 3,22 (s b, 2 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 1,20 (s br, 3 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 1,09 (s br, 3 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z]);

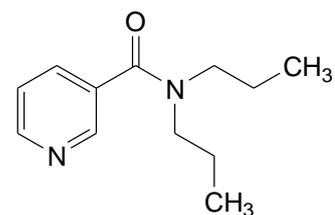
500 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 8,63 (dd, 1 H, ³J_{6/5} = 4,9 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,7 Hz, 6-H); 8,56 (dd, 1 H, ⁴J_{2/4} = 2,1 Hz, ⁵J_{2/5} = 0,8 Hz, 2-H); 7,83 - 7,76 (m, 1 H, 4-H); 7,46 (ddd, 1 H, ³J_{5/4} = 7,8 Hz, ³J_{5/6} = 4,9 Hz, ⁵J_{5/2} = 0,8 Hz, 5-H); 3,51 - 3,39 (m, 2 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 3,24 - 3,10 (m, 2 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 1,25 - 1,10 (m, 3 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 1,10 - 0,96 (m, 3 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z])

¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 167,5 (C=O); 149,9 (2-C); 146,6 (6-C); 133,8 (4-C); 132,9 (3-C); 123,4 (5-C); 42,8 (CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 40,1 (CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 13,9 (CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 12,6 (CON(CH₂CH₃)₂ [Z])

R_f-Werte: 0,07 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,31 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

***N,N*-Dipropylnicotinamid**

Verbindung: **7**
 Summenformel: $C_{12}H_{18}N_2O$
 Molgewicht: 206,28 g/mol
 Darstellung: nach AAV 1



6,16 g (50 mmol) Nicotinsäure wurden gemäß AAV 1 mit 7,5 ml (55 mmol) Dipropylamin umgesetzt. Das Produkt wurde nach dem Aufarbeiten säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt. **7** resultierte als eine gelbliche Flüssigkeit.

Ausbeute: 82,1 %

MS (ESI-positiv): $m/z = 207,28 [M+H]^+ 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3031 w (aromat. CH st); 2963 m, 2933 w, 2875 w (aliph. CH st); 1626 s (C=O st); 1588 m, 1481 w, 1460 w (C=C st); 1426 m, 1410 m, 1381 w (CH δ); 1260 m (C-N st)

1H -NMR: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,62 (dd, 1 H, $^3J_{6/5} = 4,9$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,6$ Hz, 6-H); 8,54 (d, 1 H, $^4J_{2/4} = 2,1$ Hz, 2-H); 7,77 (dt, 1 H, $^3J_{4/5} = 7,8$ Hz, $^4J_{4/2} = 1,9$ Hz, $^4J_{4/6} = 1,9$ Hz, 4-H); 7,46 (dd, 1 H, $^3J_{5/4} = 7,8$ Hz, $^3J_{5/6} = 4,9$ Hz, 5-H); 3,42 - 3,34 (m, 2 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 3,14 - 3,07 (m, 2 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 1,65 - 1,56 (m, 2 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 1,51 - 1,42 (m, 2 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 0,95 - 0,87 (m, 3 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 0,71 - 0,62 (m, 3 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]);

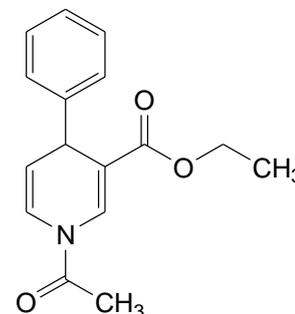
^{13}C -NMR: 125 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 168,0 (3-CON(CH₂CH₃)₂); 149,8 (2-C); 146,8 (6-C); 133,9 (4-C); 133,0 (3-C); 123,4 (5-C); 50,0 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 45,8 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 21,3 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 20,2 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 13,9 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 12,6 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z])

R_f -Werte: 0,09 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,35 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

6.1.2.5 Synthese *N*-Acetyl-1,4-dihydropyridine*(E,Z,R,S)*-1-Acetyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3-yl-carbonsäureethylesterVerbindung: **8**Summenformel: C₁₆H₁₇NO₃

Molgewicht: 271,31 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



3 g (19,8 mmol) Ethylnicotinat wurden gemäß AAV 2 mit 10,9 ml (21,8 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF) umgesetzt. Das

Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **8** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 75,2 %

Schmelzbereich: 56 – 57 °C

MS (EI) m/z = 271 [48, M⁺]; 242 [43, M⁺-C₂H₅]; 228 [15, M⁺-COCH₃]; 200 [50, M⁺-COCH₃, -C₂H₄]; 194 [61, M⁺-C₆H₅]; 152 [100, M⁺-C₆H₅, -COCH₃]; 78 [12, C₆H₆⁺]

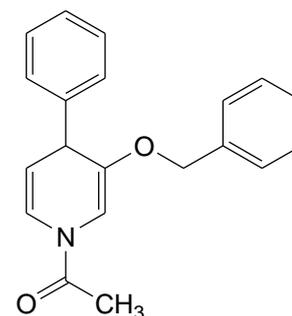
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3024 w (aromat. CH st); 2982 w, 2929 w, 2874 w (aliph. CH st); 1692 s (C=O st, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 1672 s (C=O st, NCOCH₃); 1607 s 1491 w, 1453 w, 1440 w (C=C st); 1396 m, 1371 m, 1324 m (CH δ); 1279 m (C-O st, Ester); 1225 s (C-N st, NCOCH₃); 1167 m (C-O st Ester); 755 m, 705 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 500 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,12 (s, 1 H, 2-H [*E*]); 7,56 (s, 1 H, 2-H [*Z*]); 7,06 - 6,91 (m, 11 H, 4-C₆H₅ [*E/Z*], 6-H [*Z*]); 6,35 („s“ br, 1 H, 6-H [*E*]); 5,04 - 4,90 (m, 2 H, 5-H [*E/Z*]); 4,22 (d, 2 H, ³J_{4/5} = 4,4 Hz, 4-H [*E/Z*]); 3,83 (ABX₃-System: AB-Teil, 4 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,061 ppm, ²J_{A/B} = 10,8 Hz, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃ [*E/Z*]); 2,13 (s, 3 H, N-COCH₃ [*Z*]); 2,07 (s, 3 H, N-COCH₃ [*E*]); 0,89 (ABX₃-System: X₃-Teil, tr br, 6 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃ [*E/Z*])

R_F-Werte: 0,55 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,78 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(EZ,RS)-1-(3-Benzyloxy-4-phenyl-4H-pyridin-1-yl)ethanon

Verbindung: **9**
 Summenformel: C₂₀H₁₉NO₂
 Molgewicht: 305,37 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



2,78 g (15 mmol) der Verbindung **2** wurden gemäß AAV 2 mit 8,3 ml (16,5 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF) umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **9** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 52,1 %

Schmelzbereich: 78 – 80 °C

MS (EI) m/z = 305 [24, M⁺]; 262 [31, M⁺-C₂H₃O]; 214 [32, M⁺-CH₂C₆H₅]; 186 [18, M⁺-COCH₃,-C₆H₅]; 172 [100, M⁺-C₇H₆,-COCH₃]; 91 [76, C₇H₇⁺]

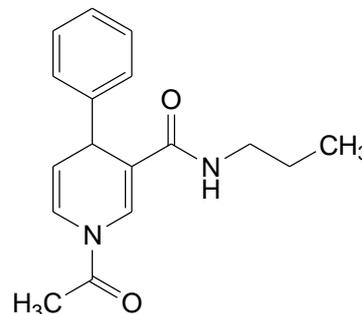
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3062 w, 3030 m (aromat. CH st); 2953 w, 2935 w, 2871 w (aliph. CH st); 1672 s (C=O st, NCOCH₃); 1634 s 1595 m, 1482 w, 1448 w (C=C st); 1391 m, 1365 w, 1319 m (CH δ); 1261 s (C-O-C st aromat. Ether); 1215 s (C-N st, NCOCH₃); 1038 m (C-O-C st aromat. Ether); 754 m, 702 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 7,39 - 7,23 (m, 17 H, 3',4',5'-H [E/Z], 3-OCH₂C₆H₅ [E/Z], 6-H [Z]); 7,17 - 7,12 (m, 4 H, 2',6'-H [E/Z]); 7,01 (s, 1 H, 2-H [E]); 6,69 (dd, 1 H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,1 Hz, 6-H [E]); 6,13 (s, 1 H, 2-H [Z]); 5,18 (dd, 1 H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,2 Hz, 5-H [Z]); 5,09 (dd, 1 H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,2 Hz, 5-H [E]); 4,79 (AB-System: q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,075 ppm, ²J_{A/B} = 11,9 Hz, 3-OCH₂C₆H₅ [E]); 4,77 (AB-System: q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,097 ppm, ²J_{A/B} = 12,3 Hz, 3-OCH₂C₆H₅ [Z]); 4,34 (d, 1 H, ³J_{4/5} = 4,2 Hz, 4-H [E]); 4,32 (d, 1 H, ³J_{4/5} = 4,2 Hz, 4-H [Z]); 2,28 (s, 3 H, N-COCH₃ [E]); 2,19 (s, 3 H, N-COCH₃ [Z])

R_f-Werte: 0,55 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,62 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(*EZ,RS*)-1-Acetyl-4-phenyl-*N*-propyl-1,4-dihydropyridin-3-carbamid

Verbindung: **10**
 Summenformel: C₁₇H₂₀N₂O₂
 Molgewicht: 284,35 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



1,15 g (7 mmol) der Verbindung **3** wurden gemäß AAV 2 mit 3,8 ml (7,7 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF) umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **10** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 16,3 %
 Schmelzbereich: 151 – 152 °C
 MS (ESI-positiv): m/z = 285,18 [M+H]⁺ 100 %; m/z = 307,14 [M+Na]⁺ 81 %

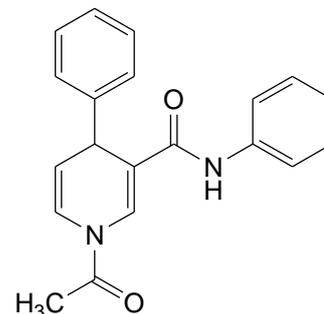
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3328 m (NH st); 3079 w, 3024 w (aromat. CH st); 2963 m, 2932 w, 2873 w (aliph. CH st); 1704 m (C=O st, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 1678 s (C=O st, NCOCH₃); 1598 m (C=C st); 1539 m (NH δ); 1491 w, 1455 w, 1440 m (C=C st); 1399 m, 1370 m, 1334 w (CH δ); 1308 m (C-N st, 3-CONHCH₂C₆H₅); 1259 s (C-N st, NCOCH₃); 763 m, 708 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,11 (s, 1 H, 2-H [*E*]); 7,98 (s, 1 H, 2-H [*Z*]); 7,43 - 7,22 (m, 10 H, 4-C₆H₅ [*E/Z*]); 7,18 (d, 1 H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [*Z*]); 6,61 („s“ br, 1 H, 6-H [*E*]); 5,44 (s br, 1 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃ [*E*]); 5,31 (s br, 1 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃ [*Z*]); 5,18 („s“ br, 2 H, 5-H [*E/Z*]); 4,54 („s“ br, 1 H, 4-H [*E*]); 4,38 („s“ br, 1 H, 4-H [*Z*]); 3,23 - 3,12 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃ [*Z*]); 3,12 - 2,96 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃ [*E*]); 2,41 (s, 3 H, N-COCH₃ [*Z*]); 2,31 (s, 3 H, N-COCH₃ [*E*]); 1,37 - 1,16 (m, 4 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃ [*E/Z*]); 0,74 - 0,54 (m, 6 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃ [*E/Z*])

R_f-Werte: 0,16 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,20 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(*EZ,RS*)-1-Acetyl-*N*,4-diphenyl-1,4-dihydropyridin-3-carbamid

Verbindung: **11**
 Summenformel: $C_{20}H_{18}N_2O_2$
 Molgewicht: 318,37 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



5 g (25 mmol) der Verbindung **4** wurden gemäß AAV 2 mit 13,8 ml (27,5 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF)

umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **11** resultierte als ein schwach gelber Feststoff.

Ausbeute: 29,2 %
 Schmelzbereich: 176 – 179 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 341,12 [M+Na]^+$ 100 %; $m/z = 319,18 [M+H]^+$ 39 %

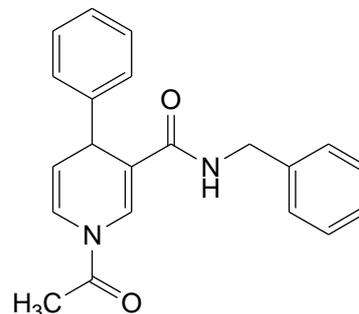
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3315 m (NH st); 3060 w, 3025 w (aromat. CH st); 2928 w, 2853 w (aliph. CH st); 1701 w (C=O st, $\underline{NCOCH_3}$); 1671 s (C=O st, 3- $\underline{CONHC_6H_5}$); 1598 m (C=C st); 1530 m (NH δ); 1498 m, 1441 m, 1402 w (C=C st); 1373 m, 1336 w (CH δ); 1305 m (C-N st, 3- $\underline{CONHC_6H_5}$); 1241 m (C-N st, $\underline{NCOCH_3}$); 749 m, 696 w (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,27 (s, 1 H, 2-H [*E*]); 8,05 (s, 1 H, 2-H [*Z*]); 7,53 - 7,08 (m, 21 H, 3- $\underline{CONHC_6H_5}$ [*E/Z*], 4- $\underline{C_6H_5}$ [*E/Z*], 2[#],3[#],5[#],6[#]-H [*E/Z*], 6-H [*Z*]); 7,07 - 7,00 (m, 2 H, 4[#]-H [*E/Z*]); 6,63 („s“ br, 1 H, 6-H [*E*]); 5,23 („s“ br, 2 H, 5-H [*E/Z*]); 4,65 („s“ br, 1 H, 4-H [*E*]); 4,54 („s“ br, 1 H, 4-H [*Z*]); 2,41 (s, 3 H, N- $\underline{COCH_3}$ [*Z*]); 2,33 (s, 3 H, N- $\underline{COCH_3}$ [*E*])

R_f -Werte: 0,50 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,43 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(*EZ,RS*)-1-Acetyl-*N*-benzyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3-carbamid

Verbindung: **12**
 Summenformel: C₂₁H₂₀N₂O₂
 Molgewicht: 332,40 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



2,1 g (10 mmol) der Verbindung **5** wurden gemäß AAV 2 mit 5,5 ml (11 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF) umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **12** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 34,9 %
 Schmelzbereich: 131 – 132 °C
 MS (ESI-positiv): m/z = 355,19 [M+Na]⁺ 100 %; m/z = 333,20 [M+H]⁺ 36 %

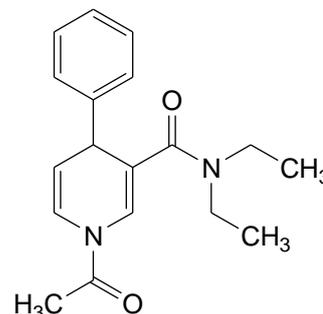
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3263 m (NH st); 3070 w, 3030 w (aromat. CH st); 2908 w (aliph. CH st); 1681 s (C=O st, NCOCH₃); 1638 m (C=O st, 3-CONHCH₂C₆H₅); 1603 m (C=C st); 1545 m (NH δ); 1496 w, 1452 m, 1420 w (C=C st); 1394 m, 1371 m (CH δ); 1327 m (C-N st, 3-CONHCH₂C₆H₅); 1272 s (C-N st, NCOCH₃); 752 w, 697 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,13 (s, 1 H, 2-H [*E*]); 8,01 (s, 1 H, 2-H [*Z*]); 7,37 - 7,15 (m, 17 H, 4-C₆H₅ [*E/Z*], 3[#],4[#],5[#]-H [*E/Z*], 6-H [*Z*]); 6,98 - 6,74 (m, 4 H, 2[#],6[#]-H [*E/Z*]); 6,61 („s“ br, 1 H, 6-H [*E*]); 5,76 („s“ br, 1 H, 3-CONHCH₂C₆H₅ [*E*]); 5,64 („s“ br, 1 H, 3-CONHCH₂C₆H₅ [*Z*]); 5,19 („s“ br, 2 H, 5-H [*E/Z*]); 4,58 („s“ br, 1 H, 4-H [*E*]); 4,46 - 4,21 (m, 5 H, 4-H [*Z*], 3-CONHCH₂C₆H₅ [*E/Z*]); 2,41 (s, 3 H, N-COCH₃ [*Z*]); 2,31 (s, 3 H, N-COCH₃ [*E*])

R_f-Werte: 0,16 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,12 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(*EZ,RS*)-1-Acetyl-*N,N*-diethyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3-carbamid

Verbindung: **13**
 Summenformel: $C_{18}H_{22}N_2O_2$
 Molgewicht: 298,38 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



2,7 g (15 mmol) der Verbindung **6** wurden gemäß AAV 2 mit 8,3 ml (16,5 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF) umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **13** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 35,9 %
 Schmelzbereich: 68 – 71° C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 321,21 [M+Na]^+ 100\%$; $m/z = 299,20 [M+H]^+ 49\%$

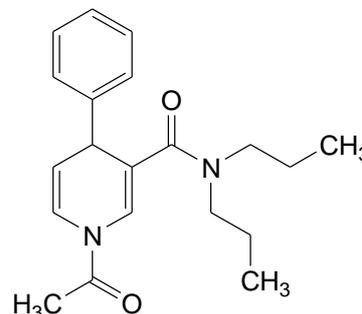
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3064 w, 3039 w (aromat. CH st); 2964 m, 2929 w, 2871 w (aliph. CH st); 1721 s (C=O st, $\underline{NCOCH_3}$); 1648 m (C=O st, 3- $\underline{CON(CH_2CH_3)_2}$); 1588 m, 1493 w, 1455 w, 1433 w (C=C st); 1406 m, 1368 w (CH δ); 1319 s (C-N st, 3- $\underline{CONHCH_2C_6H_5}$); 1271 m (C-N st, $\underline{NCOCH_3}$); 737 m, 689 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 7,39 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 8,4$ Hz, 6-H [Z]); 7,34 - 7,19 (m, 11 H, 4- C_6H_5 [E/Z], 2-H [E]); 6,79 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 8,4$ Hz, 6-H [E]); 6,62 (s, 1 H, 2-H [Z]); 5,23 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 8,4$ Hz, $^4J_{5/4} = 3,7$ Hz, 5-H [Z]); 5,15 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 8,4$ Hz, $^4J_{5/4} = 3,7$ Hz, 5-H [E]); 4,69 (d, 1 H, $^3J_{4/5} = 3,7$ Hz, 4-H [E]); 4,66 (s, br, 1 H, 4-H [Z]); 3,33 - 3,14 (m, 4 H, 3- $CON(CH_2CH_3)_2$ [E/Z]); 3,12 - 2,92 (m, 4 H, 3- $CON(CH_2CH_3)_2$ [E/Z]); 2,32 (s, 3 H, $NCOCH_3$ [E]); 2,26 (s, 3 H, $NCOCH_3$ [Z]); 0,94 - 0,82 (m, 12 H, 3- $CON(CH_2CH_3)_2$ [E/Z])

R_f -Werte: 0,18 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,51 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

(EZ,RS)-1-Acetyl-N,N-dipropyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridin-3-carbamid

Verbindung: **14**
 Summenformel: $C_{20}H_{26}N_2O_2$
 Molgewicht: 326,43 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



4,1 g (20 mmol) der Verbindung **7** wurden gemäß AAV 2 mit 11 ml (22 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF)

umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt, konnte jedoch nicht auskristallisiert werden.

14 resultierte als gelbliches Öl.

Ausbeute: 40,5 %

MS (ESI-positiv): $m/z = 349,31 [M+Na]^+$ 100 %; $m/z = 327,29 [M+H]^+$ 31 %

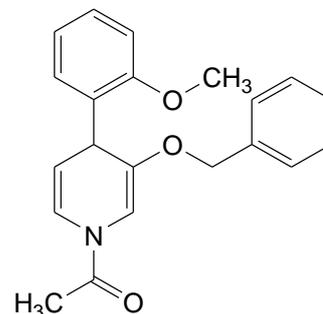
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3061 w, 3029 w (aromat. CH st); 2964 m, 2934 w, 2875 w (aliph. CH st); 1673 m (C=O st, $\underline{NCOCH_3}$); 1620 s (C=O st, 3- $\underline{CON(CH_2CH_2CH_3)_2}$); 1544 m, 1454 w, 1429 m (C=C st); 1399 w, 1372 m, 1331 w (CH δ); 1296 m (C-N st, 3- $\underline{CONHCH_2C_6H_5}$); 1246 m (C-N st, $\underline{NCOCH_3}$); 731 m, 699 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 7,36 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 8,4$ Hz, 6-H [Z]); 7,33 - 7,17 (m, 11 H, 4- C_6H_5 [E/Z], 2-H [E]); 6,74 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 8,3$ Hz, 6-H [E]); 6,60 (s, 1 H, 2-H [Z]); 5,21 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 8,4$ Hz, $^4J_{5/4} = 3,7$ Hz, 5-H [Z]); 5,13 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 8,3$ Hz, $^4J_{5/4} = 3,6$ Hz, 5-H [E]); 4,67 (d, 1 H, $^3J_{4/5} = 3,6$ Hz, 4-H [E]); 4,62 (s br, 1 H, 4-H [Z]); 3,18 - 2,84 (m, 4 H, 3- $\underline{CON(CH_2CH_2CH_3)_2}$ [E/Z]); 2,30 (s, 3 H, $\underline{NCOCH_3}$ [E]); 2,23 (s, 3 H, $\underline{NCOCH_3}$ [Z]); 1,43 - 1,13 (m, 4 H, 3- $\underline{CON(CH_2CH_2CH_3)_2}$ [E/Z]); 0,77 - 0,58 (m, 12 H, 3- $\underline{CON(CH_2CH_2CH_3)_2}$ [E/Z])

R_f -Werte: 0,31 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,58 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

(EZ,RS)-1-(3-Benzyloxy-4-(2-methoxyphenyl)-4H-pyridin-1-yl)ethanon

Verbindung: **15**
 Summenformel: C₂₁H₂₁NO₃
 Molgewicht: 335,40 g/mol
 Darstellung: nach AAV 2



2,4 g (13 mmol) der Verbindung **2** wurden gemäß AAV 2 mit 14,3 ml (14,3 mmol) 2-Methoxyphenylmagnesiumbromid (1 M in

THF) umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **15** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 73,6 %

Schmelzbereich: 109 – 111 °C

MS (ESI-positiv): m/z = 358,04 [M+Na]⁺ 100 %; m/z = 692,82 [2M+Na]⁺ 47 %

MS (EI): m/z = 335 [38, M⁺]; 292 [5, M⁺-COCH₃]; 244 [98, M⁺-CH₂C₆H₅]; 202 [100, M⁺-CH₂C₆H₅-OC₂H₂]; 187 [25, M⁺-CH₂C₆H₅-OC₂H₂-CH₃]; 170 [78, M⁺-CH₂C₆H₅-C₂H₃O,-OCH₃]; 91 [85, C₇H₇⁺]; 77 [8, C₆H₅⁺]; 65 [12, C₅H₅⁺]

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3071 w, 3018 w (aromat. CH st); 2940 w, 2913 m, 2871 w (aliph. CH st); 1675 s (C=O st, NCOCH₃); 1635 s 1596 m, 1489 m, 1442 w (C=C st); 1408 m, 1373 m, 1335 m, 1313 m (CH δ); 1256 m, 1244 m (C-O-C st aromat. Ether); 1218 m (C-N st, NCOCH₃); 1039 m, 1026 m (C-O-C st aromat. Ether); 751 m, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 7,34 - 7,22 (m, 11 H, 3-OCH₂C₆H₅ [E,Z], 6-H [Z]); 7,19 (ddd, 2 H, ³J_{4/3'} = 8,2 Hz, ³J_{4/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{4/6'} = 1,8 Hz, 4'-H [E/Z]); 7,16 (dd, 2 H, ³J_{6/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{6/4'} = 1,8 Hz, 6'-H [E/Z]); 7,10 (s, 1 H, 2-H [E]); 6,97 (dd, 2 H, ³J_{3/4'} = 8,2 Hz, ⁴J_{3/5'} = 1,0 Hz, 3'-H [E/Z]); 6,92 (dt, 2 H, ³J_{5/6'} = ³J_{5/4'} = 7,5 Hz, ⁴J_{5/3'} = 1,0 Hz, 5'-H [E/Z]); 6,79 (td, 1 H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,3 Hz, 6-H [E]); 6,64 (s, 1 H, 2-H [Z]); 5,13 (dd, 1 H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [Z]); 5,03 (dd, 1 H, ³J_{5/6} = 8,2 Hz, ³J_{5/4} = 4,3 Hz, 5-H [E]); 4,90 (AB-System: q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,076 ppm, ²J_{A/B} = 11,8 Hz, 3-OCH₂C₆H₅ [Z]); 4,85 (AB-System: q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,073 ppm, ²J_{A/B} = 11,6 Hz, 3-OCH₂C₆H₅ [E]); 4,81 (dd, 2 H, ³J_{4/5} = 4,3 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,3 Hz, 5-H [E/Z]); 3,84 (s, 6 H, 2'-OCH₃ [E/Z]); 2,24 (s, 3 H, N-COCH₃ [Z]); 2,23 (s, 3 H, N-COCH₃ [E])

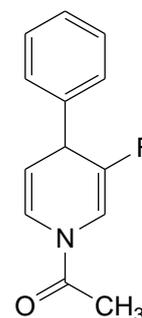
500 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 7,33 - 7,14 (m, 15 H, 3-OCH₂C₆H₅ [E,Z], 6-H [Z], 4',6'-H [E/Z]); 7,11 (s, 1 H, 2-H [E]); 6,98 - 6,91 (m, 2 H, 5'-H [E/Z]); 6,90 - 6,85 (m, 2 H, 3'-H [E/Z]); 6,58 (d, 1 H, ³J_{6/5} = 8,2 Hz, 6-H [E]); 6,26 (s,

1 H, 2-H [Z]); 5,17 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [Z]); 5,13 (dd, 1 H, $^3J_{5/6} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/4} = 4,3$ Hz, 5-H [E]); 4,90 - 4,72 (m, 6 H, 4-H [E/Z], 3-OCH₂C₆H₅ [E/Z]); 3,83 (s, 6 H, 2'-OCH₃ [E/Z]); 2,24 (s, 3 H, N-COCH₃ [E]); 2,23 (s, 3 H, N-COCH₃ [Z])

R_f-Werte: 0,54 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,70 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

(EZ,RS)-1-(3-Fluor-4-phenyl-4H-pyridin-1-yl)ethanon

Verbindung: **16**
Summenformel: C₁₃H₁₂FNO
Molgewicht: 217,24 g/mol
Darstellung: nach AAV 2



1,5 g (15,4 mmol) 3-Fluorpyridin wurden gemäß AAV 2 mit 8,5 ml (16,9 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (2 M in THF) umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Methanol umkristallisiert. **16** resultierte als ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 61,2 %

Schmelzbereich: 69 – 70 °C

MS (EI) m/z = 217 [57, M⁺]; 174 [67, M⁺-COCH₃]; 140 [62, M⁺-C₆H₅]; 98 [100, M⁺-C₆H₅-COCH₃]; 77 [55, C₆H₅⁺]

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3097 w, 3062 w (aromat. CH st); 2853 w (aliph. CH st); 1674 s (C=O st, NCOCH₃); 1638 s, 1553 w, 1495 w, 1454 w, (C=C st); 1408 m, 1375 m, 1327 m (CH δ); 1261 m (C-N st, NCOCH₃); 1186 w (C-O st Ester); 1167 m (aromat. C-F st); 768 m, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 7,32 (dd, 1 H, $^3J_{2/F} = 2,7$ Hz, $^4J_{2/4} = 1,2$ Hz, 2-H [E]); 7,35 (dd, 1 H, $^3J_{2/F} = 2,7$ Hz, $^4J_{2/4} = 1,2$ Hz, 2-H [Z]); 7,34 - 7,22 (m, 10 H, 4-C₆H₅ [E,Z]); 6,69 (dd, 1 H, $^3J_{6/5} = 8,2$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,6$ Hz, 6-H [Z]); 6,62 (dd, 1 H, $^3J_{6/5} = 8,2$ Hz, $^4J_{6/4} = 1,6$ Hz, 6-H [Z]); 5,18 - 5,11 (m, 1 H, 5 [Z]); 5,09 - 5,02 (m, 1 H, 5 [E]); 4,44 (s br, 2 H, 4-H [E/Z]); 2,25 (s, 3 H, N-COCH₃ [E]); 2,21 (s, 3 H, N-COCH₃ [Z])

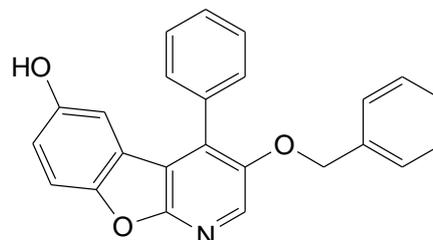
R_f-Werte: 0,55 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,69 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

6.1.2.6 Synthese 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

6.1.2.6.1 3-Benzyloxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

3-Benzyloxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **20**
 Summenformel: $C_{24}H_{17}NO_3$
 Molgewicht: 367,40 g/mol
 Darstellung: AAV 3



1 g (3,3 mmol) der Verbindung **9** wurde gemäß AAV 3 mit 440 mg (4,1 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 24 h konnte dünnschichtchromatographisch weder **9** noch das Zwischenprodukt der Cycloaddition nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **20** resultierte als ein feines, beiges Pulver.

Ausbeute: 4,9 %
 Schmelzbereich: 220 – 222 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 78,46; H 4,66; N 3,81
 gef.: C 78,31; H 4,75; N 3,73
 MS (ESI-positiv): $m/z = 368,48 [M+H]^+$ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3401 „br“ (OH st) 3066 m, 3033 m (aromat. CH st); 2956 s, 2925 s (aliph. CH st); 1610 m, 1591 m (C=C st); 1430 w, 1401 m, 1359 m (CH δ); 1285 s (aromat. C-OH st); 1254 m, 1217 w (C-O-C st aromat. Ether); 1183 s (C-O-C st cycl. Ether); 1081 w, 1026 m (C-O-C st aromat. Ether); 759 w, 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

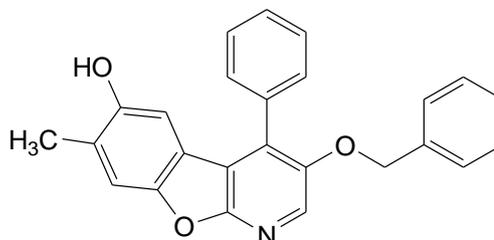
1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ ppm]: 9,36 (s br, 1 H, 6-OH); 8,33 (s, 1 H, 2-H); 7,62 - 7,55 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,51 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,9$ Hz, 8-H); 7,34 - 7,26 (m, 5 H, 3- $OCH_2C_6H_5$); 6,93 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,53 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 5,18 (s, 2 H, 3- $CH_2C_6H_5$)

400 MHz, $CDCl_3$ [δ ppm]: 8,20 (s, 1 H, 2-H); 7,58-7,53 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,44 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 8-H); 7,38 - 7,35 (m, 5 H, 3- $OCH_2C_6H_5$); 6,97 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,68 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 5,04 (s, 2 H, 3- $CH_2C_6H_5$); 5,01 (s br, 1 H, 6-OH)

R _f -Werte:	0,62	Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
	0,45	Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Benzoyloxy-7-methyl-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung:	21
Summenformel:	C ₂₅ H ₁₉ NO ₃
Molgewicht:	381,42 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3



1 g (3,3 mmol) der Verbindung **9** wurde gemäß AAV 3 mit 500 mg (4,1 mmol) 2-Methyl-*p*-benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 7 Tagen konnte dünnschichtchromatographisch weder **9** noch das Zwischenprodukt der Cycloaddition nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **21** resultierte als ein feines, hellorangeses Pulver.

Ausbeute:	0,9 %
Schmelzbereich:	200 – 205 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 78,72; H 5,02; N 3,67 gef.: C 78,43; H 4,77; N 3,32
MS (ESI-positiv):	m/z = 382,30 [M+H] ⁺ 100 %

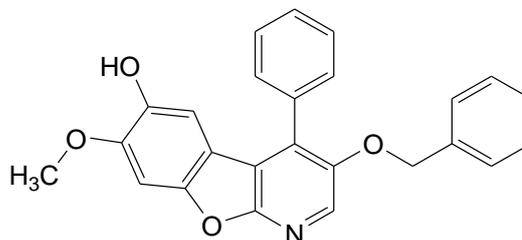
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3169 „br“ (OH st); 3061 m, (aromat. CH st); 2929 m, 2876 m, 2769 w (aliph. CH st); 1593 m, 1583 m, 1452 w (C=C st); 1391 m, 1375 m, 1358 m (CH δ); 1284 m (C-O-C st aromat. Ether); 1265 m (aromat. C-OH st); 1172 m (C-O-C st cycl. Ether); 1054 m (C-O-C st aromat. Ether); 751 m, 698 w (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 9,24 (s, 1 H, 6-OH); 8,24 (s, 1 H, 2-H); 7,56-7,52 (m, 5 H, 4-C₆H₅); 7,40 (s, 1 H, 8-H); 7,29 - 7,23 (m, 5 H, 3-OCH₂C₆H₅); 6,60 (s, 1 H, 5-H); 5,12 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅); 2,19 (s, 3 H, 7-CH₃)

R _f -Werte:	0,80	Cyclohexan/Essigester 50:50 (v/v)
	0,68	Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
	0,33	Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v)

3-Benzoyloxy-7-methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **22**
Summenformel: $C_{25}H_{19}NO_4$
Molgewicht: 397,42 g/mol
Darstellung: nach AAV 3



1 g (3,3 mmol) der Verbindung **9** wurde gemäß AAV 3 mit 562 mg (4,1 mmol) 2-Methoxy-*p*-benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 24 Stunden konnte dünnschichtchromatographisch weder **9** noch das Zwischenprodukt der Cycloaddition nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **22** resultierte als ein feines, beiges Pulver.

Ausbeute: 0,9 %
Schmelzbereich: 215 – 220 °C
Elementaranalyse: ber.: C 75,55; H 4,82; N 3,52
gef.: C 75,18; H 4,65; N 3,16
MS (ESI-positiv): $m/z = 398,58 [M+H]^+ 100 \%$

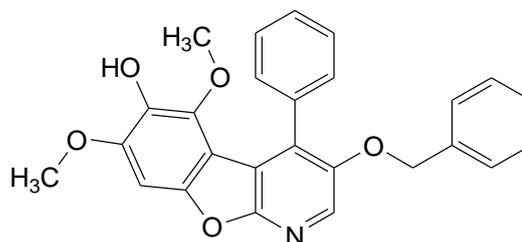
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3175 „br“ (OH st); 3056 w, (aromat. CH st); 3004 m, 2985 w, 2849 w (aliph. CH st); 1629 m, 1594 w, 1573 w (C=C st); 1385 s, 1362 m, 1351 w (CH δ); 1260 s (C-O-C st aromat. Ether); 1253 m (aromat. C-OH st); 1224 m (C-O-C st cycl. Ether); 1052 m (C-O-C st aromat. Ether); 757 m, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,13 (s, 1 H, 6-OH); 8,35 (s, 1 H, 2-H); 7,96 (d, 2 H, $^3J_{2/3'} = ^3J_{6/5'} = 8,1$ Hz, 2',6'-H); 7,47 - 7,30 (m, 9 H, 8-H, 3',4',5'-H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 6,76 (s, 1 H, 5-H); 5,28 (s, 2 H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 3,90 (s, 3 H, 7-OCH $_3$)

R_f -Werte: 0,66 Cyclohexan/Essigester 50:50 (v/v)
0,52 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,18 Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v)

3-Benzoyloxy-5,7-dimethoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **23**
 Summenformel: $C_{26}H_{21}NO_5$
 Molgewicht: 427,45 g/mol
 Darstellung: nach AAV 3



1 g (3,3 mmol) der Verbindung **9** wurde gemäß AAV 3 mit 688 mg (4,1 mmol) 2,6-Dimethoxy-*p*-benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 24 Stunden konnte dünnschichtchromatographisch weder **9** noch das Zwischenprodukt der Cycloaddition nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **23** resultierte als ein feines, weißes Pulver.

