

# **Entwicklung und biologische Evaluation neuartiger Proteinkinaseinhibitoren als Wirkstoffkandidaten gegen resistente Tumoren**

**Dissertation**

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

Der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I  
– Biowissenschaften –

der Martin-Luther-Universität  
Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Herrn Cornelius Hempel  
geb. am 27. September 1988 in Zittau

Gutachter:

1. Prof. Dr. Andreas Hilgeroth
2. PD Dr. Matthias Schmidt
3. Prof. Dr. Christoph Ritter

verteidigt am 15. Juni 2017



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>IV</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>VII</b>
<b>I Theoretischer Teil</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>2</b>
1.1 Die Krebserkrankung . . . . .	2
1.1.1 Epidemiologie . . . . .	2
1.1.2 Symptome . . . . .	2
1.1.3 Ursachen . . . . .	3
1.1.4 Diagnose . . . . .	4
1.2 Therapie . . . . .	5
1.2.1 Konventionelle Chemotherapie . . . . .	5
1.2.2 Moderne gezielte Krebstherapie . . . . .	7
1.3 Rezeptor-Tyrosinkinase . . . . .	12
1.3.1 Der EGF-Rezeptor . . . . .	13
1.3.2 Der IGF-1-Rezeptor . . . . .	14
1.3.3 Der Bindungsmodus des ATP . . . . .	14
1.4 Ausgewählte Resistenzmechanismen . . . . .	18
1.4.1 Heterodimerisierung . . . . .	18
1.4.2 Rezeptorcrosstalk . . . . .	19
1.5 Stand der Forschung . . . . .	20
1.5.1 Monoklonale Antikörper . . . . .	20
1.5.2 Small Molecules . . . . .	21
1.6 Vorgegangene Arbeiten . . . . .	24
<b>2 Zielstellung</b>	<b>26</b>

<b>3</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>28</b>
3.1	Synthesen . . . . .	28
3.1.1	Synthese von 6-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen . . . . .	28
3.1.2	Synthese von 6-substituierten $\alpha$ -Carbolinen . . . . .	46
3.1.3	Synthese von 2-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen . . . . .	61
3.1.4	Synthese von 2-substituierten $\alpha$ -Carbolinen . . . . .	67
3.1.5	Weitere Synthesen . . . . .	70
3.2	<i>In vitro</i> Testung am Targetprotein . . . . .	78
3.2.1	Erster Entwicklungszyklus: 1-Aza-9-oxafluorene . . . . .	78
3.2.2	Zweiter Entwicklungszyklus: $\alpha$ -Carboline . . . . .	81
3.3	Molekulares Docking . . . . .	85
3.3.1	Problemstellung und Substanzauswahl . . . . .	85
3.3.2	Allgemeine Ergebnisse . . . . .	85
3.3.3	Ergebnisse des Dockings am EGF-Rezeptor . . . . .	87
3.3.4	Ergebnisse des Dockings an IGF-1-Rezeptor . . . . .	90
3.4	<i>In vitro</i> Testung am Zellmodell . . . . .	92
3.4.1	Problemstellung und Substanzauswahl . . . . .	92
3.4.2	Ergebnisse . . . . .	94
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>97</b>
4.1	Zusammenfassung . . . . .	97
4.2	Ausblick . . . . .	99
<b>II</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>101</b>
<b>5</b>	<b>Allgemeine Methoden</b>	<b>102</b>
5.1	Methoden der Synthese . . . . .	102
5.2	Methoden der Analytik . . . . .	104
5.3	Methoden der Computerchemie . . . . .	106
5.4	Methoden der Charakterisierung am Targetprotein . . . . .	108
5.5	Methoden der Charakterisierung am Zellmodell . . . . .	112
<b>6</b>	<b>Synthesen</b>	<b>114</b>
6.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften . . . . .	114
6.2	Darstellung der 6-substituierten 1-Aza-9-oxafluorene . . . . .	117
6.2.1	Synthese des 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörpers . . . . .	117
6.2.2	Synthese der 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	122
6.2.3	Synthese der 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	135
6.3	Darstellung der 6-substituierten $\alpha$ -Carboline . . . . .	148
6.3.1	Synthese des $\alpha$ -Carbolin-Grundkörpers . . . . .	148

6.3.2	Synthese der 6-Nitro- $\alpha$ -carboline . . . . .	153
6.3.3	Synthese der 6-Amino- $\alpha$ -carboline . . . . .	158
6.3.4	Synthese der 6-Brom- $\alpha$ -carboline . . . . .	162
6.3.5	Synthese der 6-Cyano- $\alpha$ -carboline . . . . .	175
6.3.6	Synthese der 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline . . . . .	182
6.4	Darstellung von 2-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen . . . . .	184
6.4.1	Synthese der 2-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	184
6.4.2	Synthese der 2-Chlor-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	189
6.4.3	Transformation der 2-Chlorfunktion zum primären Amin . . . . .	192
6.5	Darstellung von 2-substituierten $\alpha$ -Carbolinen . . . . .	194
6.5.1	Synthese des 2,4-Dichlor- $\alpha$ -carbolins . . . . .	194
6.5.2	Synthese des 6-Brom-2,4-dichlor- $\alpha$ -carbolins . . . . .	196
6.6	Darstellung von Benzylaminen als 4-Substituenten . . . . .	197
6.6.1	Synthese von 3-Brombenzylamin . . . . .	197
6.6.2	Synthese von 4-Brombenzylamin . . . . .	199
6.7	Darstellung von substituierten Benzothiamiden . . . . .	201
6.7.1	Synthese der Benzothiamide . . . . .	201
6.8	Darstellung von mehrfach halogeniertem $\alpha$ -Carbolin . . . . .	204
6.8.1	Synthese von 3,6-Dibrom-4-chlor- $\alpha$ -carbolin . . . . .	204
6.9	Weitere Variation an der 6-Position des $\alpha$ -Carbolins . . . . .	205
6.9.1	Synthese von 6-Tetrazo- $\alpha$ -carbolin . . . . .	205
<b>7</b>	<b><i>In vitro</i> Testung am Targetprotein</b>	<b>206</b>
7.1	Charakterisierung der 1-Aza-9-oxafluorene . . . . .	206
7.2	Charakterisierung der $\alpha$ -Carboline . . . . .	207
<b>8</b>	<b><i>In vitro</i> Testung am Zellmodell</b>	<b>208</b>
8.1	Ergebnisse von <b>9c</b> . . . . .	208
8.2	Ergebnisse von <b>9g</b> . . . . .	209
8.3	Ergebnisse von <b>19c</b> . . . . .	210
8.4	Ergebnisse von <b>23a</b> . . . . .	211
8.5	Ergebnisse von <b>23c</b> . . . . .	212
8.6	Ergebnisse von <b>23d</b> . . . . .	213
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>XI</b>
	<b>Angaben zu Person und Bildungsgang</b>	<b>XIX</b>
	<b>Publikationsliste</b>	<b>XX</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>XXI</b>

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Tumorlokalisationen von Krebsneuerkrankungen . . . . .	3
1.2	EGFR-Inhibitoren der ersten und zweiten Generation . . . . .	11
1.3	Bindungsmodus von ATP an EGFR . . . . .	15
1.4	Bindungsmodus von AMP-PNP an EGFR . . . . .	16
1.5	Rezeptorcrosstalk zwischen EGFR und IGF-1R . . . . .	19
1.6	EGFR-Inhibitoren der dritten Generation und IGF-1R-Inhibitoren . . . . .	23
1.7	6-Brom-4-benzylamino- $\alpha$ -carbolin. . . . .	25
1.8	Bindungsmodus des $\alpha$ -Carbolins . . . . .	25
3.1	Reaktionsschema 6-Nitro-1-aza-9-oxafluoren . . . . .	29
3.2	Reaktion zum 4-Benzylamino-6-nitro-1-aza-9-oxafluoren . . . . .	30
3.3	Reduktion zu 6-Amino-1-aza-9-oxafluorenderivaten . . . . .	30
3.4	Synthese von Nitrobenzylamin subst. 6-Amino-1-aza-9-oxafluoren . . . . .	31
3.5	$^1\text{HNMR}$ -Spektren von 4- und 2-Chlor-1-aza-9-oxafluoren . . . . .	36
3.6	Reaktionsmechanismus der 4-Chlorierung . . . . .	37
3.7	Reaktion von 4-Chlor-1-aza-9-oxafluoren mit 4-Nitrobenzylamin . . . . .	40
3.8	Syntheschema 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	43
3.9	Abspaltung des Benzylamins im Sauern . . . . .	44
3.10	Reaktionsschema 4-Chlor- $\alpha$ -carbolin . . . . .	47
3.11	Syntheschema der 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline . . . . .	48
3.12	Syntheschema der 6-Brom-, 6-Cyano- und 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline . . . . .	48
3.13	$^1\text{HNMR}$ -Spektren von 4- und 2-Chlor- $\alpha$ -carbolen . . . . .	52
3.14	$^1\text{HNMR}$ -Spektrum von 6-Brom-4-chlor- $\alpha$ -carbolin . . . . .	57
3.15	Reaktionsschema 2-substituierter 1-Aza-9-oxafluorene . . . . .	62
3.16	Substitution einer Chlorfunktion zum primären Amin . . . . .	62
3.17	Hydroxylierung der 3-Position . . . . .	64
3.18	Reaktionsschema 2-substituiertes $\alpha$ -Carbolin . . . . .	67
3.19	Ladungsverteilung in 1-Aza-9-oxafluorenen und $\alpha$ -Carbolen . . . . .	68
3.20	$^1\text{HNMR}$ -Spektrum von Mono- und Dichlor- $\alpha$ -carbolin . . . . .	70
3.21	Reaktion zum 6,8-Dibrom- $\alpha$ -carbolin . . . . .	73
3.22	$^1\text{HNMR}$ -Spektrum von Mono- und Dibrom- $\alpha$ -carbolin . . . . .	74
3.23	$^1\text{HNMR}$ -Spektrum von Dibrom- $\alpha$ -carbolin . . . . .	76
3.24	SAR am 1-Aza-9-oxafluoren . . . . .	80

3.25 SAR am $\alpha$ -Carbolin . . . . .	84
3.26 Strukturformeln relevanter Biomoleküle . . . . .	87
3.27 6-Amino-1-aza-9-oxafluoren an EGFR . . . . .	88
3.28 6-Amino- $\alpha$ -carbolin an EGFR . . . . .	88
3.29 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene an EGFR . . . . .	89
3.30 Ladungsschwerpunkte in der Bindungstasche von EGFR . . . . .	89
3.31 6-Amino-1-aza-9-oxafluoren an IGF-1R . . . . .	90
3.32 6-Nitro- $\alpha$ -carbolin an IGF-1R . . . . .	91
3.33 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene an IGF-1R . . . . .	91
4.1 Strukturformeln der aktivsten Substanzen . . . . .	99
5.1 Gefitinib und Pyrimidin 8 . . . . .	107
5.2 Pipettierschema Assay-Plate . . . . .	109

# Tabellenverzeichnis

1.1	Substanzgruppen von Zytostatika . . . . .	6
1.2	Therapeutisch genutzte monoklonale Antikörper . . . . .	8
1.3	Therapeutisch genutzte Small Molecules . . . . .	9
3.1	Geplante 6-Nitro- und 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	31
3.2	Synthetisierte 6-Nitro- und 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene . . . . .	45
3.3	Geplante 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline . . . . .	49
3.4	Geplante 6-Brom-, 6-Cyano- und 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline . . . . .	49
3.5	Synthetisierte 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline . . . . .	55
3.6	Synthetisierte 6-Brom-, 6-Cyano- und 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline . . . . .	60
3.7	Substitutionsschema der Brombenzylamine . . . . .	71
3.8	Substitutionsschema der Benzothiamide . . . . .	72
3.9	Ergebnisse des ersten Entwicklungszyklus . . . . .	78
3.10	Ergebnisse des zweiten Entwicklungszyklus . . . . .	81
3.11	3D-Modelle der beim Docking untersuchten Verbindungen . . . . .	86
3.12	Für die Zelltestung ausgewählte Verbindungen . . . . .	93
3.13	Ergebnisse der Testung am Zellmodell . . . . .	95
5.1	Verwendete Waagen . . . . .	102
7.1	Versuchsparameter des ersten Entwicklungszyklus . . . . .	206
7.2	Messwerte des ersten Entwicklungszyklus . . . . .	206
7.3	Versuchsparameter des zweiten Entwicklungszyklus . . . . .	207
7.4	Messwerte des zweiten Entwicklungszyklus . . . . .	207



# Abkürzungsverzeichnis

AAV	allgemeine Arbeitsvorschrift
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
ADCC	antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität
aliph.	aliphatisch
alt.	alternativ
AMP-PNP	Adenylyl-imidodiphosphat
APT	<i>attached proton test</i>
AR	Amphiregulin
arom.	aromatisch
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	abgeschwächte Totalreflexion
AUC	<i>area under the curve</i>
BCA	Bicinchoninsäure
BMG	Bundesministerium für Gesundheit
BTC	Betazellulin
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CML	chronisch myeloische Leukämie
CLL	chronisch lymphatische Leukämie
COSY	<i>correlation spectroscopy</i>
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
CT	Computertomographie
DC	Dünnschichtchromatographie
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTGS	deutrieretes Triglycinsulfat
DTP	<i>Developmental Therapeutics Program</i>
DTT	Dithiothreitol
EA	Elementaranalyse
EGF	<i>epidermal growth factor</i>
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
EGFR wt	<i>epidermal growth factor receptor wild type</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
engl.	englisch
EPR	Epiregulin

## Abkürzungsverzeichnis

---

ERK	<i>extracellular-signal regulated kinase</i>
ESI	Elektrosprayionisation
eq.	<i>equivalent</i>
exp.	exponiert
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FT	FOURIER-Transformation
GIST	gastrointestinaler Stromatumor
GSH	Glutathion
GST	Glutathion-S-Transferase
GTP	Guanosintriphosphat
HEPES	Hydroxyethylpiperazinylethansulfonsäure
HER	humaner epidermaler Wachstumsfaktorrezeptor
IC	<i>inhibition concentration</i>
IGF	<i>insulin-like growth factor</i>
IGF-1R	<i>insulin-like growth factor receptor</i>
IR	Infrarot
konz.	konzentriert
KPG	kerngezogenes Präzisionsglasgerät
MAP	<i>mitogen activated protein</i>
MEK	MAPK/ERK aktivierende Kinase
MLU	Martin-Luther-Universität
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrometrie
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
n. a.	nicht aktiv
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NMP	N-Methyl-2-pyrrolidon
NMR	Kernspinresonanz
NSCLC	<i>non-small-cell lung carcinoma</i>
P-Loop	<i>phosphate-binding loop</i>
PAGE	Polyacrylamidgelelektrophorese
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PDGFR	<i>platelet-derived growth factor receptor</i>
PEG	Polyethylenglycol
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PPA	Polyphosphorsäure
prim.	primär
RFNA	rote rauchende Salpetersäure
RKI	ROBERT KOCH-Institut
Rkt.	Reaktion

---

RMSD	<i>root-mean-square deviation</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
RPPA	<i>reverse phase protein array</i>
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinase
S.	Seite
SAR	Struktur-Wirkungs-Beziehungen
SDS	Natriumdodecylsulfat
sek.	sekundär
syn.	synonym
TCA	Trichloressigsäure
tert.	tertiär
TGF	<i>transforming growth factor</i>
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VEGFR	<i>vascular endothelial growth factor receptor</i>
Ver.	Verbindung
verd.	verdünnt
verw.	verwendet
ZNS	Zentralnervensystem



## **Teil I**

# **Theoretischer Teil**

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Krebserkrankung

### 1.1.1 Epidemiologie

Krebs ist ein Sammelbegriff für eine Reihe ähnlicher Erkrankungen und bezeichnet im allgemeinen Sprachgebrauch unkontrolliert wachsende Zellen, die Gewebeschädigungen bis zum Tod herbeiführen. Laut ROBERT KOCH-Institut (RKI) erkranken in Deutschland jährlich 480 000 Menschen an Krebs, knapp 221 000 sterben daran. Damit ist Krebs die zweithäufigste Todesursache nach kardiovaskulären Erkrankungen. Aufgrund der fortschreitenden Alterung der Bevölkerung steigt die Inzidenz der Erkrankung weiter an. Zwischen 2010 und 2030 ist mit einem Anstieg der Krebsneuerkrankungen um mindestens 20 % zu rechnen [1]. Da inzwischen hochmoderne Therapieoptionen zur Verfügung stehen, die noch weiter entwickelt werden, steigen auch die Behandlungskosten enorm an.

In den letzten 20 Jahren, wurden erheblich Fortschritte in der Diagnose und Therapie von Krebserkrankungen gemacht. Dennoch ist die Aussicht auf Heilung bei den meisten Arten der Krankheit weiterhin mehr als unbefriedigend.