Ausbeute: 1,0 %
 Schmelzbereich: 132 – 135 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 73,06; H 4,96; N 3,28
 gef.: C 72,82; H 4,85; N 2,95
 MS (ESI-positiv): $m/z = 428,26 [M+H]^+ 100 \%$

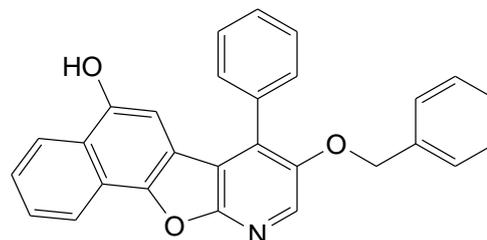
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3535 „br“ (OH st); 3052 w 3037 w, (aromat. CH st); 2971 w, 2943 w, 2870 w (aliph. CH st); 1636 m, 1598 m, 1542 w (C=C st); 1385 s, 1362 m (CH δ); 1265 m (C-O-C st aromat. Ether); 1258 sh (aromat. C-OH st); 1234 s (C-O-C st cycl. Ether); 1034 w (C-O-C st aromat. Ether); 750 w, 697 w (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 8,66 (s, 1 H, 6-OH); 7,98 (s, 1 H, 2-H); 7,94 (d, 2 H, $^3J_{2'/3'} = ^3J_{6/5} = 7,1$ Hz, 2',6'-H); 7,45 - 7,34 (m, 5 H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 7,30-7,27 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,14 (s, 1 H, 8-H); 5,30 (s, 2 H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 3,95 (s, 3 H, 7-OCH $_3$); 3,88 (s, 3 H, 5-OCH $_3$)

R_f -Werte: 0,65 Cyclohexan/Essigester 50:50 (v/v)
 0,51 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,17 Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v)

3-Benzoyloxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **24**
 Summenformel: C₂₈H₁₉NO₃
 Molgewicht: 417,46 g/mol
 Darstellung: nach AAV 3



1 g (3,27 mmol) der Verbindung **9** wurde gemäß AAV 3 mit 636 mg (4,02 mmol) 1,4-Naphthochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 3 Tagen konnte dünnschichtchromatographisch weder **9** noch das Zwischenprodukt der Cycloaddition nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. Die Verbindung **24** resultierte als ein feiner, beiger Feststoff.

Ausbeute: 5,8 %
 Schmelzbereich: 219 – 222 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 80,56; H 4,59; N 3,36
 gef.: C 80,13; H 4,35; N 3,25
 MS (ESI-positiv): m/z = 418,27 [M+H]⁺ 100 %
 MS (ESI-negativ): m/z = 416,18 [M-H]⁻ 100 %

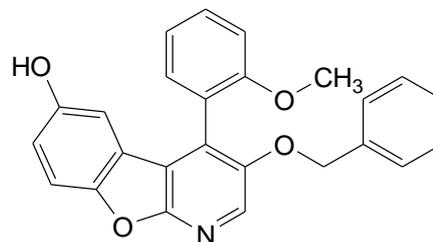
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3176 „br“ (OH st) 3062 w, 3032 w (aromat. CH st); 2954 w, 2920 s, 2851 w (aliph. CH st); 1598 m, 1582 w, 1498 w (C=C st); 1444 m, 1414 m 1377 m, 1347 m (CH δ); 1261 m (C-O-C st aromat. Ether); 1246 w (aromat. C-OH st); 1179 m (C-O-C st cycl. Ether); 1072 m (C-O-C st aromat. Ether); 759 m, 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 10,10 (s, 1 H, 6-OH); 8,37 (s, 1 H, 2-H); 8,32 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 8,23 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 7,72 („t“, 1 H, ³J = 7,5 Hz, 9-H); 7,66 - 7,57 (m, 6 H, 4-C₆H₅, 8-H); 7,38 - 7,25 (m, 5 H, 3-OCH₂C₆H₅); 6,64 (s, 1 H, 5-H); 5,20 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅)

R_f-Werte: 0,70 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,38 Cyclohexan/Essigester 80:20 (v/v)
 0,62 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Benzoyloxy-4-(2-methoxyphenyl)-benzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **25**
 Summenformel: $C_{25}H_{19}NO_4$
 Molgewicht: 397,42 g/mol
 Darstellung: nach AAV 3



1 g (3 mmol) der Verbindung **15** wurde gemäß AAV 3 mit 400 mg (3,7 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 2 Tagen konnte dünnstichtchromatographisch weder **15** noch das Zwischenprodukt der Cycloaddition nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **25** resultierte als ein feines, hellbeiges Pulver.

Ausbeute: 2,1 %

Schmelzbereich: 181 – 183 °C

Elementaranalyse: ber.: C 75,55; H 4,82; N 3,52
 gef.: C 75,72; H 4,96; N 3,45

MS (ESI-positiv): $m/z = 398,13 [M+H]^+ 100 \%$; $816,68 [2M+Na]^+ 38 \%$

MS (ESI-negativ): $m/z = 396,09 [M-H]^+ 100 \%$

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3175 „br“ (OH st) 3062 w, 3030 w (aromat. CH st); 2956 w, 2932 m, 2833 w (aliph. CH st); 1605 m, 1505 w, 1462 s (C=C st); 1434 w, 1404 m 1376 w, 1359 m (CH δ); 1268 m (C-O-C st aromat. Ether); 1245 m (aromat. C-OH st); 1213 w (C-O-C st aromat. Ether); 1180 s (C-O-C st cycl. Ether); 1084 m, 1024 m (C-O-C st aromat. Ether); 752 w (CH δ monosubst. Aromat); 731 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat); 694 m (CH δ monosubst. Aromat)

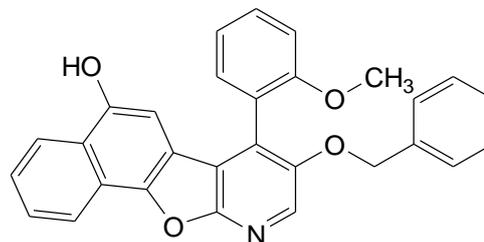
1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,15 (s, 1 H, 2-H); 7,46 (ddd, 1 H, $^3J_{4/3'} = 8,3$ Hz, $^3J_{4/5'} = 7,5$ Hz, $^4J_{4/6'} = 1,7$ Hz, 4'-H); 7,42 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 8-H); 7,34 (dd, 1 H, $^3J_{6/5'} = 7,5$ Hz, $^4J_{6/4'} = 1,7$ Hz, 6'-H); 7,30 - 7,24 (m, 3 H, 3[#],4[#],5[#]-H der 3-Benzoyloxygruppe); 7,22 - 7,17 (m, 2 H, 2[#],6[#]-H der 3-Benzoyloxygruppe); 7,10 (dt, 1 H, $^3J_{5/6'} = 7,5$ Hz, $^3J_{5/4'} = 7,5$ Hz, $^4J_{5/3'} = 0,9$ Hz, 5'-H); 7,05 (d, 1 H, $^3J_{3/4'} = 8,3$ Hz, 3'-H); 6,95 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,54 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 5,06 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅); 5,00 (s br, 1 H, 6-OH); 3,69 (s, 3 H, 2'-OCH₃)

R_f -Werte: 0,56 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)

0,43 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Benzoyloxy-4-(2-methoxyphenyl)-naphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **26**
 Summenformel: $C_{29}H_{21}NO_4$
 Molgewicht: 447,48 g/mol
 Darstellung: nach AAV 3



1 g (3 mmol) der Verbindung **15** wurde gemäß AAV 3 mit 588 mg (3,7 mmol) 1,4-Naphthochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 2 Tagen einmalig 196 mg 1,4-Naphthochinon zugegeben. Nach weiteren 2 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnenschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **25** resultierte als ein hellbeiges Pulver.

Ausbeute: 3,7 %

Schmelzbereich: 232 – 235 °C

Elementaranalyse: ber.: C 77,84; H 4,73; N 3,13
 gef.: C 77,69; H 4,87; N 3,08

MS (ESI-positiv): $m/z = 448,13 [M+H]^+ 100 \%$; $m/z = 916,51 [2M+Na]^+ 38 \%$

MS (ESI-negativ): $m/z = 446,13 [M-H]^- 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3180 „br“ (OH st) 3064 w, 3032 w (aromat. CH st); 2957 w, 2927 m, 2855 w (aliph. CH st); 1601 m, 1582 w, 1503 m, 1480 w (C=C st); 1445 m, 1413 w 1377 m, 1369 m (CH δ); 1261 s (C-O-C st aromat. Ether); 1246 m (aromat. C-OH st); 1177 w (C-O-C st aromat. Ether); 1158 w (C-O-C st cycl. Ether); 1073 m, 1028 w (C-O-C st aromat. Ether); 755 w (CH δ monosubst. Aromat); 741 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat); 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

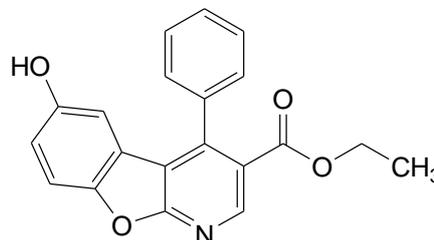
1H -NMR: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 9,07 (s, 1 H; 6-OH), 8,37 (d, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,2$ Hz, 10-H); 8,33 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,4$ Hz, 7-H); 8,29 (s, 1 H, 2-H); 7,75 - 7,70 (m, 1 H, 9-H); 7,64 - 7,56 (m, 2 H, 4'-H, 8-H); 7,46 (dd, 1 H, $^3J_{6/5'} = 7,4$ Hz, $^4J_{6/4'} = 1,6$ Hz, 6'-H); 7,35 - 7,23 (m, 6 H, 3'-H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 7,18 (dt, 1 H, $^3J_{5/6'} = ^3J_{5/4'} = 7,4$ Hz, $^4J_{5/3'} = 0,8$ Hz, 5'-H); 6,59 (s, 1 H, 5-H); 5,20 (AB-System q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B} = 0,034$, $^2J_{A/B} = 12,0$ Hz, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 3,72 (s, 3 H, 2'-OCH $_3$)

R_f -Werte: 0,38 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,60 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.6.2 3-Ethylester-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

6-Hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **27**
 Summenformel: $C_{20}H_{15}NO_4$
 Molgewicht: 333,34 g/mol
 Darstellung: nach AAV 3



750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8** wurden gemäß AAV 3 mit 367 mg (3,39 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden und nachfolgend alle 7 Tage jeweils 122 mg (1,13 mmol) *p*-Benzochinon zugegeben. Nach 36 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **27** resultierte als ein feiner, schwach beiger Feststoff.

Ausbeute: 9,8 %
 Schmelzbereich: 200 – 203 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 72,06; H 4,54; N 4,20
 gef.: C 72,34; H 4,59; N 4,14
 MS (ESI-positiv): $m/z = 334,26 [M+H]^+$ 100 %
 MS (ESI-negativ): $m/z = 332,34 [M-H]^-$ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3140 „br“ (OH st) 3060 w (aromat. CH st); 2963 m, 2925 m, 2855 w (aliph. CH st); 1717 s (C=O st); 1606 w, 1591 m, 1567 w, 1510 w, 1469 s (C=C st); 1443 m, 1391 m, 1359 m, 1311 m (CH δ); 1292 m (aromat. C-OH st); 1248 m (C-O st Ester); 1180 s (C-O-C st cycl. Ether); 1168 m, (C-O st Ester); 760 m, 697 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 9,03 (s, 1 H, 2-H); 7,57 - 7,52 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,49 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 8-H); 7,40 - 7,36 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,98 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,31 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 4,84 (s br, 1 H, 6-OH); 4,14 (q, 2 H, $^3J_{CH_2/CH_3} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,05 (t, 3 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,92 (s, 1 H, 2-H); 8,42 (s br, 1 H, 6-OH); 7,63 - 7,58 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,54 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,9$ Hz, 8-H); 7,49 - 7,43 (m,

2 H, 2',6'-H); 7,06 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,41 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 4,09 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,00 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 9,46 (s, 1 H, 6-OH); 8,87 (s, 1 H, 2-H); 7,62 - 7,57 (m, 4 H, 3',4',5'-H, 8-H); 7,45 - 7,41 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,98 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 1,9$ Hz, 7-H); 6,28 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 1,9$ Hz, 5-H); 4,04 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 0,93 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 166,0 (COOCH₂CH₃); 164,7 (6-C); 152,0 (8a-C); 149,7 (4-C); 149,0 (2-C); 147,5 (9a-C); 136,6 (1'-C); 128,6 (3',4',5'-C); 127,6 (2',6'-C); 122,8 (4b-C); 122,4 (3-C); 117,0 (7-C); 116,1 (4a-C); 112,7 (8-C); 108,3 (5-C); 61,2 (COOCH₂CH₃); 13,7 (COOCH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,49 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,61 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

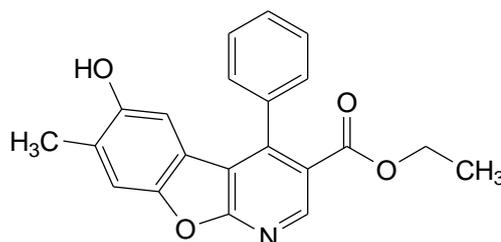
6-Hydroxy-7-methyl-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **28a**

Summenformel: C₂₁H₁₇NO₄

Molgewicht: 347,36 g/mol

Darstellung: nach AAV 3



750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8** wurden gemäß AAV 3 mit 415 mg (3,39 mmol) 2-Methyl-*p*-benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden und nachfolgend alle 14 Tage jeweils 138 mg (1,13 mmol) 2-Methyl-*p*-benzochinon zugegeben. Nach 70 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **28a** resultierte als ein feiner, bräunlicher Feststoff.

Ausbeute: 2,1 %

Schmelzbereich: 196 – 203 °C

Elementaranalyse: ber.: C 72,61; H 4,93; N 4,03
gef.: C 72,55; H 4,85; N 3,88

MS (ESI-positiv): $m/z = 348,3$ $[M+H]^+$ 100 %

MS (ESI-negativ): $m/z = 346,3$ $[M-H]^-$ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3173 „br“ (OH st) 3066 w, 3026 w (aromat. CH st); 2956 w, 2923 m, 2853 w (aliph. CH st); 1712 s (C=O st); 1605 w, 1590 m, 1505 w, 1458 m (C=C st); 1425 m, 1374 m, 1357 m (CH δ); 1292 m (aromat. C-OH st); 1248 m (C-O st Ester); 1180 s (C-O-C st cycl. Ether); 1157 m, (C-O st Ester); 761 w, 699 m (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 8,89 (s, 1 H, 2-H); 7,53 - 7,51 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,38 - 7,35 (m, 4 H, 6-OH, 2',6',8-H); 6,24 (s, 1 H, 5-H); 4,12 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 2,34 (s, 3 H, 7-CH₃); 1,00 (tr, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 9,33 (s br, 1 H, 6-OH); 8,77 (s, 1 H, 2-H); 7,56 - 7,54 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,49 (s, 1 H, 8-H); 7,39 - 7,37 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,40 (s, 1 H, 5-H); 3,99 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 2,20 (s, 3 H, 7-CH₃); 0,89 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_f -Werte: 0,58 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)

0,76 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

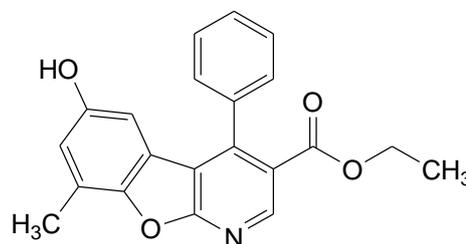
6-Hydroxy-8-methyl-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **28b**

Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NO}_4$

Molgewicht: 347,36 g/mol

Darstellung: nach AAV 3



Bei der Umsetzung von **8** mit 2-Methyl-*p*-benzochinon wurde das Stellungsisomer von **28a** gebildet. Dieses wurde ebenfalls bei der säulenchromatographischen Aufreinigung mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent isoliert und aus Ether kristallisiert. **28b** resultierte als ein feiner, bräunlicher Feststoff.

Ausbeute: 0,5 %

Schmelzbereich: 134 – 137 °C

MS (ESI-positiv): $m/z = 348,7$ $[M+H]^+$ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3347 „br“ (OH st) 3056 w, 3019 w (aromat. CH st); 2954 w, 2924 m, 2853 w (aliph. CH st); 1708 m (C=O st); 1607 w, 1589 m, 1494 w, 1462 m (C=C st); 1414 w, 1372 m, 1329 w (CH δ); 1291 m (aromat. C-OH st);

1258 m (C-O st Ester); 1174 s (C-O-C st cycl. Ether); 1133 m, (C-O st Ester); 760 w, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 9,00 (s, 1 H, 2-H); 7,52 - 7,50 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,35 - 7,33 (m, 3 H, 6-OH, 2',6'-H); 6,79 (d, 1 H, $^4J_{7/5} = 2,5$ Hz, 7-H); 6,11 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,5$ Hz, 5-H); 4,11 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 2,53 (s, 3 H, 8-CH₃); 1,03 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_f -Werte: 0,52 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,71 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

Die Gesamtausbeute von **28a** und **28b** beträgt in der Summe 8,9 %. In dieser wurden sowohl die isolierten Stellungsisomere als auch das mittels Säulenchromatographie nicht zu trennende Gemisch beider Verbindungen berücksichtigt.

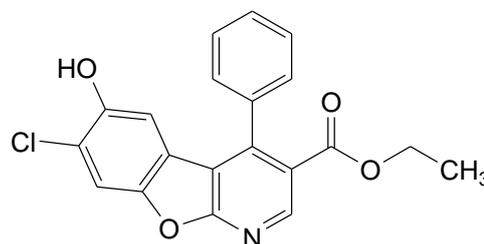
7-Chlor-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **29a**

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{ClNO}_4$

Molgewicht: 369,33 g/mol (^{37}Cl)
367,33 g/mol (^{35}Cl)

Darstellung: nach AAV 3



750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8** wurden gemäß AAV 3 mit 483 mg (3,39 mmol) 2-Chlor-*p*-benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden und nachfolgend alle 40 Tage jeweils 161,1 mg (1,13 mmol) 2-Chlor-*p*-benzochinon zugegeben. Nach 120 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **29a** resultierte als ein schwach bräunlicher, feiner Feststoff.

Ausbeute: 0,7 %

Schmelzbereich: 219 – 222 °C

MS (ESI-negativ): $m/z = 368,33$ [$M(^{37}\text{Cl})\text{-H}^-$] 26 %; $m/z = 366,37$ [$M(^{35}\text{Cl})\text{-H}^-$] 100%

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3182 „br“ (OH st) 3062 w (aromat. CH st); 2981 w, 2926 m, 2853 w (aliph. CH st); 1714 s (C=O st); 1605 w, 1586 m, 1502 w, 1471 w (C=C st); 1443 w, 1421 m, 1369 m (CH δ); 1291 m (aromat. C-OH st); 1260 m (C-O st Ester); 1176 s (C-O-C st cycl. Ether); 1123 w, (C-O st Ester); 1065 m (aromat. C-Cl st); 761 w, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 9,12 (s, 1 H, 2-H); 8,05 (s, 1 H, 8-H); 7,64 - 7,60 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,45 - 7,40 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,86 (s, 1 H, 5-H); 5,54 (s br, 1 H, 6-OH); 4,17 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,08 (tr, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_f -Werte: 0,62 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,79 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

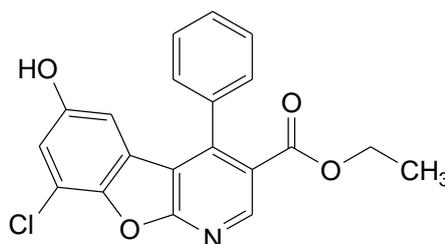
8-Chlor-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **29b**

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{ClNO}_4$

Molgewicht: 369,33 g/mol (^{37}Cl)
367,33 g/mol (^{35}Cl)

Darstellung: nach AAV 3



Bei der Umsetzung von **8** mit 2-Chlor-*p*-benzochinon wurde das Stellungsisomer von **29a** gebildet. Dieses wurde ebenfalls bei der säulenchromatographischen Aufreinigung mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent isoliert und aus Ether kristallisiert. **29b** resultierte als ein schwach bräunlicher, feiner Feststoff.

Ausbeute: 1,0 %

Schmelzbereich: 208 – 211 °C

MS (ESI-positiv): $m/z = 370,18$ [$M(^{37}\text{Cl})\text{+H}^+$] 28 %; $m/z = 368,15$ [$M(^{35}\text{Cl})\text{+H}^+$] 100%

MS (ESI-negativ): $m/z = 368,28$ [$M(^{37}\text{Cl})\text{-H}^-$] 23 %; $m/z = 366,25$ [$M(^{35}\text{Cl})\text{-H}^-$] 100%

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3165 „br“ (OH st) 3061 w (aromat. CH st); 2982 w, 2917 m, 2850 w (aliph. CH st); 1709 s (C=O st); 1587 m, 1564 w, 1500 w, 1470 m (C=C st); 1440 w, 1422 w, 1373 m (CH δ); 1290 m (aromat. C-OH st); 1256 m (C-O st Ester); 1177 m (C-O-C st cycl. Ether); 1121 w, (C-O st Ester); 1064 m (aromat. C-Cl st); 759 w, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 9,07 (s, 1 H, 2-H); 7,55 - 7,51 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,38 - 7,35 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,04 (d, 1 H, $^4J_{7/5} = 2,5$ Hz, 7-H); 6,21 (d, 1 H,

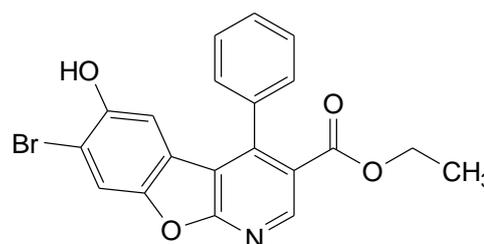
$^4J_{5,7} = 2,5$ Hz, 5-H); 5,15 (s br, 1H, 6-OH); 4,15 (q, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,05 (tr, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,57 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,76 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

Die Gesamtausbeute von **29a** und **29b** beträgt in der Summe 4,6 %. In dieser wurden sowohl die isolierten Stellungsisomere als auch das mittels Säulenchromatographie nicht zu trennende Gemisch beider Verbindungen berücksichtigt.

7-Brom-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **30a**
Summenformel: C₂₀H₁₄BrNO₄
Molgewicht: 413,2 g/mol (^{81}Br)
411,2 g/mol (^{79}Br)
Darstellung: nach AAV 3



750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8** wurden gemäß AAV 3 mit 634 mg (3,39 mmol) 2-Brom-*p*-benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden und nachfolgend alle 2 Monate jeweils 211,3 mg (1,13 mmol) 2-Brom-*p*-benzochinon zugegeben. Nach 150 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **30a** resultierte als ein feiner, rotbräunlicher Feststoff.

Ausbeute: 0,5 %

Schmelzbereich: 207 – 209 °C

MS (ESI-positiv): m/z = 414,15 [M(^{81}Br)+H]⁺ 100 %; m/z = 412,17 [M(^{79}Br)+H]⁺ 82 %

MS (ESI-negativ): m/z = 412,19 [M(^{81}Br)-H]⁻ 90%; m/z = 410,19 [M(^{79}Br)-H]⁻ 100%

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3204 „br“ (OH st) 3062 w (aromat. CH st); 2981 w, 2924 m, 2852 w (aliph. CH st); 1713 s (C=O st); 1605 w, 1581 m, 1500 w, 1467 m

(C=C st); 1443 w, 1415 m, 1367 m (CH δ); 1292 m (aromat. C-OH st); 1258 m (C-O st Ester); 1176 s (C-O-C st cycl. Ether); 1122 w, (C-O st Ester); 1058 m (aromat. C-Br st); 761 w, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,01 (s, 1 H, 2-H); 7,75 (s, 1 H, 8-H); 7,53 - 7,51 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,34 - 7,32 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,53 (s, 1 H, 5-H); 5,40 (s br, 1H, 6-OH); 4,12 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,03 (tr, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_F-Werte: 0,76 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,89 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

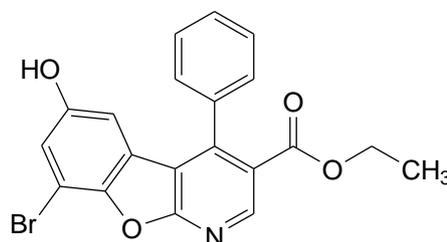
8-Brom-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **30b**

Summenformel: C₂₀H₁₄BrNO₄

Molgewicht: 413,2 g/mol (⁸¹Br)
411,2 g/mol (⁷⁹Br)

Darstellung: nach AAV 3



Bei der Umsetzung von **8** mit 2-Brom-*p*-benzochinon wurde das Stellungsisomer von **30a** gebildet. Dieses wurde ebenfalls bei der säulenchromatographischen Aufreinigung mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent isoliert und aus Ether kristallisiert. **30b** resultierte als ein feiner, rotbräunlicher Feststoff.

Ausbeute: 1,2 %

Schmelzbereich: 203 – 207 °C

MS (ESI-positiv): m/z = 414,20 [M(⁸¹Br)+H]⁺ 100%; m/z = 412,20 [M(⁷⁹Br)+H]⁺ 98%

MS (ESI-negativ): m/z = 412,24 [M(⁸¹Br)-H]⁻ 98 %; m/z = 410,25 [M(⁷⁹Br)-H]⁻ 100%

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3201 „br“ (OH st) 3082 w (aromat. CH st); 2982 w, 2923 m, 2851 w (aliph. CH st); 1713 s (C=O st); 1605 w, 1580 m, 1500 w, 1466 m (C=C st); 1444 w, 1415 m, 1368 m (CH δ); 1289 m (aromat. C-OH st); 1257 m (C-O st Ester); 1176 s (C-O-C st cycl. Ether); 1122 w, (C-O st Ester); 1056 m (aromat. C-Br st); 761 w, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

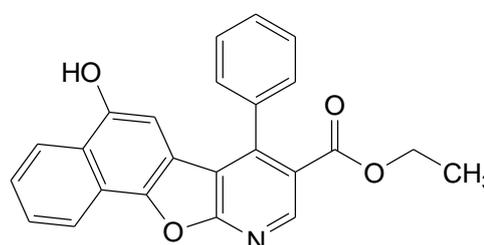
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,05 (s, 1 H, 2-H); 7,53 - 7,49 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,37 - 7,34 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,20 (d, 1 H, ⁴J_{7/5} = 2,4 Hz, 7-H); 6,27 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,4 Hz, 5-H); 5,53 (s br, 1H, 6-OH); 4,14 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,05 (tr, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R _f -Werte:	0,71	Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
	0,84	Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

Die Gesamtausbeute von **30a** und **30b** beträgt in der Summe 3,7 %. In dieser wurden sowohl die isolierten Stellungsisomere als auch das mittels Säulenchromatographie nicht zu trennende Gemisch beider Verbindungen berücksichtigt.

6-Hydroxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung:	31
Summenformel:	C ₂₄ H ₁₇ NO ₄
Molgewicht:	383,12 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3



750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8** wurden gemäß AAV 3 mit 536 mg (3,39 mmol) 1,4-Naphthochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden und nachfolgend alle 7 Tage jeweils 179 mg (1,13 mmol) 1,4-Naphthochinon zugegeben. Nach 32 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **31** resultierte als ein feiner, schwach gelblicher Feststoff.

Ausbeute:	4,8 %
Schmelzbereich:	222 – 226 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 75,19; H 4,47; N 3,65 gef.: C 74,88; H 4,38; N 3,60
MS (ESI-positiv):	m/z = 384,13 [M+H] ⁺ 100 %
MS (ESI-negativ):	m/z = 382,25 [M-H] ⁻ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3140 „br“ (OH st) 3066 w (aromat. CH st); 2978 m, 2934 w, 2871 w (aliph. CH st); 1710 s (C=O st); 1592 m, 1568 w, 1501 w, 1477 w (C=C st); 1444 m, 1411 m, 1365 w, 1312 w (CH δ); 1290 s (aromat. C-OH st); 1260 m (C-O st Ester); 1184 s (C-O-C st cycl. Ether); 1161 m, (C-O st Ester); 758 m, 704 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,02 (s, 1 H, 2-H); 8,41 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,3 Hz, 10-H); 8,24 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,3 Hz, 7-H); 7,68 (tr, 1 H, ³J_{9/10} = 8,3 Hz, ³J_{9/8} = 8,3 Hz, 9-H); 7,59 (tr, 1 H, ³J_{8/9} = 8,3 Hz, ³J_{8/7} = 8,3 Hz, 8-H); 7,55 - 7,50 (m, 4 H, 6-OH, 3',4',5'-H); 7,42 - 7,40 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,20 (s, 1 H, 5-H); 4,14 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,0 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,05 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 9,18 (s, 1 H, 6-OH); 8,92 (s, 1 H, 2-H); 8,39 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,1 Hz, 10-H); 8,34 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 7,79 - 7,73 (m, 1 H, 9-H); 7,68 - 7,58 (m, 4 H, 3',4',5'-H, 8-H); 7,53 - 7,47 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,43 (s, 1 H, 5-H); 4,10 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,01 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 167,7 (3-COOCH₂CH₃); 165,7 (6-C); 151,7 (4-C); 149,1 (2-C); 148,2 (11a-C); 147,2 (10b-C); 138,6 (1'-C); 130,3 (3',4',5'-C); 130,0 (2',6'-C); 129,4 (10-C); 128,2 (7-C); 127,4 (4b-C); 125,3 (9-C); 125,1 (10a-C); 123,2 (6a-C); 122,4 (8-C); 119,2 (3-C); 118,4 (4a-C); 102,2 (5-C); 62,6 (COOCH₂CH₃); 15,0 (COOCH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,58 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,81 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

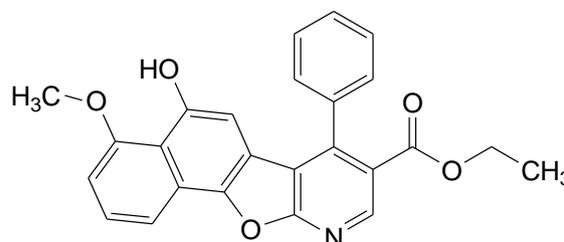
6-Hydroxy-7-methoxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **32**

Summenformel: C₂₅H₁₉NO₅

Molgewicht: 413,42 g/mol

Darstellung_ nach AAV 3



750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8** wurden gemäß AAV 3 mit 638 mg (3,39 mmol) 5-Methoxy-1,4-naphthochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 5 Tagen und nach 30 Tagen jeweils 212,6 mg (1,13 mmol) 5-Methoxy-1,4-naphthochinon zugegeben. Nach 78 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **32** resultierte als ein feiner, hell-gelber Feststoff.

Ausbeute: 4,1 %

Schmelzbereich: 280 – 283 °C

Elementaranalyse: ber.: C 72,63; H 4,63; N 3,39
gef.: C 72,65; H 4,60; N 2,99

MS (ESI-negativ): m/z = 412,23 [M-H]⁻ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3152 „br“ (OH st) 3053 w (aromat. CH st); 2955 w, 2917 s, 2850 m (aliph. CH st); 1715 s (C=O st); 1631 w, 1583 m, 1526 w, 1456 w (C=C st); 1440 w, 1402 m, 1361 m (CH δ); 1288 w (aromat. C-OH st); 1263 m (C-O st Ester); 1214 w (C-O-C st aromat. Ether); 1193 w, (C-O st Ester); 1182 m (C-O-C st cycl. Ether); 1046 m, 1005 w (C-O-C st aromat. Ether); 757 w, 702 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,06 (s, 1 H, 2-H); 7,83 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 7,60 - 7,55 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,54 („tr“, 1 H, ³J_{9/8} = ³J_{9/10} = 8,1 Hz, 9-H); 7,45 - 7,42 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,07 (d, 1 H, ³J_{8/9} = 7,9 Hz, 8-H); 6,22 (s, 1 H, 5-H); 5,11 (s br, 1 H, 6-OH); 4,17 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,2 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 4,16 (s, 3 H, 7-OCH₃); 1,07 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,2 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 9,16 (s br, 1 H, 6-OH); 8,93 (s, 1 H, 2-H); 7,91 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 7,7 Hz, 10-H); 7,64 - 7,59 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,54 („tr“, 1 H, ³J_{9/8} = ³J_{9/10} = 8,1 Hz, 9-H); 7,52 - 7,47 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,22 (d, 1 H, ³J_{8/9} = 7,9 Hz, 8-H); 6,47 (s, 1 H, 5-H); 4,16 (s, 3 H, 7-OCH₃); 4,10 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,01 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,27 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,70 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6-Hydroxy-7,10-dimethoxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

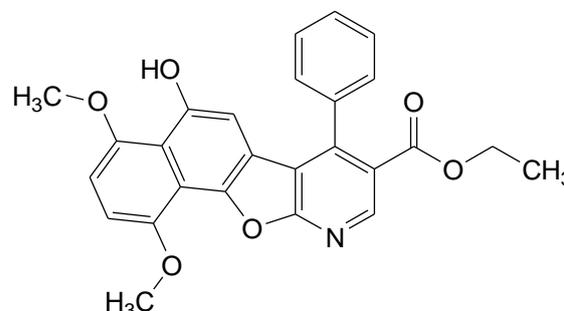
Verbindung: **33**

Summenformel: C₂₆H₂₁NO₆

Molgewicht: 443,45 g/mol

Darstellung: nach AAV 3

750 mg (2,76 mmol) der Verbindung **8**



wurden gemäß AAV 3 mit 740 mg (3,39 mmol) 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (69,6 ml Dioxan und 5,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden

nach 3 Tagen und nach 17 Tagen jeweils 246,6 mg (1,13 mmol) 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinon zugegeben. Nach 67 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnenschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 70:30 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **33** resultierte als ein feiner, rot-brauner Feststoff.

Ausbeute: 9,4 %

Schmelzbereich: 241 – 245 °C

Elementaranalyse: ber.: C 70,42; H 4,77; N 3,16
gef.: C 70,25; H 4,74; N 2,93

MS (ESI-positiv): m/z = 444,14 [M+H]⁺ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3369 „br“ (OH st) 3058 w (aromat. CH st); 2956 w, 2919 m, 2851 w (aliph. CH st); 1723 s (C=O st); 1613 m, 1587 m, 1533 m, 1503 w, 1455 m (C=C st); 1398 s, 1353 m (CH δ); 1290 w (aromat. C-OH st); 1261 m (C-O st Ester); 1226 w (C-O-C st aromat. Ether); 1178 m (C-O-C st cycl. Ether); 1144 w, (C-O st Ester); 1043 m, 1017 w (C-O-C st aromat. Ether); 758 m, 701 w (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,04 (s, 1 H, 2-H); 7,60 - 7,56 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,44 - 7,41 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,89 (AB-System: q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,018 ppm, ³J_{A/B} = 9,1 Hz, 8,9-H); 6,37 (s, 1 H, 5-H); 5,21 (s br, 1 H, 6-OH); 4,14 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 4,10 (s, 3 H, OCH₃); 4,04 (s, 3 H, OCH₃); 1,05 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

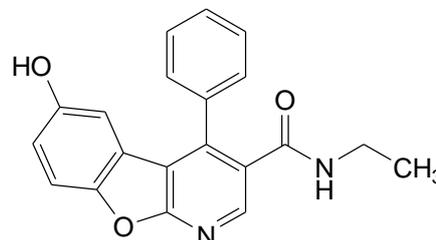
400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 9,59 (s br, 1 H, 6-OH); 8,97 (s, 1 H, 2-H); 7,64 - 7,62 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,52 - 7,49 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,12 (AB-System: q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B}$ = 0,019 ppm, ³J_{A/B} = 8,7 Hz, 8,9-H); 6,27 (s, 1 H, 5-H); 4,13 (s, 3 H, OCH₃); 4,11 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 4,09 (s, 3 H, OCH₃); 1,02 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,0 Hz, 3-COOCH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,21 Cyclohexan/Essigester 70:30 (v/v)
0,72 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.6.3 3-Carbonsäureamid-substituierte 1-Aza-9-oxafluorene

N-Ethyl-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbamid

Verbindung: **34**
 Summenformel: C₂₀H₁₆N₂O₃
 Molgewicht: 332,35 g/mol
 Darstellung: nach AAV 4



50 mg (0,15 mmol) **27**, gelöst in 10 ml Methanol, wurden gemäß AAV 4 mit 20 ml 40%iger wässriger Ethylaminlösung umgesetzt. Nach 30 Tagen war das Edukt verbraucht und der Reaktionsansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:10 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **34** resultierte als ein ocker-gelbes Pulver.

Ausbeute: 66 %
 Schmelzbereich: 265 – 268 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 72,28; H 4,85; N 8,43
 gef.: C 71,93; H 4,62; N 8,38
 MS (ESI-negativ): m/z = 331,5 [M-H]⁻ 100 %

IR: KBr, [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3338 m (NH st); 3159 m „br“ (OH st); 3056 w (aromat. CH st); 2983 m, 2939 w, 2873 w (aliph. CH st); 1642 s (C=O st); 1586 m (C=C st); 1545 m (NH δ); 1496 w, 1462 w, 1446 m (C=C st); 1382 m (C-N st); 1312 w, 1296 w, 1280 w, 1262 m (CH δ); 1251 m (C-OH st); 1180 s (C-O-C st cycl. Ether); 754 w, 699 w (CH δ monosubst. Aromat)

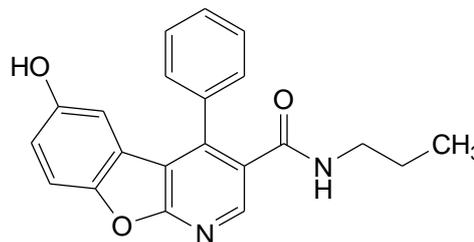
¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 9,44 (s br, 1 H, 6-OH); 8,44 (s, 1 H, 2-H); 8,22 (t br, 1 H, ³J_{NH/CH₂} = 5,3 Hz, 3-CONHCH₂CH₃); 7,60 - 7,56 (m, 4 H, 3',4',5'-H, 8-H); 7,51 - 7,47 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,96 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,5 Hz, 7-H); 6,50 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,5 Hz, 5-H); 3,10 - 3,02 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₃); 0,84 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,2 Hz, 3-CONHCH₂CH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 165,6 (3-CONHCH₂CH₃); 162,5 (6-C); 153,3 (2-C); 147,7 (8a-C); 144,4 (4-C); 143,6 (9a-C); 131,6 (1'-C); 129,7 (3-C); 128,7 (4'-C); 128,3 (3',5'-C); 128,1 (2',6'-C); 121,9 (4b-C); 116,9 (7-C); 114,2 (4a-C); 112,3 (8-C); 107,2 (5-C); 33,6 (3-CONHCH₂CH₃); 14,1 (3-CONHCH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,13 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,56 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:10 (v/v/v)

6-Hydroxy-4-phenyl-N-propylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbamid

Verbindung: **35**
 Summenformel: $C_{21}H_{18}N_2O_3$
 Molgewicht: 346,38 g/mol
 Darstellung: a) nach AAV 4
 b) nach AAV 3



- a) 50 mg (0,15 mmol) der Verbindung **27**, gelöst in 10 ml Methanol, wurden gemäß AAV 4 mit 20 ml 40%iger wässriger Propylaminlösung umgesetzt. Nach 50 Tagen war das Edukt verbraucht und der Reaktionsansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:10 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **35** resultierte als ein beiges Pulver.
- b) 500 mg (1,76 mmol) der Verbindung **10** wurden gemäß AAV 3 mit 233 mg (2,16 mmol) *p*-Benzochinon in 50 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (48,6 ml Dioxan und 1,4 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden einmalig 78 mg (0,72 mmol) *p*-Benzochinon zugegeben. Nach 7 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **35** resultierte als ein beiges Pulver.

Ausbeute: nach AAV 4: 33 %
 nach AAV 3: 1,3 %

Schmelzbereich: 226 – 228 °C

Elementaranalyse: ber.: C 72,82; H 5,24; N 8,09
 gef.: C 72,74; H 5,38; N 8,02

MS (ESI-negativ): $m/z = 345,4 [M-H]^-$ 100 %

IR: KBr $[\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3244 m „br“ (NH st & OH st); 3063 w (aromat. CH st); 2964 m, 2934 w, 2878 w (aliph. CH st); 1644 s (C=O st); 1587 m (C=C st); 1540 m (NH δ); 1502 w, 1467 w, 1446 m (C=C st); 1379 m (C-N st); 1316 w, 1300 w, 1283 w (CH δ); 1258 m (C-OH st); 1176 s (C-O-C st cycl. Ether); 758 w, 699 w (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,43 (s br, 1 H, 6-OH); 8,44 (s, 1 H, 2-H); 8,24 (t br, 1 H, $^3J_{NH/CH_2} = 5,6$ Hz, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 7,58 - 7,56 (m, 4 H,

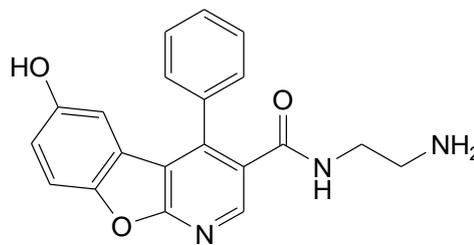
$^1\text{H-NMR}$: 3',4',5'-H, 8-H); 7,51 - 7,48 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,97 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,5$ Hz, 7-H); 6,49 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,5$ Hz, 5-H); 3,04 - 2,98 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 1,30 - 1,20 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 0,69 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,4$ Hz, 3-CONHCH₂CH₂CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 165,8 (3-CONHCH₂CH₂CH₃); 162,5 (6-C); 153,3 (2-C); 147,7 (8a-C); 144,4 (4-C); 143,5 (9a-C); 134,8 (1'-C); 129,8 (3-C); 128,7 (4'-C); 128,3 (3',5'-C); 128,1 (2',6'-C); 121,9 (4b-C); 116,9 (7-C); 114,2 (4a-C); 112,3 (8-C); 107,2 (5-C); 40,6 (3-CONHCH₂CH₂CH₃); 21,9 (3-CONHCH₂CH₂CH₃); 11,1 (3-CONHCH₂CH₂CH₃)

R_f -Werte: 0,21 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,65 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:10 (v/v/v)

N-(2-Aminoethyl)-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-3-carbamid

Verbindung: **36**
Summenformel: C₂₀H₁₇N₃O₃
Molgewicht: 347,37 g/mol
Darstellung: nach AAV 4



50 mg (0,15 mmol) **27**, gelöst in 10 ml Methanol, wurden gemäß AAV 4 mit 20 ml 40%iger wässriger Ethylendiaminlösung umgesetzt. Nach 90 Tagen war das Edukt verbraucht und der Reaktionsansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:20 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **36** resultierte als ein gelbbraunes Pulver.

Ausbeute: 19 %
Schmelzbereich: 248 – 253 °C
MS (ESI-positiv): $m/z = 348,2$ [M+H]⁺

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3281 m „br“ (NH st & OH st); 3067 w (aromat. CH st); 2958 w, 2928 m, 2856 w (aliph. CH st); 1647 s (C=O st); 1585 w (C=C st); 1550 m (NH δ); 1501 w, 1468 m, 1448 w (C=C st); 1381 m (C-N st); 1299 w, 1287 w (CH δ); 1254 m (C-OH st); 1182 m (C-O-C st cycl. Ether); 1072 w (C-N st primäres Amin); 762 w, 703 w (CH δ monosubst. Aromat)

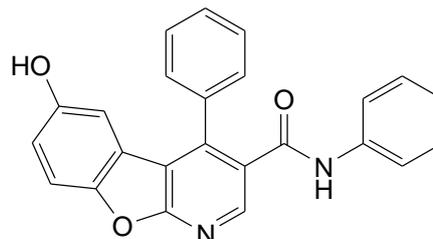
$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,54 (s, 1 H, 2-H); 8,11 (s br, 1 H, 6-OH); 7,61 - 7,52 (m, 6 H, 2',3',4',5',6'-H, 3-CONHCH₂CH₂NH₂); 7,49 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, 8-H); 7,03 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,5$ Hz, 7-H); 6,58 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,5$ Hz, 5-H); 3,40 - 3,33 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂NH₂);

3,28 - 3,22 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂NH₂); 3,01 (t, 2 H, ³J_{NH₂/CH₂} = 6,5 Hz, 3-CONHCH₂CH₂NH₂)

R_f-Werte: 0,02 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,12 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:20 (v/v/v)

6-Hydroxy-N,4-diphenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbamid

Verbindung: **37**
Summenformel: C₂₄H₁₆N₂O₃
Molgewicht: 380,40 g/mol
Darstellung: nach AAV 3



1 g (3,1 mmol) der Verbindung **11** wurde gemäß AAV 3 mit 411 mg (3,81 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (72,9 ml Dioxan und 2,1 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Nach 10 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **37** resultierte als ein hellbeiges Pulver.

Ausbeute: 5,1 %
Schmelzbereich: 262 – 265 °C
Elementaranalyse: ber.: C 75,78; H 4,24; N 7,36
gef.: C 75,66; H 4,29; N 7,31
MS (ESI-positiv): m/z = 381,31 [M+H]⁺ 100 %
MS (ESI-negativ): m/z = 379,33 [M-H]⁻ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3379 m (NH st); 3190 m (OH st); 3065 m (aromat. CH st); 1650 s (C=O st); 1598 s (C=C st); 1558 m (NH δ); 1500 w, 1470 w, 1444 s (C=C st); 1393 m (C-N st); 1258 m (aromat. C-OH st); 1188 s (C-O-C st cycl. Ether); 752 w, 704 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆ [δ in ppm]: 10,37 (s, 1 H, 3-CONHC₆H₅); 9,46 (s, 1 H, 6-OH); 8,65 (s, 1 H, 2-H); 7,61 (d, 1 H, ³J_{8/7} = 8,9 Hz, 8-H); 7,58 - 7,53 (m, 5 H, 3-CONHC₆H₅); 7,51 - 7,47 (m, 2 H, 2[#],6[#]-H); 7,30 - 7,25 (m, 2 H, 3[#],5[#]-H); 7,05 (tr, 1 H, ³J_{4[#]/3[#]} = ³J_{4[#]/5[#]} = 7,4 Hz, 4[#]-H); 6,99 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 8,9 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,5 Hz, 7-H); 6,51 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,5 Hz, 5-H)

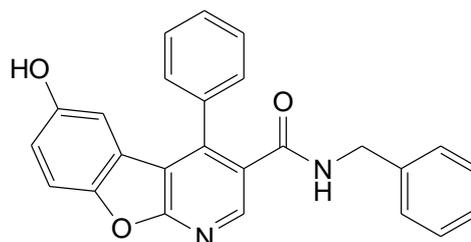
¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 9,19 (s br, 1 H, 3-CONHC₆H₅); 8,70 (s, 1 H, 2-H); 8,44 (s „br“, 1 H, 6-OH); 7,65 - 7,57 (m, 5 H, 3-CONHC₆H₅); 7,55 (d, 1 H, ³J_{8/7} = 8,9 Hz, 8-H); 7,54 - 7,50 (m, 2 H, 2[#],6[#]-H); 7,30 - 7,24 (m, 2 H,

$3^{\#},5^{\#}$ -H); 7,08 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 7,05 (tr, 1 H, $^3J_{4\#/3\#} = ^3J_{4\#/5\#} = 7,4$ Hz, $4^{\#}$ -H); 6,65 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H)

R_F-Werte: 0,43 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,24 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)
 0,47 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:2 (v/v/v)

***N*-Benzyl-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-3-carbamid**

Verbindung: **38**
 Summenformel: C₂₅H₁₈N₂O₃
 Molgewicht: 394,42 g/mol
 Darstellung: a) nach AAV 4
 b) nach AAV 3



- a) 50 mg (0,15 mmol) der Verbindung **27**, gelöst in 10 ml Methanol, wurden gemäß AAV 4 mit 20 ml 40%iger wässriger Benzylaminlösung umgesetzt. Nach 120 Tagen war das Edukt verbraucht und der Reaktionsansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Chloroform/Petrolether kristallisiert. **38** resultierte als ein feines, weißes Pulver.
- b) 1 g (3 mmol) der Verbindung **12** wurde gemäß AAV 3 mit 399 mg (3,69 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (72,9 ml Dioxan und 2,1 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 7 Tagen einmalig 133 mg (1,23 mmol) *p*-Benzochinon zugegeben. Nach 14 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Chloroform/Petrolether kristallisiert. **38** resultierte als ein feines, weißes Pulver.

Ausbeute: nach AAV 4: 13,7 %
 nach AAV 3: 2,7 %

Schmelzbereich: 122 – 126 °C

Elementaranalyse: ber.: C 76,13; H 4,60; N 7,10
 gef.: C 76,28; H 4,67; N 7,07

MS (ESI-positiv): m/z = 413,12 [M+NH₄]⁺ 100 %; m/z = 395,22 [M+H]⁺ 20 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3274 m „br“ (NH st & OH st); 3061 w, 3032 w (aromat. CH st); 2925 w, 2875 w (aliph. CH st); 1640 s (C=O st); 1587 m (C=C st); 1545 m (NH δ); 1496 w, 1467 w, 1448 m (C=C st); 1372 m (C-N st); 1317 w, 1298 w, 1287 w (CH δ); 1249 m (ar C-OH st); 1180 m (C-O-C st cycl. Ether); 759 w, 698 m (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 8,48 (s, 1 H, 2-H); 8,33 (s br, 1 H, 6-OH); 7,54 - 7,44 (m, 6 H, 4- C_6H_5 , 3- $\text{CONHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ($^3J_{\text{NH/CH}_2} = 5,9$ Hz)); 7,42 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,6$ Hz, 8-H); 7,17 - 7,08 (m, 3 H, 3 $^\#$, 4 $^\#$, 5 $^\#$ -H); 6,95 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,6$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,94 - 6,92 (m, 2 H, 2 $^\#$, 6 $^\#$ -H); 6,49 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 4,30 (d, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{NH}} = 5,9$ Hz, 3- $\text{CONHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$)

R_f -Werte: 0,32 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,11 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

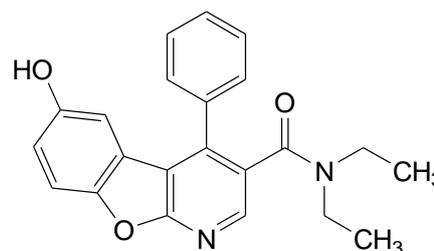
N,N-Diethyl-6-hydroxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-3-carbamid

Verbindung: **39**

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$

Molgewicht: 360,41 g/mol

Darstellung: aus AAV 3



1 g (3,35 mmol) der Verbindung **13** wurde gemäß AAV 3 mit 445 mg (4,12 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (72,9 ml Dioxan und 2,1 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 3 Tagen einmalig 148 mg (1,37 mmol) *p*-Benzochinon zugegeben. Nach 14 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **39** resultierte als ein beiges Pulver.

Ausbeute: 1,0 %

Schmelzbereich: 208 – 211 °C

MS (ESI-positiv): $m/z = 743,93$ [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 100 %; $m/z = 361,24$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 60 %

MS (ESI-negativ): $m/z = 359,44$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3140 m „br“ (OH st); 3062 w (aromat. CH st); 2999 w, 2982 m, 2940 w, 2875 w (aliph. CH st); 1578 s (C=O st); 1485 m, 1443 w, 1434 m (C=C st); 1391 m (C-N st); 1315 w, 1298 w, 1278 m (CH δ); 1254 m

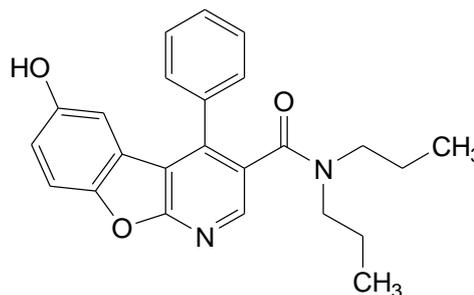
(ar C-OH st); 1133 s (C-O-C st cycl. Ether); 759 w, 696 w (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 8,39 (s, 1 H, 2-H); 7,49 - 7,43 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,37 (d, 1 H, $^3\text{J}_{8/7} = 8,8$ Hz, 8-H); 6,89 (dd, 1 H, $^3\text{J}_{7/8} = 8,8$ Hz, $^4\text{J}_{7/5} = 2,2$ Hz, 7-H); 6,64 (d, 1 H, $^4\text{J}_{5/7} = 2,2$ Hz, 5-H); 6,24 (s br, 1 H, 6-OH); 3,86 (qd, 1 H, $^2\text{J}_{A/B} = 14,0$ Hz, $^3\text{J}_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, 3- $\text{CONCH}_2\text{CH}_3$)₂ [E]); 3,21 (qd, 1 H, $^2\text{J}_{A/B} = 14,0$ Hz, $^3\text{J}_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, 3- $\text{CONCH}_2\text{CH}_3$)₂ [E]); 2,99 (qd, 1 H, $^2\text{J}_{A/B} = 14,4$ Hz, $^3\text{J}_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,2$ Hz, 3- $\text{CONCH}_2\text{CH}_3$)₂ [Z]); 2,74 (qd, 1 H, $^2\text{J}_{A/B} = 14,4$ Hz, $^3\text{J}_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,2$ Hz, 3- $\text{CONCH}_2\text{CH}_3$)₂ [Z]); 1,13 (t, 3 H, $^3\text{J}_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 3- $\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ [E]); 0,72 (t, 3 H, $^3\text{J}_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,2$ Hz, 3- $\text{CON}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ [Z])

R_f -Werte: 0,28 Cyclohexan/Essigester 40/60 (v/v)
0,25 Chloroform/Essigester 85/15 (v/v)

6-Hydroxy-4-phenyl-*N,N*-dipropylbenzo[4,5]furo[2,3-*b*]pyridin-3-carbamid

Verbindung: **40**
Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$
Molgewicht: 388,46 g/mol
Darstellung: nach AAV 3



1 g (3,06 mmol) der Verbindung **14** wurde gemäß AAV 3 mit 406 mg (3,76 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (72,9 ml Dioxan und 2,1 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 3 Tagen einmalig 135 mg (1,25 mmol) *p*-Benzochinon zugegeben. Nach 14 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **40** resultierte als ein beiges Pulver.

Ausbeute: 3,1 %
Schmelzbereich: 201 – 203 °C
Elementaranalyse: ber.: C 74,21; H 6,23; N 7,21
gef.: C 73,87; H 6,35; N 7,13

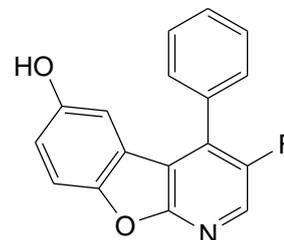
MS (ESI-positiv): $m/z = 389,33$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺ 100 %; $m/z = 798,97$ [$2\text{M}+\text{Na}$]⁺ 72 %
MS (ESI-negativ): $m/z = 387,46$ [$\text{M}-\text{H}$]⁻ 100 %

- IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3189 m „br“ (OH st); 3089 w, 3070 w (aromat. CH st); 2968 m, 2959 w, 2937 w, 2874 w (aliph. CH st); 1660 s (C=O st); 1577 m, 1495 m, 1460 w, 1446 m (C=C st); 1373 m (C-N st); 1314 w, 1300 w, 1282 m (CH δ); 1262 m (C-OH st); 1178 m (C-O-C st cycl. Ether); 756 w, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)
- $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 [δ in ppm]: 8,32 (s, 1 H, 2-H); 7,56 - 7,35 (m, 6 H, 4- C_6H_5 , 8-H); 6,88 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 7,4$ Hz, 7-H); 6,57 (s, 1 H, 5-H); 6,01 (s br, 1 H, 6-OH); 3,78 - 3,40 (m, 2 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [E]); 2,88 - 2,57 (m, 2 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [Z]); 1,33 - 1,18 (m, 4 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [E/Z]); 0,73 - 0,60 (m, 6 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [E/Z])
- 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 8,41 (s br, 1 H, 6-OH); 8,33 (s, 1 H, 2-H); 7,72 - 7,57 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,54 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,9$ Hz, 8-H); 7,06 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,72 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H); 3,77 - 3,32 (m, 2 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [E]); 3,16 - 2,88 (m, 2 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [Z]); 1,40 - 1,23 (m, 4 H, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [E/Z]); 0,67 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,4$ Hz, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [E]); 0,65 (t, 3 H, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,4$ Hz, 3-CON($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) $_2$ [Z])
- R_f-Werte: 0,19 Cyclohexan/Essigester 60/40 (v/v)
0,18 Chloroform/Essigester 85/15 (v/v)

6.1.2.6.4 3-Fluor-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

3-Fluor-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3b]pyridin-6-ol

Verbindung: **41**
 Summenformel: $C_{17}H_{10}FNO_2$
 Molgewicht: 279,27 g/mol
 Darstellung: nach AAV 3



1 g (4,6 mmol) der Verbindung **16** wurde gemäß AAV 3 mit 616 mg (5,7 mmol) *p*-Benzochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden 205 mg (1,9 mmol) *p*-Benzochinon zugegeben. Nach 10 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **41** resultierte als ein feiner, weißer Feststoff.

Ausbeute: 5,6 %

Schmelzbereich: 266 – 274 °C

Elementaranalyse: ber.: C 73,11; H 3,61; N 5,02
 gef.: C 72,97; H 3,69; N 4,97

MS (ESI-positiv): $m/z = 280,27 [M+H]^+$ 100 %

MS (ESI-negativ): $m/z = 278,40 [M-H]^-$ 100 %

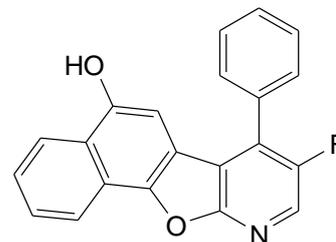
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3162 „br“ (OH st); 3065 w (aromat. CH st); 1624 w, 1599 w, 1492 w, 1471 s (C=C st); 1394 w, 1366 m (CH δ); 1291 m (aromat. C-OH st); 1215 m (OH δ); 1185 s (C-O-C st cycl. Ether); 1136 w (aromat. C-F st); 754 m, 702 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,48 (s br, 1 H, 6-OH); 8,51 (d, 1 H, $^3J_{2F} = 2,3$ Hz, 2-H); 7,68 - 7,66 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,59 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,9$ Hz, 8-H); 7,00 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,70 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H)

R_f -Werte: 0,63 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,59 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

3-Fluor-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3b]pyridin-6-ol

Verbindung: **42**
Summenformel: $C_{21}H_{12}FNO_2$
Molgewicht: 329,32 g/mol
Darstellung: nach AAV 3



1 g (4,6 mmol) der Verbindung **16** wurde gemäß AAV 3 mit 902 mg (5,7 mmol) 1,4-Naphthochinon in 75 ml Dioxan-Perchlorsäure-Gemisch (71,8 ml Dioxan und 3,2 ml Perchlorsäure (70 %)) unter Argon-Atmosphäre gerührt. Zur vollständigen Oxidation des Tetrahydro-Intermediates wurden nach 24 Stunden und nach 7 Tagen jeweils 301 mg (1,9 mmol) 1,4-Naphthochinon zugegeben. Nach 15 Tagen konnte das Zwischenprodukt der Cycloaddition dünnenschichtchromatographisch nicht mehr nachgewiesen werden und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **42** resultierte als ein feiner schwach gelblicher Feststoff.

Ausbeute: 2,1 %

Schmelzbereich: 246 – 248 °C

MS (ESI-positiv): $m/z = 330,32 [M+H]^+$ 100 %

MS (ESI-negativ): $m/z = 328,45 [M-H]^-$ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3140 „br“ (OH st); 3061 w (aromat. CH st); 1598 m, 1584 w, 1566 w, 1479 w (C=C st); 1443 s, 1411 m, 1379 w, 1333 w (CH δ); 1261 w (aromat. C-OH st); 1238 s (OH δ); 1178 m (C-O-C st cycl. Ether); 1153 w (aromat. C-F st); 761 m, 704 w (CH δ monosubst. Aromat)

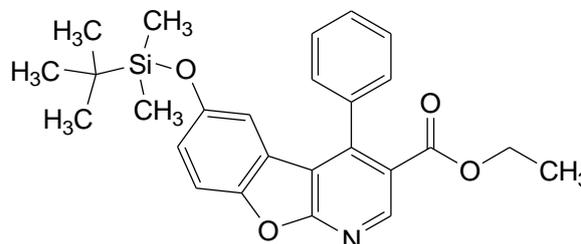
1H -NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,63 (s, 1 H, 6-OH); 8,87 - 8,82 (m, 2 H, 2-H, 10-H); 8,80 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,4$ Hz, 7-H); 8,23 - 8,08 (m, 7 H, 4-C₆H₅, 8-H, 9-H); 7,27 (s, 1 H, 5-H)

R_f-Werte: 0,56 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,70 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)
0,75 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

6.1.2.6.5 6-TBDMS-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

6-(TBDMS)-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **43**
 Summenformel: $C_{26}H_{29}NO_4Si$
 Molgewicht: 447,60 g/mol
 Darstellung:



50 mg (150 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **27** wurden in 5 ml trockenem THF gelöst. Nach Zugabe von 40,7 mg (270 μ mol, 1,8 eq.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid, 25,5 mg (375 μ mol, 2,5 eq.) Imidazol und 45,9 mg (270 μ mol, 1,8 eq.) Silbernitrat wurde der Ansatz für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde die schwach bräunliche Suspension mit 20 ml wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5 %) versetzt, in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 10 ml Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der verbleibende hellgraue wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Essigester umkristallisiert. **43** resultierte als ein weißer, feiner Feststoff.

Ausbeute: 97,5 %
 Schmelzbereich: 141 – 143 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 448,18 [M+H]^+$ 100 %

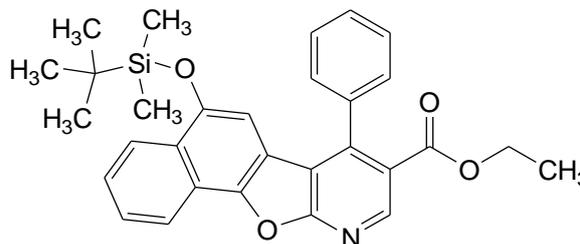
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3060 w, 3025 w (aromat. CH st); 2955 w, 2925 s, 2854 m (aliph. CH st); 1741 s (C=O st); 1631 w, 1596 m, 1491 m, 1462 m (C=C st); 1418 w, 1389 w, 1375 w, 1361 w (CH δ); 1275 w (C-O st Ester), 1252 m (Si-CH₃ δ); 1176 m (C-O-C st cycl. Ether); 1163 w, (C-O st Ester); 1069 m, 837 m (Si-O-C st); 759 m, 698 w (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,05 (s, 1 H, 2-H); 7,57 - 7,52 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,46 (d, 1 H, ³J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,39 - 7,36 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,96 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,28 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 4,15 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,06 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 0,90 (s, 9 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 0,02 (s, 6 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

R_F-Werte: 0,63 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,82 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6-(TBDMS)-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester

Verbindung: **44**
 Summenformel: $C_{30}H_{31}NO_4Si$
 Molgewicht: 497,66 g/mol
 Darstellung:



50 mg (130 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **31** wurden in 5 ml trockenem THF gelöst. Nach der Zugabe von 35,4 mg (235 μ mol, 1,8 eq.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid, 22,1 mg (325 μ mol, 2,5 eq.) Imidazol und 39,9 mg (235 μ mol, 1,8 eq.) Silbernitrat wurde der Ansatz für 9 h bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde die schwach bräunliche Suspension mit 20 ml wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5 %) versetzt, in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 10 ml Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der verbleibende hellgelbe wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Essigester umkristallisiert. **44** resultierte als ein weißer, nadelförmiger Feststoff.

Ausbeute: 99,2 %
 Schmelzbereich: 145 – 147 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 498,23 [M+H]^+ 100 \%$

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3019 w (aromat. CH st); 2958 w, 2916 m, 2849 m (aliph. CH st); 1726 s (C=O st); 1596 w, 1589 m, 1471 w, 1463 w (C=C st); 1443 m, 1414 m, 1370 w (CH δ); 1262 m (C-O st Ester), 1214 s (Si-CH₃ δ); 1164 m (C-O-C st cycl. Ether); 1144 m, (C-O st Ester); 1085 m, 877 m (Si-O-C st); 749 m, 695 w (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 9,07 (s, 1 H, 2-H); 8,43 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,0 Hz, 10-H); 8,23 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 7,70 - 7,65 (m, 1 H, 9-H); 7,61 - 7,55 (m, 4 H, 3',4',5'-H, 8-H); 7,46 - 7,41 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,26 (s, 1 H, 5-H); 4,17 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,2 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,07 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,2 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,01 (s, 9 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 0,06 (s, 6 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

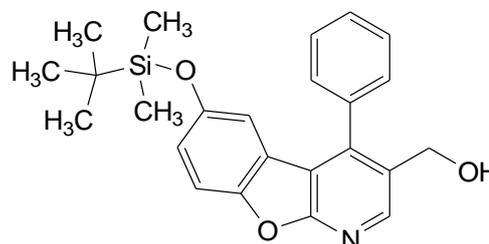
400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,95 (s, 1 H, 2-H); 8,38 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 8,26 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 7,78 - 7,73 (m, 1 H, 9-H); 7,70 - 7,62 (m, 4 H, 3',4',5'-H, 8-H); 7,53 - 7,49 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,32 (s, 1 H, 5-H); 4,11 (q, 2 H, ³J_{CH₂/CH₃} = 7,1 Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,07 - 0,99 (m, 12 H, 3-COOCH₂CH₃, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 0,11 (s, 6 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 167,4 (3-COOCH₂CH₃); 165,7 (6-C); 150,0 (4-C); 149,5 (2-C); 148,3 (11a-C); 147,9 (10b-C); 138,9 (1'-C); 130,5 (3'-C & 5'-C); 130,4 (4'-C); 129,9 (2'-C & 6'-C); 129,8 (4b-C); 129,5 (10-C); 128,6 (7-C); 125,4 (9-C); 124,8 (10a-C); 123,4 (6a-C); 122,6 (8-C); 118,9 (3-C); 118,4 (4a-C); 106,7 (5-C); 62,6 (3-COOCH₂CH₃); 27,2 (6-OSi(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 19,9 (6-OSi(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 15,0 (COOCH₂CH₃); 3,3 (6-OSi(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

R_f-Werte: 0,67 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,85 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(6-(TBDMS)-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-yl)methanol

Verbindung: **45**
 Summenformel: C₂₄H₂₇NO₃Si
 Molgewicht: 405,56 g/mol
 Darstellung: nach AAV 7



50 mg (112 μmol, 1 eq.) der Verbindung **43** wurden gemäß der AAV 7 bei -10 °C mit 0,34 ml (336 μmol, 3 eq.) Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF) umgesetzt. Nach 2 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Der resultierende gelbliche, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Essigester umkristallisiert. **45** resultierte als ein weißer, feiner Feststoff.

Ausbeute: 89,2 %
 Schmelzbereich: 175 – 177 °C
 MS (ESI-positiv): m/z = 406,26 [M+H]⁺ 100 %

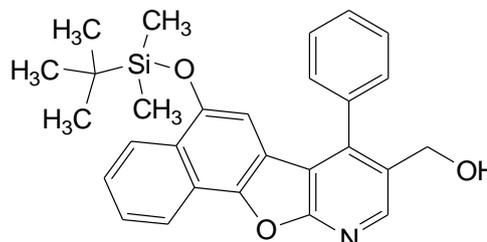
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3301 „br“ (OH st) 3024 w (aromat. CH st); 2956 w, 2915 s, 2848 m (aliph. CH st); 1588 m, 1492 w, 1472 w, 1463 m (C=C st); 1439 w, 1408 w, 1378 m (CH δ); 1260 m (Si-CH₃ δ); 1215 m (C-OH st); 1183 m (C-O-C st cycl. Ether); 1090 m (Si-O-C st); 1017 m (CH₂-OH st); 868 m (Si-O-C st); 751 m, 699 w (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,60 (t, 1 H, ⁴J_{2/CH₂} = 0,5 Hz, 2-H); 7,69 - 7,60 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,57 - 7,51 (m, 3 H, 2',6'-H, 8-H); 7,02 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,41 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 4,63 (dd, 2 H, ³J_{CH₂/OH} = 5,4 Hz, ⁴J_{CH₂/2} = 0,5 Hz, 3-CH₂OH); 4,28 (t, 1 H, ³J_{OH/CH₂} = 5,4 Hz, 3-CH₂OH); 0,92 (s, 9 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 0,06 (s, 6 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

R_f -Werte:	0,17	Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
	0,14	Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

(6-(TBDMS)-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-yl)methanol

Verbindung:	46
Summenformel:	$C_{28}H_{29}NO_3Si$
Molgewicht:	455,62 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7



50 mg (100 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **44** wurden gemäß der AAV 7 bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ mit 0,3 ml (300 μ mol, 3 eq.) Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF) umgesetzt. Nach 2 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Der resultierende beige, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Essigester umkristallisiert. **46** resultierte als ein weißer, feiner Feststoff.

Ausbeute:	96,9 %
Schmelzbereich:	179 – 182 $^\circ\text{C}$
MS (ESI-positiv):	$m/z = 456,41 [M+H]^+$ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3325 „br“ (OH st) 3056 w (aromat. CH st); 2955 w, 2927 s, 2855 m (aliph. CH st); 1595 m, 1497 w, 1471 w, 1462 w (C=C st); 1442 m, 1412 m, 1378 m (CH δ); 1257 m (Si-CH₃ δ); 1231 w (C-OH st); 1171 m (C-O-C st cycl. Ether); 1087 m (Si-O-C st); 1050 m (CH₂-OH st); 879 m (Si-O-C st); 754 w, 703 w (CH δ monosubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 8,63 (s, 1 H, 2-H); 8,40 (d, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,2$ Hz, 10-H); 8,27 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,4$ Hz, 7-H); 7,78 - 7,58 (m, 7 H, 2',3',4',5',6'-H, 8,9-H); 6,42 (s, 1 H, 5-H); 4,66 (d, 2 H, $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 5,4$ Hz, 3-CH₂OH); 4,30 (t, 1 H, $^3J_{\text{OH}/\text{CH}_2} = 5,4$ Hz, 3-CH₂OH); 1,02 (s, 9 H; 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 0,11 (s, 6 H, 6-O-Si(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

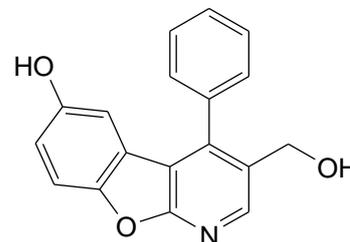
$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 164,3 (6-C); 149,6 (4-C); 150,0 (2-C); 147,5 (11a-C); 146,1 (10b-C); 137,6 (1'-C); 132,9 (3-C); 130,8 (3'-C & 5'-C); 130,7 (2'-C & 6'-C); 130,6 (4'-C); 129,5 (4b-C); 129,3 (10-C); 128,2 (7-C); 125,4 (9-C); 123,6 (6a-C); 122,6 (8-C); 119,1 (10a-C); 117,4 (4a-C); 106,9 (5-C); 61,2 (3-CH₂OH); 27,2 (6-OSi(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 20,0 (6-OSi(CH₃)₂-C(CH₃)₃); 3,3 (6-OSi(CH₃)₂-C(CH₃)₃)

R_f -Werte:	0,33	Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
	0,14	Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.6.6 3-Hydroxymethyl-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

3-Hydroxymethyl-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **47**
 Summenformel: $C_{18}H_{13}NO_3$
 Molgewicht: 291,30 g/mol
 Darstellung: a)
 b) nach AAV 7



- a) 30 mg (74 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **45** wurden in 10 ml THF gelöst, zu 5 ml eines auf pH 5 eingestellten wässrigen NaF/HF-Puffers gegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 11 Stunden war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Die trübe Lösung wurde in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 10 ml Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit jeweils 10 ml Aqua dest. und gesättigter, wässriger Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden die organischen Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der verbleibende weiße, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **47** resultierte als ein weißer, feiner Feststoff.
- b) 25 mg (75 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **27** wurden gemäß der AAV 7 bei -10 °C mit 0,23 ml (225 μ mol, 3 eq.) Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF) umgesetzt. Nach 2 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Der resultierende gelbliche, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **45** resultierte als ein weißer, feiner Feststoff.