Wie häufig die unterschiedlichen Krebsarten auftreten unterscheidet sich, anatomisch bedingt, zwischen den Geschlechtern. Einen Überblick liefert Abbildung 1.1.

### 1.1.2 Symptome

Krebs kann beinahe überall im menschlichen Körper auftreten. Das pathologische Erscheinungsbild ist meist ein solider Tumor, jedoch zählen auch die verschiedenen Arten von Leukämie, bei denen das Wachstum zellulärer Blutbestandteile dereguliert ist, zu den Krebserkrankungen.

Bösartige Tumoren unterscheiden sich von gutartigen davon, dass sie infiltrierend, destruierend und metastasierend wachsen. Das bedeutet, dass sie Gewebegrenzen überschreiten, bestehendes Gewebe zerstören und einzelne Krebszellen nach Transport durch die Blutbahn oder Lymphe an anderen Stellen im Körper sekundäre Tumoren bilden.

Die Symptome sind sehr unterschiedlich, teilweise unspezifisch und stark von der Art des Tumors, seiner Lokalisation und dem Stadium der Erkrankung abhängig. Anzeichen für eine Krebserkrankung sind im Folgenden aufgeführt. Diese Symptome

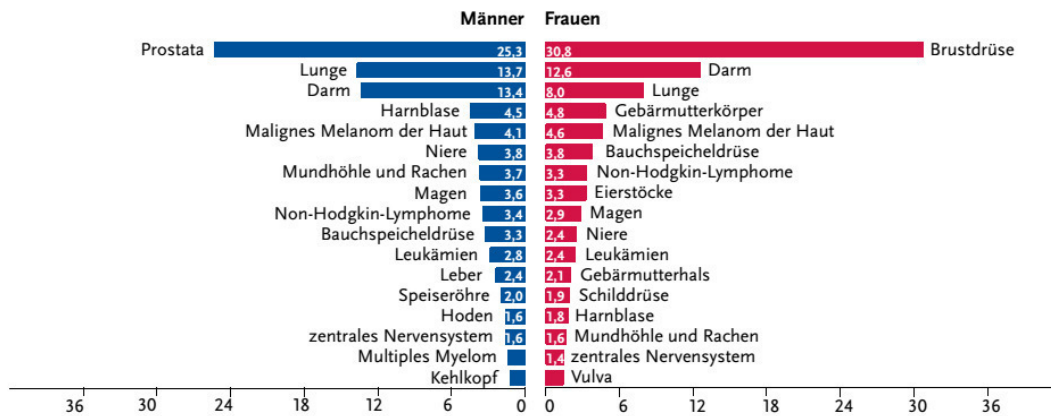


Abbildung 1.1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2012 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) [1]

sind nicht eindeutig und können immer auch von anderen Krankheiten verursacht werden:

- sich verändernde Leberflecke
- Verdickungen (Knötchen) unter der Haut, v. a. an der weiblichen Brust
- schmerzhafte Schluckbeschwerden und Appetitlosigkeit
- plötzlicher und grundloser Gewichtsverlust oder Gewichtszunahme
- starkes nächtliches Schwitzen
- Blut in Exkrementen
- starke Schwäche, Abgeschlagenheit, Müdigkeit und Fieber
- starke Schmerzen

### 1.1.3 Ursachen

Lange ging man davon aus, dass Krebs immer mit einer erhöhten Teilungsrate von Zellen einhergeht. Tatsächlich ist dies nur ein möglicher Grund für das übermäßige Wachstum einer Zellpopulation. Außerdem können auch Zellen mit gestörter Apoptosefunktion bei normaler Proliferationsrate zu Hyperplasien führen [2]. Anders

ausgedrückt bedeutet dies, dass sich jede Störung des empfindlichen Gleichgewichts zwischen Zellneubildung und Zelltod klinisch als Krebs manifestieren kann.

Auf molekularbiologischer Ebene entsteht Krebs aus Protoonkogenen. Diese Gene codieren für Proteine, welche eine Rolle in der Gewebshomöostase spielen. Das können z. B. Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren, G-Proteine, Proteinkinasen und Transkriptionsfaktoren sein. Durch externe Noxen – z. B. Strahlung, bestimmte Chemikalien oder auch Viren – mutieren diese Protoonkogene zu Onkogenen. Diese werden nach Transkription und Translation zu den entsprechenden Onkoproteinen, welche nicht in der Lage sind, ein normales Zellwachstum aufrechtzuerhalten.

Auf zellulärer Ebene gibt es Kontrollmechanismen: Tumorsuppressorgene und Apoptosegene. DNA-Fehler werden durch sie korrigiert bzw. betroffene Zellen vernichtet. Wirklich maligne Neoplasien können erst entstehen, wenn diese Kontrollmechanismen nicht mehr funktionieren. Damit es tatsächlich zur Ausprägung von soliden Tumoren kommt, ist mehr als nur eine Veränderung am Erbgut notwendig.

Krebserkrankungen werden nicht grundsätzlich vererbt, jedoch sind auch vererbare Onkogene bekannt. Eine Reihe dieser Veranlagungen kann zusammen mit anderen Faktoren eine Rolle bei der Entstehung der Krankheit spielen, andere bedeuten aus sich heraus ein erhöhtes Risiko.

### 1.1.4 Diagnose

Die Prognose ist umso besser, je früher die Krankheit erkannt und behandelt wird. Um die Chance auf Heilung zu erhöhen wurden zahlreiche Früherkennungstests entwickelt. Entsprechende Untersuchungen in regelmäßigen Abständen, zur Erkennung von Brust- und Gebärmutterhalskrebs, empfiehlt das Bundesministerium für Gesundheit (BMG) bereits für junge Frauen. Männer im mittleren Alter sollten eine Prostatakrebsfrüherkennung durchführen lassen. Außerdem gibt es ein Hautkrebscreening und Tests zur frühen Erkennung von Darmkrebs für die Vertreter beider Geschlechter [3].

Liegt der Verdacht auf eine Krebserkrankung vor, muss dieser durch eine eindeutige ärztliche Diagnose bestätigt oder verworfen werden. Nötig sind meist Kombinationen aus der Bestimmung von Tumormarkern, bildgebenden Verfahren sowie histologischer Untersuchung nach Biopsie.

Inzwischen sind einige Tumormarker bekannt. Es handelt sich dabei meist um Proteine oder Peptide die im Tumorgewebe, Blutproben oder anderen Körperflüssigkeiten bestimmt werden. In letzter Zeit wird vermehrt auch die veränderte DNA spezieller Genabschnitte verwendet. Tumormarker sind für einzelne oder eine begrenzte Anzahl von Krebsarten spezifisch. Es gibt keinen universellen Marker, der für jeden Krebs verwendbar wäre.

Bildgebende Verfahren sind nützliche Werkzeuge zur Identifizierung von Tumoren. Gebräuchlich sind Röntgenverfahren und Computertomographie (CT) mitunter



nach Verabreichen eines Kontrastmittels, Magnetresonanztomographie (MRT) und Ultraschall. Gerade im frühen Stadium der Erkrankung helfen sie beim Aufspüren von Neoplasien. Eine Aussage darüber, ob es sich um maligne Formen handelt ist mit diesen Verfahren erst möglich, wenn manifeste Metastasen auftreten. Die Prognose ist in diesem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung ist bereits sehr schlecht, darum sollten schon früh auch andere Diagnosemethoden in Kombination eingesetzt werden.

Für die eindeutige Diagnose ist oft eine Biopsie nötig. Moderne Methoden erreichen die meisten Gewebe minimal-invasiv mithilfe von Nadeln oder Endoskopen. Die gewonnenen Gewebeproben können histologisch untersucht und die Aggressivität ihres Wachstums festgestellt werden. Auch und v. a. in der modernen Krebsdiagnostik bewahrt sich die Biopsie ihre Stellung, da aus Gewebeproben nach *polymerase chain reaction* (PCR) die Bestimmung des Krebsgenoms möglich ist. Damit können die deregulierten Wachstumsprozesse genau identifiziert werden. Eine moderne gezielte Chemotherapie wird erst dadurch möglich.

## 1.2 Therapie

Die heutigen Behandlungsmöglichkeiten von Krebserkrankungen umfassen die operative Entfernung, Bestrahlung und Chemotherapie. Häufig finden Kombinationen Anwendung. Obwohl in den letzten 20 Jahren erhebliche Fortschritte gemacht wurden, sind nur wenige Krebsformen heilbar. Von daher werden bei der Tumorthherapie zwei grundlegende Arten unterschieden: Bei der kurativen Therapie ist das Ziel der dauerhafte und vollständige Rückgang der erkrankten Zellen. Die palliative Therapie ermöglicht lediglich eine gewisse Lebensverlängerung bzw. Linderung der Begleitsymptome. Die Rückbildung einer entarteten Zelle in eine normale Gewebezelle ist bisher unmöglich. Operationen und Strahlentherapie bergen erhebliche Risiken, eine Chemotherapie hat starke Nebenwirkungen. Nach erfolgter Diagnose müssen sorgfältige Nutzen-Risiko-Abwägungen bezüglich der zu wählenden Behandlungsmöglichkeiten gemacht werden. Entscheidend zu bedenken sind: die Lebenserwartung des Patienten, Art und Stadium des Tumors sowie die Wirksamkeit und Verträglichkeit der Therapie. Da gerade moderne Methoden sehr kostenintensiv sind, werden inzwischen auch gesundheitsökonomische Aspekte entscheidend. [2, 4, 5]

Aus pharmazeutischer Sicht ist v. a. die Chemotherapie von Interesse und die folgenden Betrachtungen sind deshalb auf sie beschränkt. Zu umfangreichen klinischen Informationen sei auf die Lehrbücher verwiesen [6, 7].

### 1.2.1 Konventionelle Chemotherapie

Obwohl nur bei wenigen Formen der Krebserkrankung gegeben, muss anerkannt werden, dass eine Heilung allein durch Zytostatikatherapie möglich ist. Dazu gehört

Substanzgruppe	Wirkmechanismus	Beispiel
Antimetabolite	Hemmung der Purinbiosynthese	6-Mercaptopurin
Alkylantien	DNA-Schädigung	Cisplatin
Topoisomerasehemmer	Hemmung der DNA-Replikation	Etoposid
Mitosehemmstoffe	Hemmung der Mikrotubuli-Funktion	Vinca-Alkaloide

Tabelle 1.1: Angriffspunkte und Wirkmechanismen von Zytostatika (Auswahl) [4]

z. B. die akute lymphatische Leukämie besonders im Kindesalter. Viele Tumoren sind jedoch nur einer palliativen Chemotherapie zugänglich. Wenn nur ein Teil der entarteten Zellen durch die Therapie erfasst wird, kommt es früher oder später zu einem erneuten Ausbrechen der Krankheit. Während der vorübergehenden Remission nehmen jedoch die Lebensqualität und Lebensdauer des Patienten zu. Dem stehen zum Teil schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen gegenüber. Nicht selten kommt es während der Therapie zur Resistenzentwicklung in den Tumorzellen.

Tabelle 1.1 gibt eine Übersicht über eine Auswahl etablierter Substanzgruppen zur Therapie von Krebserkrankungen.

Bis auf wenige Ausnahmen werden etablierte Chemotherapeutika intravenös, mehrmals über einen begrenzten Zeitraum verabreicht. Es sind hohe Dosen in schneller Abfolge nötig. Ebenso wichtig wie die richtige Wahl des Wirkstoffes ist die Einhaltung der Dosis und der Verabreichungsintervalle. Viele Fortschritte in der heutigen Krebstherapie haben ihren Ursprung in der Entwicklung komplexer Therapieschemata. Kombinationen von Wirkstoffen mit unterschiedlichen Angriffspunkten sind üblich, Resistenzen lassen sich dadurch verzögern und es kommt zu einer Steigerung der Wirksamkeit ohne eine Dosiserhöhung, was letztendlich toxische Nebenwirkungen verringert. Die Verabreichung kann zu einem Zeitpunkt oder auch nacheinander erfolgen. Eine weitere vielversprechende Methode ist die intermittierende Verabreichung, da sich von Nebenwirkungen betroffenes normales Gewebe schneller regeneriert als Tumorgewebe. In vielen Fällen ist Begleitmedikation gegen unerwünschte Wirkungen der Chemotherapie nötig.

### **Unerwünschte Arzneimittelwirkungen**

Die Nebenwirkungen von den bisher beschriebenen Verbindungen sind prinzipiell ähnlich. Die Substanzen führen zum Untergang von menschlichen Zellen in bestimmten Phasen der Proliferation. Da sich Tumorzellen besonders schnell teilen, besteht ein gewisse Selektivität. Es sind jedoch auch immer physiologische Areale mit hoher Teilungsrate betroffen. Im Blut kommt es zu Leuko- und Thrombozytopenien sowie zu einem Abfall der Erythrozytenzahl. Daraus resultieren Anämien, Störungen bei der Blutgerinnung und eine Schwächung der Immunabwehr. Diese wiederum bewirkt

eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionen. Im Gastrointestinaltrakt kommt es nach Schleimhautschädigungen zu Resorptionsstörungen mit Übelkeit, Erbrechen und Diarrhö. Der häufig beobachtete Haarausfall rührt daher, dass auch die Entstehung der Haarfollikel durch Zytostatika angegriffen wird.

Ferner kann es zu Schäden an den Eliminationsorganen kommen: Die Leber steht durch die großen zugefügten Mengen körperfremder Substanzen unter erheblicher Belastung. Die Entstehung von Fibrosen bis hin zur Leberzirrhose ist möglich. Durch die Zytolyse anfallende Purinkörper wiederum führen zu Hyperurikämie, was Nierenerkrankungen wie Nephrolithen verursachen kann. [4]

### Resistenzen

Auch bei Krebserkrankungen wird das plötzliche Versagen einer anfänglich erfolgreichen Pharmakotherapie beobachtet. Hauptgründe für die Entstehung von Resistenzen sind nach der allgemeinen Vorstellung: die Selektion von primär resistenten Zellen durch die Therapie, Punktmutationen am Target während der Therapie und die Expression von membranständigen Transportproteinen, die Fremdstoffe aktiv aus der Zelle schleusen. [8]

Das Konzept der Tumorstammzellen erklärt die Resistenzentwicklung auf eine alternative Weise: Man geht davon aus, dass auch ein Tumor analog den physiologischen Geweben aus einer kleinen Population an Stammzellen hervorgeht. Diese – bei Krebs entarteten – Zellen bilden wie ihre „gesunden“ Verwandten einen Pool an *transit-amplifying*-Zellen, aus welchem sich schließlich die Masse an Tumorzellgewebe aufbaut. Die Tumorstammzellen selbst teilen sich nur sehr langsam und können über mehrere Jahre persistieren. Sie exprimieren konstitutiv verschiedene Effluxpumpen aus der Familie der *ATP binding cassette* (ABC)-Transporter. Die meisten Zytostatika wirken nur in einer speziellen Phase des Zellzyklus, also an sich teilenden Zellen. Deshalb und weil die Xenobiotika aktiv ausgeschleust werden, entgehen die Tumorstammzellen der Pharmakotherapie, obwohl ein großer Teil der Krebszellen sensibel reagiert. Im klinischen Bild kommt es zu einem Rezidiv des Tumors auch nach mehrjähriger Remission. Das Konzept der Tumorstammzellen ist heute im Grundsatz anerkannt und für einige Krebsformen belegt. [9]

### 1.2.2 Moderne gezielte Krebstherapie

Zwei sehr effektive Jahrzehnte der Krebsforschung waren die 80er und 90er Jahre des vergangenen Jahrhunderts. Mit modernen Methoden der Biochemie konnten maligne Zellen erstmals auf molekularbiologischer Ebene erforscht werden. Es wurden Zielstrukturen identifiziert, die in gesunden Zellen nicht oder in erheblich geringerem Ausmaß vorhanden sind.

Gleichzeitig gewann eine allgemeine Erkenntnis mehr und mehr an Bedeutung:

Antikörper	Handelsname	Zulassung	Target	Anbieter
Rituximab	MabThera <sup>®</sup>	1997	CD20	Roche
Trastuzumab	Herceptin <sup>®</sup>	1998	HER2	Roche
Alemtuzumab	MabCampath <sup>®</sup>	2001	CD25	Genzyme
Bevacizumab	Avastin <sup>®</sup>	2004	VEGF	Roche
Cetuximab	Erbitux <sup>®</sup>	2004	EGFR	Merck Serono
Panitumumab	Vectibix <sup>®</sup>	2006	EGFR	Amgen
Catumaxomab	Removab <sup>®</sup>	2009	EpCAM	Neovii Biotech
Ofatumumab	Arzerra <sup>®</sup>	2010	CD20	Novartis Pharma
Blinatumomab	Blinicyto <sup>®</sup>	2014	CD19	Amgen

Tabelle 1.2: Übersicht über alle bisher in der Onkotherapie zugelassenen monoklonalen Antikörper.