Ausbeute: nach a): 76,2 %
 nach b): 44,3 %

Schmelzbereich: 251 – 253 °C

Elementaranalyse: ber.: C 74,22; H 4,50; N 4,81
 gef.: C 74,01; H 4,42; N 4,77

MS (ESI-positiv): m/z = 292,27 [M+H]⁺ 100 %

MS (ESI-negativ): m/z = 290,29 [M-H]⁻ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3250 „br“ (OH st); 3063 w (aromat. CH st); 2960 w, 2916 s, 2848 w (aliph. CH st); 1599 m, 1503 w, 1472 w, 1462 m (C=C st); 1378 m,

1285 w (CH δ); 1259 m (aromat. C-OH st); 1176 m (C-O-C st cycl. Ether); 1013 m (CH₂-OH st); 752 m, 704 w (CH δ monosubst. Aromat)

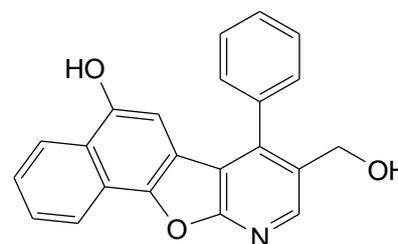
¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,58 (s, 1 H, 2-H); 8,32 (s, 1 H, 6-OH); 7,65 - 7,60 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,56 - 7,52 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,48 (d, 1 H, ⁴J_{8/7} = 8,8 Hz, 8-H); 7,00 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,45 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 4,60 (d, 2 H, ³J_{CH₂/OH} = 5,4 Hz, 3-CH₂OH); 4,26 (t, 1 H, ³J_{OH/CH₂} = 5,4 Hz, 3-CH₂OH)

¹³C-NMR: 100 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 165,0 (6-C); 155,3 (8a-C); 150,7 (4-C); 148,8 (2-C); 146,8 (9a-C); 137,5 (1'-C); 132,5 (4b-C); 130,7 (3',5'-C); 130,6 (4'-C); 130,5 (2',6'-C); 124,9 (3-C); 118,3 (7-C); 116,5 (4a-C); 114,0 (8-C); 109,5 (5-C); 61,2 (COOCH₂OH)

R_f-Werte: 0,17 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,06 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Hydroxymethyl-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-6-ol

Verbindung: **48**
Summenformel: C₂₂H₁₅NO₃
Molgewicht: 341,36 g/mol
Darstellung: a)
b) nach AAV 7



a) 30 mg (69 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **46** wurden in 10 ml THF gelöst, zu 5 ml eines auf pH 5 eingestellten wässrigen NaF/HF-Puffers gegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 12 Stunden war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Die trübe Lösung wurde in einen Scheidetrichter überführt und 3-mal mit jeweils 10 ml Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit jeweils 10 ml Aqua dest. und gesättigter, wässriger Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration wurden die organischen Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (*i. v.*) entfernt. Der verbleibende beige, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **48** resultierte als ein hellbeiger, feiner Feststoff.

b) 25 mg (65 μ mol, 1 eq.) der Verbindung **31** wurden gemäß der AAV 7 bei -10 °C mit 0,2 ml (195 μ mol, 3 eq.) Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF) umgesetzt. Nach 2 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Der resultierende graue, wachsartige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60

(v/v) als Eluent aufgereinigt und aus trockenem Ether kristallisiert. **48** resultierte als ein hellbeiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: nach a): 83,1 %
nach b): 37,8 %

Schmelzbereich: 264 – 266 °C

Elementaranalyse: ber.: C 77,41; H 4,43; N 4,10
gef.: C 77,27; H 4,49; N 4,11

MS (ESI-positiv): m/z = 342,38 [M+H]⁺ 100 %; m/z = 704,79 [2M+Na]⁺ 55 %

MS (ESI-negativ): m/z = 340,36 [M-H]⁻ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3254 „br“ (OH st); 3062 w (aromat. CH st); 2954 w, 2918 s, 2850 m (aliph. CH st); 1597 m, 1526 w, 1496 w (C=C st); 1443 s, 1412 m, 1375 m, 1312 w (CH δ); 1242 m (aromat. C-OH st); 1169 m (C-O-C st cycl. Ether); 1050 m (CH₂-OH st); 763 m, 703 w (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 9,06 (s, 1 H, 6-OH); 8,61 (s, 1 H, 2-H); 8,38 („d“ br, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 8,33 („d“ br, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 7,73 (ddd, 1 H, ³J_{9/10} = 8,2 Hz, ³J_{9/8} = 6,9 Hz, ⁴J_{9/7} = 1,2 Hz, 9-H); 7,66 - 7,56 (m, 6 H, 2',3',4',5',6'-H, 8-H); 6,48 (s, 1 H, 5-H); 4,63 (d, 2 H, ³J_{CH₂/OH} = 5,4 Hz, 3-CH₂OH); 4,27 (t, 1 H, ³J_{OH/CH₂} = 5,4 Hz, 3-CH₂OH)

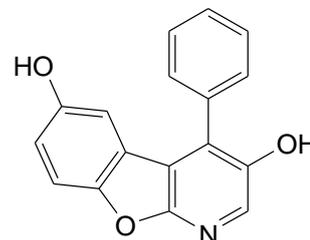
¹³C-NMR: 100 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 164,3 (6-C); 151,3 (4-C); 147,9 (2-C); 146,7 (11a-C); 146,1 (10b-C); 137,5 (1'-C); 132,7 (3-C); 130,8 (3'-C & 5'-C); 130,6 (2'-C & 6'-C); 130,5 (4'-C); 129,2 (10-C); 127,7 (7-C); 127,1 (4b-C); 125,2 (9-C); 123,4 (6a-C); 122,4 (8-C); 119,4 (10a-C); 117,3 (4a-C); 102,3 (5-C); 61,3 (3-CH₂OH)

R_f-Werte: 0,20 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,08 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.6.7 3,6-Dihydroxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

4-Phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol

Verbindung: **49**
 Summenformel: $C_{17}H_{11}NO_3$
 Molgewicht: 277,28 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6



25 mg (68 μ mol) der Verbindung **20** wurden in 20 ml trockenem Methanol gelöst, mit 20 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert (Papierfilter, Kieselgelfiltration (Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v))). Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde **49** aus Ether zu einem hellbeigen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 92,6 %
 Schmelzbereich: 214 – 217 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 73,64; H 4,00; N 5,05
 gef.: C 73,38; H 3,85; N 4,99
 MS (ESI-positiv): $m/z = 278,25 [M+H]^+ 100 \%$
 MS (ESI-negativ): $m/z = 276,38 [M-H]^- 100 \%$

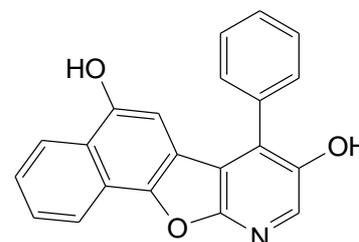
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3350 „br“ (OH st); 3061 w (aromat. CH st); 1595 w, 1495 w, 1466 m (C=C st); 1377 m, 1277 w (CH δ); 1250 m (aromat. C-OH st); 1183 m (C-O-C st cycl. Ether); 754 m, 702 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 500 MHz, DMSO- d_6 [δ in ppm]: 9,72 (s br, 1 H, 3-OH); 9,29 (s br, 1 H, 6-OH); 8,07 (s, 1 H, 2-H); 7,61 - 7,51 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,46 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 8,9$ Hz, 8-H); 6,89 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,6$ Hz, 7-H); 6,54 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,6$ Hz, 5-H)

R_f -Werte: 0,30 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,25 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

4-Phenylnaptho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol

Verbindung: **50**
 Summenformel: $C_{21}H_{13}NO_3$
 Molgewicht: 327,33 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6

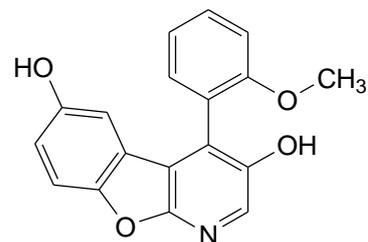


60 mg (114 μ mol) der Verbindung **24** wurden in 20 ml trockenem Methanol und 2 ml trockenem THF gelöst, mit 36 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 2 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert (Papierfilter, Kieselgelfiltration (Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)). Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde **50** aus Ether zu einem beigen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 91,4 %
 Schmelzbereich: 252 – 255 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 77,05; H 4,00; N 4,28
 gef.: C 76,79; H 4,12; N 4,21
 MS (ESI-positiv): $m/z = 328,39 [M+H]^+$ 100 %; $m/z = 350,01 [M+Na]^+$ 26 %
 MS (ESI-negativ): $m/z = 326,48 [M-H]^-$ 100 %
 IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3337 „br“ (OH st); 3047 w (aromat. CH st); 1599 m, 1487 w, 1473 w (C=C st); 1444 m, 1414 m 1369 s (CH δ); 1256 s (aromat. C-OH st); 1172 m (C-O-C st cycl. Ether); 753 m, 691 m (CH δ monosubst. Aromat)
 1H -NMR: 500 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 9,04 (s, 1 H, 6-OH); 8,49 (s, 1 H, 3-OH); 8,36 (d, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,3$ Hz, 10-H); 8,33 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,3$ Hz, 7-H); 8,16 (s, 1 H, 2-H); 7,74-7,70 (m, 1 H, 9-H); 7,67 - 7,57 (m, 6 H, 4- C_6H_5 , 8-H); 6,71 (s, 1 H, 5-H)
 ^{13}C -NMR: 125 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 159,4 (6-C); 150,9 (11a-C); 150,8 (3-C); 149,7 (10b-C); 135,5 (2-C); 135,4 (1'-C); 133,3 (4-C); 131,7 (3'-C & 5'-C); 130,4 (2'-C & 6'-C); 130,3 (4'-C); 129,1 (10-C); 127,7 (7-C); 127,1 (4b-C); 125,2 (9-C); 123,5 (6a-C); 122,4 (8-C); 119,5 (10a-C); 117,8 (4a-C); 102,5 (5-C)
 R_f-Werte: 0,22 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,23 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

4-(2-Methoxyphenyl)-benzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol

Verbindung: **51**
 Summenformel: C₁₈H₁₃NO₄
 Molgewicht: 307,30 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6



28 mg (70 µmol) der Verbindung **25** wurden in 20 ml trockenem Methanol und 4 ml trockenem THF gelöst, mit 22 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert. Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde der Rückstand säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) aufgereinigt und **51** aus Ether zu einem hellbeigen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 75,1 %
 Schmelzbereich: 125 – 127 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 70,35; H 4,26; N 4,56
 gef.: C 70,60; H 4,38; N 4,51
 MS (ESI-positiv): m/z = 308,28 [M+H]⁺ 100 %; m/z = 636,87 [2M+Na]⁺ 16 %
 MS (ESI-negativ): m/z = 306,17 [M-H]⁻ 100 %

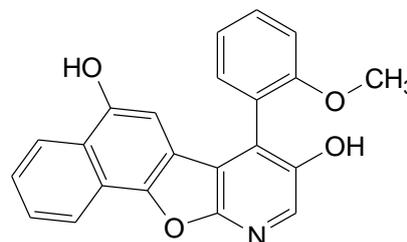
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3305 „br“ (OH st); 3076 w (aromat. CH st); 2921 m, 2851 w (aliph. CH st); 1598 m, 1490 w, 1463 m (C=C st); 1436 w, 1376 m, 1275 w (CH δ); 1247 m (aromat. C-OH st); 1180 m (C-O-C st cycl. Ether); 753 m (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,21 (s, 1 H, 2-H); 7,57 (ddd, 1 H, ³J_{4/3'} = 8,4 Hz, ³J_{4/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{4/6'} = 1,7 Hz, 4'-H); 7,51 (dd, 1 H, ³J_{6/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{6/4'} = 1,7 Hz, 6'-H); 7,44 (d, 1 H, ³J_{8/7'} = 8,8 Hz, 8-H); 7,21 (dt, 1 H, ³J_{5/6'} = 7,5 Hz, ³J_{5/4'} = 7,5 Hz, ⁴J_{5/3'} = 1,0 Hz, 5'-H); 7,19 (d br, 1 H, ³J_{3/4'} = 8,4 Hz, 3'-H); 6,95 (dd, 1 H, ³J_{7/8'} = 8,8 Hz, ⁴J_{7/5'} = 2,6 Hz, 7-H); 6,66 (d, 1 H, ⁴J_{5/7'} = 2,6 Hz, 5-H); 5,59 (s br, 1 H, 3-OH); 4,96 (s br, 1 H, 6-OH); 3,89 (s, 3 H, 2'-OCH₃)

R_f-Werte: 0,33 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,14 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

4-(2-Methoxyphenyl)-naphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol

Verbindung: **52**
 Summenformel: C₂₂H₁₅NO₄
 Molgewicht: 357,36 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6



41 mg (92 µmol) der Verbindung **26** wurden in 20 ml trockenem Methanol und 4 ml trockenem THF gelöst, mit 29 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert (Papierfilter, Kieselgelfiltration (Chloroform/Essigester 85:15 (v/v))). Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde **52** aus Ether zu einem beigen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 88,3 %
 Schmelzbereich: 238 – 240 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 73,94; H 4,23; N 3,92
 gef.: C 73,58; H 4,33; N 3,89
 MS (ESI-negativ): m/z = 356,18 [M-H]⁻ 100 %

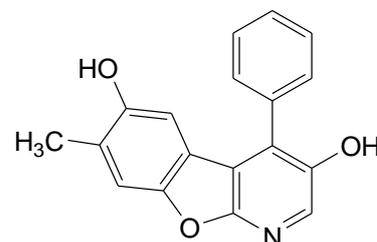
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3203 „br“ (OH st); 3068 w, (aromat. CH st); 2964 m, 2837 w (aliph. CH st); 1599 m, 1490 w, 1444 m (C=C st); 1413 m, 1375 m, 1275 w (CH δ); 1244 m (aromat. C-OH st); 1173 m (C-O-C st cycl. Ether); 756 m (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 9,00 (s, 1 H, 6-OH); 8,36 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 8,32 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 8,17 (s, 1 H, 3-OH); 8,13 (s, 1 H, 2-H); 7,71 (ddd, 1 H, ³J_{9/10} = 8,2 Hz, ³J_{9/8} = 7,0 Hz, ⁴J_{9/7} = 1,1 Hz, 9-H); 7,62 - 7,55 (m, 2 H, 4'-H, 8-H); 7,49 (dd, 1 H, ³J_{6/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{6/4'} = 1,7 Hz, 6'-H); 7,26 („d“ br, 1 H, ³J_{3/4'} = 8,3 Hz, 3'-H); 7,17 (dt, 1 H, ³J_{5/6'} = ³J_{5/4'} = 7,5 Hz, ⁴J_{5/3'} = 1,0 Hz, 5'-H); 6,57 (s, 1 H, 5-H); 3,74 (s, 3 H, 2'-OCH₃)

R_f-Werte: 0,39 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,24 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)
 0,32 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

7-Methyl-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol

Verbindung: **53**
Summenformel: $C_{18}H_{13}NO_3$
Molgewicht: 291,30 g/mol
Darstellung: nach AAV 6



11 mg (29 μ mol) der Verbindung **21** wurden in 20 ml trockenem Methanol gelöst, mit 9 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert (Papierfilter, Kieselgelfiltration (Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v))). Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde **53** aus Chloroform zu einem beigen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 81,7 %
Schmelzbereich: 233 – 235 °C
MS (ESI-positiv): $m/z = 292,30 [M+H]^+$ 100 %
MS (ESI-negativ): $m/z = 290,39 [M-H]^-$ 100 %

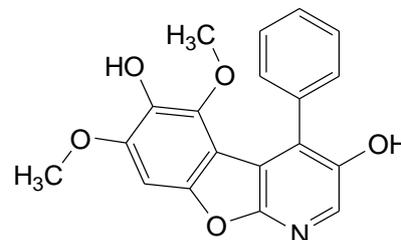
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3305 „br“ (OH st); 3069 w, (aromat. CH st); 2955 w, 2924 m, 2854 w (aliph. CH st); 1597 m, 1462 w, 1433 w (C=C st); 1386 w, 1369 m, 1297 w (CH δ); 1267 m (aromat. C-OH st); 1181 m (C-O-C st cycl. Ether); 757 m, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 8,39 (s, 1 H, OH); 8,25 (s, 1 H, OH); 8,08 (s, 1 H, 2-H); 7,61 - 7,53 (m, 5 H, 4-C₆H₅); 7,36 (s, 1 H, 8-H); 6,71 (s, 1 H, 5-H); 2,32 (s, 3 H, 7-CH₃)

R_f-Werte: 0,24 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,17 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

5,7-Dimethoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol

Verbindung: **54**
Summenformel: $C_{19}H_{15}NO_5$
Molgewicht: 337,33 g/mol
Darstellung: nach AAV 6



15 mg (35 μ mol) der Verbindung **23** wurden in 20 ml trockenem Methanol gelöst, mit 11 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 4 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert (Papierfilter, Kieselgelfiltration (Chloroform/Essigester 85:15 (v/v))). Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde **54** aus Ether zu einem gräulichen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 86,2 %
Schmelzbereich: 204 – 207 °C
MS (ESI-positiv): $m/z = 338,18 [M+H]^+$ 100 %
MS (ESI-negativ): $m/z = 336,17 [M-H]^-$ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3403 „br“ (OH st); 3061 w, (aromat. CH st); 2955 w, 2921 s, 2849 m (aliph. CH st); 1601 m, 1475 m, 1437 m (C=C st); 1375 w, 1318 m (CH δ); 1227 m (aromat. C-OH st); 1190 m (C-O-C st cycl. Ether); 748 m, 694 m (CH δ monosubst. Aromat)

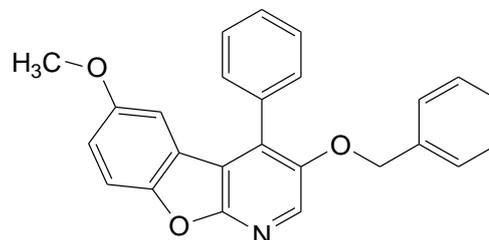
1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 7,90 (s, 1 H, 2-H); 7,87 - 7,84 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,56 - 7,51 (m, 2 H, 3',5'-H); 7,47 - 7,42 (m, 1 H, 4'-H); 6,91 (s, 1 H, 8-H); 5,48 (s, 1 H, 3-OH); 5,36 (s, 1 H, 6-OH); 4,16 (s, 3 H, 5-OCH₃); 4,01 (s, 3 H, 7-OCH₃)

R_f -Werte: 0,32 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,27 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15 (v/v)

6.1.2.6.8 3-Benzoyloxy-6-methoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

3-Benzoyloxy-6-methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **55**
 Summenformel: $C_{25}H_{19}NO_3$
 Molgewicht: 381,42 g/mol
 Darstellung: nach AAV 5



30 mg (82 μ mol) der Verbindung **20** wurden gemäß AAV 5 mit 15 μ l (0,25 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 2 h war die *O*-Methylierung abgeschlossen und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether/Petrolether kristallisiert. **55** resultierte als ein beiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 91,5 %
 Schmelzbereich: 112 – 113 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 78,72; H 5,02; N 3,67
 gef.: C 78,55; H 4,95; N 3,58
 MS (ESI-positiv): $m/z = 382,23 [M+H]^+ 100 \%$

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3053 w, 3003 w (aromat. CH st); 2923 m, 2851 w (aliph. CH st); 1623 w, 1587 m, 1471 s (C=C st); 1440 m, 1358 m, 1337 w (CH δ); 1274 s, 1224 m (C-O-C st aromat. Ether); 1194 s (C-O-C st cycl. Ether); 1092 s, 1025 s (C-O-C st aromat. Ether); 758 m, 698 m (CH δ monosubst. Aromat)

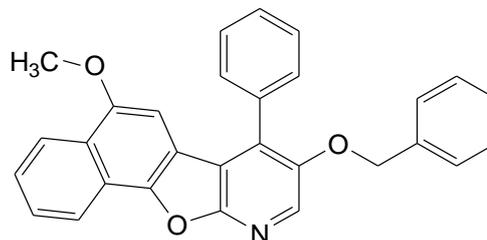
1H -NMR: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ ppm]: 8,33 (s, 1 H, 2-H); 7,66 - 7,57 (m, 5 H, 4- C_5H_6); 7,54 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,34 - 7,28 (m, 5 H, 3- $OCH_2C_6H_5$); 7,11 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,69 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 5,20 (s, 2 H, 3- $CH_2C_6H_5$); 3,63 (s, 3 H, 6- OCH_3)

^{13}C -NMR: 100 MHz, $CDCl_3$ [δ ppm]: 160,8 (6-C); 157,5 (3-C); 152,0 (8a-C); 151,0 (9a-C); 138,9 (1 $^\#$ -C); 137,6 (1'-C); 136,1 (2-C); 135,2 (4b-C); 131,5 (3'-C & 5'-C); 130,7 (4'-C); 130,4 (3 $^\#$ -C & 5 $^\#$ -C); 130,2 (2'-C & 6'-C); 129,7 (4 $^\#$ -C); 129,3 (2 $^\#$ -C & 6 $^\#$ -C); 124,8 (4-C); 117,8 (7-C); 117,3 (4a-C); 114,2 (8-C); 107,7 (5-C); 74,4 (CH_2); 56,8 (6- OCH_3)

R_f -Werte: 0,70 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,79 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Benzoyloxy-6-methoxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **56**
Summenformel: $C_{29}H_{21}NO_3$
Molgewicht: 431,48 g/mol
Darstellung: nach AAV 5



20 mg (48 μ mol) der Verbindung **24** wurden gemäß AAV 5 mit 9 μ l (0,14 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 3 h war die *O*-Methylierung abgeschlossen und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **56** resultierte als ein hellbeiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 95,3 %
Schmelzbereich: 173 – 176 °C
MS (ESI-positiv): $m/z = 432,28 [M+H]^+ 100 \%$; $m/z = 454,03 [M+Na]^+ 49 \%$;
 $m/z = 885,91 [2M+Na]^+ 47 \%$

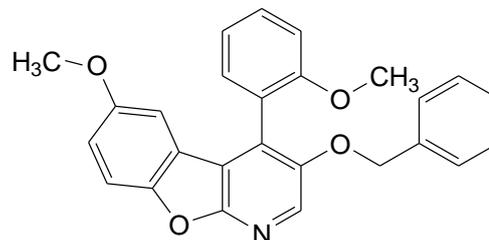
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3052 w, 3010 w (aromat. CH st); 2961 m, 2923 w, 2853 w (aliph. CH st); 1599 m, 1580 w, 1458 w (C=C st); 1444 m, 1414 m 1381 m, 1373 w (CH δ); 1259 s, 1231 w (C-O-C st aromat. Ether); 1189 m (C-O-C st cycl. Ether); 1089 s, 1023 m (C-O-C st aromat. Ether); 760 m, 691 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,42 (d, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,2$ Hz, 10-H); 8,29 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,4$ Hz, 7-H); 8,23 (s, 1 H, 2-H); 7,69 - 7,54 (m, 7 H, 4- C_6H_5 , 8-H, 9-H); 7,34 - 7,22 (m, 5 H, 3- $OCH_2C_6H_5$); 6,53 (s, 1 H, 5-H); 5,09 (s, 2 H, 3- $OCH_2C_6H_5$); 3,74 (s, 3 H, 6- OCH_3)

R_f -Werte: 0,72 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,84 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Benzoyloxy-6-methoxy-4-(2-methoxyphenyl)-benzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **57**
 Summenformel: C₂₆H₂₁NO₄
 Molgewicht: 411,45 g/mol
 Darstellung: nach AAV 5



30 mg (75 µmol) der Verbindung **25** wurden gemäß AAV 5 mit 14 µl (0,23 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 4 h war die *O*-Methylierung abgeschlossen und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **57** resultierte als ein beiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 74,8 %
 Schmelzbereich: 123 – 125 °C
 MS (ESI-positiv): m/z = 412,17 [M+H]⁺ 100 %

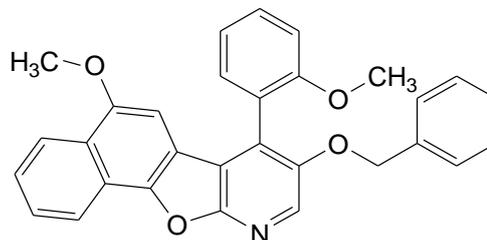
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3063 w, 3031 w (aromat. CH st); 2991 m, 2934 w, 2833 m (aliph. CH st); 1586 m, 1502 w, 1477 s (C=C st); 1443 w, 1435 m 1376 w, 1359 s (CH δ); 1270 m, 1246 m, 1219 w (C-O-C st aromat. Ether); 1183 s (C-O-C st cycl. Ether); 1072 m, 1046 w, 1027 m (C-O-C st aromat. Ether); 754 m (CH δ monosubst. Aromat); 734 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat); 697 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,18 (s, 1 H, 2-H); 7,52 („dt“, 1 H, ³J_{4/3'} = 8,4 Hz, ⁴J_{4/6'} = 1,7 Hz, 4'-H); 7,46 (d, 1 H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H); 7,38 (dd, 1 H, ³J_{6/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{6/4'} = 1,7 Hz, 6'-H); 7,32 - 7,25 (m, 3 H, 3'',4'',5''-H der 3-Benzoyloxygruppe); 7,24 - 7,19 (m, 2 H, 2'',6''-H der 3-Benzoyloxygruppe); 7,15 (dt, 1 H, ³J_{5/6'} = 7,5 Hz, ³J_{5/4'} = 7,5 Hz, ⁴J_{5/3'} = 0,8 Hz, 5'-H); 7,11 (d br, 1 H, ³J_{3/4'} = 8,4 Hz, 3'-H); 7,00 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,55 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,08 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅); 3,70 (s, 3 H, 6-OCH₃); 3,63 (s, 3 H, 2'-OCH₃)

R_f-Werte: 0,61 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,76 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

3-Benzoyloxy-6-methoxy-4-(2-methoxyphenyl)-naphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **58**
 Summenformel: $C_{30}H_{23}NO_4$
 Molgewicht: 461,51 g/mol
 Darstellung: nach AAV 5



18 mg (40 μ mol) der Verbindung **26** wurden gemäß AAV 5 mit 8 μ l (0,12 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 4 h war die *O*-Methylierung abgeschlossen und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **58** resultierte als ein hellorangener, feiner Feststoff.

Ausbeute: 93,6 %
 Schmelzbereich: 181 – 183 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 462,19 [M+H]^+ 100 \%$

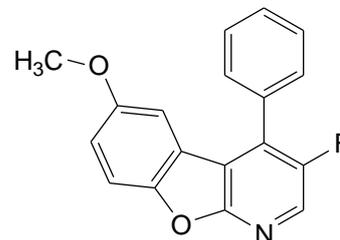
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3064 w, 3030 w (aromat. CH st); 2931 m, 2852 w, 2835 w (aliph. CH st); 1601 m, 1582 w, 1503 m, 1480 w (C=C st); 1456 m, 1438 m, 1412 w, 1379 s, 1345 w (CH δ); 1271 w, 1259 s, 1225 w (C-O-C st aromat. Ether); 1182 m (C-O-C st cycl. Ether); 1093 w, 1071 m, 1027 m (C-O-C st aromat. Ether); 756 m (CH δ monosubst. Aromat); 742 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat); 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 8,38 (ddd, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,3$ Hz, $^4J_{10/8} = 1,3$ Hz, $^5J_{10/7} = 0,7$ Hz, 10-H); 8,32 (s, 1 H, 2-H); 8,29 („d“ br, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,5$ Hz, 7-H); 7,75 (ddd, 1 H, $^3J_{9/10} = 8,3$ Hz, $^3J_{9/8} = 6,9$ Hz, $^4J_{9/7} = 1,2$ Hz, 9-H); 7,66 - 7,59 (m, 2 H, 4'-H, 8-H); 7,52 (dd, 1 H, $^3J_{6/5'} = 7,5$ Hz, $^4J_{6/4'} = 1,7$ Hz, 6'-H); 7,37 - 7,28 (m, 6 H, 3'-H, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 7,23 (dt, 1 H, $^3J_{5/6'} = ^3J_{5/4'} = 7,5$ Hz, $^4J_{5/3'} = 1,0$ Hz, 5'-H); 6,43 (s, 1 H, 5-H); 5,24 (AB-System q, 2 H, $\Delta\delta_{A/B} = 0,031$, $^2J_{A/B} = 12,0$ Hz, 3-OCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 3,75 (s, 3 H, OCH $_3$); 3,74 (s, 3 H, OCH $_3$)

R_f -Werte: 0,70 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,75 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.6.9 3-Fluor-6-methoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene**3-Fluor-6-methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3b]pyridin**

Verbindung: **59**
 Summenformel: C₁₈H₁₂FNO₂
 Molgewicht: 293,29 g/mol
 Darstellung: nach AAV 5



20 mg (72 µmol) der Verbindung **41** wurden gemäß AAV 5 mit 14 µl (0,22 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 3 h war die *O*-Methylierung abgeschlossen und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester 85:15 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **59** resultierte als ein weißer, nadelförmiger Feststoff.

Ausbeute: 85,8 %
 Schmelzbereich: 108 – 111 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 73,71; H 4,12; N 4,78
 gef.: C 73,48; H 4,20; N 4,76
 MS (ESI-positiv): m/z = 294,30 [M+H]⁺ 100 %

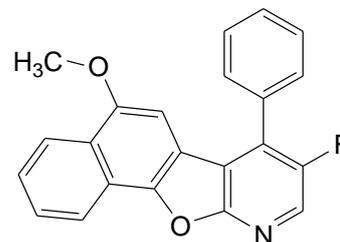
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3056 w (aromat. CH st); 2956 w, 2918 m, 2850 w (aliph. CH st); 1623 w, 1590 m, 1505 w, 1478 s (C=C st); 1436 w, 1357 s, 1336 w (CH δ); 1248 m (C-O-C st aromat. Ether); 1192 s (C-O-C st cycl. Ether); 1137 w (aromat. C-F st); 1030 m (C-O-C st aromat. Ether); 759 m, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,35 (d, 1 H, J_{2/F} = 1,9 Hz, 2-H); 7,67 - 7,56 (m, 5 H, 4-C₆H₅); 7,52 (d, 1 H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H); 7,07 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,6 Hz, 7-H); 6,88 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,6 Hz, 5-H); 3,67 (s, 3 H, 6-OCH₃)

R_f-Werte: 0,73 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,71 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3-Fluor-6-methoxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3b]pyridin

Verbindung: **60**
Summenformel: C₂₂H₁₄FNO₂
Molgewicht: 343,35 g/mol
Darstellung: nach AAV 5



20 mg (61 µmol) der Verbindung **42** wurden gemäß AAV 5 mit 11 µl (0,18 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 5 h war die *O*-Methylierung abgeschlossen und der Ansatz wurde aufgearbeitet. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) als Eluent aufgereinigt und aus Ether kristallisiert. **60** resultierte als ein weißer, nadelförmiger Feststoff.

Ausbeute: 83,2 %
Schmelzbereich: 192 – 194 °C
Elementaranalyse: ber.: C 76,96; H 4,11; N 4,08
gef.: C 76,71; H 4,25; N 4,02
MS (ESI-positiv): m/z = 344,20 [M+H]⁺ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3058 w (aromat. CH st); 2962 m, 2917 m, 2849 w (aliph. CH st); 1633 w, 1582 m, 1506 w, 1456 m (C=C st); 1410 m, 1379 m, 1362 m, 1341 w (CH δ); 1258 s (C-O-C st aromat. Ether); 1185 m (C-O-C st cycl. Ether); 1162 w (aromat. C-F st); 1016 s (C-O-C st aromat. Ether); 755 m, 703 w (CH δ monosubst. Aromat)

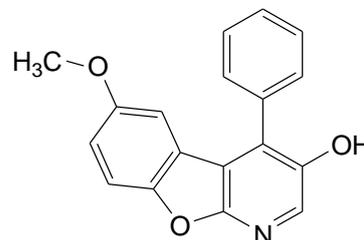
¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,43 (d, 1 H, J_{2/F} = 2,3 Hz, 2-H); 8,40 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 8,32 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 7,82 - 7,72 (m, 5 H, 3',4',5'-H, 9-H, 8-H); 7,71 - 7,65 (m, 2 H, 2',6'-H); 6,71 (s, 1 H, 5-H); 3,80 (s, 3 H, 6-OCH₃)

R_f-Werte: 0,74 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,77 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v/v)

6.1.2.6.10 3-Hydroxy-6-methoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene

6-Methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-ol

Verbindung: **61**
 Summenformel: $C_{18}H_{13}NO_3$
 Molgewicht: 291,30 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6



Zu 15 mg (39 μ mol) Verbindung **55**, gelöst in 10 ml trockenem Methanol, wurden 12 mg Palladium auf Kohle (10 %) gegeben. Der Reaktionsansatz wurde bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde filtriert (Papierfilter, Kieselgelfiltration (Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)). Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde **61** aus trockenem Ether zu einem beigen, feinen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 94,6 %
 Schmelzbereich: 210 – 212 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 292,23 [M+H]^+ 100 \%$

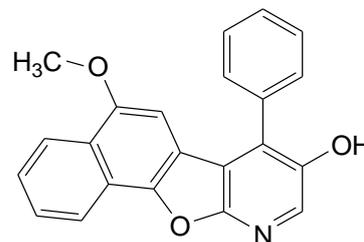
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3198 „br“ (OH st); 3052 w (aromat. CH st); 2954 w 2917 m, 2849 w (aliph. CH st); 1594 m, 1476 w, 1449 m (C=C st); 1436 m, 1330 w, 1295 w (CH δ); 1269 m (aromat. C-OH st); 1192 m (C-O-C st cycl. Ether); 759 w, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 500 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,19 (s, 1 H, 2-H); 7,66 - 7,63 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,60 - 7,56 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,46 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,00 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,63 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 4,99 (s br, 1-H, 3-OH); 3,62 (s, 3 H, 6-OCH₃)

R_f -Werte: 0,27 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,29 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)
 0,36 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

6-Methoxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-ol

Verbindung: **62**
Summenformel: C₂₂H₁₅NO₃
Molgewicht: 341,36 g/mol
Darstellung: nach AAV 6



15 mg (35 µmol) der Verbindung **56** wurden in 20 ml trockenem Methanol und 2 ml trockenem THF gelöst, mit 13 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde zunächst filtriert. Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde der Rückstand säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v) aufgereinigt und **62** aus Ether zu einem weißen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 80,9 %
Schmelzbereich: 242 – 245 °C
MS (ESI-positiv): m/z = 342,26 [M+H]⁺ 100 %

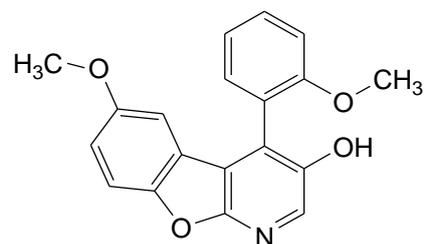
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3180 „br“ (OH st); 3059 w (aromat. CH st); 2960 m, 2923 m, 2853 w (aliph. CH st); 1582 m, 1568 w, 1456 m (C=C st); 1435 m, 1379 s, 1299 w (CH δ); 1258 s (aromat. C-OH st); 1184 m (C-O-C st cycl. Ether); 752 m, 694 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,42 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,2 Hz, 10-H); 8,29 (d, 1 H, ³J_{7/8} = 8,4 Hz, 7-H); 8,23 (s, 1 H, 2-H); 7,70 - 7,62 (m, 6 H, 4-C₆H₅, 9-H); 7,57 (ddd, 1 H, ³J_{8/7} = 8,4 Hz, ³J_{8/9} = 6,9 Hz, ⁴J_{8/10} = 1,3 Hz, 8-H); 6,45 (s, 1 H, 5-H); 5,11 (s br, 1 H, 3-OH); 3,73 (s, 3 H, 6-OCH₃)

R_f-Werte: 0,25 Cyclohexan/Essigester 60/40 (v/v)
0,29 Chloroform/Essigester 85/15 (v/v)

6-Methoxy-4-(2-methoxyphenyl)-benzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-ol

Verbindung: **63**
 Summenformel: C₁₉H₁₅NO₄
 Molgewicht: 321,33 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6



20 mg (49 µmol) der Verbindung **57** wurden in 20 ml trockenem Methanol und 4 ml trockenem THF gelöst, mit 17 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 3 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde zunächst filtriert. Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde der Rückstand säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v) aufgereinigt und **63** aus Ether/Petrolether zu einem hellbeigen Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 76,1 %
 Schmelzbereich: 201 – 203 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 71,02; H 4,71; N 4,36
 gef.: C 70,71; H 4,82; N 4,29
 MS (ESI-positiv): m/z = 322,23 [M+H]⁺ 100 %
 MS (ESI-negativ): m/z = 320,10 [M-H]⁻ 100 %

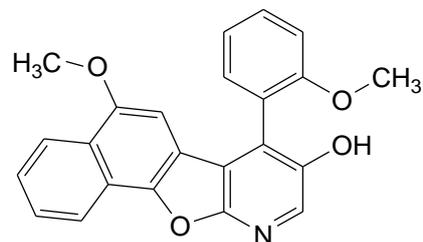
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3216 „br“ (OH st); 3072 w (aromat. CH st); 2932 m, 2835 w (aliph. CH st); 1597 m, 1478 s (C=C st); 1436 m, 1359 m, 1268 m (CH δ); 1246 s (aromat. C-OH st); 1183 s (C-O-C st cycl. Ether); 755 m (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,23 (s, 1 H, 2-H); 7,59 (ddd, 1 H, ³J_{4/3} = 8,2 Hz, ³J_{4/5} = 7,4 Hz, ⁴J_{4/6} = 1,8 Hz, 4'-H); 7,55 (dd, 1 H, ³J_{6/5} = 7,4 Hz, ⁴J_{6/4} = 1,8 Hz, 6'-H); 7,48 (d, 1 H, ³J_{8/7} = 9,0 Hz, 8-H); 7,23 (dt, 1 H, ³J_{5/6} = 7,4 Hz, ³J_{5/4} = 7,4 Hz, ⁴J_{5/3} = 1,0 Hz 5'-H); 7,21 (d br, 1 H, ³J_{3/4} = 8,2 Hz, 3'-H); 7,02 (dd, 1 H, ³J_{7/8} = 9,0 Hz, ⁴J_{7/5} = 2,7 Hz, 7-H); 6,69 (d, 1 H, ⁴J_{5/7} = 2,7 Hz, 5-H); 5,66 (s br, 1 H, 3-OH); 3,90 (s, 3 H, 6-OCH₃); 3,66 (s, 3 H, 2'-OCH₃)

R_f-Werte: 0,42 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,29 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6-Methoxy-4-(2-methoxyphenyl)-naphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-ol

Verbindung: **64**
 Summenformel: C₂₃H₁₇NO₄
 Molgewicht: 371,39 g/mol
 Darstellung: nach AAV 6



16 mg (35 µmol) der Verbindung **58** wurden in 20 ml trockenem Methanol und 4 ml trockenem THF gelöst, mit 13 mg Palladium auf Kohle (10 %) versetzt und bei Raumtemperatur unter einer 2 bar Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 5 h war das Edukt verbraucht und der Ansatz wurde zunächst filtriert. Nach Entfernung der Lösungsmittel (*i. v.*) wurde der Rückstand säulenchromatographisch mit Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v) aufgereinigt und **64** aus Ether zu einem schwach gelben Feststoff kristallisiert.