Für das Ansprechen auf eine Zytostatikatherapie ist es nicht primär von Bedeutung, in welchem Gewebe der Krebs auftaucht, vielmehr ist entscheidend welche konkreten Wachstumsprozesse dereguliert sind. Aufschluss darüber liefert das Genom und Proteom der Krebszellen.

Das erste entdeckte zelluläre Onkogen war das *src*-Gen. Es codiert für eine zytosolische Proteinkinase. Diese Enzymklasse ist in zahlreiche zelluläre Signalübertragungswege involviert. Auch Wachstumssignale werden durch sie übertragen. Einige der ersten Arzneimittel, die zur gezielten Krebstherapie gezählt werden können, richten sich ebenfalls gegen Proteinkinasen: Wachstumsfaktorrezeptoren der ErbB-Familie.

Auf Basis dieser Erkenntnis wurde weiter nach Arzneistoffen gesucht, welche ganz gezielt an die entarteten Proteinstrukturen andocken und diese blockieren. Die ersten Verbindungen auf dem Markt waren monoklonale Antikörper, es folgten die sog. „Small Molecules“. Alle auf dem Markt befindlichen Medikamente dieser Art sind nur gegen wenige molekularbiologisch genau definierte Krebsarten wirksam und zur Therapie dieser zugelassen.

### Monoklonale Antikörper

Bei der zielgerichteten Therapie müssen Onkoproteine selektiv angegriffen werden. Die Entwicklung von Antikörpern, die dieses Protein als Antigen binden war deshalb schon seit Beginn der Entwicklung plausibel.

Der Wirkmechanismus kann grundlegend in zwei Prinzipien unterteilt werden: Zum einen kann der Antikörper ein Signalmolekül blockieren, was die Tumorzelle zu überreguliertem Wachstum veranlasst. Ein Beispiel hierfür ist Trastuzumab. Der Antikörper bindet an den humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor (HER)2.

Verbindung	Handelsname	Zulassung	Target	Anbieter
Gefitinib	IRESSA <sup>®</sup>	2003	EGFR	AstraZeneca
Erlotinib	Tarceva <sup>®</sup>	2004	EGFR	Roche
Lapatinib	Tyverb <sup>®</sup>	2007	EGFR, HER2	Novartis Pharma
Icotinib	Conmana <sup>®</sup>	2011	EGFR	Beta Pharma
Afatinib	GIOTRIF <sup>®</sup>	2013	EGFR, HER2	Boehringer
Osimertinib	Tagrisso <sup>®</sup>	2015	EGFR	AstraZeneca

Tabelle 1.3: Übersicht über alle bisher in der Onkotherapie zugelassenen Small-Molecule-Inhibitoren mit dem Target EGFR.

Dadurch wird die Bindungsstelle des natürlichen Liganden blockiert und das Signal ausgeschaltet. Zum anderen nutzt man die natürliche Funktion von Antikörpern: durch sie markierte Zellen werden vom körpereigenen Immunsystem erkannt und eliminiert.

Antikörper als Proteine sind nicht oral bioverfügbar und müssen darum intravenös verabreicht werden. Sie werden in Zyklen infundiert. Unerwünschte Wirkungen sind infusionsbedingt. Es kann zu Zytokinfreisetzung mit Fieber, Bronchospasmus, Hautreaktionen oder Hypotonie kommen [7]. Da monoklonale Antikörper immer nur gegen ein ganz spezifisches Antigen gerichtet sind, werden häufig rasche Resistenzentwicklungen beobachtet. Punktmutationen im genetischen Code des betreffenden Epitopes reichen aus, um völligen Wirkungsverlust zu verursachen. Deshalb wird eine Antikörpertherapie oft adjuvant zu einer konventionellen Chemotherapie durchgeführt. Wegen hoher Entwicklungs- und Herstellungskosten sind Krebstherapien mit monoklonalen Antikörpern enorm hochpreisig.

Das erste Medikament auf dem Markt war MabThera<sup>®</sup>, dessen Wirkstoff ist der monoklonale Antikörper Rituximab. Er richtet sich gegen das auf der Oberfläche von B-Zellen präsentierte Antigen CD20 und wird bis heute zur Therapie, z. B. des Non-Hodgkin-Lymphomes eingesetzt. Obwohl man zu Beginn der Entwicklung, vor beinahe 20 Jahren, große Hoffnungen in diese Art der Krebstherapie legte, stehen heute tatsächlich nur wenige Arzneimittel auf dem Markt zur Verfügung. Die Auswahl an anvisierten molekularen Targets hat sich seit den frühen Tagen kaum erweitert. Eine Zusammenfassung findet sich in Tabelle 1.2.

### Small Molecules

Niedermolekulare Verbindungen mit Molekülmassen von i. d. R. unter 800 Da werden im Zusammenhang mit der gezielten Krebstherapie als „Small Molecules“ bezeichnet. Es handelt sich bei allen bisher angewendeten Verbindungen um Inhibitoren membranständiger oder zytosolischer Proteinkinasen. Meist erfolgt die Bindung an

das Enzym kompetitiv zu Adenosintriphosphat (ATP) in der zugehörigen Bindungstasche. Die Autophosphorylierung der Kinase ist nicht mehr möglich und die Signalweiterleitung somit unterbrochen.

Die erste zugelassene Verbindung dieser Art war Imatinib (Gleevec<sup>®</sup>) im Jahre 2001 gegen chronisch myeloische Leukämie (CML). Sie inhibiert die pathologisch überaktivierte Proteinkinase Bcr-Abl. Die Verbindung ist jedoch nicht selektiv und hemmt auch die c-Kit Kinase und den *platelet-derived growth factor receptor* (PDGFR). Aufgrund dessen, erfolgte die Zulassung gegen den gastrointestinalen Stromatumor (GIST) im Folgejahr. Inzwischen kommt man mehr und mehr zu der Erkenntnis, dass es günstig sein kann mehrere in die Krebsentstehung involvierte Kinasen mit einer Substanz zu adressieren.

Kinaseinhibitoren sind die ersten Krebstherapeutika mit oraler Bioverfügbarkeit. Sie werden, vergleichbar mit Dauermedikationen bei chronischen Erkrankungen, ein- bis zweimal täglich eingenommen. Die Nebenwirkungen halten sich in Grenzen und sind meist unspezifisch. Es kann zu Durchfall, Übelkeit und Erbrechen, Hautausschlägen sowie Blutbildveränderungen kommen [4]. Insgesamt ist eine Lebensverlängerung um mehrere Jahre bei kaum beeinträchtigter Lebensqualität möglich. Auch diese Wirkstoffklasse ist von starker Resistenzentwicklung betroffen. Man unterscheidet zwei Arten: primäre Resistenz mit Nichtansprechen auf die Therapie oder einem Therapieversagen innerhalb von sechs Monaten nach initialem Ansprechen und sekundäre Resistenz, welche nach ca. einem Behandlungsjahr entsteht [10]. Kinaseinhibitoren gehören ebenfalls zu den hochpreisigen Arzneimitteln.

Aus dem Pool der Small Molecules stehen inzwischen etwa 20 zugelassene Arzneimittel zur Verfügung. Sie wirken gut bei speziellen, der Indikation des Arzneimittels entsprechenden Krebsarten. Die anvisierten molekularen Targets umfassen nur ca. 10 Proteinkinasen. Behandelt werden können z. B. das Bronchial- und Pankreaskarzinom, GIST, CML und chronisch lymphatische Leukämie (CLL), das kolorektale Karzinom, Nierenzell- und Leberkarzinom sowie Non-Hodgkin-Lymphom. Es ist dabei immer vom Genom des Tumors abhängig, ob sie auf die Therapie ansprechen [7]. Die Zusammenfassung in Tabelle 1.3 bleibt auf Verbindungen beschränkt, die den *epidermal growth factor receptor* (EGFR) zum Target haben, da nur sie für diese Arbeit von Relevanz sind.

Mittlerweile zählt man Erlotinib, Gefitinib und das in China zugelassene Icotinib zu den EGFR-Inhibitoren der ersten, Afatinib und Lapatinib zur zweiten Generation. Diese Zuordnung ist nicht zeitlich, sondern nach Art des Wirkmechanismus begründet. Während Verbindungen der ersten Generation nur EGFR adressieren, richten sich die der zweiten auch gegen andere Rezeptoren der ErbB-Familie. Afatinib ist der erste Vertreter der irreversiblen Inhibitoren. Mit der enthaltenen Acrylamidgruppe bindet es kovalent an die Thiolfunktion von Cys797 in der ATP-Bindungstasche. Es behält damit seine Wirksamkeit auch bei T790M-Mutation, da die Verbindung nicht mehr kompetitiv von ATP verdrängt werden kann [11].

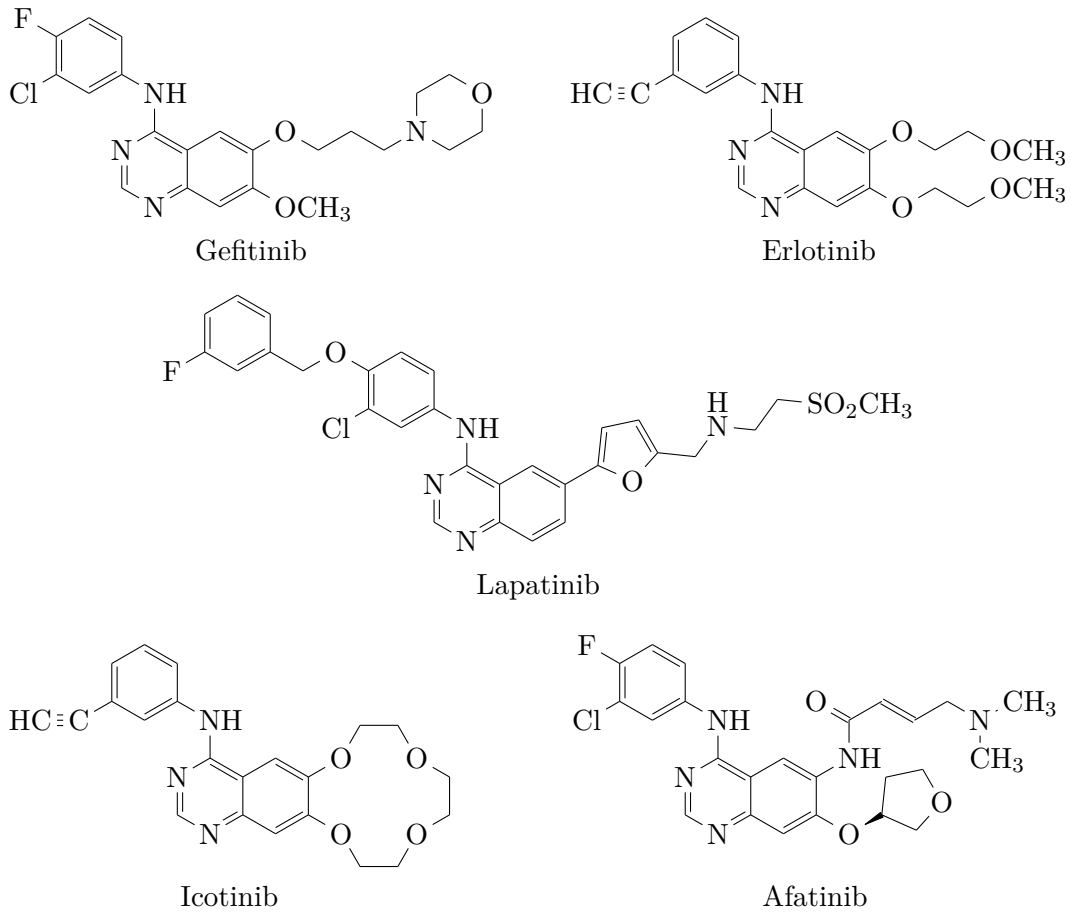


Abbildung 1.2: Strukturformeln der am Markt zugelassenen EGFR-Inhibitoren. Analogien zu ATP sind offensichtlich.

Zu Osimertinib siehe auch 1.5.2 (Seite 21) und Abbildung 1.6.

### 1.3 Rezeptor-Tyrosinkinasen

Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK) sind membranständige Proteine, welche sowohl die Funktion eines Rezeptors, als auch die eines Enzyms haben. Sie sind – nach den G-Protein gekoppelten – die am zweithäufigsten vorkommenden Rezeptoren im menschlichen Organismus. Vor allem in der modernen Arzneistoffentwicklung sind sie beliebte Targets.

Liganden, die an dieser Rezeptorklasse andocken, sind meist anabole Hormone oder Wachstumsfaktoren. Somit sind RTK in zahlreiche Prozesse der Gewebshomöostase involviert und in vielen Fällen bekannte Protoonkogene.

Allgemein bestehen alle Vertreter dieser Art von Signalempfängern aus drei Teilen: Am extrazellulären Teil erfolgt die Bindung der körpereigenen Signalmoleküle. Mit dem transmembranären Teil sind sie zwischen den Phospholipiden der Zellmembran verankert. Auf der Zelloberfläche sind die Rezeptoren frei beweglich. Bildlich kann man sich vorstellen, dass das Protein die Fähigkeit hat auf der Membran zu „schwimmen“. Der intrazelluläre Teil ist der Teil mit Enzymaktivität. Die Tyrosinkinase überträgt die  $\gamma$ -Phosphatgruppe von ATP auf Tyrosinreste in Proteinen.

Nach Bindung eines Liganden an die extrazelluläre Domäne, kommt es zu einer Konformationsänderung des Rezeptors. Liegt er nicht von vornherein als Dimer vor, so erfolgt zunächst eine Dimerisierung mit einem Rezeptorprotein gleicher Art (Homodimerisierung) oder mit einem anderen, ähnlichen Rezeptor (Heterodimerisierung). Es binden jeweils die extrazellulären Proteindomänen aneinander. Daraufhin wird ein ATP-Molekül in der entsprechenden Bindungstasche im zellinneren Teil des Proteins gespalten. Danach folgen mehrere Autophosphorylierungen an Tyrosinresten des Rezeptordimers. Schließlich werden Dockingstellen für nachgeschaltete Signalmoleküle, bestehend aus Adapterproteinen und zytoplasmatischen Enzymen gebildet. Nach darauffolgendem erneuten Zerfall dieser Signalkomplexe, werden die Effektorproteine in aktivierter Form in das Zytoplasma entlassen, wo sie viele verschiedene Signalkaskaden stimulieren: z.B. *mitogen activated protein* (MAP)-Kinasen, Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), die antiapoptotische Kinase Akt und diverse Transkriptionsregulatoren (siehe Abbildung 1.5). Die Art des Liganden, aber auch die Dauer und Intensität der hervorgerufenen Phosphorylierung sind Ebenen der Signalverschlüsselung zur Sicherstellung einer adäquaten Kontrolle unterschiedlicher biologischer Prozesse im gleichen Signalweg. So kann ein Signal derselben Kaskade „flüstern“ oder „schreien“, was völlig konträre biologische Konsequenzen wie Proliferation oder Apoptose haben kann [7]. Das Rezeptordimer als Signalauslöser wird durch Endozytose des Rezeptor-Liganden-Komplexes inaktiviert. Der Inhalt der entstandenen Endosomen wird dann entweder abgebaut oder an die Zelloberflä-



che recycelt.

### 1.3.1 Der EGF-Rezeptor

In der onkologischen Forschung und gezielten Chemotherapie hat eine Familie von Wachstumsfaktorrezeptoren als molekulares Target besondere Bedeutung erlangt: Die Vertreter der ErbB Familie sind genetisch sehr ähnliche Signalmoleküle für die Proliferation, das Überleben, die Adhäsionsfähigkeit, Migration und Differenzierung von Zellen. Proteine mit ähnlichem Aufbau sind in frühen Evolutionsstufen der Eukaryotenzelle verwurzelt und bereits in Vertretern der Fadenwürmer entdeckt worden.

Im menschlichen Organismus finden sich vier eng verwandte Vertreter in einem komplexen und vielschichtigen Netzwerk der Reizweiterleitung. Die Literatur bewahrt hartnäckig eine doppelte Nomenklatur: Als Akronym wird das zuerst entdeckte Protein der Familie als EGFR und die später gefundenen Homologe als HER2 bis 4 bezeichnet. Seltener findet sich auch HER1 für EGFR. Eine andere Art der Benennung als ErbB-1 bis 4 meint die codierenden Genabschnitte und hat ihren Ursprung in einem verwandten viralen Onkogen.