Ausbeute: 86,2 %
 Schmelzbereich: 191 – 193 °C
 MS (ESI-positiv): m/z = 372,24 [M+H]⁺ 100 %

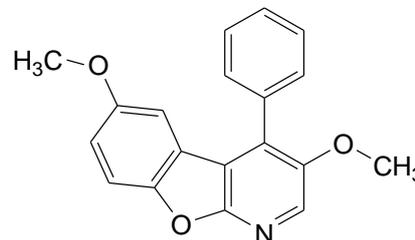
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3332 „br“ (OH st); 3076 w, 3035 w (aromat. CH st); 2952 m, 2920 m, 2851 w (aliph. CH st); 1584 m, 1491 w, 1460 m (C=C st); 1436 w, 1379 m, 1276 w (CH δ); 1247 m (aromat. C-OH st); 1181 m (C-O-C st cycl. Ether); 765 m (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆ [δ in ppm]: 8,37 (d, 1 H, ³J_{10/9} = 8,3 Hz, 10-H); 8,30 - 8,26 (m, 2 H, 7-H, 3-OH); 8,16 (s, 1 H, 2-H); 7,76 - 7,72 (m, 1 H, 9-H); 7,64 - 7,58 (m, 2 H, 4'-H, 8-H); 7,51 (dd, 1 H, ³J_{6/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{6/4'} = 1,7 Hz, 6'-H); 7,32 („d“ br, 1 H, ³J_{3/4'} = 8,5 Hz, 3'-H); 7,22 (dt, 1 H, ³J_{5/6'} = ³J_{5/4'} = 7,5 Hz, ⁴J_{5/3'} = 0,9 Hz, 5'-H); 6,42 (s, 1 H, 5-H); 3,77 (s, 3 H, OCH₃); 3,74 (s, 3 H, OCH₃)

R_f-Werte: 0,42 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,27 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.6.11 3,6-Dimethoxy-substituierte 1-Aza-9-/1-Aza-11-oxafluorene**3,6-Dimethoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin**

Verbindung: **65**
Summenformel: $C_{19}H_{15}NO_3$
Molgewicht: 305,33 g/mol
Darstellung: nach AAV 5



10 mg (36 μ mol) der Verbindung **49** wurden gemäß AAV 5 mit 14 μ l (0,22 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 6 Stunden wurde die Reaktion abgebrochen und der Ansatz aufgearbeitet. Das Produkt wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)) isoliert und nachfolgend aus trockenem Ether kristallisiert. **65** resultierte als ein beiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 53,6 %
Schmelzbereich: 143 – 145 °C
MS (ESI-positiv): $m/z = 306,24 [M+H]^+ 100 \%$

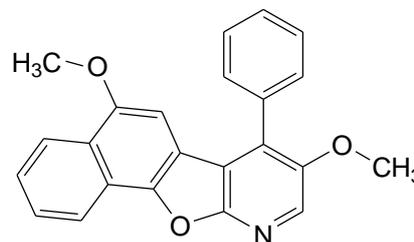
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3057 w, 3000 w (aromat. CH st); 2952 w, 2927 m, 2836 w (aliph. CH st); 1587 w, 1504 w, 1477 s (C=C st); 1436 w, 1363 m, 1339 w (CH δ); 1272 s, 1249 w (C-O-C st aromat. Ether); 1189 s (C-O-C st cycl. Ether); 1089 m, 1033 m (C-O-C st aromat. Ether); 759 m, 701 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 500 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,17 (s, 1 H, 2-H); 7,59 - 7,51 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,47 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,02 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,68 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 3,88 (s, 3 H, 3- OCH_3); 3,63 (s, 3 H, 6- OCH_3)

R_f -Werte: 0,40 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,58 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3,6-Dimethoxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **66**
Summenformel: $C_{23}H_{17}NO_3$
Molgewicht: 355,39 g/mol
Darstellung: nach AAV 5



15 mg (46 μ mol) der Verbindung **50** wurden gemäß AAV 5 mit 18 μ l (0,28 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 6 Stunden wurde die Reaktion abgebrochen und der Ansatz aufgearbeitet. Das Produkt wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)) isoliert und nachfolgend aus trockenem Ether kristallisiert. **66** resultierte als ein hellbeiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 50,4 %
Schmelzbereich: 159 – 161 °C
MS (ESI-positiv): $m/z = 356,26 [M+H]^+ 100 \%$

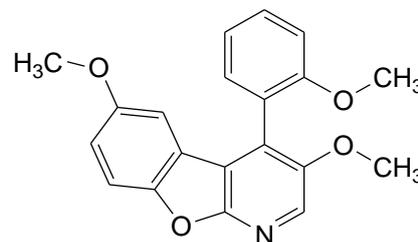
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3062 w, 3010 w (aromat. CH st); 2957 w, 2916 s, 2848 m (aliph. CH st); 1599 w, 1582 w, 1472 m, 1462 m (C=C st); 1438 m, 1413 m 1380 w (CH δ); 1260 m, 1215 w (C-O-C st aromat. Ether); 1188 m (C-O-C st cycl. Ether); 1088 m, 1023 w (C-O-C st aromat. Ether); 753 m, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 500 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,42 (d, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,2$ Hz, 10-H); 8,29 (d, 1 H, $^3J_{7/8} = 8,4$ Hz, 7-H); 8,19 (s, 1 H, 2-H); 7,67 (ddd, 1 H, $^3J_{9/10} = 8,2$ Hz, $^3J_{9/8} = 7,0$ Hz, $^4J_{9/7} = 1,2$ Hz, 9-H); 7,64 - 7,55 (m, 6 H, 4- C_6H_5 , 8-H); 6,49 (s, 1 H, 5-H); 3,92 (s, 3 H, 3-OCH₃); 3,73 (s, 3 H, 6-OCH₃)

R_f -Werte: 0,43 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,65 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3,6-Dimethoxy-4-(2-methoxyphenyl)-benzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **67**
 Summenformel: $C_{20}H_{17}NO_4$
 Molgewicht: 335,35 g/mol
 Darstellung: nach AAV 5



15 mg (49 μ mol) der Verbindung **51** wurden gemäß AAV 5 mit 20 μ l (0,33 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 6 Stunden wurde die Reaktion abgebrochen und der Ansatz aufgearbeitet. Das Produkt wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)) isoliert und nachfolgend aus trockenem Ether kristallisiert. **67** resultierte als ein hellbeiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 62,0 %
 Schmelzbereich: 125 – 128 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 336,24 [M+H]^+ 100 \%$

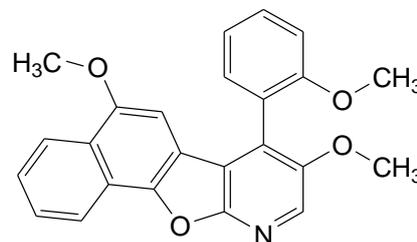
IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3072 w (aromat. CH st); 2956 w, 2924 m, 2855 w (aliph. CH st); 1601 w, 1581 w, 1481 w, 1462 m (C=C st); 1436 w, 1393 w 1362 m (CH δ); 1270 s, 1248 w, 1209 w (C-O-C st aromat. Ether); 1185 m (C-O-C st cycl. Ether); 1120 m, 1078 m, 1030 m (C-O-C st aromat. Ether); 742 m (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,17 (s, 1 H, 2-H); 7,51 (ddd, 1 H, $^3J_{4/3'} = 8,2$ Hz, $^3J_{4/5'} = 7,4$ Hz, $^4J_{4/6'} = 1,8$ Hz, 4'-H); 7,45 (d, 1 H, $^3J_{8/7} = 9,0$ Hz, 8-H); 7,35 (dd, 1 H, $^3J_{6/5'} = 7,4$ Hz, $^4J_{6/4'} = 1,8$ Hz, 6'-H); 7,16 - 7,10 (m, 2 H, $^3J_{3/4'} = 8,2$ Hz, $^3J_{5/6'} = 7,4$ Hz, $^3J_{5/4'} = 7,4$ Hz, $^4J_{5/3'} = 1,0$ Hz, 5',3'-H); 7,00 (dd, 1 H, $^3J_{7/8} = 9,0$ Hz, $^4J_{7/5} = 2,7$ Hz, 7-H); 6,51 (d, 1 H, $^4J_{5/7} = 2,7$ Hz, 5-H); 3,89 (s, 3 H, OCH_3); 3,73 (s, 3 H, OCH_3); 3,63 (s, 3 H, 2'- OCH_3)

R_f -Werte: 0,55 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,56 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

3,6-Dimethoxy-4-(2-methoxyphenyl)-naphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin

Verbindung: **68**
 Summenformel: $C_{24}H_{19}NO_4$
 Molgewicht: 385,41 g/mol
 Darstellung: nach AAV 5



10 mg (28 μ mol) der Verbindung **52** wurden gemäß AAV 5 mit 11 μ l (0,17 mmol) Iodmethan umgesetzt. Nach 6 Stunden wurde die Reaktion abgebrochen und der Ansatz aufgearbeitet. Das Produkt wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)) isoliert und nachfolgend aus trockenem Ether kristallisiert. **68** resultierte als ein hellbeiger, feiner Feststoff.

Ausbeute: 58,4 %
 Schmelzbereich: 159 – 161 °C
 MS (ESI-positiv): $m/z = 386,24 [M+H]^+ 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3067 w (aromat. CH st); 2955 w, 2925 s, 2854 w (aliph. CH st); 1602 m, 1582 w, 1480 m, 1457 m (C=C st); 1436 m, 1413 w 1378 m (CH δ); 1259 s, 1244 w, 1226 w (C-O-C st aromat. Ether); 1184 m (C-O-C st cycl. Ether); 1116 w, 1076 m, 1023 m (C-O-C st aromat. Ether); 754 m (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

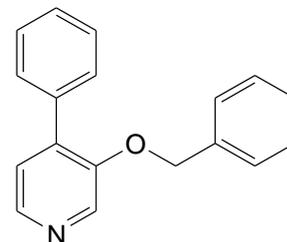
1H -NMR: 400 MHz, Aceton- d_6 [δ in ppm]: 8,38 (d, 1 H, $^3J_{10/9} = 8,2$ Hz, 10-H); 8,31 - 8,27 (m, 2 H, 2-H, 7-H); 7,77 - 7,72 (m, 1 H, 9-H); 7,65 - 7,57 (m, 2 H, 4'-H, 8-H); 7,46 (dd, 1 H, $^3J_{6'/5'} = 7,4$ Hz, $^4J_{6'/4'} = 1,7$ Hz, 6'-H); 7,32 („d“ br, 1 H, $^3J_{3'/4'} = 8,3$ Hz, 3'-H); 7,21 (dt, 1 H, $^3J_{5'/6'} = ^3J_{5'/4'} = 7,4$ Hz, $^4J_{5'/3'} = 0,8$ Hz, 5'-H); 6,40 (s, 1 H, 5-H); 3,94 (s, 3 H, OCH_3); 3,74 (s, 3 H, OCH_3); 3,73 (s, 3 H, OCH_3)

R_f -Werte: 0,57 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,61 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.1.2.7 3,4-disubstituierte Pyridine

3-Benzyloxy-4-phenylpyridin

Verbindung: **70**
Summenformel: $C_{18}H_{15}NO$
Molgewicht: 261,32 g/mol
Darstellung:



70 entstand als Nebenprodukt aus den Umsetzungen von Verbindung **9** mit diversen 1,4-Benzochinonen bzw. 1,4-Naphthochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die Kristallisierung zu einem gelb-braunen Feststoff gelang aus trockenem Ether.

Ausbeute: (1,4-Benzochinone/1,4-Naphthochinon (1) nach Kapitel 4.1.1.4)
56,2 % aus der Umsetzung **9** mit 1a
55,9 % aus der Umsetzung **9** mit 1b
52,6 % aus der Umsetzung **9** mit **1c**
38,7 % aus der Umsetzung **9** mit 1d
68,0 % aus der Umsetzung **9** mit 1e
70,1 % aus der Umsetzung **9** mit **1f**
42,7 % aus der Umsetzung **9** mit 1g

Schmelzbereich: 67 – 70 °C

MS (ESI-positiv): $m/z = 262,21 [M+H]^+$ 100 %

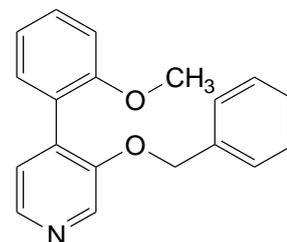
IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3063 w (aromat. CH st); 2958 w, 2911 m, 2851 w (aliph. CH st); 1607 m, 1582 m, 1490 w (C=C st); 1432 m, 1410 w (CH δ); 1248 m, 1040 m (C-O-C st aromat. Ether); 757 w, 698 m (CH δ monosubst. Aromat)

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,42 (s, 1 H, 2-H); 8,33 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 4,9$ Hz, 6-H); 7,65 - 7,62 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,50 - 7,40 (m, 9 H, 5-H, 3',4',5'-H, 3-OCH₂C₆H₅); 5,16 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅)

R_f -Werte: 0,42 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,38 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v/v)

3-Benzoyloxy-4-(2-methoxyphenyl)-pyridin

Verbindung: **71**
 Summenformel: C₁₉H₁₇NO₂
 Molgewicht: 291,34 g/mol
 Darstellung:



71 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **15** mit *p*-Benzochinon bzw. 1,4-Naphthochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die resultierende ölige, gelbliche Substanz konnte nicht auskristallisiert werden.

Ausbeute: 62,1 % aus der Umsetzung **15** mit *p*-Benzochinon
 48,7 % aus der Umsetzung **15** mit 1,4-Naphthochinon

MS (ESI-positiv): $m/z = 292,17 [M+H]^+ 100 \%$

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3063 w, 3032 w (aromat. CH st); 2954 w, 2915 m, 2848 m (aliph. CH st); 1603 m, 1586 w, 1481 m (C=C st); 1454 m, 1415 m (CH δ); 1273 m, 1242 m, 1063 w, 1026 m (C-O-C st aromat. Ether); 752 w (CH δ monosubst. Aromat); 737 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat); 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

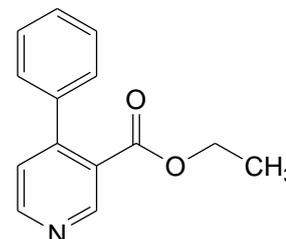
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,26 (s, 1 H, 2-H); 8,18 (d, 1 H, ³J_{6/5} = 4,8 Hz, 6-H); 7,28 (ddd, 1 H, ³J_{4/3'} = 8,3 Hz, ³J_{4/5'} = 7,5 Hz, ⁴J_{4/6'} = 1,8 Hz, 4'-H); 7,21 - 7,11 (m, 7 H, C₆H₅, 5-H, 6'-H); 6,93 (dt, 1 H, ³J_{5/4'} = 7,5 Hz, ³J_{5/6'} = 7,4 Hz, ⁴J_{5/3'} = 0,9 Hz, 5'-H); 6,87 (d, 1 H, ³J_{3/4'} = 8,3 Hz, 3'-H); 5,01 (s, 2 H, 3-OCH₂C₆H₅); 3,63 (s, 3 H, 2'-OCH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 156,6 (2'-C); 152,5 (3-C); 142,4 (6-C); 136,6 (1[#]-C); 136,5 (1'-C); 135,9 (2-C); 130,8 (4'-C); 129,7 (6'-C); 128,3 (3[#]-C & 5[#]-C); 127,7 (4[#]-C); 126,7 (2[#]-C & 6[#]-C); 125,8 (5'-C); 124,9 (4-C); 120,3 (5-C); 110,8 (3'-C); 70,9 (CH₂); 55,4 (2'-OCH₃)

R_f-Werte: 0,19 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,26 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)

Ethyl-4-phenylnicotinat

Verbindung: **72**
Summenformel: $C_{14}H_{13}NO_2$
Molgewicht: 227,26 g/mol
Darstellung:



72 entstand als Nebenprodukt aus den Umsetzungen von Verbindung **8** mit diversen 1,4-Benzochinonen bzw. 1,4-Naphthochinonen (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die resultierende ölige, gelbe Substanz konnte nicht auskristallisiert werden.

Ausbeute: (1,4-Benzochinone/1,4-Naphthochinone (1) nach Kapitel 4.1.1.4)
39,8 % aus der Umsetzung **8** mit 1a
42,1 % aus der Umsetzung **8** mit 1b
49,9 % aus der Umsetzung **8** mit **1c**
33,4 % aus der Umsetzung **8** mit 1d
59,3 % aus der Umsetzung **8** mit 1e
62,8 % aus der Umsetzung **8** mit **1f**
38,1 % aus der Umsetzung **8** mit 1g
31,7 % aus der Umsetzung **8** mit 1h
35,9 % aus der Umsetzung **8** mit 1i

MS (ESI-positiv): $m/z = 228,11 [M+H]^+ 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3056 w (aromat. CH st); 2980 w, 2927 m, 2854 w (aliph. CH st); 1713 s (C=O st); 1586 m, 1543 w, 1476 w (C=C st); 1445 w, 1404 m, 1366 m, 1306 m (CH δ); 1256 m (C-O st Ester); 1176 s (C-O-C st cycl. Ether); 1106 m, (C-O st Ester); 755 m, 693 m (CH δ monosubst. Aromat)

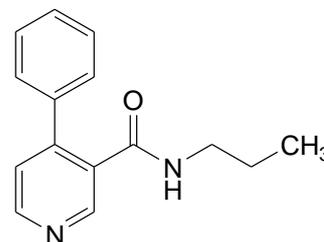
1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 9,01 (s, 1 H, 2-H); 8,70 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 5,1$ Hz, 6-H); 7,43 - 7,39 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,33 - 7,27 (m, 3 H, 2',6'-H, 5-H); 4,14 (q, 2 H, $^3J_{CH_2/CH_3} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃); 1,04 (t, 3 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$ Hz, 3-COOCH₂CH₃)

^{13}C -NMR: 100 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 166,8 (COOCH₂CH₃); 151,7 (6-C); 150,7 (2-C); 149,9 (4-C); 138,5 (1'-C); 128,3 (4'-C); 128,2 (3'-C & 5'-C); 127,9 (2'-C & 6'-C); 126,7 (3-C); 124,7 (5-C); 61,2 (COOCH₂CH₃); 13,6 (COOCH₂CH₃)

R_f -Werte: 0,35 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
0,40 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

4-Phenyl-*N*-propylnicotinamid

Verbindung: **73**
 Summenformel: C₁₅H₁₈N₂O
 Molgewicht: 240,30 g/mol
 Darstellung:



73 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **10** mit *p*-Benzochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die resultierende ölige, gelbliche Substanz konnte nicht auskristallisiert werden.

Ausbeute: 62,0 %
 MS (ESI-positiv): m/z = 241,31 [M+H]⁺ 100 %
 MS (ESI-negativ): m/z = 239,24 [M-H]⁻ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3259 m (NH st); 3056 m (aromat. CH st); 2926 m, 2931 w, 2873 w (aliph. CH st); 1636 s (C=O st); 1587 m (C=C st); 1550 m (NH δ); 1475 m, 1443 w (C=C st); 1403 m, 1382 w (CH δ); 1320 m (C-N st); 749 m, 697 m (CH δ monosubst. Aromat)

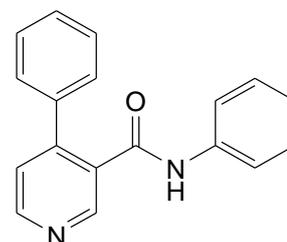
¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,87 (s, 1 H, 2-H); 8,66 (d, 1 H, ³J_{6/5} = 5,1 Hz, 6-H); 7,47 - 7,43 (m, 5 H, 4-C₆H₅); 7,28 (d, 1 H, ³J_{5/6} = 5,1 Hz, 5-H); 5,37 (s br, 1 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 3,20 - 3,14 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 1,33 - 1,23 (m, 2 H, 3-CONHCH₂CH₂CH₃); 0,69 (t, 3 H, ³J_{CH₃/CH₂} = 7,4 Hz, 3-CONHCH₂CH₂CH₃)

¹³C-NMR: 100 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 167,1 (CONHCH₂CH₂CH₃); 150,8 (2-C); 149,8 (6-C); 146,9 (4-C); 137,4 (1'-C); 131,2 (3-C); 129,1 (4'-C); 128,9 (3'-C & 5'-C); 128,3 (2'-C & 6'-C); 124,1 (5-C); 41,7 (CONHCH₂CH₂CH₃); 22,2 (CONHCH₂CH₂CH₃); 11,1 (CONHCH₂CH₂CH₃)

R_f-Werte: 0,05 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,11 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

N,4-Diphenylnicotinamid

Verbindung: **74**
 Summenformel: $C_{18}H_{14}N_2O$
 Molgewicht: 274,32 g/mol
 Darstellung:



74 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **11** mit *p*-Benzochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die Kristallisierung zu einem bräunlichen Feststoff gelang aus trockenem Methanol.

Ausbeute: 45,4 %
 Schmelzbereich: 141 – 143 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 78,81; H 5,14; N 10,21
 gef.: C 78,54; H 5,24; N 10,18
 MS (ESI-positiv): $m/z = 275,24 [M+H]^+$ 100 %
 MS (ESI-negativ): $m/z = 273,27 [M-H]^-$ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3251 m (NH st); 3057 w, 3032 w (aromat. CH st); 1652 s (C=O st); 1595 s (C=C st); 1540 m (NH δ); 1498 m, 1441 m (C=C st); 1326 m (C-N st); 750 m, 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

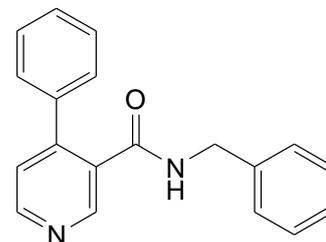
1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,96 (s, 1 H, 2-H); 8,68 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 5,1$ Hz, 6-H); 7,55 (s br, 1 H, 3-CONHC₆H₅); 7,53 - 7,49 (m, 5 H, 4-C₆H₅); 7,36 (d, 1 H, $^3J_{5/6} = 5,1$ Hz, 5-H); 7,31 - 7,23 (m, 4 H, 2[#],3[#],5[#],6[#]-H); 7,16 - 7,10 (m, 1 H, 4[#]-H)

^{13}C -NMR: 100 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 165,0 (CONHC₆H₅); 151,0 (2-C); 149,9 (6-C); 147,2 (4-C); 137,2 (1'-C); 137,0 (1[#]-C); 130,8 (3-C); 129,3 (4'-C); 129,2 (3'-C & 5'-C); 128,9 (3[#]-C & 5[#]-C); 128,4 (2'-C & 6'-C); 124,8 (4[#]-C); 124,3 (5-C); 120,1 (2[#]-C & 6[#]-C)

R_f -Werte: 0,15 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,31 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

N-Benzyl-4-phenylnicotinamid

Verbindung: **75**
 Summenformel: $C_{19}H_{16}N_2O$
 Molgewicht: 288,34 g/mol
 Darstellung:



75 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **12** mit *p*-Benzochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die Kristallisierung zu einem gelblichen Feststoff gelang aus trockenem Methanol.

Ausbeute: 42,7 %
 Schmelzbereich: 165 – 167 °C
 Elementaranalyse: ber.: C 79,14; H 5,59; N 9,72
 gef.: C 78,87; H 5,69; N 9,66
 MS (ESI-positiv): $m/z = 289,29 [M+H]^+ 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3260 s (NH st); 3057 w, 3026 w (aromat. CH st); 2926 w, 2872 w (aliph. CH st); 1632 s (C=O st); 1589 m (C=C st); 1557 m (NH δ); 1496 m, 1476 m, 1447 m (C=C st); 1406 m, 1363 m (CH δ); 1329 m (C-N st); 749 m, 695 m (CH δ monosubst. Aromat)

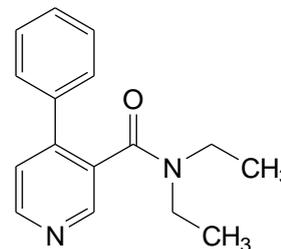
1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,89 (s, 1 H, 2-H); 8,69 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 5,1$ Hz, 6-H); 7,44 - 7,38 (m, 5 H, 4- C_6H_5); 7,28 (d, 1 H, $^3J_{5/6} = 5,1$ Hz, 5-H); 7,24 - 7,20 (m, 3 H, 3 $^\#$,4 $^\#$,5 $^\#$ -H); 6,97 - 6,92 (m, 2 H, 2 $^\#$,6 $^\#$ -H); 5,66 - 5,59 (m, 1 H, 3-CONHCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 4,39 (d, 1 H, $^3J_{CH_2/NH} = 5,6$ Hz, 3-CONHCH $_2$ C $_6$ H $_5$)

^{13}C -NMR: 100 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 167,0 (\underline{C} ONHCH $_2$ C $_6$ H $_5$); 151,0 (2-C); 149,7 (6-C); 147,0 (4-C); 137,3 (1'-C); 137,1 (1 $^\#$ -C); 130,9 (3-C); 129,0 (4'-C); 129,0 (3'-C & 5'-C); 128,6 (3 $^\#$ -C & 5 $^\#$ -C); 128,3 (2'-C & 6'-C); 127,7 (2 $^\#$ -C & 6 $^\#$ -C); 127,6 (4 $^\#$ -C); 124,2 (5-C); 44,2 (CONHCH $_2$ C $_6$ H $_5$)

R_f -Werte: 0,07 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,06 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)
 0,26 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:5 (v/v/v)

***N,N*-Diethyl-4-phenylnicotinamid**

Verbindung: **76**
 Summenformel: $C_{16}H_{18}N_2O$
 Molgewicht: 254,33 g/mol
 Darstellung:



76 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **13** mit *p*-Benzochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die resultierende ölige, gelbliche Substanz konnte nicht auskristallisiert werden.

Ausbeute: 47,2 %
 MS (ESI-positiv): $m/z = 255,28 [M+H]^+$ 100 %

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3054 w, 3029 w (aromat. CH st); 2972 m, 2933 w, 2873 w (aliph. CH st); 1623 s (C=O st); 1585 m, 1479 w, 1458 w (C=C st); 1430 m, 1399 m, 1364 w (CH δ); 1261 m (C-N st); 754 m, 697 m (CH δ monosubst. Aromat)

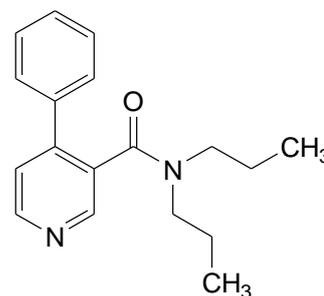
1H -NMR: 500 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,66 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 4,9$ Hz, 6-H); 8,61 (s, 1 H, 2-H); 7,53-7,49 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,45 - 7,39 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,34 (d, 1 H, $^3J_{5/6} = 5,0$ Hz, 5-H); 3,83 - 3,63 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 3,13 - 3,01 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 2,95 - 2,82 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 2,77 - 2,61 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 0,96 (t, 3 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$ Hz, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 0,75 (t, 3 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$ Hz, 3-CON(CH₂CH₃)₂ [Z])

^{13}C -NMR: 125 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 168,0 (CON(CH₂CH₃)₂); 150,1 (2-C); 148,0 (6-C); 145,8 (4-C); 137,2 (1'-C); 131,9 (3-C); 129,0 (4'-C); 128,7 (3'-C & 5'-C); 128,5 (2'-C & 6'-C); 123,4 (5-C); 42,4 (CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 38,7 (CON(CH₂CH₃)₂ [Z]); 13,4 (CON(CH₂CH₃)₂ [E]); 12,0 (CON(CH₂CH₃)₂ [Z])

R_f -Werte: 0,08 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
 0,18 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

4-Phenyl-*N,N*-dipropylnicotinamid

Verbindung: **77**
 Summenformel: $C_{18}H_{22}N_2O$
 Molgewicht: 282,38 g/mol
 Darstellung:



77 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **14** mit *p*-Benzochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die resultierende ölige, gelbliche Substanz konnte nicht auskristallisiert werden.

Ausbeute: 51,3 %
 MS (ESI-positiv): $m/z = 283,32 [M+H]^+ 100 \%$

IR: ATR [$\tilde{\nu}$ in cm^{-1}]: 3054 w, 3029 w (aromat. CH st); 2963 m, 2932 w, 2874 w (aliph. CH st); 1627 s (C=O st); 1586 m, 1501 w, 1463 m (C=C st); 1424 w, 1399 m, 1382 w, 1301 w (CH δ); 1251 m (C-N st); 756 m, 700 m (CH δ monosubst. Aromat)

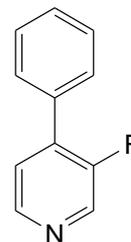
1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 8,64 (d, 1 H, $^3J_{6/5} = 4,9$ Hz, 6-H); 8,59 (s, 1 H, 2-H); 7,52 - 7,46 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,44 - 7,38 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,31 (d, 1 H, $^3J_{5/6} = 5,0$ Hz, 5-H); 3,77 - 3,50 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 3,00 - 2,83 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 2,82 - 2,67 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 2,63 - 2,45 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 1,50 - 1,15 (m, 3 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [2xE/Z]); 1,13 - 1,00 (m, 1 H, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 0,74 (t, 3 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,4$ Hz, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 0,58 (t, 3 H, $^3J_{CH_3/CH_2} = 7,4$ Hz, 3-CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z])

^{13}C -NMR: 100 MHz, $CDCl_3$ [δ in ppm]: 168,4 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂); 149,9 (2-C); 148,2 (6-C); 145,8 (4-C); 137,2 (1'-C); 132,0 (3-C); 129,0 (4'-C); 128,7 (3'-C & 5'-C); 128,4 (2'-C & 6'-C); 123,4 (5-C); 49,9 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 46,1 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 21,2 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 19,9 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z]); 11,3 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [E]); 10,9 (CON(CH₂CH₂CH₃)₂ [Z])

R_f -Werte: 0,06 Cyclohexan/Essigester 60:40 (v/v)
 0,20 Chloroform/Essigester/Methanol 85:15:1 (v/v/v)

3-Fluor-4-phenylpyridin

Verbindung: **78**
Summenformel: C₁₁H₈FN
Molgewicht: 173,19 g/mol
Darstellung:



78 entstand als Nebenprodukt aus der Umsetzung von Verbindung **16** mit *p*-Benzochinon bzw. 1,4-Naphthochinon (nach AAV 3) und wurde mittels Säulenchromatographie isoliert. Die Kristallisierung zu einem weißen Feststoff gelang aus trockenem Methanol.

Ausbeute: 63,4 % aus der Umsetzung **16** mit *p*-Benzochinon
54,8 % aus der Umsetzung **16** mit 1,4-Naphthochinon

Schmelzbereich: 49 – 52 °C

MS (ESI-positiv): $m/z = 174,21$ [M+H]⁺ 100 %

IR: KBr [$\tilde{\nu}$ in cm⁻¹]: 3061 w, 3036 w (aromat. CH st); 1609 m, 1548 w, 1510 m, 1478 s (C=C st); 1414 s, 1358 w (CH δ); 1207 m (aromat. C-F st); 772 m, 696 m (CH δ monosubst. Aromat)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 8,54 (d, 1 H, $J_{2/F} = 2,6$ Hz, 2-H); 8,47 (dd, 1 H, $^3J_{6/5} = 5,0$ Hz, $^5J_{6/F} = 0,7$ Hz, 6-H); 7,64 - 7,59 (m, 2 H, 2',6'-H); 7,53 - 7,44 (m, 3 H, 3',4',5'-H); 7,41 (dd, 1 H, $J_{5/F} = 6,6$ Hz, $^3J_{5/6} = 5,0$ Hz, 5-H)

¹³C-NMR: 125 MHz, CDCl₃ [δ in ppm]: 156,7 (d, $^1J_{3/F} = 257,2$ Hz, 3-C); 146,0 (d, $^4J_{6/F} = 5,2$ Hz, 6-C); 139,0 (d, $^2J_{2/F} = 25,8$ Hz, 2-C); 136,1 (d, $^2J_{4/F} = 10,7$ Hz, 4-C); 132,9 (1'-C); 129,2 (2',6'-C); 128,8 (3',4',5'-C); 124,2 (5-C)

R_f-Werte: 0,44 Cyclohexan/Essigester 40:60 (v/v)
0,41 Chloroform/Essigester 85:15 (v/v)

6.2 Biochemische Untersuchung - ³³PanQinase[®] Assay

Der ³³PanQinase[®] Assay wurde in einem automatisierten Verfahren der ProQinase GmbH (Freiburg im Breisgau) durchgeführt. Alle in dem Assay verwendeten Proteinkinasen wurden entweder in *Escherichia coli* (*E. coli*) als unmarkierte, humane, rekombinante Proteine (ERK2, JNK3 und p38- γ) oder über ein Baculovirus-Expressionssystem als humane rekombinante GST-Fusionsproteine oder HIS-markierte Proteine in Sf9-Insektenzellen exprimiert. Die Reinigung erfolgte durch Affinitätschromatographie an GSH-Agarose (*Sigma*) bzw. durch Immobilisierte-Metallionen-Affinitätschromatographie (für JNK3). SDS-PAGE mit anschließender Coomassie-Färbung, Massenspektrometrie (LC-ESI MS/MS) und im Fall der CDK5/p25 eine zusätzliche Westernblot-Analyse mit spezifischen Antikörpern dienten zur Überprüfung der Identität und Reinheit der Kinasen. Als Kinasensubstrate wurden die synthetischen Peptide RBER-CHKtide (für alle CDKs, GSK-3 β , ERK2, p38- γ) und ATF2 (für JNK3) verwendet.

Von jeder der zu untersuchenden Verbindungen wurde ausgehend von einer 10 mM Stammlösung in DMSO durch seriell halblogarithmisches Verdünnen mit DMSO eine Reihe von zehn Lösungen im Konzentrationsbereich von 0,3 μ M bis 10 mM hergestellt. 5 μ l dieser Lösungen wurden mit jeweils 45 μ l H₂O verdünnt, so dass eine Verdünnungsreihe mit 10 verschiedenen Konzentrationen von 30 nM bis 1 mM (in 10%iger wässriger DMSO-Lösung) resultierte (\cong Testverbindungslösungen).

Die Ausführung der Assays wurde in 96-Well-FlashPlates[™] (*Perkin Elmer*) mit Reaktionsvolumina von 50 μ l/Well realisiert. Dazu wurden jeweils 5 μ l einer Testverbindungslösung, 20 μ l Standardpuffer, 20 μ l Substrat/Enzym-Lösung und 5 μ l ATP-Lösung (in H₂O) in die Wells pipettiert. Die Reaktionsgemische enthielten für alle Enzyme HEPES-NaOH (70 mM, pH 7,5), MgCl₂ (3 mM), MnCl₂ (3 mM), Natriumorthovanadat (3 μ M), DTT (1,2 mM), PEG_{20.000} (50 mg/ml) und [γ -³³P]-ATP (1 μ M oder 15 μ M, ca. 7-8x10⁵ cpm bzw. 1,05-1,2x10⁶ cpm) pro Vertiefung. Die DMSO-Endkonzentration im Reaktionsgemisch betrug 1 %. Die Vermischung der Bestandteile wurde durch Bewegung der 96-Well-FlashPlates[™] auf dem Schüttler gewährleistet. Die Lösungen wurden für 60 min bei 30 °C inkubiert. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von H₃PO₄ (50 μ l, 2 % (v/v)) gestoppt. Nach Absaugen der Lösung wurde 3-mal mit 200 μ l NaCl-Lösung (0,9 % (v/v)) gewaschen und die Platte getrocknet. Die Aufnahme von ³³P_i in das Substrat wurde mit einem Microplate-Szintillationszähler (MicroBeta, Wallac) bestimmt. Alle Assays wurden in einem BeckmanCoulter/Sagian-Automatiksystem ausgeführt. Aus den prozentualen Restaktivitäten,

die für jede Konzentration erhalten wurden, wurden die IC₅₀-Werte mithilfe der Software *Quattro Workflow V3.1.0* (Quattro Research GmbH, München, Deutschland) berechnet.