Alle Vertreter bestehen aus einer extrazellulären Region von etwa 620 Aminosäuren, einem einzelnen kurzen transmembranären Abschnitt und der Kinasedomäne im Zellinneren. Der extrazelluläre Bereich, auch Ektodomäne, besteht wiederum aus vier Subdomänen. Hier erfolgt die Bindung der Wachstumsfaktoren. Die einzelnen Vertreter der Rezeptorfamilie unterscheiden sich in der Auswahl der akzeptierten Signalmoleküle. Die Tatsache, dass es mehrere natürliche Liganden und verwandte Rezeptoren gibt, deutet darauf hin, dass das vorliegende Signalsystem eine große Spezifität und ein breites Repertoire an möglichen zellulären Antworten aufweist. [12]

Die wichtigsten physiologischen Liganden sind:

- *epidermal growth factor* (EGF)
- *transforming growth factor* (TGF)- $\alpha$
- Betazellulin (BTC)
- Epiregulin (EPR)
- Amphiregulin (AR)

Bei der Signalentstehung ist HER2 der Haupt-Dimerisierungspartner für EGFR. Einige Mechanismen tragen dazu bei, dass die Signale von Dimeren mit diesem Bindungspartner besonders potent sind. Erstens sind HER2-Heterodimere an der Zelloberfläche stabiler als Komplexe anderer Rezeptoren der ErbB-Familie. Obwohl für HER2 keine Liganden bekannt sind, kann dieser Rezeptor im Dimer die Bindung des

Liganden an den jeweiligen Partnerrezeptor verstärken. Es kommt dadurch zu einem Signal von größerer Intensität und Dauer. Heterodimere die HER2 enthalten, verbleiben außerdem für längere Zeit an der Zelloberfläche als z. B. EGFR-Homodimere, da in diesem Fall die Endozytose langsamer erfolgt. Des Weiteren werden, nach erfolgter Internalisierung, EGFR-Homodimere abgebaut. EGFR-HER2-Heterodimere hingegen werden an die Zellmembran recycelt, wo sie für einen weiteren Signalzyklus zur Verfügung stehen. [13]

### 1.3.2 Der IGF-1-Rezeptor

Der *insulin-like growth factor receptor* (IGF-1R) ist, wie der oben beschriebene EGFR, eine Rezeptor-Tyrosinkinase an der Zelloberfläche. Es existiert ein strukturell nahe Verwandter: der Insulinrezeptor. Während letzterer essentiell für die Aufrechterhaltung der Glucosehomöostase ist, ist IGF-1R sowohl in physiologische, als auch bei Krebs entartete Wachstumsprozesse involviert. Die früheste Stufe der Evolution, auf welcher homologe Biomoleküle gefunden werden konnten, sind Vertreter der Nesseltiere. [14]

Ein Rezeptormonomer geht aus der Translation eines einzelnen mRNA-Stranges hervor, wird jedoch zunächst in eine  $\alpha$ - und eine  $\beta$ -Untereinheit gespalten und anschließend über eine Disulfidbrücke kovalent verknüpft. Die  $\alpha$ -Untereinheit bildet den extrazellulären Teil, mit der Domäne für die Bindung der Liganden. Dieser Teil zeigt große Strukturähnlichkeiten mit dem entsprechenden Teil des EGFR [14]. Die  $\beta$ -Untereinheit umfasst die transmembranäre Region sowie den enzymatisch aktiven Proteinkinaseteil. Im weiteren Reifeprozess des Proteins werden zwei der Monomere an der  $\alpha$ -Untereinheit über eine weitere Disulfidbrücke verknüpft, was letztendlich zu einem heterotetrameren Protein führt. Man spricht hier von einer primär dimeren Rezeptor-Tyrosinkinase, da die Dimerisierung der Ligandenbindung vorausgeht.

Natürliche Liganden sind neben dem *insulin-like growth factor* (IGF)-1 auch IGF-2 und Insulin. Die Liganden verhalten sich untereinander kompetitiv, wobei IGF-1 die größte Bindungsaffinität aufweist. Nach Bindung des Liganden an die Ektodomäne erfolgt die Spaltung von ATP und Autophosphorylierung von Tyrosinresten im intrazellulären Bereich. Auch IGF-1R ist in ein komplexes Signalnetzwerk integriert. Nachgeschaltete Signalmoleküle sind u. a. Insulinrezeptor-Substrate, MAP-Kinasen und PI3K. Es gibt Überschneidungen mit Signalwegen, die auch durch den Insulinrezeptor oder EGFR ausgelöst werden können (siehe auch Abbildung 1.5). [15]

### 1.3.3 Der Bindungsmodus des ATP

Unter allen bekannten Tyrosinkinasen, wurde die ATP-Bindungstasche als eine besonders konservierte Region identifiziert. Außerdem ist diese Region die Bindungsstelle der meisten Kinaseinhibitoren am Markt. Um trotz der strengen Strukturana-

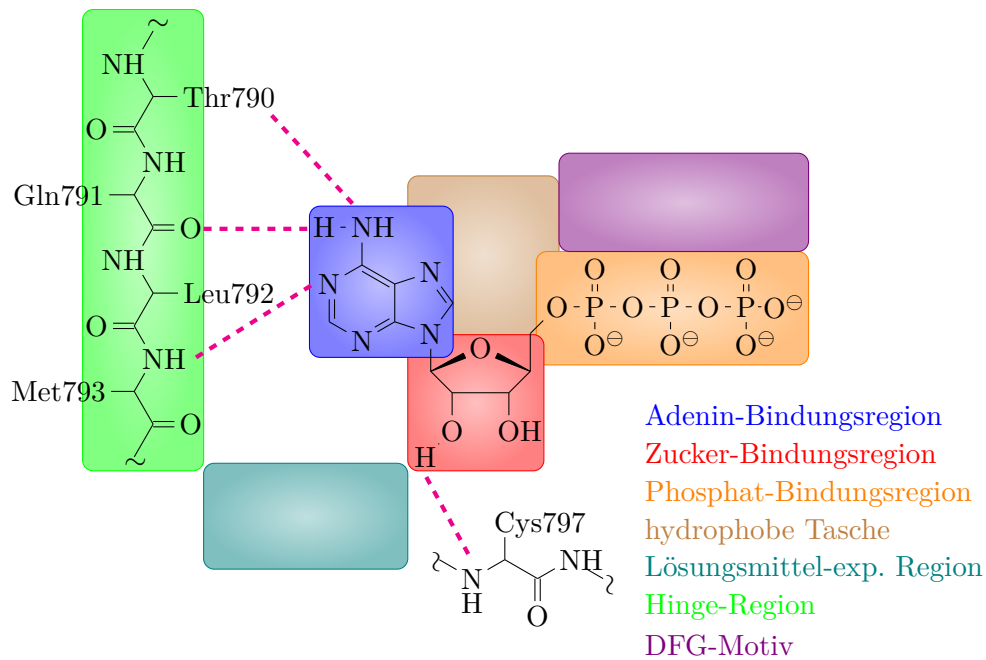


Abbildung 1.3: Bindungsmodus von ATP am Beispiel der Bindungstasche von EGFR. Schematische Darstellung. Wasserstoffbrückenbindungen sind als gestrichelte Linien in Magenta eingezeichnet.

logie in diesem Bereich des Proteins selektive Inhibitoren designen zu können, ist die Kenntnis ihres Aufbaus vonnöten.

Nach VULPETTI *et al* [16] wird die ATP-Bindungstasche in fünf verschiedene Regionen, eingeteilt:

- die Adenin-Bindungsregion
- die Zucker-Bindungsregion
- die Phosphat-Bindungsregion
- die hydrophobe Tasche
- die Lösungsmittel-exponierte Region

Während die ersten drei bei allen Enzymen der Klasse beinahe identisch sind, liefern die letzten beiden Regionen ausreichend Variabilität für selektive Liganden.

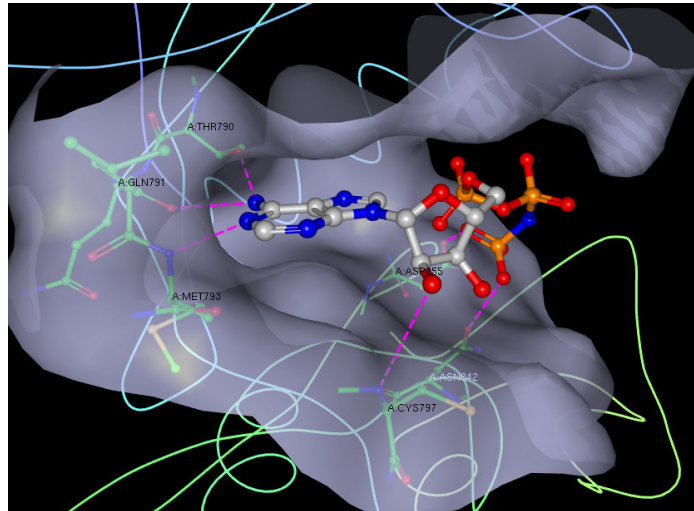


Abbildung 1.4: Bindungsmodus von ATP an EGFR: Die Kinasedomäne wurde mit AMP-PNP (als „nicht hydrolysierbares ATP“) co-kristallisiert und per RÖNTGEN-Diffraktometrie vermessen. Der Datensatz entstammt [17] und ist in der Proteindatenbank verfügbar [18]. Die Ansicht erfolgt aus Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region. Die hydrophobe Tasche ist hinter dem Adeninring sichtbar.