Ergebnisse des Kinaseinhibitionsassays I

	IC ₅₀ [µM]																								
	CDK1/B			CDK2/E			CDK4/D			CDK5/p25			GSK-3β			ERK2			JNK3			p38-γ			
	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	
21	76	105	90,5				330	142	236	109	168	138,5	65,3	66,7	66	11,7	12,6	12,2	172	178	175				
22	104	160	132				142	115	128,5				108	107	107,5	6	7,4	6,7							
23	14,6	19,9	17,3				200	52,5	126,3	50,1	208	129,1	16,6	19,5	18,1	40,6	19,2	29,9	34,9	32,5	33,7				
24	5,59	7	6,3				21,4	17,7	19,6	42,3	34,2	38,3	10,1	11	10,6	24,1	28,8	26,5	20,7	17,8	19,3				
27							123	145	134				1889	1218	1553,5	106	89,8	97,9	135	145	140				
28b	115	145	130	107	111	109	76,1	59,9	68	111	127	119		42,1	40,7	18,9	13,6	16,3	140	126	133				
28a	894	851	872,5				138	112	125							149	386	267,5							
30b							139	119	129							121	124	122,5	79,1	59,3	69,2				
31	46,7	39	42,9	123	101	112	37,9	30,7	34,3	103	106	104,5	31,8	26,7	29,3	19,9	18	19	76,8	64,5	70,7				
32	149	94,2	121,6	134	130	132	263	54,9	159	151	737	444	30,5	200	115,3	174	73,7	123,9	58,5	37,3	47,9	2130	77,9	1104	
33	631	451	541	124	141	133,5	120	184	152							308	123	215,5	37,7	35,6	36,7				
34	118	184	151				151	166	158,5	n.b.	n.b.	n.b.	110	116	113	6842	5426	6134	144	399	271,5				
35	136	99,4	117,7				140	133	136,5	113	99	106	161	103	132	130	673	401,5	123	101	112				
36	170	116	143				126	115	120,5	110	121	115,5	108	99,6	103,8	58,1	49,7	53,9	137	174	155,5				
38	113	97,1	105,05				102	106	104	1654	1746	1700	53	39	46	36,8	34,9	35,9	111	121	116				
BJ68													210	224	217	2039	2483	2261	11,2	20,4	15,8				

weißes Feld: keine Messung, graues Feld: nicht aktiv (IC₅₀ > 10mM), n.b.: nicht bestimmbar (wegen Löslichkeitsproblemen)

Ergebnisse des Kinaseinhibitionsassays II

		IC ₅₀ [µM]																								
		CDK1/B			CDK2/E			CDK4/D			CDK5/p25			GSK-3β			ERK2			JNK3			p38-Y			
		1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	1	2	MW	
25																										
26	458	399	428,5																							
41	130	100	115	591	2020	1305,5	270,5	253	288	270,5																
42	131	38,1	84,6	126	154	140	49,4	39,3	59,4	49,4	1980	952	1466	6055	3663	4859	41,5	36,5	39							
47				27,7	29,5	28,6	1924	1840	2008	1924							170	237	203,5							
49	0,8	0,85	0,83	1,18	0,92	1,05	22,8	18,3	27,2	22,8	1,36	0,7	1,03	0,5	0,51	0,505	386	292	339	0,83	0,72	0,775	0,7	0,75	0,73	
50	59,1	68,4	63,75	20,1	18,6	19,35	27,7	28,2	27,2	27,7	0,69	0,55	0,62	0,38	0,34	0,36	25,4	10,3	17,85	0,82	0,81	0,815	0,81	0,55	0,68	
51	174	104	139								573	443	508				74,5	59,8	67,15							
52																										
53	2430	204	1317	158	153	155,5	2261,5	533	3990	2261,5	1626	1362	1494	132	126	129	974	4850	2912	529	497	513				
54																					125	101	113			
55											226	261	243,5	0,51	0,5	0,505	65,7	107	86,35	1	2,31	1,66	0,68	0,94	0,81	
57																										
59				576	980	778																				
60	2719	2451	2585											2927	2610	2768,5								73,2	87,0	80,1
61							144	148	140	144							92	57,6	74,8							
63																										
64											125	134	129,5	2208	1830	2019	99,2	149	124,1							
65				248	265	256,5											81,1	77,7	79,4							
66	157	122	139,5	299	131	215	74,9	72,5	77,2	74,9				122	116	119	71,9	86,3	79,1				117	119	118	
67																										
68																										

weißes Feld: keine Messung, graues Feld: nicht aktiv (IC50 > 10mM)

Literaturverzeichnis

1. Bundesministerium-für-Gesundheit. Pressemitteilung: Erste WHO-Ministerkonferenz zu Demenz.<http://www.bmg.bund.de/ministerium/meldungen/2015/erste-who-ministerkonferenz-zu-demenz.html> (Abfrage; 18.04.2015 [MEZ] 15:00 Uhr).
2. deGruyter. *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG: Berlin, New York, **2002**; Vol. 259.
3. Kurz, A. *Das Wichtigste über die Alzheimer-Krankheit und andere Demenzformen*. Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V.: Berlin, **2013**; Vol. 23. aktualisierte Auflage.
4. Mutschler, E. *Mutschler Arzneimittelwirkungen : Lehrbuch der Pharmakologie, der klinischen Pharmakologie und Toxikologie ; mit einführenden Kapiteln in die Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie ; mit 257 Tabellen und 1417 Strukturformeln*. Wiss. Verlag-Ges.: **2013**.
5. Poblador-Plou, B.; Calderon-Larranaga, A.; Marta-Moreno, J.; Hanco-Saavedra, J.; Sicras-Mainar, A.; Soljak, M.; Prados-Torres, A. Comorbidity of dementia: a cross-sectional study of primary care older patients. *BMC Psychiatry* **2014**, 14, 84.
6. Hendriks, S. A.; Smalbrugge, M.; Hertogh, C. M. P. M.; van der Steen, J. T. Dying With Dementia: Symptoms, Treatment, and Quality of Life in the Last Week of Life. *Journal of Pain and Symptom Management* **2014**, 47, 710-720.
7. World-Health-Organization-and-Alzheimer`s-Disease-International. Dementia: a public health priority. http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/ (Stand: 17.03.2015; Abfrage; 18.04.2015 [MEZ] 14:10 Uhr).
8. Wikipedia. Artikel zu Hirnatrophie. <https://de.wikipedia.org/wiki/Hirnatrophie> (Abfrage; 18.04.2015 [MEZ] 11:50 Uhr).
9. Alzheimer-Europe. Prevalence of dementia in Europe. www.alzheimer-europe.org/Research/European-Collaboration-on-Dementia/Prevalence-of-dementia/Prevalence-of-dementia-in-Europe (Stand: 06.05.2013; Abfrage; 18.04.2015 [MEZ] 16:52 Uhr).
10. Kivipelto, M.; Helkala, E. L.; Laakso, M. P.; Hanninen, T.; Hallikainen, M.; Alhainen, K.; Soininen, H.; Tuomilehto, J.; Nissinen, A. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ* **2001**, 322, 1447-51.
11. Tolppanen, A. M.; Solomon, A.; Soininen, H.; Kivipelto, M. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease: evidence from epidemiological studies. *J Alzheimers Dis* **2012**, 32, 531-40.
12. Alzheimer, A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin* **1907**, 64, 146 - 148.
13. Mohandas, E.; Rajmohan, V.; Raghunath, B. Neurobiology of Alzheimer's disease. *Indian Journal of Psychiatry* **2009**, 51, 55-61.
14. Abbott, A. Dementia: A problem for our age. *Nature* **2011**, 475, S2-S4.
15. Piau, A.; Nourhashemi, F.; Hein, C.; Caillaud, C.; Vellas, B. Progress in the development of new drugs in Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging* **2011**, 15, 45-57.
16. Wang, Y.-J.; Zhou, H.-D.; Zhou, X.-F. Clearance of amyloid-beta in Alzheimer's disease: progress, problems and perspectives. *Drug Discovery Today* **2006**, 11, 931-938.
17. Hardy, J.; Selkoe, D. J. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science* **2002**, 297, 353-356.
18. Wang, J. Z.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *Eur J Neurosci* **2007**, 25, 59-68.

19. Martin, L.; Latypova, X.; Wilson, C. M.; Magnaudeix, A.; Perrin, M.-L.; Yardin, C.; Terro, F. Tau protein kinases: Involvement in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews* **2013**, *12*, 289-309.
20. Anand, R.; Gill, K. D.; Mahdi, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology* **2014**, *76*, Part A, 27-50.
21. Said, A. Gegen das Vergessen - Therapeutische Strategien im Kampf gegen Morbus Alzheimer. *Deutsche Apotheker Zeitung* **2015**, Nr. 5, 38-44.
22. Nogales, E. Structural insights into microtubule function. *Annu Rev Biochem* **2000**, *69*, 277-302.
23. Mazanetz, M. P.; Fischer, P. M. Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Drug Discov* **2007**, *6*, 464-79.
24. Gendron, T. F.; Petrucelli, L. The role of tau in neurodegeneration. *Mol Neurodegener* **2009**, *4*, 13.
25. Wischik, C. M.; Bentham, P.; Wischik, D. J.; Seng, K. M. 03-04-07: Tau aggregation inhibitor (TAI) therapy with rember™ arrests disease progression in mild and moderate Alzheimer's disease over 50 weeks. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* **2008**, *4*, T167.
26. Wischik, C. M.; Staff, R. T.; Wischik, D. J.; Bentham, P.; Murray, A. D.; Storey, J. M.; Kook, K. A.; Harrington, C. R. Tau aggregation inhibitor therapy: an exploratory phase 2 study in mild or moderate Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **2015**, *44*, 705-20.
27. del Ser, T.; Steinwachs, K. C.; Gertz, H. J.; Andres, M. V.; Gomez-Carrillo, B.; Medina, M.; Vericat, J. A.; Redondo, P.; Fleet, D.; Leon, T. Treatment of Alzheimer's disease with the GSK-3 inhibitor tideglusib: a pilot study. *J Alzheimers Dis* **2013**, *33*, 205-15.
28. Chow, V. W.; Mattson, M. P.; Wong, P. C.; Gleichmann, M. An overview of APP processing enzymes and products. *Neuromolecular Med* **2010**, *12*, 1-12.
29. Beel, A. J.; Sanders, C. R. Substrate specificity of gamma-secretase and other intramembrane proteases. *Cell Mol Life Sci* **2008**, *65*, 1311-34.
30. Citron, M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov* **2010**, *9*, 387-98.
31. Ghosh, A. K.; Brindisi, M.; Tang, J. Developing β -secretase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *J Neurochem* **2012**, *120*, 71-83.
32. Menting, K. W.; Claassen, J. A. H. R. β -secretase inhibitor; a promising novel therapeutic drug in AD. *Frontiers in Aging Neuroscience* **2014**, *6*.
33. Ring, S.; Weyer, S. W.; Kilian, S. B.; Waldron, E.; Pietrzik, C. U.; Filippov, M. A.; Herms, J.; Buchholz, C.; Eckman, C. B.; Korte, M.; Wolfer, D. P.; Muller, U. C. The secreted beta-amyloid precursor protein ectodomain APPs alpha is sufficient to rescue the anatomical, behavioral, and electrophysiological abnormalities of APP-deficient mice. *J Neurosci* **2007**, *27*, 7817-26.
34. Chasseigneaux, S.; Allinquant, B. Functions of Abeta, sAPPalpha and sAPPbeta : similarities and differences. *J Neurochem* **2012**, *120* Suppl 1, 99-108.
35. Lichtenthaler, S. F. alpha-secretase in Alzheimer's disease: molecular identity, regulation and therapeutic potential. *J Neurochem* **2011**, *116*, 10-21.
36. DaSilva, K. A.; Brown, M. E.; Cousins, J. E.; Rappaport, R. V.; Aubert, I.; Westaway, D.; JoAnne, M. scyllo-inositol (ELND005) ameliorates amyloid pathology in an aggressive mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* **2009**, *5*, P425.
37. Galimberti, D.; Ghezzi, L.; Scarpini, E. Immunotherapy against amyloid pathology in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* **2013**, *333*, 50-4.
38. Karran, E.; Hardy, J. Anti-amyloid therapy for Alzheimer's disease--are we on the right road? *N Engl J Med* **2014**, *370*, 377-8.
39. Mullane, K.; Williams, M. Alzheimer's therapeutics: Continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis-but what lies beyond? *Biochemical Pharmacology* **2013**, *85*, 289-305.

40. Phiel, C. J.; Wilson, C. A.; Lee, V. M.; Klein, P. S. GSK-3 α regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *Nature* **2003**, 423, 435-9.
41. De Strooper, B.; Woodgett, J. Alzheimer's disease: Mental plaque removal. *Nature* **2003**, 423, 392-3.
42. Jaworski, T.; Dewachter, I.; Lechat, B.; Gees, M.; Kremer, A.; Demedts, D.; Borghgraef, P.; Devijver, H.; Kugler, S.; Patel, S.; Woodgett, J. R.; Van Leuven, F. GSK-3 α /beta kinases and amyloid production in vivo. *Nature* **2011**, 480, E4-5; discussion E6.
43. Lee, M. S.; Kwon, Y. T.; Li, M.; Peng, J.; Friedlander, R. M.; Tsai, L. H. Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain. *Nature* **2000**, 405, 360-4.
44. Weingarten, M. D.; Lockwood, A. H.; Hwo, S. Y.; Kirschner, M. W. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1975**, 72, 1858-62.
45. Parpura, V.; Heneka, M. T.; Montana, V.; Oliet, S. H.; Schousboe, A.; Haydon, P. G.; Stout, R. F., Jr.; Spray, D. C.; Reichenbach, A.; Pannicke, T.; Pekny, M.; Pekna, M.; Zorec, R.; Verkhratsky, A. Glial cells in (patho)physiology. *J Neurochem* **2012**, 121, 4-27.
46. Buee, L.; Bussiere, T.; Buee-Scherrer, V.; Delacourte, A.; Hof, P. R. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev* **2000**, 33, 95-130.
47. Avila, J.; Lucas, J. J.; Perez, M.; Hernandez, F. Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* **2004**, 84, 361-84.
48. Neve, R. L.; Harris, P.; Kosik, K. S.; Kurnit, D. M.; Donlon, T. A. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Brain Res* **1986**, 387, 271-80.
49. Hernandez, F.; Avila, J. Tauopathies. *Cell Mol Life Sci* **2007**, 64, 2219-33.
50. Mandelkow, E. M.; Mandelkow, E. Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2012**, 2, a006247.
51. Martin, L.; Latypova, X.; Terro, F. Post-translational modifications of tau protein: implications for Alzheimer's disease. *Neurochem Int* **2011**, 58, 458-71.
52. Pei, J. J.; Sjogren, M.; Winblad, B. Neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease: from molecular mechanisms to identification of drug targets. *Curr Opin Psychiatry* **2008**, 21, 555-61.
53. Serrano-Pozo, A.; Frosch, M. P.; Masliah, E.; Hyman, B. T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2011**, 1, a006189.
54. Hunter, T.; Hunter, B. M. S. [1] Protein kinase classification. In *Methods in Enzymology*, Academic Press: 1991; Vol. Volume 200, pp 3-37.
55. Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. The protein kinase complement of the human genome. *Science* **2002**, 298, 1912-34.
56. Grahame Hardie, D.; Hanks, G. H. 3 - Cellular Functions of Protein Kinases. In *The Protein Kinase FactsBook*, Academic Press: San Diego, 1995; pp 48-56.
57. Cohen, P. Protein kinases [mdash] the major drug targets of the twenty-first century? *Nat Rev Drug Discov* **2002**, 1, 309-315.
58. Endicott, J. A.; Noble, M. E. Structural characterization of the cyclin-dependent protein kinase family. *Biochem Soc Trans* **2013**, 41, 1008-16.
59. Endicott, J. A.; Noble, M. E.; Johnson, L. N. The structural basis for control of eukaryotic protein kinases. *Annu Rev Biochem* **2012**, 81, 587-613.
60. Vulpetti, A.; Bosotti, R. Sequence and structural analysis of kinase ATP pocket residues. *Farmaco* **2004**, 59, 759-65.
61. Pierce, A. C.; Sandretto, K. L.; Bemis, G. W. Kinase inhibitors and the case for CH...O hydrogen bonds in protein-ligand binding. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **2002**, 49, 567-576.
62. Savage, M. J.; Gingrich, D. E. Advances in the development of kinase inhibitor therapeutics for Alzheimer's disease. *Drug Development Research* **2009**, 70, 125-144.

63. Malumbres, M. Cyclin-dependent kinases. *Genome Biol* **2014**, 15, 122.
64. Knockaert, M.; Greengard, P.; Meijer, L. Pharmacological inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Trends Pharmacol Sci* **2002**, 23, 417-25.
65. Loyer, P.; Trembley, J. H.; Katona, R.; Kidd, V. J.; Lahti, J. M. Role of CDK/cyclin complexes in transcription and RNA splicing. *Cell Signal* **2005**, 17, 1033-51.
66. Tsai, L. H.; Delalle, I.; Caviness, V. S., Jr.; Chae, T.; Harlow, E. p35 is a neural-specific regulatory subunit of cyclin-dependent kinase 5. *Nature* **1994**, 371, 419-23.
67. Su, S. C.; Tsai, L. H. Cyclin-dependent kinases in brain development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* **2011**, 27, 465-91.
68. Patrick, G. N.; Zukerberg, L.; Nikolic, M.; de la Monte, S.; Dikkes, P.; Tsai, L. H. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* **1999**, 402, 615-22.
69. Neve, R. L.; McPhie, D. L. The cell cycle as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Pharmacology & Therapeutics* **2006**, 111, 99-113.
70. Lee, H.-g.; Casadesus, G.; Zhu, X.; Castellani, R. J.; McShea, A.; Perry, G.; Petersen, R. B.; Bajic, V.; Smith, M. A. Cell cycle re-entry mediated neurodegeneration and its treatment role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* **2009**, 54, 84-88.
71. Moh, C.; Kubiak, J. Z.; Bajic, V. P.; Zhu, X.; Smith, M. A.; Lee, H. G. Cell cycle deregulation in the neurons of Alzheimer's disease. *Results Probl Cell Differ* **2011**, 53, 565-76.
72. Embi, N.; Rylatt, D. B.; Cohen, P. Glycogen Synthase Kinase-3 from Rabbit Skeletal Muscle. *European Journal of Biochemistry* **1980**, 107, 519-527.
73. Rylatt, D. B.; Aitken, A.; Bilham, T.; Condon, G. D.; Embi, N.; Cohen, P. Glycogen Synthase from Rabbit Skeletal Muscle. *European Journal of Biochemistry* **1980**, 107, 529-537.
74. Welsh, G. I.; Proud, C. G. Glycogen synthase kinase-3 is rapidly inactivated in response to insulin and phosphorylates eukaryotic initiation factor eIF-2B. *Biochemical Journal* **1993**, 294, 625-629.
75. Takahashi-Yanaga, F. Activator or inhibitor? GSK-3 as a new drug target. *Biochemical Pharmacology* **2013**, 86, 191-199.
76. Woodgett, J. R. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *The EMBO Journal* **1990**, 9, 2431-2438.
77. ter Haar, E.; Coll, J. T.; Austen, D. A.; Hsiao, H.-M.; Swenson, L.; Jain, J. Structure of GSK3[beta] reveals a primed phosphorylation mechanism. *Nat Struct Mol Biol* **2001**, 8, 593-596.
78. Kaidanovich-Beilin, O.; Woodgett, J. R. GSK-3: functional insights from cell biology and animal models. *Frontiers in Molecular Neuroscience* **2011**, 4.
79. Mukai, F.; Ishiguro, K.; Sano, Y.; Fujita, S. C. Alternative splicing isoform of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 β . *Journal of Neurochemistry* **2002**, 81, 1073-1083.
80. Saeki, K.; Machida, M.; Kinoshita, Y.; Takasawa, R.; Tanuma, S.-i. Glycogen Synthase Kinase-3beta2 Has Lower Phosphorylation Activity to Tau than Glycogen Synthase Kinase-3beta1. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2011**, 34, 146-149.
81. Doble, B. W.; Woodgett, J. R. GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *J Cell Sci* **2003**, 116, 1175-86.
82. Jope, R. S.; Johnson, G. V. W. The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. *Trends in Biochemical Sciences* **2004**, 29, 95-102.
83. Beurel, E.; Grieco, S. F.; Jope, R. S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): Regulation, actions, and diseases. *Pharmacology & Therapeutics* **2015**, 148, 114-131.
84. Pei, J. J.; Tanaka, T.; Tung, Y. C.; Braak, E.; Iqbal, K.; Grundke-Iqbal, I. Distribution, levels, and activity of glycogen synthase kinase-3 in the Alzheimer disease brain. *J Neuropathol Exp Neurol* **1997**, 56, 70-8.

85. Leroy, K.; Yilmaz, Z.; Brion, J. P. Increased level of active GSK-3beta in Alzheimer's disease and accumulation in argyrophilic grains and in neurones at different stages of neurofibrillary degeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol* **2007**, *33*, 43-55.
86. Hoshi, M.; Takashima, A.; Noguchi, K.; Murayama, M.; Sato, M.; Kondo, S.; Saitoh, Y.; Ishiguro, K.; Hoshino, T.; Imahori, K. Regulation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase activity by tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3beta in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1996**, *93*, 2719-2723.
87. Bhat, R. V.; Leonov, S.; Luthman, J.; Scott, C. W.; Lee, C. M. Interactions between GSK3beta and caspase signalling pathways during NGF deprivation induced cell death. *J Alzheimers Dis* **2002**, *4*, 291-301.
88. Takashima, A.; Noguchi, K.; Michel, G.; Mercken, M.; Hoshi, M.; Ishiguro, K.; Imahori, K. Exposure of rat hippocampal neurons to amyloid beta peptide (25-35) induces the inactivation of phosphatidylinositol-3 kinase and the activation of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3beta. *Neuroscience Letters* **1996**, *203*, 33-36.
89. Song, L.; De Sarno, P.; Jope, R. S. Central role of glycogen synthase kinase-3beta in endoplasmic reticulum stress-induced caspase-3 activation. *J Biol Chem* **2002**, *277*, 44701-8.
90. Pearson, G.; Robinson, F.; Beers Gibson, T.; Xu, B. E.; Karandikar, M.; Berman, K.; Cobb, M. H. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* **2001**, *22*, 153-83.
91. Philpott, K. L.; Facci, L. MAP kinase pathways in neuronal cell death. *CNS Neurol Disord Drug Targets* **2008**, *7*, 83-97.
92. Roder, H. M.; Ingram, V. M. Two novel kinases phosphorylate tau and the KSP site of heavy neurofilament subunits in high stoichiometric ratios. *J Neurosci* **1991**, *11*, 3325-43.
93. Drechsel, D. N.; Hyman, A. A.; Cobb, M. H.; Kirschner, M. W. Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Mol Biol Cell* **1992**, *3*, 1141-54.
94. Pei, J. J.; Braak, H.; An, W. L.; Winblad, B.; Cowburn, R. F.; 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. *Brain Res Mol Brain Res* **2002**, *109*, 45-55.
95. Sawamura, N.; Gong, J. S.; Garver, W. S.; Heidenreich, R. A.; Ninomiya, H.; Ohno, K.; Yanagisawa, K.; Michikawa, M. Site-specific phosphorylation of tau accompanied by activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in brains of Niemann-Pick type C mice. *J Biol Chem* **2001**, *276*, 10314-9.
96. Fang, H.; Zhang, L. F.; Meng, F. T.; Du, X.; Zhou, J. N. Acute hypoxia promote the phosphorylation of tau via ERK pathway. *Neurosci Lett* **2010**, *474*, 173-7.
97. Zhu, X.; Raina, A. K.; Rottkamp, C. A.; Aliev, G.; Perry, G.; Bux, H.; Smith, M. A. Activation and redistribution of c-jun N-terminal kinase/stress activated protein kinase in degenerating neurons in Alzheimer's disease. *J Neurochem* **2001**, *76*, 435-41.
98. Ferrer, I.; Barrachina, M.; Puig, B. Anti-tau phospho-specific Ser262 antibody recognizes a variety of abnormal hyper-phosphorylated tau deposits in tauopathies including Pick bodies and argyrophilic grains. *Acta Neuropathol* **2002**, *104*, 658-64.
99. Sahara, N.; Murayama, M.; Lee, B.; Park, J. M.; Lagalwar, S.; Binder, L. I.; Takashima, A. Active c-jun N-terminal kinase induces caspase cleavage of tau and additional phosphorylation by GSK-3beta is required for tau aggregation. *Eur J Neurosci* **2008**, *27*, 2897-906.
100. Shen, C.; Chen, Y.; Liu, H.; Zhang, K.; Zhang, T.; Lin, A.; Jing, N. Hydrogen peroxide promotes Abeta production through JNK-dependent activation of gamma-secretase. *J Biol Chem* **2008**, *283*, 17721-30.

101. Zhu, X.; Rottkamp, C. A.; Boux, H.; Takeda, A.; Perry, G.; Smith, M. A. Activation of p38 kinase links tau phosphorylation, oxidative stress, and cell cycle-related events in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* **2000**, *59*, 880-8.
102. Ge, B.; Gram, H.; Di Padova, F.; Huang, B.; New, L.; Ulevitch, R. J.; Luo, Y.; Han, J. MAPKK-independent activation of p38alpha mediated by TAB1-dependent autophosphorylation of p38alpha. *Science* **2002**, *295*, 1291-4.
103. Rojo, L. E.; Fernandez, J. A.; Maccioni, A. A.; Jimenez, J. M.; Maccioni, R. B. Neuroinflammation: implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch Med Res* **2008**, *39*, 1-16.
104. Shaftel, S. S.; Griffin, W. S.; O'Banion, M. K. The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: an evolving perspective. *J Neuroinflammation* **2008**, *5*, 7.
105. Lee, J. C.; Laydon, J. T.; McDonnell, P. C.; Gallagher, T. F.; Kumar, S.; Green, D.; McNulty, D.; Blumenthal, M. J.; Heys, J. R.; Landvatter, S. W.; et al. A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* **1994**, *372*, 739-46.
106. Underwood, D. C.; Osborn, R. R.; Kotzer, C. J.; Adams, J. L.; Lee, J. C.; Webb, E. F.; Carpenter, D. C.; Bochnowicz, S.; Thomas, H. C.; Hay, D. W.; Griswold, D. E. SB 239063, a potent p38 MAP kinase inhibitor, reduces inflammatory cytokine production, airways eosinophil infiltration, and persistence. *J Pharmacol Exp Ther* **2000**, *293*, 281-8.
107. Goedert, M.; Hasegawa, M.; Jakes, R.; Lawler, S.; Cuenda, A.; Cohen, P. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by stress-activated protein kinases. *FEBS Lett* **1997**, *409*, 57-62.
108. Buée-Scherrer, V.; Goedert, M. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by stress-activated protein kinases in intact cells. *FEBS Lett* **2002**, *515*, 151-154.
109. Jenkins, S. M.; Zinnerman, M.; Garner, C.; Johnson, G. V. Modulation of tau phosphorylation and intracellular localization by cellular stress. *Biochem J* **2000**, *345* Pt 2, 263-70.
110. Schwab, C.; DeMaggio, A. J.; Ghoshal, N.; Binder, L. I.; Kuret, J.; McGeer, P. L. Casein kinase 1 delta is associated with pathological accumulation of tau in several neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging* **2000**, *21*, 503-10.
111. Knippschild, U.; Gocht, A.; Wolff, S.; Huber, N.; Lohler, J.; Stoter, M. The casein kinase 1 family: participation in multiple cellular processes in eukaryotes. *Cell Signal* **2005**, *17*, 675-89.
112. Yasojima, K.; Kuret, J.; DeMaggio, A. J.; McGeer, E.; McGeer, P. L. Casein kinase 1 delta mRNA is upregulated in Alzheimer disease brain. *Brain Res* **2000**, *865*, 116-120.
113. Flajolet, M.; He, G.; Heiman, M.; Lin, A.; Nairn, A. C.; Greengard, P. Regulation of Alzheimer's disease amyloid-beta formation by casein kinase I. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104*, 4159-4164.
114. Pigino, G.; Morfini, G.; Atagi, Y.; Deshpande, A.; Yu, C.; Jungbauer, L.; LaDu, M.; Busciglio, J.; Brady, S. Disruption of fast axonal transport is a pathogenic mechanism for intraneuronal amyloid beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**.
115. Serrano, L.; Hernandez, M. A.; Diaz-Nido, J.; Avila, J. Association of casein kinase II with microtubules. *Exp Cell Res* **1989**, *181*, 263-72.
116. Raftery, M.; Campbell, R.; Glaros, E. N.; Rye, K. A.; Halliday, G. M.; Jessup, W.; Garner, B. Phosphorylation of apolipoprotein-E at an atypical protein kinase CK2 PSD/E site in vitro. *Biochemistry* **2005**, *44*, 7346-53.
117. Rayasam, G. V.; Tulasi, V. K.; Sodhi, R.; Davis, J. A.; Ray, A. Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. *British Journal of Pharmacology* **2009**, *156*, 885-898.
118. Shemarova, I. V. cAMP-dependent signal pathways in unicellular eukaryotes. *Crit Rev Microbiol* **2009**, *35*, 23-42.
119. Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavecz, M.; Roth, H. J. *Medizinische Chemie - Targets und Arzneistoffe*. Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, **2005**.

120. Yang, E. J.; Ahn, Y. S.; Chung, K. C. Protein kinase Dyrk1 activates cAMP response element-binding protein during neuronal differentiation in hippocampal progenitor cells. *J Biol Chem* **2001**, *276*, 39819-24.
121. Tian, Q.; Zhang, J. X.; Zhang, Y.; Wu, F.; Tang, Q.; Wang, C.; Shi, Z. Y.; Zhang, J. H.; Liu, S.; Wang, Y.; Zhang, Q.; Wang, J. Z. Biphasic effects of forskolin on tau phosphorylation and spatial memory in rats. *J Alzheimers Dis* **2009**, *17*, 631-42.
122. Taskén, K.; Solberg, R.; Foss, K. B.; Sklhegg, B. r. S.; Hansson, V.; Jahnsen, T.; Hanks, G. H. PKA: cAMP-dependent protein kinase (vertebrates). In *The Protein Kinase FactsBook*, Academic Press: San Diego, 1995; pp 58-63.
123. Umahara, T.; Uchihara, T.; Tsuchiya, K.; Nakamura, A.; Iwamoto, T.; Ikeda, K.; Takasaki, M. 14-3-3 proteins and zeta isoform containing neurofibrillary tangles in patients with Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* **2004**, *108*, 279-86.
124. Liu, S. J.; Zhang, J. Y.; Li, H. L.; Fang, Z. Y.; Wang, Q.; Deng, H. M.; Gong, C. X.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K.; Wang, J. Z. Tau becomes a more favorable substrate for GSK-3 when it is prephosphorylated by PKA in rat brain. *J Biol Chem* **2004**, *279*, 50078-88.
125. Sun, L.; Wang, X.; Liu, S.; Wang, Q.; Wang, J.; Bennecib, M.; Gong, C. X.; Sengupta, A.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Bilateral injection of isoproterenol into hippocampus induces Alzheimer-like hyperphosphorylation of tau and spatial memory deficit in rat. *FEBS Lett* **2005**, *579*, 251-8.
126. Chen, Y.; Huang, X.; Zhang, Y. W.; Rockenstein, E.; Bu, G.; Golde, T. E.; Masliah, E.; Xu, H. Alzheimer's beta-secretase (BACE1) regulates the cAMP/PKA/CREB pathway independently of beta-amyloid. *J Neurosci* **2012**, *32*, 11390-5.
127. Tell, V.; Hilgeroth, A. Recent developments of protein kinase inhibitors as potential AD therapeutics. *Front Cell Neurosci* **2013**, *7*.
128. Kimura, R.; Kamino, K.; Yamamoto, M.; Nuripa, A.; Kida, T.; Kazui, H.; Hashimoto, R.; Tanaka, T.; Kudo, T.; Yamagata, H.; Tabara, Y.; Miki, T.; Akatsu, H.; Kosaka, K.; Funakoshi, E.; Nishitomi, K.; Sakaguchi, G.; Kato, A.; Hattori, H.; Uema, T.; Takeda, M. The DYRK1A gene, encoded in chromosome 21 Down syndrome critical region, bridges between beta-amyloid production and tau phosphorylation in Alzheimer disease. *Hum Mol Genet* **2007**, *16*, 15-23.
129. Lau, L. F.; Schachter, J. B.; Seymour, P. A.; Sanner, M. A. Tau protein phosphorylation as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem* **2002**, *2*, 395-415.
130. Meijer, L.; Leclerc, S.; Leost, M. Properties and Potential Applications of Chemical Inhibitors of Cyclin-Dependent Kinases. *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, *82*, 279-284.
131. Bettayeb, K.; Oumata, N.; Echalié, A.; Ferandin, Y.; Endicott, J. A.; Galons, H.; Meijer, L. CR8, a potent and selective, roscovitine-derived inhibitor of cyclin-dependent kinases. *Oncogene* **2008**, *27*, 5797-807.
132. Demange, L.; Abdellah, F. N.; Lozach, O.; Ferandin, Y.; Gresh, N.; Meijer, L.; Galons, H. Potent inhibitors of CDK5 derived from roscovitine: synthesis, biological evaluation and molecular modelling. *Bioorg Med Chem Lett* **2013**, *23*, 125-31.
133. Karran, E.; Palmer, A. M. Neurodegenerative disorders and their treatment. *Drug News Perspect* **2007**, *20*, 407-12.
134. Wen, Y.; Planel, E.; Herman, M.; Figueroa, H. Y.; Wang, L.; Liu, L.; Lau, L. F.; Yu, W. H.; Duff, K. E. Interplay between cyclin-dependent kinase 5 and glycogen synthase kinase 3 beta mediated by neuregulin signaling leads to differential effects on tau phosphorylation and amyloid precursor protein processing. *J Neurosci* **2008**, *28*, 2624-32.
135. Klein, P. S.; Melton, D. A. A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1996**, *93*, 8455-9.
136. Ryves, W. J.; Harwood, A. J. Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 by competition for magnesium. *Biochem Biophys Res Commun* **2001**, *280*, 720-5.

137. Chalecka-Franaszek, E.; Chuang, D. M. 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*, 8745-50.
138. De Sarno, P.; Li, X.; Jope, R. S. Regulation of Akt and glycogen synthase kinase-3 beta phosphorylation by sodium valproate and lithium. *Neuropharmacology* **2002**, *43*, 1158-64.
139. Tariot, P. N.; Aisen, P. S. Can lithium or valproate untie tangles in Alzheimer's disease? *J Clin Psychiatry* **2009**, *70*, 919-21.
140. Hampel, H.; Ewers, M.; Burger, K.; Annas, P.; Mortberg, A.; Bogstedt, A.; Frolich, L.; Schroder, J.; Schonknecht, P.; Riepe, M. W.; Kraft, I.; Gasser, T.; Leyhe, T.; Moller, H. J.; Kurz, A.; Basun, H. Lithium trial in Alzheimer's disease: a randomized, single-blind, placebo-controlled, multicenter 10-week study. *J Clin Psychiatry* **2009**, *70*, 922-31.
141. Fachinformation. Präparat-Recherche. <http://www.fachinfo.de> (Stand: 2015; Abfrage: 02.05.2015 [MEZ] 11:20 Uhr).
142. Himmelstein, D. S.; Ward, S. M.; Lancia, J. K.; Patterson, K. R.; Binder, L. I. Tau as a therapeutic target in neurodegenerative disease. *Pharmacol Ther* **2012**, *136*, 8-22.
143. Coghlan, M. P.; Culbert, A. A.; Cross, D. A.; Corcoran, S. L.; Yates, J. W.; Pearce, N. J.; Rausch, O. L.; Murphy, G. J.; Carter, P. S.; Roxbee Cox, L.; Mills, D.; Brown, M. J.; Haigh, D.; Ward, R. W.; Smith, D. G.; Murray, K. J.; Reith, A. D.; Holder, J. C. Selective small molecule inhibitors of glycogen synthase kinase-3 modulate glycogen metabolism and gene transcription. *Chem Biol* **2000**, *7*, 793-803.
144. Engler, T. A.; Malhotra, S.; Burkholder, T. P.; Henry, J. R.; Mendel, D.; Porter, W. J.; Furness, K.; Diefenbacher, C.; Marquart, A.; Reel, J. K.; Li, Y.; Clayton, J.; Cunningham, B.; McLean, J.; O'Toole, J. C.; Brozinick, J.; Hawkins, E.; Misener, E.; Briere, D.; Brier, R. A.; Wagner, J. R.; Campbell, R. M.; Anderson, B. D.; Vaughn, R.; Bennett, D. B.; Meier, T. I.; Cook, J. A. The development of potent and selective bisarylmaleimide GSK3 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2005**, *15*, 899-903.
145. Hu, S.; Begum, A. N.; Jones, M. R.; Oh, M. S.; Beech, W. K.; Beech, B. H.; Yang, F.; Chen, P.; Ubada, O. J.; Kim, P. C.; Davies, P.; Ma, Q.; Cole, G. M.; Frautschy, S. A. GSK3 inhibitors show benefits in an Alzheimer's disease (AD) model of neurodegeneration but adverse effects in control animals. *Neurobiol Dis* **2009**, *33*, 193-206.
146. Vougianniopoulou, K.; Ferandin, Y.; Bettayeb, K.; Myriantopoulos, V.; Lozach, O.; Fan, Y.; Johnson, C. H.; Magiatis, P.; Skaltsounis, A. L.; Mikros, E.; Meijer, L. Soluble 3',6-substituted indirubins with enhanced selectivity toward glycogen synthase kinase -3 alter circadian period. *J Med Chem* **2008**, *51*, 6421-31.
147. Power, D. P.; Lozach, O.; Meijer, L.; Grayson, D. H.; Connon, S. J. Concise synthesis and CDK/GSK inhibitory activity of the missing 9-azapallones. *Bioorg Med Chem Lett* **2010**, *20*, 4940-4.
148. Leost, M.; Schultz, C.; Link, A.; Wu, Y. Z.; Biernat, J.; Mandelkow, E. M.; Bibb, J. A.; Snyder, G. L.; Greengard, P.; Zaharevitz, D. W.; Gussio, R.; Senderowicz, A. M.; Sausville, E. A.; Kunick, C.; Meijer, L. Paullones are potent inhibitors of glycogen synthase kinase-3beta and cyclin-dependent kinase 5/p25. *Eur J Biochem* **2000**, *267*, 5983-94.
149. Barone, F. C.; Irving, E. A.; Ray, A. M.; Lee, J. C.; Kassis, S.; Kumar, S.; Badger, A. M.; White, R. F.; McVey, M. J.; Legos, J. J.; Erhardt, J. A.; Nelson, A. H.; Ohlstein, E. H.; Hunter, A. J.; Ward, K.; Smith, B. R.; Adams, J. L.; Parsons, A. A. SB 239063, a second-generation p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, reduces brain injury and neurological deficits in cerebral focal ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* **2001**, *296*, 312-21.
150. Ashabi, G.; Ramin, M.; Azizi, P.; Taslimi, Z.; Alamdary, S. Z.; Haghparast, A.; Ansari, N.; Motamedi, F.; Khodaghali, F. ERK and p38 inhibitors attenuate memory deficits and

- increase CREB phosphorylation and PGC-1 α levels in Abeta-injected rats. *Behav Brain Res* **2012**, 232, 165-73.
151. Munoz, L.; Ralay Ranaivo, H.; Roy, S. M.; Hu, W.; Craft, J. M.; McNamara, L. K.; Chico, L. W.; Van Eldik, L. J.; Watterson, D. M. A novel p38 α MAPK inhibitor suppresses brain proinflammatory cytokine up-regulation and attenuates synaptic dysfunction and behavioral deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *J Neuroinflammation* **2007**, 4, 21.
 152. Ohori, M.; Kinoshita, T.; Okubo, M.; Sato, K.; Yamazaki, A.; Arakawa, H.; Nishimura, S.; Inamura, N.; Nakajima, H.; Neya, M.; Miyake, H.; Fujii, T. Identification of a selective ERK inhibitor and structural determination of the inhibitor-ERK2 complex. *Biochem Biophys Res Commun* **2005**, 336, 357-63.
 153. Alam, M.; Beevers, R. E.; Ceska, T.; Davenport, R. J.; Dickson, K. M.; Fortunato, M.; Gowers, L.; Haughan, A. F.; James, L. A.; Jones, M. W.; Kinsella, N.; Lowe, C.; Meissner, J. W.; Nicolas, A. L.; Perry, B. G.; Phillips, D. J.; Pitt, W. R.; Platt, A.; Ratcliffe, A. J.; Sharpe, A.; Tait, L. J. Synthesis and SAR of aminopyrimidines as novel c-Jun N-terminal kinase (JNK) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, 17, 3463-7.
 154. Liu, M.; Wang, S.; Clampit, J. E.; Gum, R. J.; Haasch, D. L.; Rondinone, C. M.; Trevillyan, J. M.; Abad-Zapatero, C.; Fry, E. H.; Sham, H. L.; Liu, G. Discovery of a new class of 4-anilinopyrimidines as potent c-Jun N-terminal kinase inhibitors: Synthesis and SAR studies. *Bioorg Med Chem Lett* **2007**, 17, 668-672.
 155. Liu, M.; Xin, Z.; Clampit, J. E.; Wang, S.; Gum, R. J.; Haasch, D. L.; Trevillyan, J. M.; Abad-Zapatero, C.; Fry, E. H.; Sham, H. L.; Liu, G. Synthesis and SAR of 1,9-dihydro-9-hydroxypyrazolo[3,4-b]quinolin-4-ones as novel, selective c-Jun N-terminal kinase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2006**, 16, 2590-2594.
 156. Shin, Y.; Chen, W.; Habel, J.; Duckett, D.; Ling, Y. Y.; Koenig, M.; He, Y.; Vojtkovsky, T.; LoGrasso, P.; Kamenecka, T. M. Synthesis and SAR of piperazine amides as novel c-jun N-terminal kinase (JNK) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* **2009**, 19, 3344-7.
 157. Liu, G.; Zhao, H.; Liu, B.; Xin, Z.; Liu, M.; Kosogof, C.; Szczepankiewicz, B. G.; Wang, S.; Clampit, J. E.; Gum, R. J.; Haasch, D. L.; Trevillyan, J. M.; Sham, H. L. Aminopyridine carboxamides as c-Jun N-terminal kinase inhibitors: Targeting the gatekeeper residue and beyond. *Bioorg Med Chem Lett* **2006**, 16, 5723-5730.
 158. Asano, Y.; Kitamura, S.; Ohra, T.; Aso, K.; Igata, H.; Tamura, T.; Kawamoto, T.; Tanaka, T.; Sogabe, S.; Matsumoto, S.; Yamaguchi, M.; Kimura, H.; Itoh, F. Discovery, synthesis and biological evaluation of isoquinolones as novel and highly selective JNK inhibitors (1). *Bioorg Med Chem* **2008**, 16, 4715-32.
 159. Asano, Y.; Kitamura, S.; Ohra, T.; Itoh, F.; Kajino, M.; Tamura, T.; Kaneko, M.; Ikeda, S.; Igata, H.; Kawamoto, T.; Sogabe, S.; Matsumoto, S.; Tanaka, T.; Yamaguchi, M.; Kimura, H.; Fukumoto, S. Discovery, synthesis and biological evaluation of isoquinolones as novel and highly selective JNK inhibitors (2). *Bioorg Med Chem* **2008**, 16, 4699-714.
 160. Bennett, B. L.; Sasaki, D. T.; Murray, B. W.; O'Leary, E. C.; Sakata, S. T.; Xu, W.; Leisten, J. C.; Motiwala, A.; Pierce, S.; Satoh, Y.; Bhagwat, S. S.; Manning, A. M.; Anderson, D. W. SP600125, an anthrapyrazolone inhibitor of Jun N-terminal kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001**, 98, 13681-6.
 161. Swahn, B. M.; Xue, Y.; Arzel, E.; Kallin, E.; Magnus, A.; Plobeck, N.; Viklund, J. Design and synthesis of 2'-anilino-4,4'-bipyridines as selective inhibitors of c-Jun N-terminal kinase-3. *Bioorg Med Chem Lett* **2006**, 16, 1397-401.
 162. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1997**, 23, 3-25.
 163. Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A

- Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. *Journal of Combinatorial Chemistry* **1999**, 1, 55-68.
164. Lipinski, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* **2004**, 1, 337-341.
165. Mahar Doan, K. M.; Humphreys, J. E.; Webster, L. O.; Wring, S. A.; Shampine, L. J.; Serabjit-Singh, C. J.; Adkison, K. K.; Polli, J. W. Passive permeability and P-glycoprotein-mediated efflux differentiate central nervous system (CNS) and non-CNS marketed drugs. *J Pharmacol Exp Ther* **2002**, 303, 1029-37.
166. Pajouhesh, H.; Lenz, G. R. Medicinal Chemical Properties of Successful Central Nervous System Drugs. *NeuroRx* **2005**, 2, 541-553.
167. Clark, D. E.; Annette M. Doherty, M. G. B., Manoj C. Desai, John Overington, Jacob J. Plattner, Andrew Stamford, David Wustrow; Hannah, Y. Computational Prediction of Blood-brain Barrier Permeation. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Academic Press: 2005; Vol. Volume 40, pp 403-415.
168. Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J Med Chem* **2000**, 43, 3714-7.
169. Norinder, U.; Haeberlein, M. Computational approaches to the prediction of the blood-brain distribution. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, 54, 291-313.
170. 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, 411-3.
171. Brachwitz, K.; Voigt, B.; Meijer, L.; Lozach, O.; Schachtele, C.; Molnar, 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, 876-9.
172. Voigt, B. Dissertation "Entwicklung und Charakterisierung neuartiger 1-Aza-9-oxafluorene als Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen und GSK-3beta". Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale), **2007**.
173. Voigt, B.; Meijer, L.; Lozach, O.; Schachtele, C.; Totzke, F.; Hilgeroth, A. Novel CDK inhibition profiles of structurally varied 1-aza-9-oxafluorenes. *Bioorg Med Chem Lett* **2005**, 15, 823-5.
174. Voigt, B.; Krug, M.; Schachtele, C.; Totzke, F.; Hilgeroth, A. Probing novel 1-aza-9-oxafluorenes as selective GSK-3beta inhibitors. *ChemMedChem* **2008**, 3, 120-6.
175. 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, 551-553.
176. Comins, D. L.; Mantlo, N. B. Regioselective arylation of 3-bromopyridine. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1983**, 20, 1239-1243.
177. Comins, D. L.; Stroud, E. D.; Herrick, J. J. Regioselective addition of Grignard reagents to the 1-phenoxy carbonyl salts of alkyl nicotines. *Heterocycles* **1984**, 22, 151-7.
178. Comins, D. L.; Abdullah, A. H. Regioselective addition of Grignard reagents to 1-acylpyridinium salts. A convenient method for the synthesis of 4-alkyl(aryl)pyridines. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 4315-19.
179. Comins, D. L.; Smith, R. K.; Stroud, E. D. Synthesis of 3-halo- and 3-formyl-4-alkylpyridines. *Heterocycles* **1984**, 22, 339-44.
180. Fowler, F. W. Synthesis of 1,2- and 1,4-dihydropyridines. *The Journal of Organic Chemistry* **1972**, 37, 1321-1323.
181. Reetz, M. T.; Kindler, A. The Kharasch reaction revisited: CuX₃Li₂-catalyzed conjugate addition reactions of Grignard reagents. *J. Organomet. Chem.* **1995**, 502, C5-C7.
182. Kozikowski, A. P.; Araldi, G. L.; Ball, R. G. Dipolar Cycloaddition Route to Diverse Analogues of Cocaine: The 6- and 7-Substituted 3-Phenyltropanes. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, 62, 503-509.

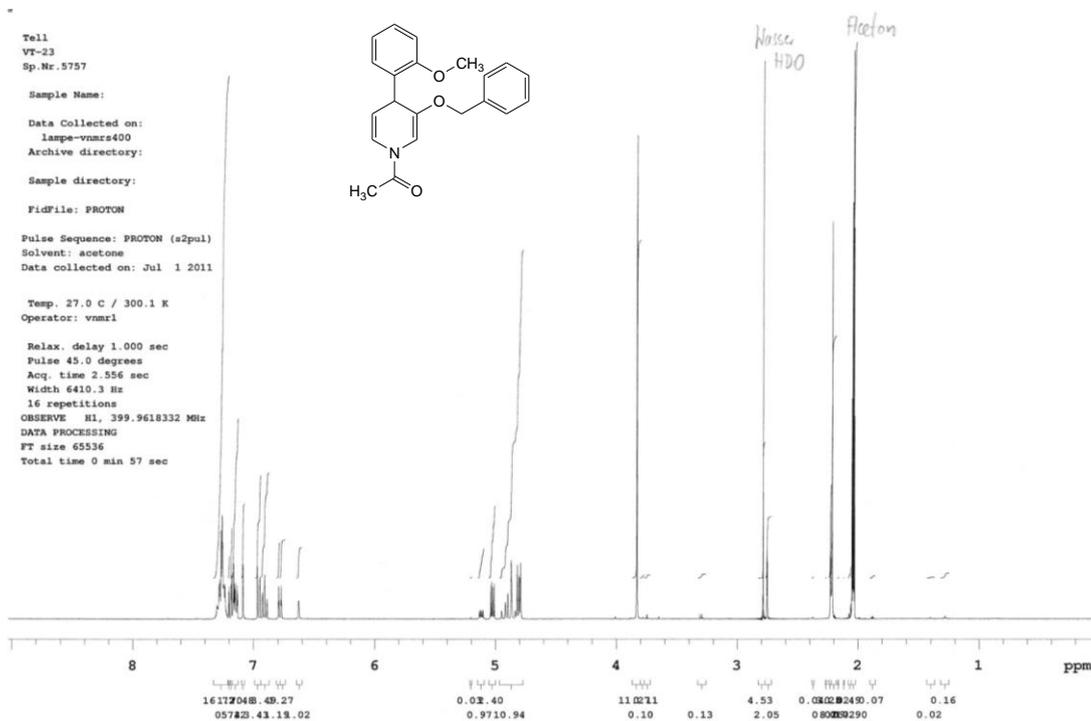
183. Adler, E.; Magnusson, R. Periodate oxidation of phenols. I. Monoethers of pyrocatechol and hydroquinone. *Acta Chemica Scandinavica* **1959**, 13, 505-19.
184. Hilgeroth, A.; Baumeister, U. The First Functionalized 6,12-Diazatetrakis-homocubanes. *Angewandte Chemie International Edition* **2000**, 39, 576-578.
185. Hilgeroth, A.; Baumeister, U. Formation of Novel Photodimers from 4-Aryl-1,4-dihydropyridines. *Chemistry – A European Journal* **2001**, 7, 4599-4603.
186. Baumert, C. Dissertation "Synthese, Charakterisierung und biologische Evaluation neuartiger MDR-Modulatoren und HIV-1 Proteaseinhibitoren mit 1,4-Dihydropyridin-Grundstruktur". Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale), **2012**.
187. Kvalnes, D. E. An Optical Method for the Study of Reversible Organic Oxidation-Reduction Systems. II. Halogenated Benzoquinones. *Journal of the American Chemical Society* **1934**, 56, 667-670.
188. Kvalnes, D. E. An Optical Method for the Study of Reversible Organic Oxidation-Reduction Systems. III. Preparation and Use of a New Optically Active Standard. *Journal of the American Chemical Society* **1934**, 56, 670-672.
189. Frontana, C.; Vazquez-Mayagoitia, A.; Garza, J.; Vargas, R.; Gonzalez, I. Substituent effect on a family of quinones in aprotic solvents: an experimental and theoretical approach. *J Phys Chem A* **2006**, 110, 9411-9.
190. Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. Georg Thieme Verlag KG: Stuttgart, **2011**; Vol. 8., überarbeitete und erweiterte Auflage.
191. Pochet, L.; Doucet, C.; Schynts, M.; Thierry, N.; Boggetto, N.; Pirotte, B.; Jiang, K. Y.; Masereel, B.; de Tullio, P.; Delarge, J.; Reboud-Ravaux, M. Esters and amides of 6-(chloromethyl)-2-oxo-2H-1-benzopyran-3-carboxylic acid as inhibitors of alpha-chymotrypsin: significance of the "aromatic" nature of the novel ester-type coumarin for strong inhibitory activity. *J Med Chem* **1996**, 39, 2579-85.
192. Copeland, R. A.; Lombardo, D.; Giannaras, J.; Decicco, C. P. Estimating KI values for tight binding inhibitors from dose-response plots. *Bioorg Med Chem Lett* **1995**, 5, 1947-1952.
193. Cer, R. Z.; Mudunuri, U.; Stephens, R.; Lebeda, F. J. IC(50)-to-K(i): a web-based tool for converting IC(50) to K(i) values for inhibitors of enzyme activity and ligand binding. *Nucleic Acids Res* **2009**, 37, W441-5.
194. Thomas, W. A.; Griffin, G. E. The NMR spectra of some fluorinated pyridine derivatives. *Organic Magnetic Resonance* **1970**, 2, 503-510.
195. Autorenkollektiv. *Organikum*. Barth, Dt. Verlag der Wissenschaften: Leipzig, Berlin, Heidelberg, **1993**; Vol. 19., bearbeitete und erweiterte Auflage.
196. Narasimhan, S.; Prasad, K. G.; Madhavan, S. Calcium Borohydride. *Synthetic Communications* **1995**, 25, 1689-1697.
197. Green, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*. John Wiley & Sons, Inc.: New York, **1991**; Vol. 2nd Edition.
198. Kocienski, P. J. *Protecting Groups*. Georg Thieme Verlag: Stuttgart & New York, **2005**; Vol. 3rd Edition.
199. Kendall, P. M.; Johnson, J. V.; Cook, C. E. Synthetic route to an aromatic analog of strigol. *The Journal of Organic Chemistry* **1979**, 44, 1421-1424.
200. Breitmaier, E.; Jung, G. *Organische Chemie - Grundlagen, Stoffklassen, Reaktionen, Konzepte, Molekülstruktur*. Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 2005; Vol. 5., überarbeitete Auflage.
201. Brown, N. R.; Korolchuk, S.; Martin, M. P.; Stanley, W. A.; Moukhametzianov, R.; Noble, M. E.; Endicott, J. A. CDK1 structures reveal conserved and unique features of the essential cell cycle CDK. *Nat Commun* **2015**, 6, 6769.
202. www.rcsb.org->2FVD; Chu, X. J.; DePinto, W.; Bartkovitz, D.; So, S. S.; Vu, B. T.; Packman, K.; Lukacs, C.; Ding, Q.; Jiang, N.; Wang, K.; Goelzer, P.; Yin, X.; Smith, M. A.; Higgins, B. X.; Chen, Y.; Xiang, Q.; Moliterni, J.; Kaplan, G.; Graves, B.; Lovey, A.;

- Fotouhi, N. Discovery of [4-Amino-2-(1-methanesulfonylpiperidin-4-ylamino)pyrimidin-5-yl](2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methanone (R547), a potent and selective cyclin-dependent kinase inhibitor with significant in vivo antitumor activity. *J Med Chem* **2006**, 49, 6549-60.
203. www.rcsb.org-->1UNL; Mapelli, M.; Massimiliano, L.; Crovace, C.; Seeliger, M. A.; Tsai, L. H.; Meijer, L.; Musacchio, A. Mechanism of CDK5/p25 binding by CDK inhibitors. *J Med Chem* **2005**, 48, 671-9.
204. www.rcsb.org-->3GB2; Saitoh, M.; Kunitomo, J.; Kimura, E.; Iwashita, H.; Uno, Y.; Onishi, T.; Uchiyama, N.; Kawamoto, T.; Tanaka, T.; Mol, C. D.; Dougan, D. R.; Textor, G. P.; Snell, G. P.; Takizawa, M.; Itoh, F.; Kori, M. 2-{3-[4-(Alkylsulfinyl)phenyl]-1-benzofuran-5-yl}-5-methyl-1,3,4-oxadiazole derivatives as novel inhibitors of glycogen synthase kinase-3beta with good brain permeability. *J Med Chem* **2009**, 52, 6270-86.
205. Krug, M. Dissertation "Entwicklung, Synthese und biologische Evaluation neuartiger selektiver Proteinkinaseinhibitoren". Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale), **2009**.
206. Knochel, P.; Dohle, W.; Gommermann, N.; Kneisel, F. F.; Kopp, F.; Korn, T.; Sapountzis, I.; Vu, V. A. Synthese hoch funktionalisierter Organomagnesiumreagentien durch Halogen-Metall-Austausch. *Angewandte Chemie* **2003**, 115, 4438-4456.
207. Syntechem Co., L. Produktinformation zu 2-Bromocyclohexa-2,5-diene-1,4-dione. <http://www.syntechem.com/prod/STP225019/> (Stand: 12.01.2010; Abfrage; 12.01.2010 [MEZ] 10:17 Uhr).
208. König, K. H.; Letsch, G. Thermochromic effects and constitution of unsymmetrical (hydroxyalkylamino)-p-benzoquinones. II. Variations in the quinone and the amino alcohol component. *Chemische Berichte* **1959**, 92, 1789-97.
209. Wurm, G.; Geres, U. Untersuchungen an 1,4-Naphthochinonen, 11. Mitt. Farbstoffsensibilisierte Photooxidation von 1-Naphtholen mit Alkyl- und Alkoholfunktionen in 2-Position. *Archiv der Pharmazie* **1986**, 319, 97-101.
210. Bosshard, P.; Fumagalli, S.; Good, R.; Trueb, W.; v. Philipsborn, W.; Eugster, C. H. Weitere Reaktionen an Acylchinonen und verwandten Verbindungen. *Helvetica Chimica Acta* **1964**, 47, 769-784.
211. Kushner, S.; Dalalian, H.; et al. Experimental chemotherapy of tuberculosis; substituted nicotinamides. *J Org Chem* **1948**, 13, 834-6.
212. Martinelli, J. R.; Clark, T. P.; Watson, D. A.; Munday, R. H.; Buchwald, S. L. Palladium-catalyzed aminocarbonylation of aryl chlorides at atmospheric pressure: the dual role of sodium phenoxide. *Angew Chem Int Ed Engl* **2007**, 46, 8460-3.
213. Billman, J. H.; Rendall, J. L. Amides of Nicotinic Acid and Related Acids. II. *Journal of the American Chemical Society* **1944**, 66, 540-541.

Anhang

Spektren ausgewählter Verbindungen

(*EZ,RS*)-1-(3-Benzyloxy-4-(2-methoxyphenyl)-4H-pyridin-1-yl)ethanon (15)

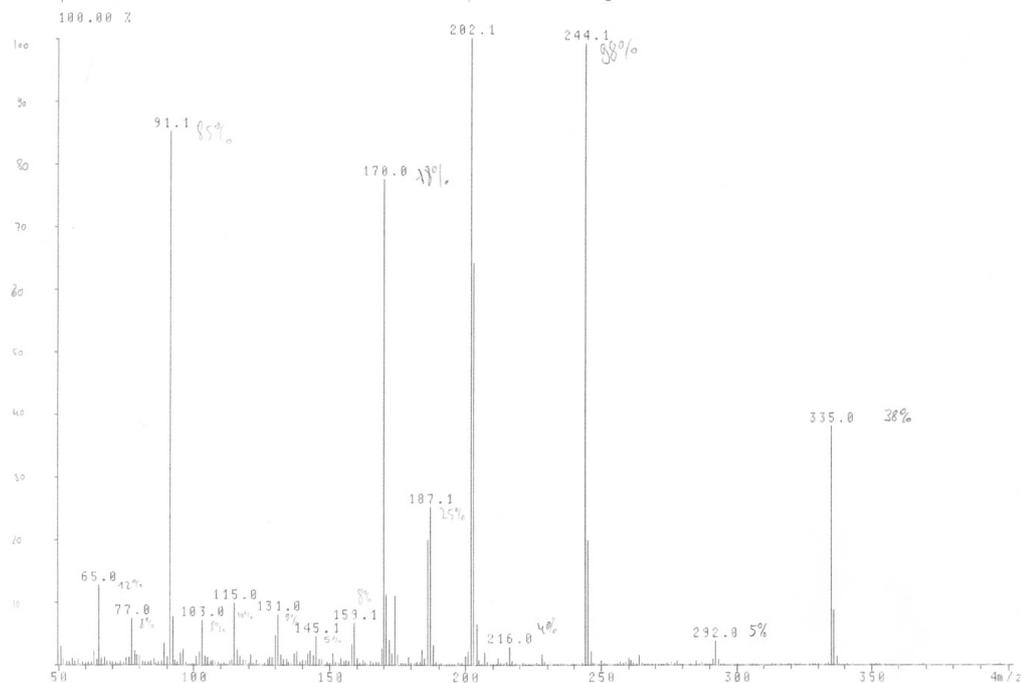


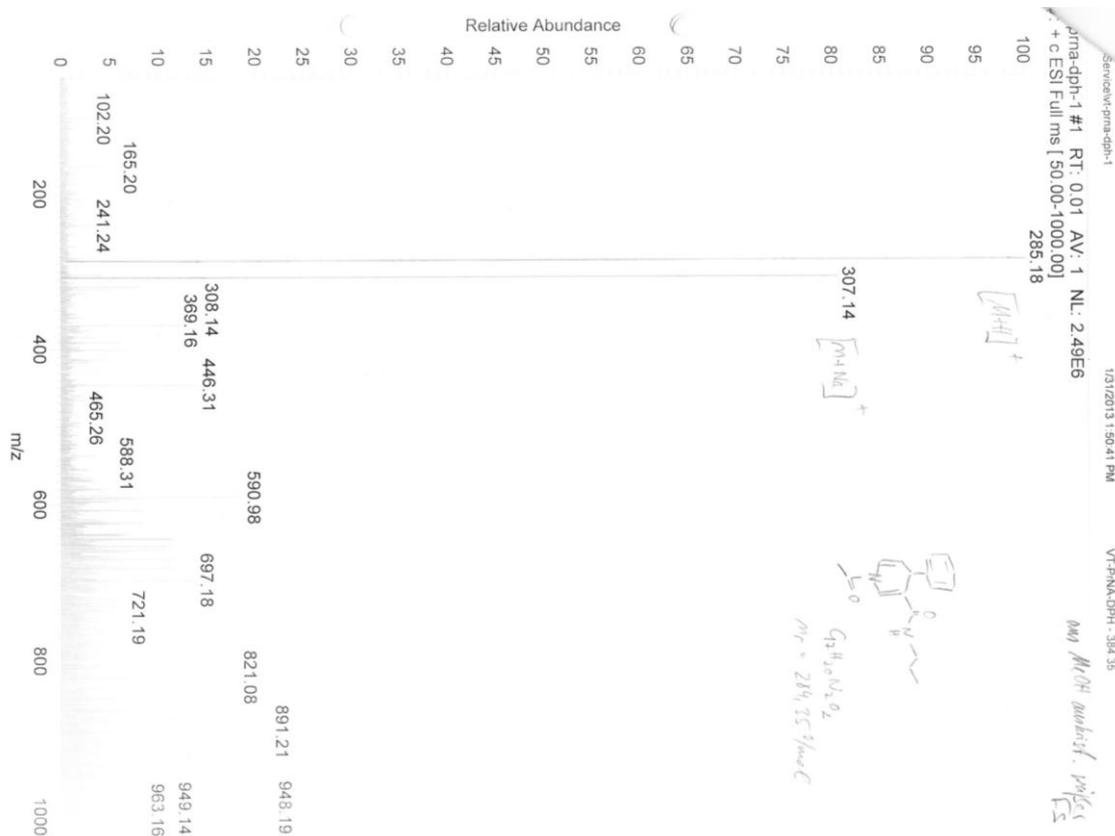
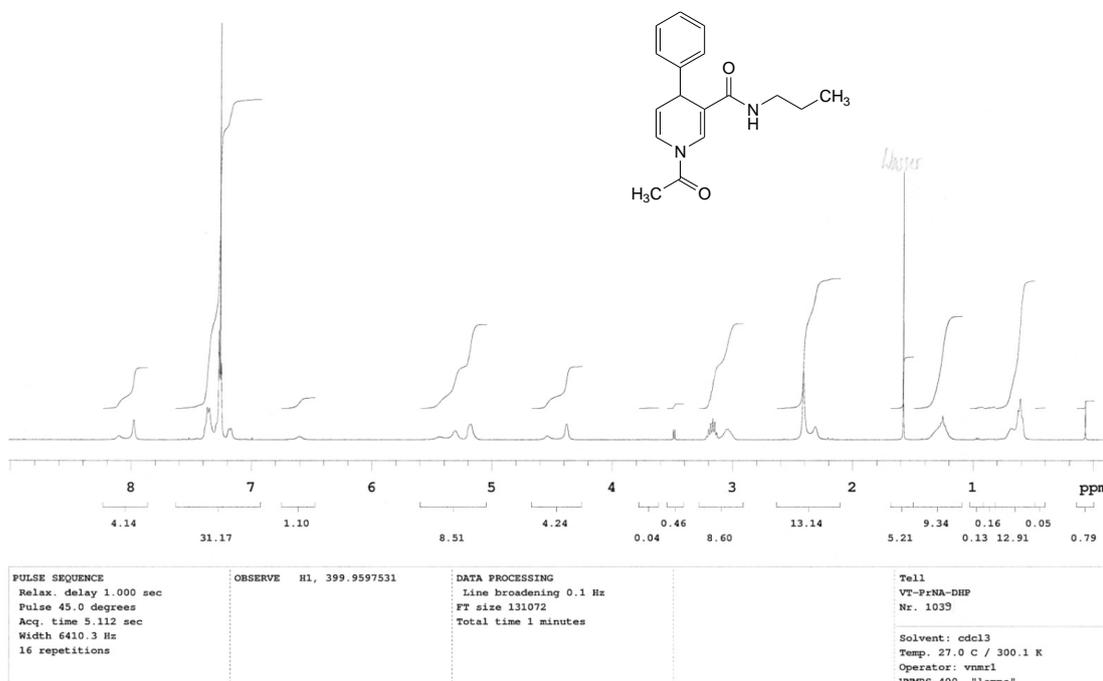
File : TELL1, Vers. 1
 of Di, 09.12.1988, 15:19 h
 Spectrum 12

 Comment: VT-23
 Commission: AMD 402
 <n> = basepeak

 LW13 SCHWARZER 06.12.2011
 <g> = 1.00

 PHARM.DR.HILGEROTH
 <d> = user



(EZ,RS)-1-Acetyl-4-phenyl-N-propyl-1,4-dihydropyridin-3-carbamid (10)

3-Fluor-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3b]pyridin-6-ol (41)

Tell
VT-28
Sp.Nr.6808

Sample Name:

Data Collected on:
lampe-vnmrs400
Archive directory:

Sample directory:

FidFile: PROTON

Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Aug 12 2011

Temp. 27.0 C / 300.1 K
Operator: vnmml

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz

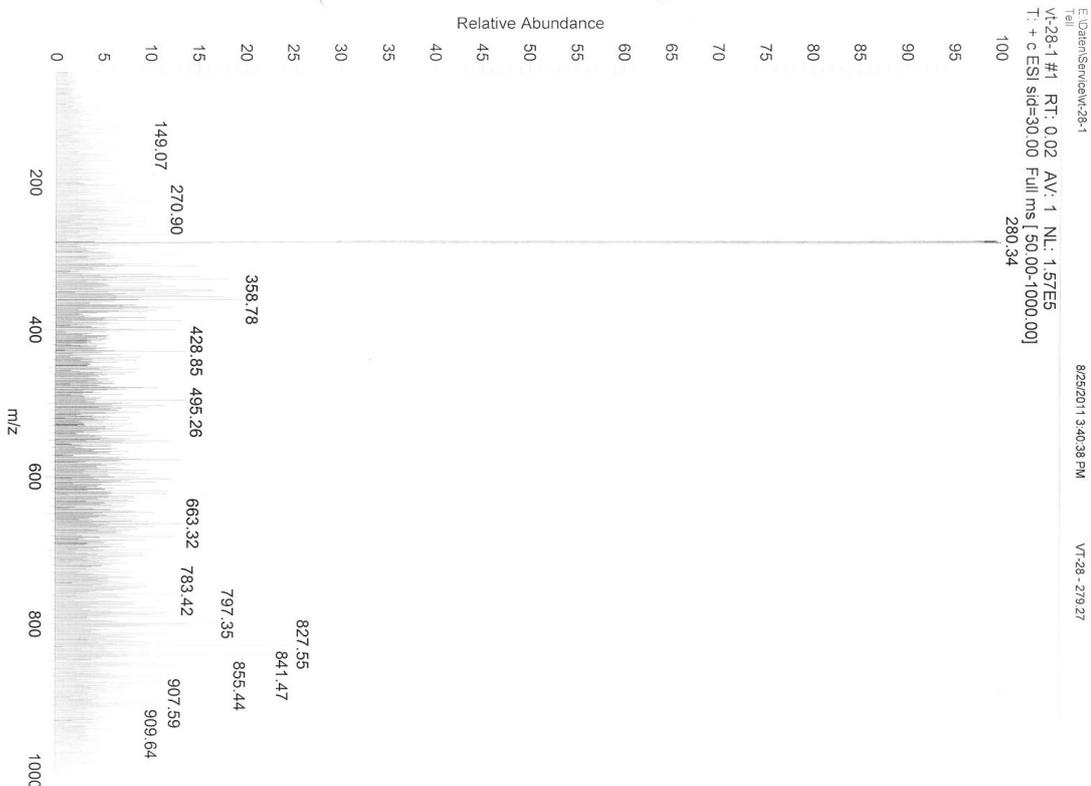
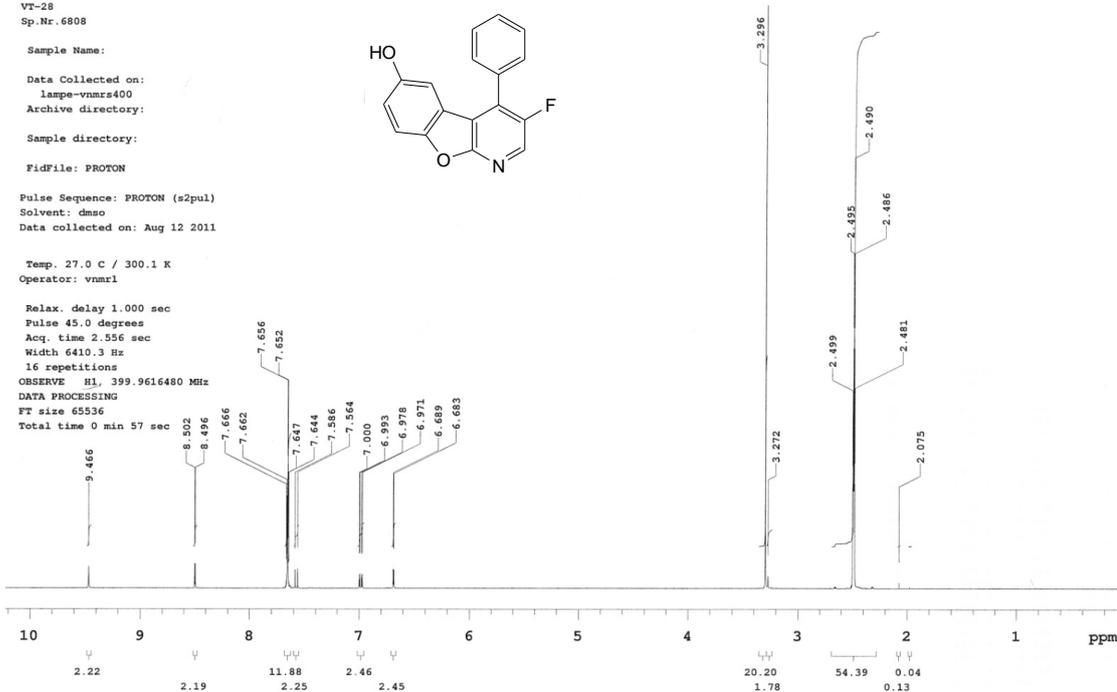
16 repetitions

OBSERVE H1, 399.9616480 MHz

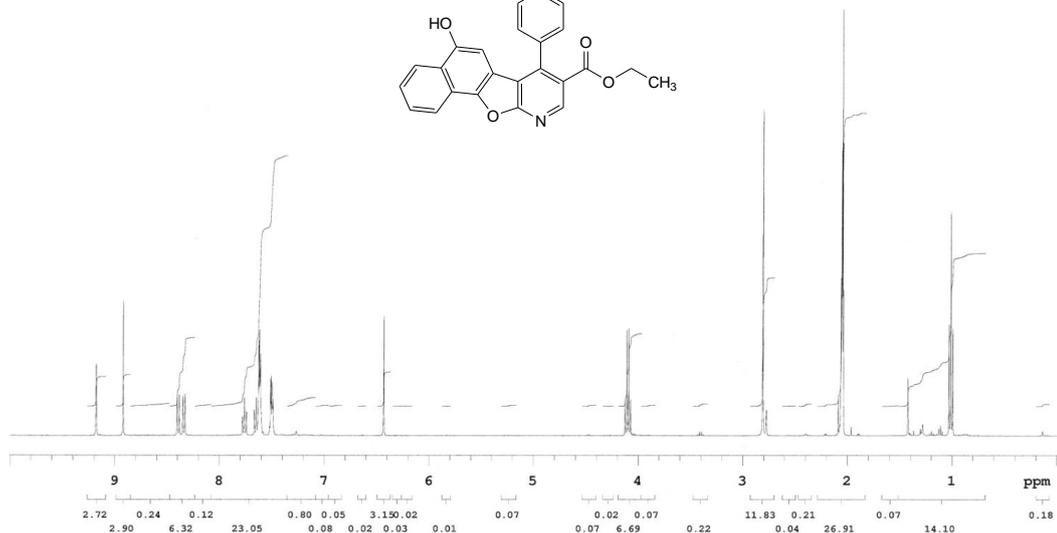
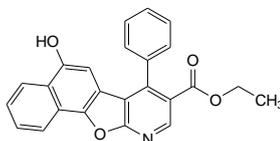
DATA PROCESSING

FT size 65536

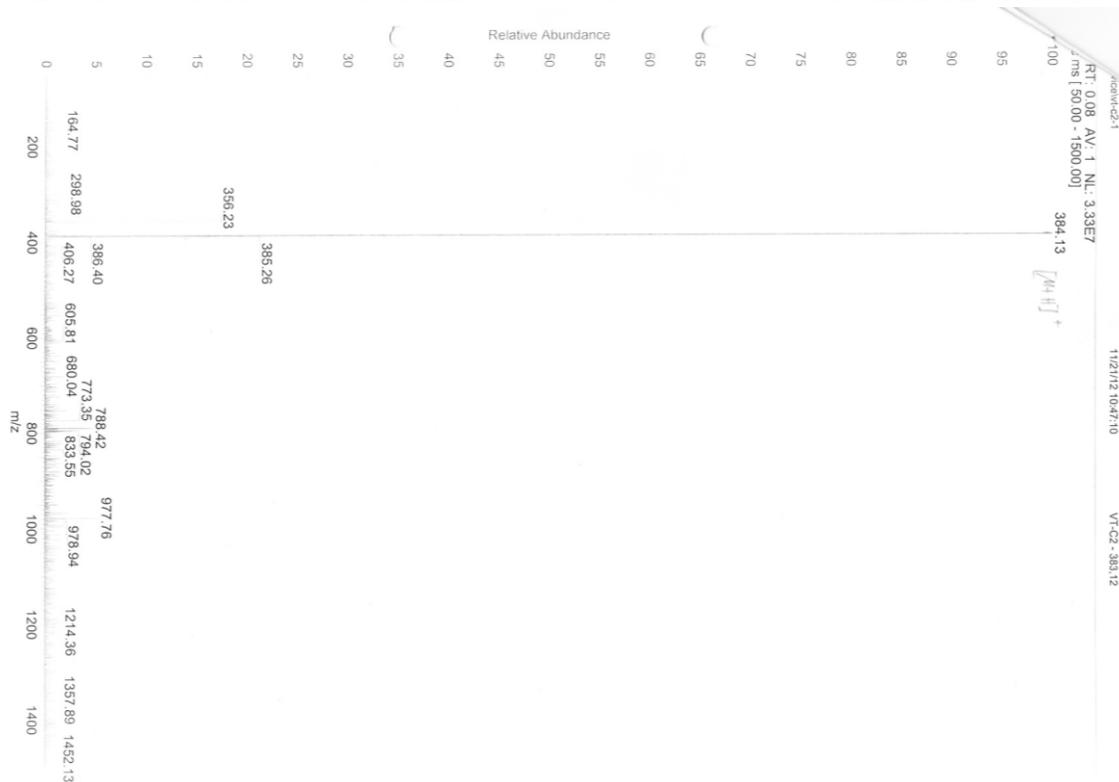
Total time 0 min 57 sec



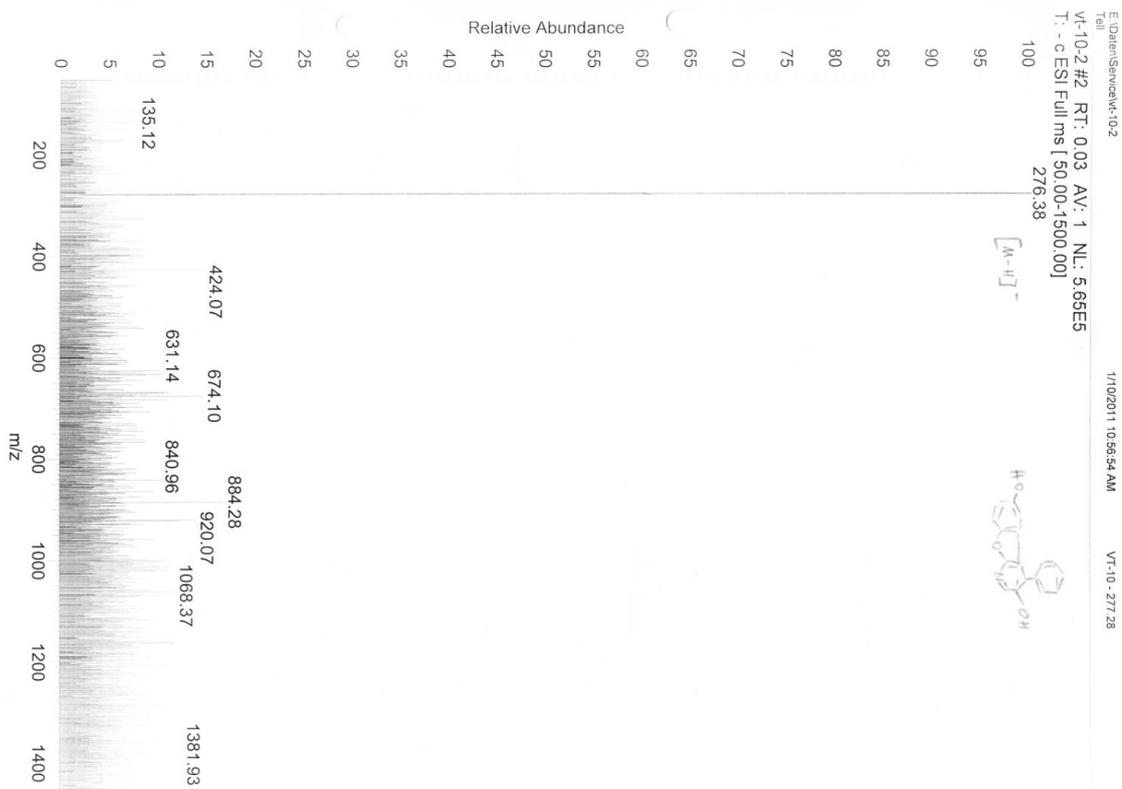
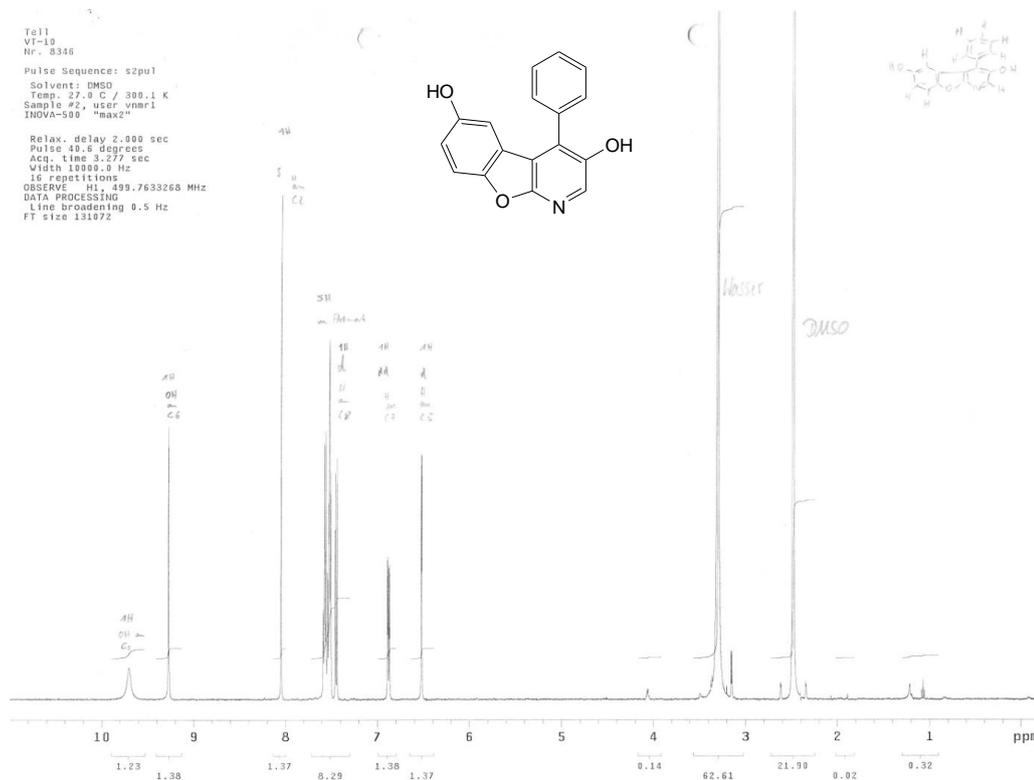
6-Hydroxy-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester (31)



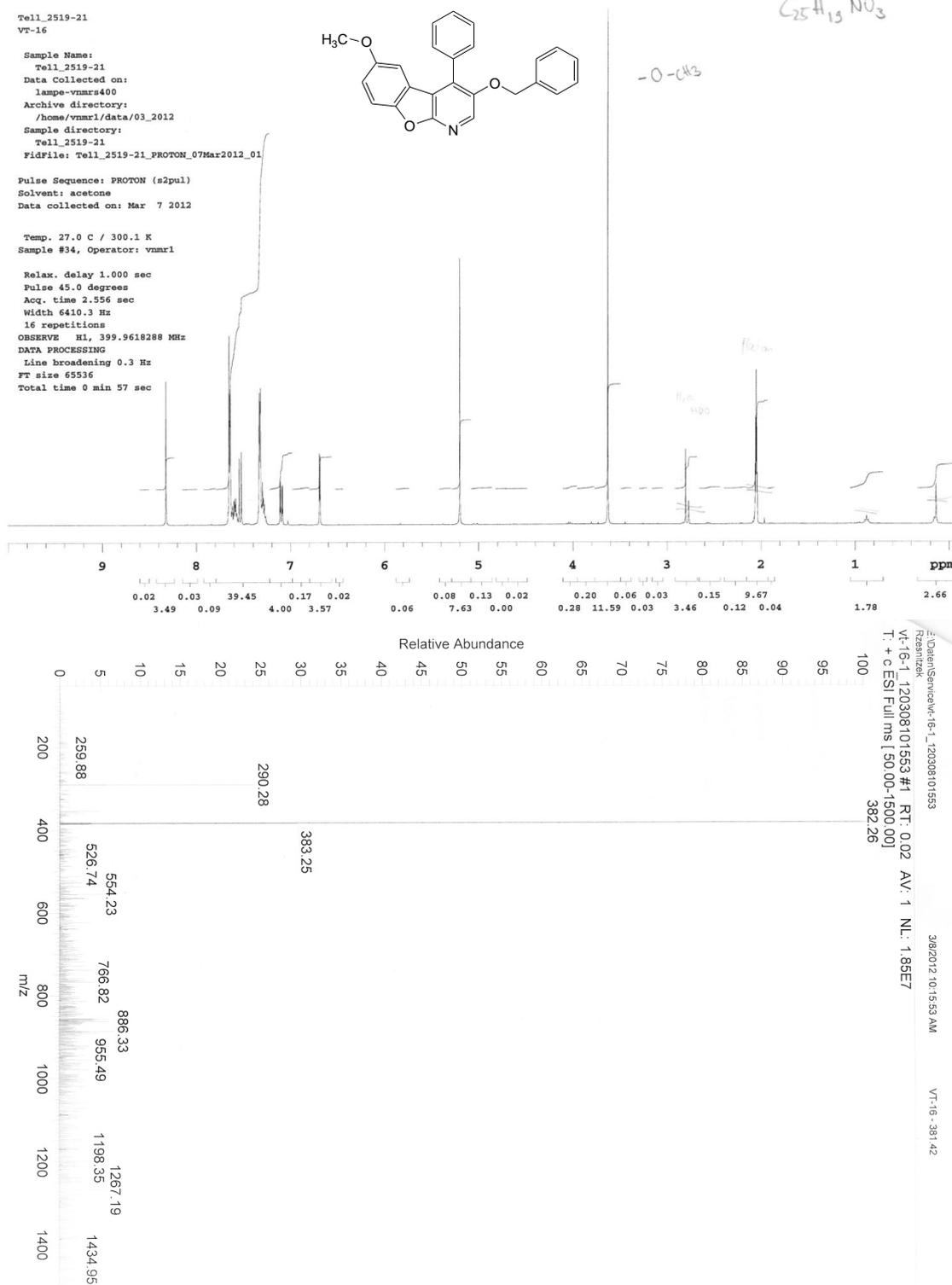
PULSE SEQUENCE	OBSERVE H1, 399.9618288	DATA PROCESSING	Tell_8502-03
Relax. delay 1.000 sec		Line broadening 0.1 Hz	VT-C2
Pulse 45.0 degrees		FT size 131072	
Acq. time 5.112 sec		Total time 1 minutes	
Width 6410.3 Hz			Solvent: acetone
16 repetitions			Temp. 27.0 C / 300.1 K
			Sample #9, Operator: vnmrl
			File: Tell_8502-03_PROTON_22Nov2012.01
			VNMR5-400 "lampe"



4-Phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3,6-diol (49)



3-Benzyloxy-6-methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin (55)



6-Methoxy-4-phenylbenzo[4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-ol (61)

Tell
VT-17 A
Sp.Nr. 653

Sample Name:

Data Collected on:
max2-inova500

Archive directory:

Sample directory:

Fidfile: PROTON

Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: cdcl3
Data collected on: Jun 9 2011

Temp. 27.0 C / 300.1 K
Sample #5, Operator: vnmml

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.094 sec

Width 8000.0 Hz

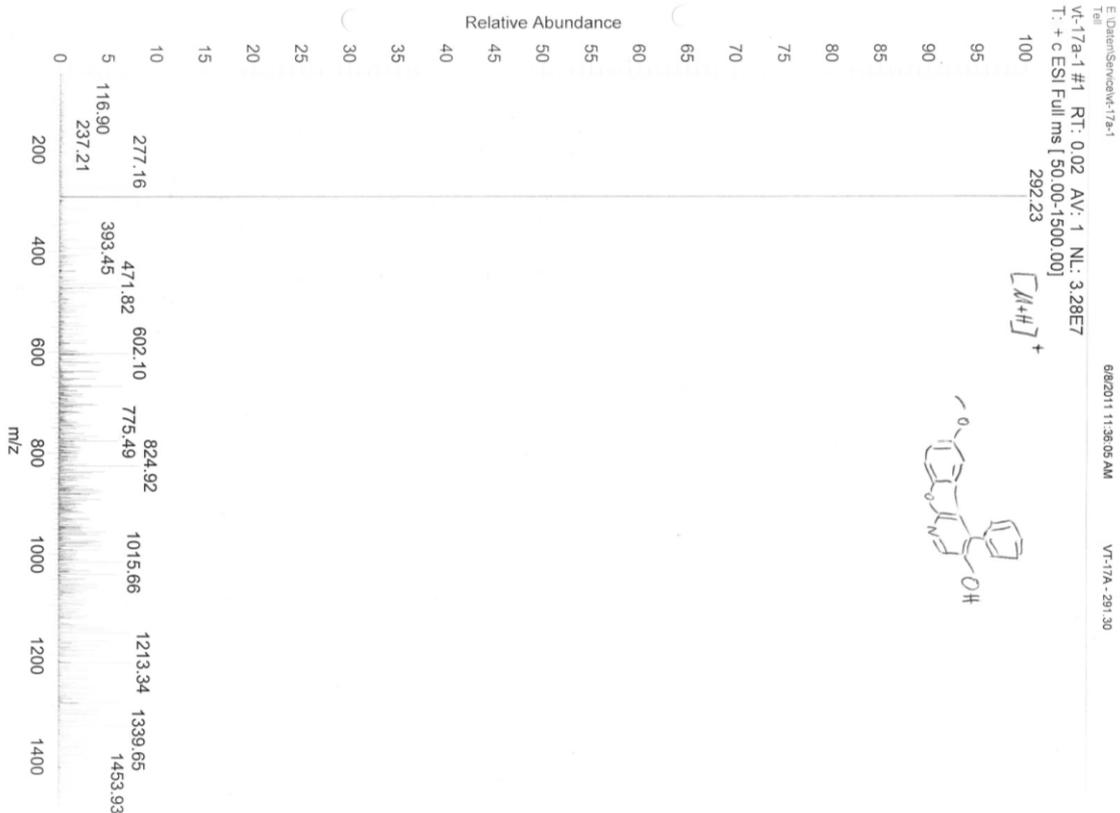
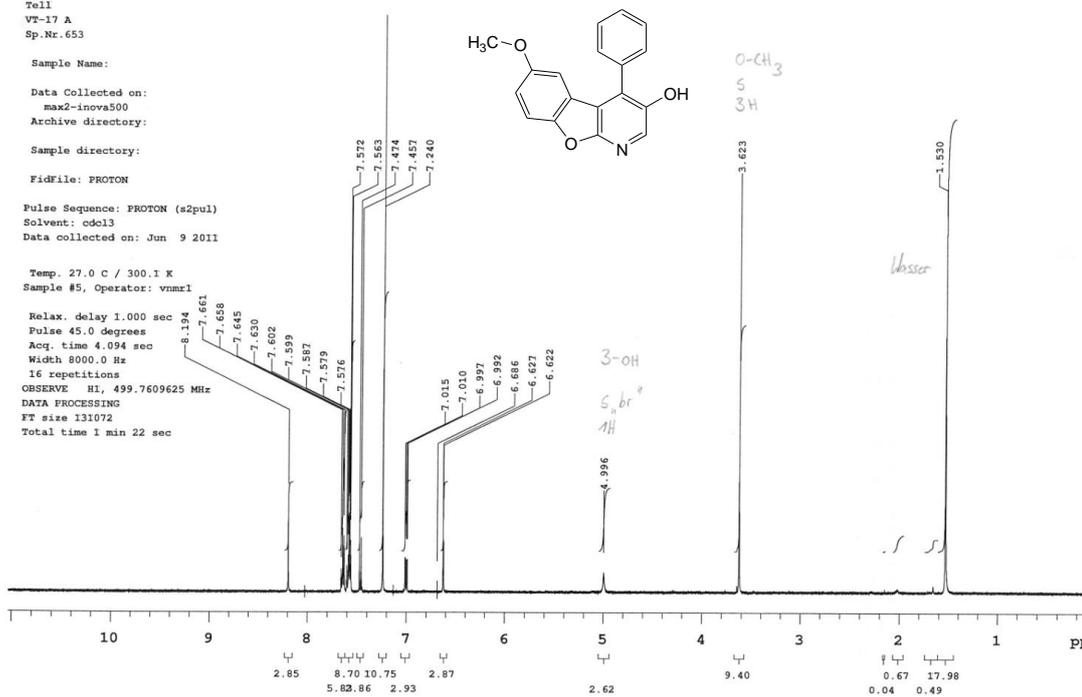
16 repetitions

OBSERVE HI, 499.7609625 MHz

DATA PROCESSING

FT size 131072

Total time 1 min 22 sec



E:\Data\MS\VT-17a-1

VT-17a-1#1 RT: 0.02 AV: 1 NL: 3.28E7
T: +c ESI Full ms [50.00-1500.00]

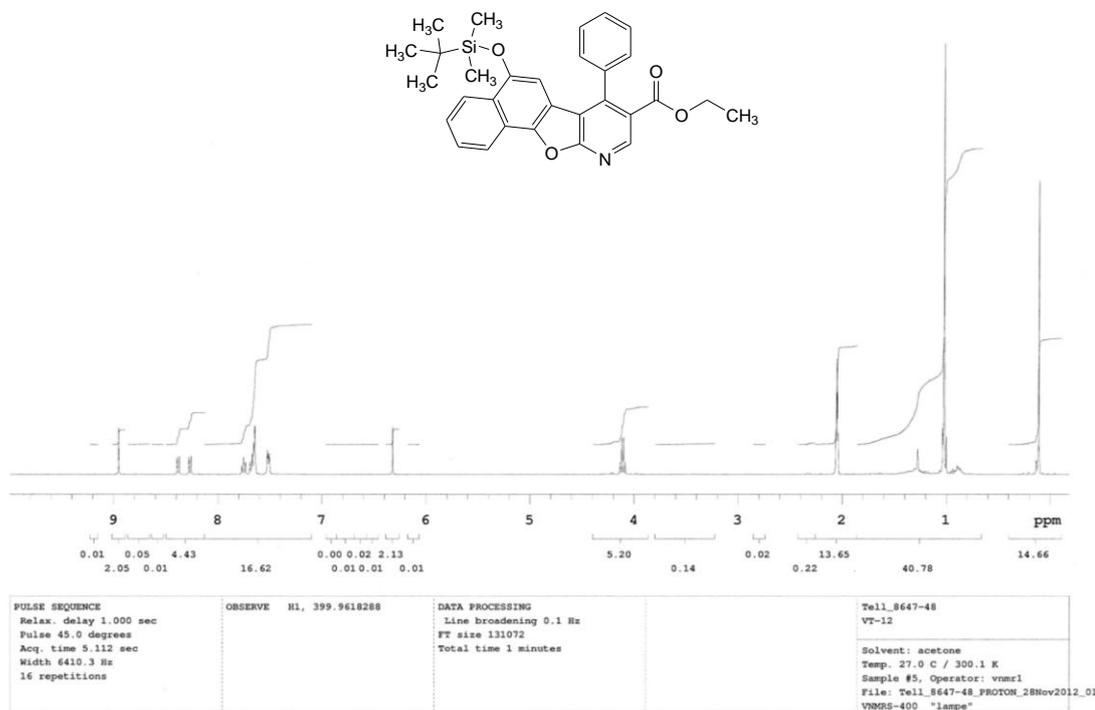
292.23

[M+H]⁺

6/8/2011 11:36:05 AM

VT-17A-29130

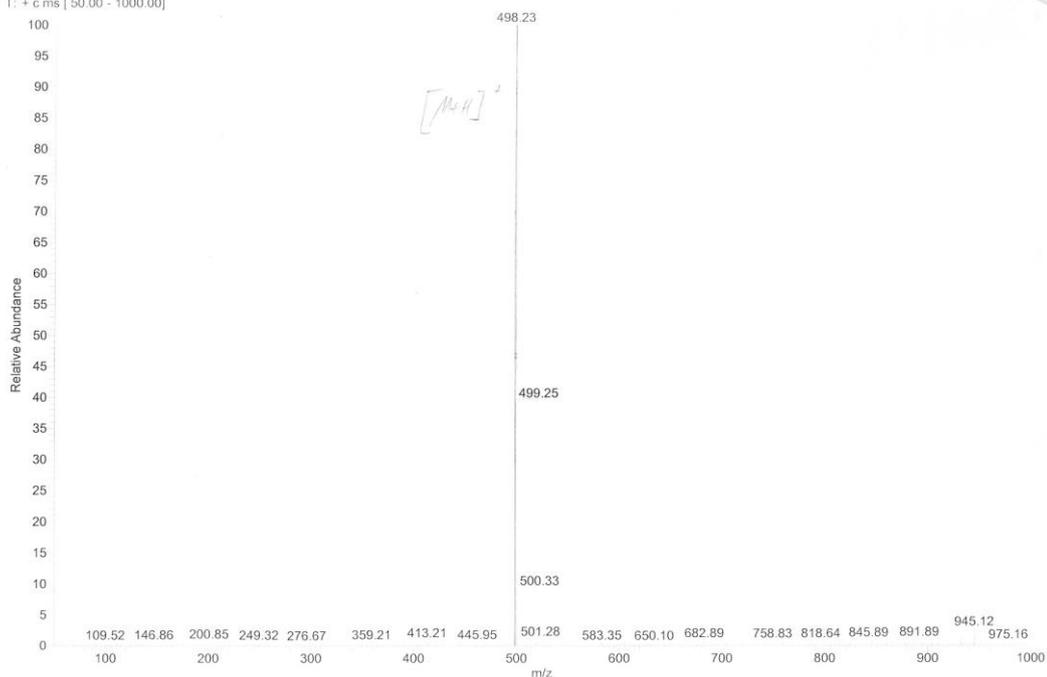
6-(TBDMS)-4-phenylnaphtho[1',2':4,5]furo[2,3-b]pyridin-3-carbonsäureethylester (44)



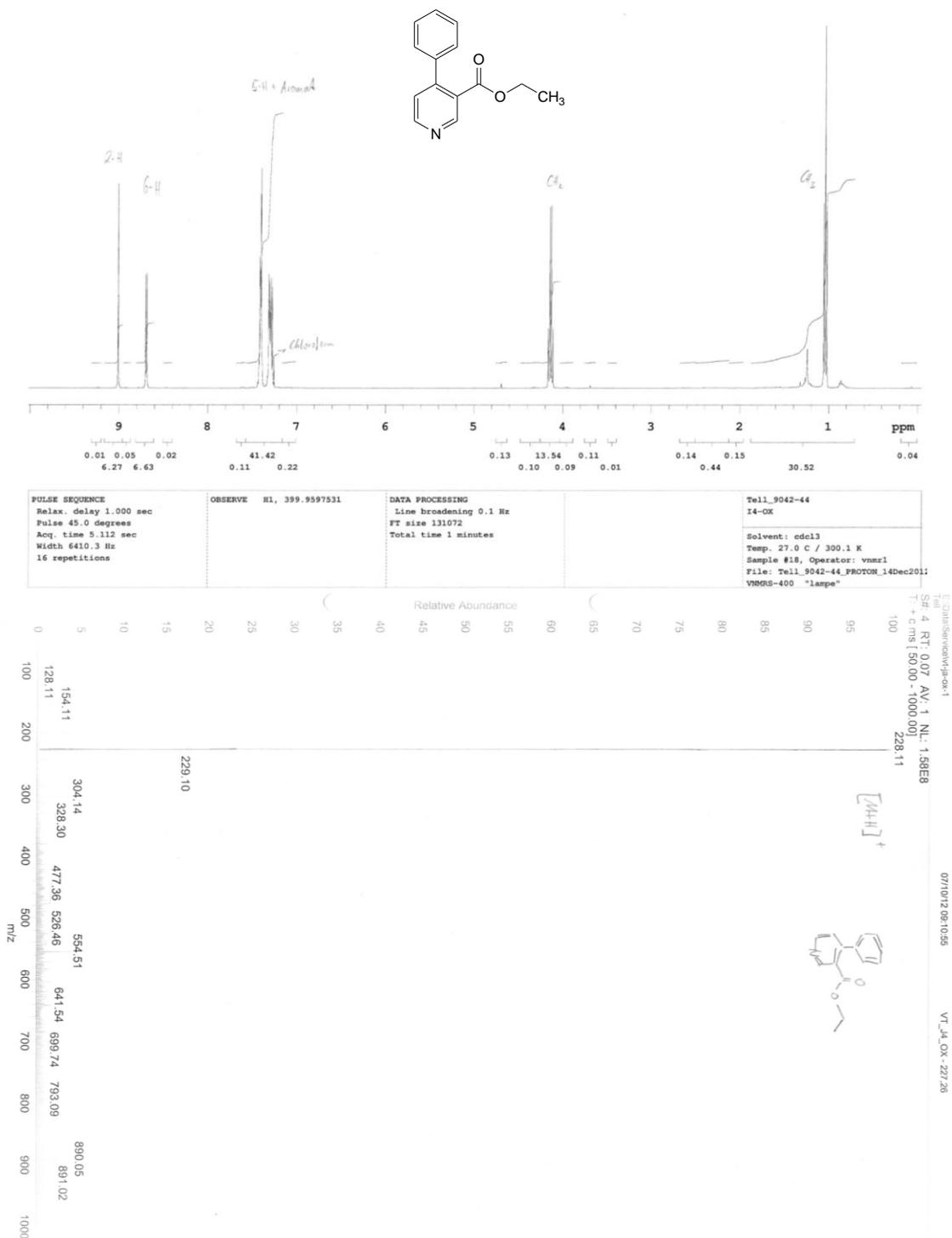
E:\Data\Service\vt-12-1_121127160507
 Tell
 S#: 2 RT: 0.03 AV: 1 NL: 9.10E7
 T: + c.ms [50.00 - 1000.00]

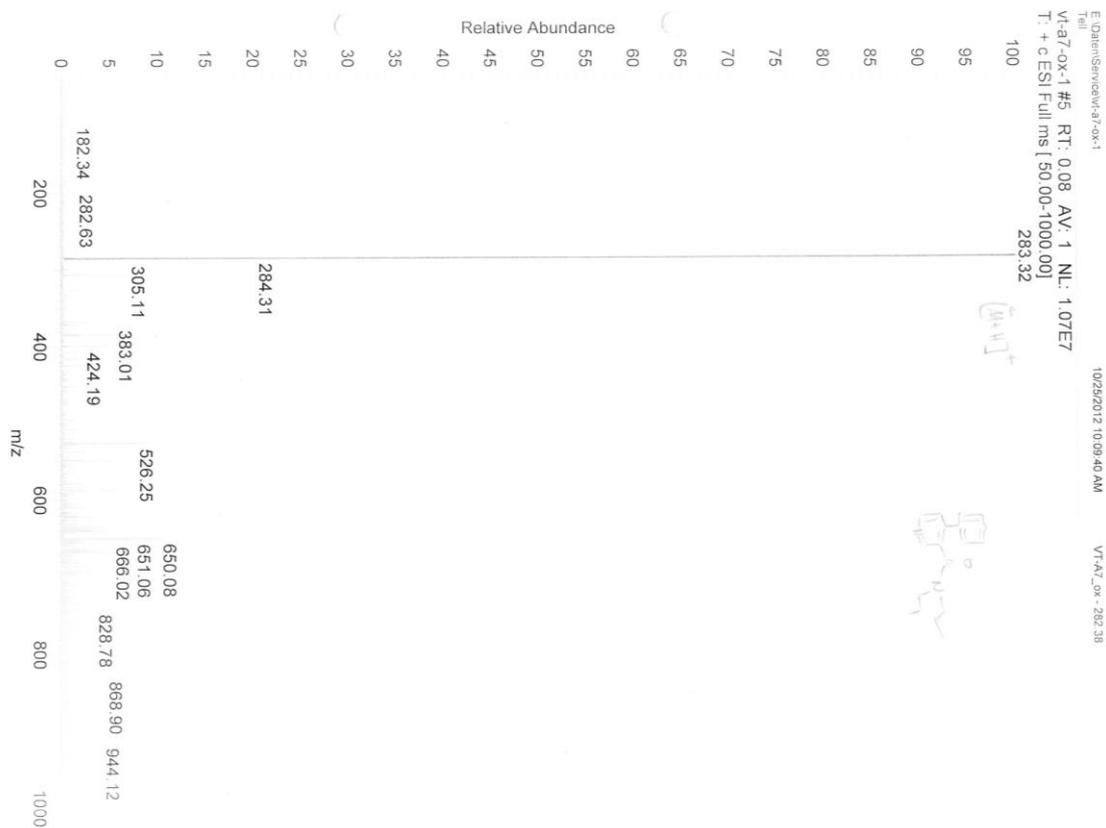
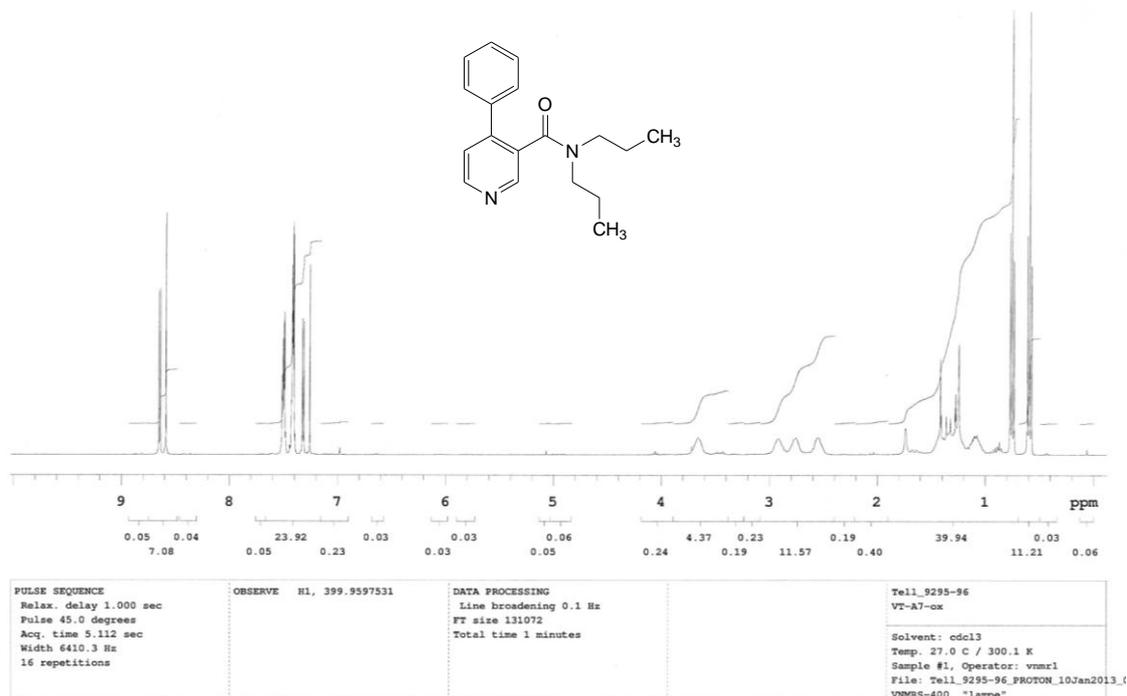
11/27/12 04:05:07

VT12 - 497.66



Ethyl-4-phenylnicotinat (72)



4-Phenyl-*N,N*-dipropylnicotinamid (77)

Liste der Veröffentlichungen

Publikationen

Tell, V., Hilgeroth, A.

Alzheimer-Demenz: Neue Arzneistoffe, neue Hoffnung?

Pharmazeutische Zeitung, 2011, 44, 14 - 20

Tell, V., Holzer, M., Herrmann, L., Mahmoud, K.A., 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, 6914 – 6918

Tell, V., Mahmoud, K.A., Wichapong, K., Schächtele, C., Totzke, F., Sippl, W., Hilgeroth, A.

Novel aspects in structure-activity relationships of profiled 1-aza-9-oxafluorenes as inhibitors of Alzheimer`s disease-relevant kinases cdk1, cdk5 and gsk3 β

Med. Chem. Commun., 2012, 3, 1413 – 1418

Tell, V., Hilgeroth, A.

Recent developments of protein kinase inhibitors as potential AD therapeutics

Front. Cell. Neurosci., 2013, 7, Artikel 189, 1 – 8

Hilgeroth, A., Tell, V., Kramer, S., Totzke, F., Schächtele, C.

Approaches to a Multitargeting Drug Development: First Profiled 3-Ethoxycarbonyl-1-aza-9-oxafluorenes Representing a Perspective Compound Class Targeting Alzheimer Disease Relevant Kinases CDK1, CDK5 and GSK-3 β

Med. Chem., 2014, 10, 90 – 97

Poster

Tell, V., Borski, E., Bauer, P., Voigt, B., Erlenkamp, G., Sippl, W., Herrmann, L., Holzer, M., Schächtele, C., Totzke, F., Hilgeroth, A.

Discovery of 6-Hydroxy-1-aza-9-oxafluorenes as Lead Structures for the Development of Novel Alzheimer Therapeutics

10th International Conference on Alzheimer`s & Parkinson`s Diseases: AD/PD 2011

09.03. – 13.03.2011, Barcelona, Spain

Tell, V., Holzer, M., Herrmann, L., Voigt, B., Wichapong, K., Sippl, W., Schächtele, C., Totzke, F., Hilgeroth, A.

Discovery of Highly Active Inhibitors of Tau Protein Hyperphosphorylating Protein Kinases as Innovative Alzheimer Disease Relevant Targets

12th International Stockholm/Springfield Symposium on Advances in Alzheimer Therapy

09.05. – 12.05.2012, Stockholm, Sweden

Tell, V., Mahmoud, K.A., Hilbrich, I., Wichapong, K., Holzer M., Hempel, C., Schächtele, C., Totzke, F., Sippl, W., Hilgeroth, A.

Novel Inhibitors of Alzheimer Disease (AD) Relevant Kinases: Structure-Activity Relationships and First In Vitro Activity Data

11th International Conference on Alzheimer`s & Parkinson`s Diseases: AD/PD 2013

06.03. – 10.03.2013, Florence, Italy

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Prof. Dr. Andreas Hilgeroth, für die Überlassung der interessanten und vielseitigen Aufgabenstellung verbunden mit der Möglichkeit der Anfertigung dieser Dissertationsschrift. Seine hervorragende Betreuung, insbesondere der ständigen Unterstützung bei inhaltlichen und praktischen Fragestellungen sowie den wertvollen Anregungen und Hinweisen im theoretischen Vorgehen und synthetischen Arbeiten, trugen maßgeblich zum Gelingen der Arbeit bei.

Herrn Dr. F. Totzke und Herrn Dr. C. Schächtele von der ProQinase GmbH danke ich für die Durchführung des Proteinkinase-Assays.

Für die Anfertigung der Massenspektren danke ich Frau M. Woigk und Frau E. Leißring, Frau H. Rudolf für die Aufnahme der IR-Spektren und Frau B. Brandt sowie Frau M. Mannd für die Durchführung der Elementaranalysen. Herrn Dr. D. Ströhl und Mitarbeitern danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren.

Herrn Prof. Dr. W. Sippl und Herrn Dr. K. Wichapong danke ich für die Durchführung der Dockinguntersuchungen.

Der gesamten Arbeitsgruppe *Wirkstoffentwicklung- und analytik* danke ich für das mehr als angenehme Arbeitsklima, die hervorragende Zusammenarbeit und die vielen Gespräche über wissenschaftliche und weniger wissenschaftliche Themen. Besonderer Dank gebührt an dieser Stelle Herrn Dr. K. A. Mahmoud und Frau Apothekerin S. Kramer für synthetische Unterstützung sowie Herrn Apotheker T. Wersig und Herrn Apotheker T. Fischer für die Nachsynthese zahlreicher Verbindungen. Herrn Apotheker C. Hempel danke ich für seine ständige Bereitschaft, mein erster Ansprechpartner in organisatorischen Belangen zu sein.

Außerdem danke ich allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Pharmazie, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Uneingeschränkter Dank gilt meiner Familie, die mich zu jeder Zeit geduldig bei meinem Vorhaben unterstützte und mir durch ermutigenden Zuspruch aus „Motivationstälern“ heraus half.

Den größten Dank möchte ich jedoch meiner Frau Marika aussprechen, die mich während der gesamten Entstehungsphase dieser Arbeit unendlich unterstützte und mich durch die Hochs und Tiefs begleitete, sowie meinem Sohn Oliver, für die Überlassung einer Vielzahl an ruhigen, erholsamen Nächten.

Eigenständigkeitserklärung

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.

Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet. Die daraus wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche gekennzeichnet. Die Dissertation wurde ausschließlich der 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.

Halle (Saale), März 2016

Volkmar Tell

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Volkmar Tell
Anschrift: Charlottenstraße 3
06108 Halle (Saale)
Geburtsdatum, -ort: 06.03.1985 in Bernburg (Saale)
Familienstand: verheiratet, 1 Sohn

Schulbildung

1991 – 1994 Grundschule „Adolf Diesterweg“ in Bernburg (Saale)
1994 – 2004 Gymnasium „Carolinum“ in Bernburg (Saale)
07/2004 Abitur

Studium

2005 – 2009 Studium der Pharmazie an der Martin-Luther-Universität (MLU)
Halle-Wittenberg in Halle (Saale)
09/2007 Abschluss des 1. Abschnitts der Pharmazeutischen Prüfung
09/2009 Abschluss des 2. Abschnitts der Pharmazeutischen Prüfung
11/2009 – 04/2010 Erste Hälfte des Prakt. Jahres, Institut für Pharmazie der MLU,
AG „Wirkstoffentwicklung und –analytik“ (Prof. Dr. A. Hilgeroth)
05/2010 – 10/2010 Zweite Hälfte des Prakt. Jahres, Rote Apotheke in Bernburg (Saale)
11/2010 Abschluss des 3. Abschnitts der Pharmazeutischen Prüfung,
Erteilung der Approbation als Apotheker

Berufstätigkeit

12/2010 – 03/2011 Wissenschaftliche Hilfskraft, Institut für Pharmazie der MLU,
AG „Wirkstoffentwicklung und –analytik“ (Prof. Dr. A. Hilgeroth)
04/2011 – 03/2013 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazie
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle (Saale),
AG „Wirkstoffentwicklung und –analytik“ (Prof. Dr. A. Hilgeroth),
Praktischer Teil der Dissertation (DFG-Projekt HI-687/8-1)
seit 04/2013 Apotheker in der Salza-Apotheke in Salzmünde

Wehr-/Zivildienst

2004 – 2005 Zivildienst im „Rückenwind e.V.“ in Bernburg (Saale)