### Die ATP-Bindungstasche

Die Adenin-Bindungsregion liegt zentral in der ATP-Bindungstasche. Neben den Wasserstoffbrücken zur Hinge-Region, steht das planare heterozyklische Ringsystem hier in hydrophober Wechselwirkung mit fünf lipophilen Seitenketten des Proteins.

Die Zuckerbindungsregion ist verhältnismäßig polar und ebenfalls wenig variabel innerhalb der Enzymfamilie. Ribose, als Bestandteil des ATP, trägt zwei freie Hydroxylgruppen. Eine davon wird durch eine H-Brückenbindung an dieser Stelle des Proteins gebunden.

Hochkonserviert und polar ist auch die Phosphat-Bindungsregion. Sie kann in eine  $\alpha$ -Helix und den *phosphate-binding loop* (P-Loop) eingeteilt werden. Letzterer ist eine glycinreiche Struktur auf der *N*-terminalen Seite und einer der flexibelsten Teile des Proteins. Bei Enzymaktivität tritt die Region räumlich mit Strukturen des DFG-Motives (s. u.) in Kontakt.

Die hydrophobe Tasche ist – wie der Name vermuten lässt – eine Kavität, begrenzt von lipophilen Seitenketten. Sie wird vom natürlichen Liganden nicht okkupiert und liegt hinter der eigentlichen ATP-Bindungsregion. Sie weist eine verhältnismäßig hohe Sequenzvariabilität auf. Daraus resultiert eine unterschiedliche Größe und Form bei verschiedenen Proteinkinasen. Im Bereich des Überganges der

Adenin-Bindungsregion zur hydrophoben Tasche ragt, bei vielen Vertretern der Enzymklasse, die Seitenkette einer einzelnen Aminosäure deutlich hervor. Sie wird als „Gatekeeper“-Aminosäure bezeichnet. Größe und Form der hydrophoben Tasche sowie Art und Lage des Gatekeepers werden in der Wirkstoffentwicklung ausgenutzt, um selektive Inhibitoren zu designen.

In der Lösungsmittel-exponierten Region tritt das Protein mit dem Zytosol in Kontakt. Bildlich gesprochen ist sie der Eingang zur ATP-Bindungstasche. Sie ist strukturell eher variabel. Die vorherrschenden Bedingungen gleichen dem Zytoplasma, sie sind v. a. äußerst hydrophil. Geeignete Substituenten an ATP-kompetitiven Inhibitoren in dieser Position, können sowohl das Selektivitätsprofil beeinflussen, als auch zur Verbesserung pharmakokinetischer Eigenschaften der Substanz genutzt werden. [16]

### Weitere wichtige Proteinregionen

Die Hinge-Region grenzt direkt an die Adenin-Bindungsregion. Der Name leitet sich von „hinge“ (engl. Scharnier) ab und rührt daher, dass diese schmale Region zwei große Strukturelemente der Kinasedomäne des Proteins, einen *N*-terminalen und einen *C*-terminalen Lappen, verbindet. Diese bilden die obere und untere Begrenzung der ATP-Bindungstasche. Der Pyrimidinring, als Teilstruktur des Adenins, akzeptiert drei Wasserstoffbrückenbindungen vom Proteinrückrat der Hinge-Region. ATP-kompetitive Enzyminhibitoren müssen, um eine ausreichende Aktivität zu erreichen, Teile der Adenin-Struktur imitieren und ebenfalls Hinge-Brücken ausbilden. Betrachtet man die am Markt vorhandenen Substanzen sind Strukturanalogien offensichtlich.

Das DFG-Motiv hat seinen Namen aus dem Einbuchstabencode der drei Aminosäuren, aus denen es besteht: Asparaginsäure, Phenylalanin, und Glycin. Es kommt mit dieser Struktur in praktisch allen Tyrosinkinasen vor und ist an der Übertragung des  $\gamma$ -Phosphatrestes auf das Substrat beteiligt. Dabei kommt es in dieser Region zu einer erheblichen Konformationsänderung. Diese ist ein wichtiger Anhaltspunkt bei der Analyse von Röntgenkristallstrukturen, da man so feststellen kann, ob die aktive oder inaktive Form des Enzyms vorliegt. Im Gegensatz zu dem in Abbildung 1.4 gebundenen nicht hydrolysierbaren Analogon Adenylyl-imidodiphosphat (AMP-PNP) bindet ATP mit „indirekten“ Wasserstoffbrückenbindungen über ein  $Mg^{2+}$ -Ion an den Asparaginsäurerest dieser Region. Das DFG-Motiv wird deshalb auch als „Magnesium-positionierende Schleife“ bezeichnet. In der aktiven Konformation (DFG-*in*) formt der Phenylalaninrest einen Teil der hydrophoben Tasche und die Phosphatgruppen des ATP werden durch Asparaginsäure und  $Mg^{2+}$  in eine katalytisch günstige Position gebracht. In der inaktiven Konformation (DFG-*out*) schwenkt liegt o. g. Phenylalanin in der ATP-Bindungstasche und blockiert diese. Der Asparaginsäurerest ist nicht mehr in der Lage, die  $\gamma$ -Phosphatgruppe in die

richtige Position zu bringen. Die Wasserstoffbrückendonator- und Akzeptorfunktionen dieser Region können beim Wirkstoffdesign genutzt werden.

### 1.4 Ausgewählte Resistenzmechanismen

Rasche Resistenzentwicklungen sind ein Hauptproblem der gezielten Chemotherapie. Die zugrunde liegenden Wege der Resistenzentstehung sind vielfältig und einem ständigen Wandel unterlegen. Prinzipiell sind folgende Mechanismen bekannt und erforscht:

Punktmutationen an Schlüsselstellen, wie z.B. in der Bindungstasche, können die Wirksamkeit eines ATP-kompetitiven Inhibitors massiv beeinträchtigen. Dafür gibt es wiederum zwei Möglichkeiten: entweder kommt es zu sterischen Veränderungen, die eine Bindung des Arzneistoffes unmöglich machen oder es kommt zur Erhöhung der Affinität von ATP. Ein gut erforschtes Beispiel ist die T790M-Mutation in EGFR. Die Gatekeeper-Aminosäure, ein Threoninrest in Position 790, wird dabei durch einen Methioninrest ersetzt. Da viele EGFR-Inhibitoren eine essenzielle Wasserstoffbrückenbindung mit ebendieser Threonin-Gruppe eingehen, führt die Mutation zum Wirkungsverlust. Auch auf der Ebene nachgeschalteter Signalwege können Punktmutationen Resistenzen verursachen. [10]

Durch einen Inhibitor ausgeschaltete Rezeptorsignale können durch nachgeschaltete Signalwege „kurzgeschlossen“ werden. Dieser sog. Crosstalk wird durch ein umfangreiches Netzwerk einer komplizierten Verschaltung aktivierender Signale und negativer Rückkopplungsmechanismen möglich. Hinzu kommt, dass bereits bei Signalentstehung auf der Zellmembran eine gewisse Variabilität durch Heterodimerisierung vorhanden ist.

Für die weitere Betrachtung in dieser Arbeit sollen nur Resistenzmechanismen durch Interaktionen zwischen EGFR und IGF-1R eine Rolle spielen. Als Ausgangspunkt wird angenommen, dass die im Folgenden beschriebenen Mechanismen entscheidende Ursachen für das Nichtansprechen oder die schnelle Resistenzentwicklung bei einer Therapie mit Small Molecules sind.

#### 1.4.1 Heterodimerisierung

Die extrazelluläre Domäne von EGFR besteht aus vier Subdomänen. Zwei davon binden den Liganden, zwei weitere sind entscheidend für die Bindung an einen Partnerrezeptor bei der Dimerisierung. Es finden sich auffällige Sequenzhomologien sowie ähnliche Sekundär- und Tertiärstrukturen bei IGF-1R [14]. Obwohl der adulte IGF-1R – als primär dimerer Rezeptor – verknüpft über eine Disulfidbrücke vorliegt, ist nicht ausgeschlossen, dass während der Rezeptorreife ein freies Monomer mit einem aktivierten EGFR dimerisiert. In mehreren Experimenten unterschiedlicher Arbeitsgruppen wurden in EGFR-Immunpräzipitaten nach Western Blot Analyse

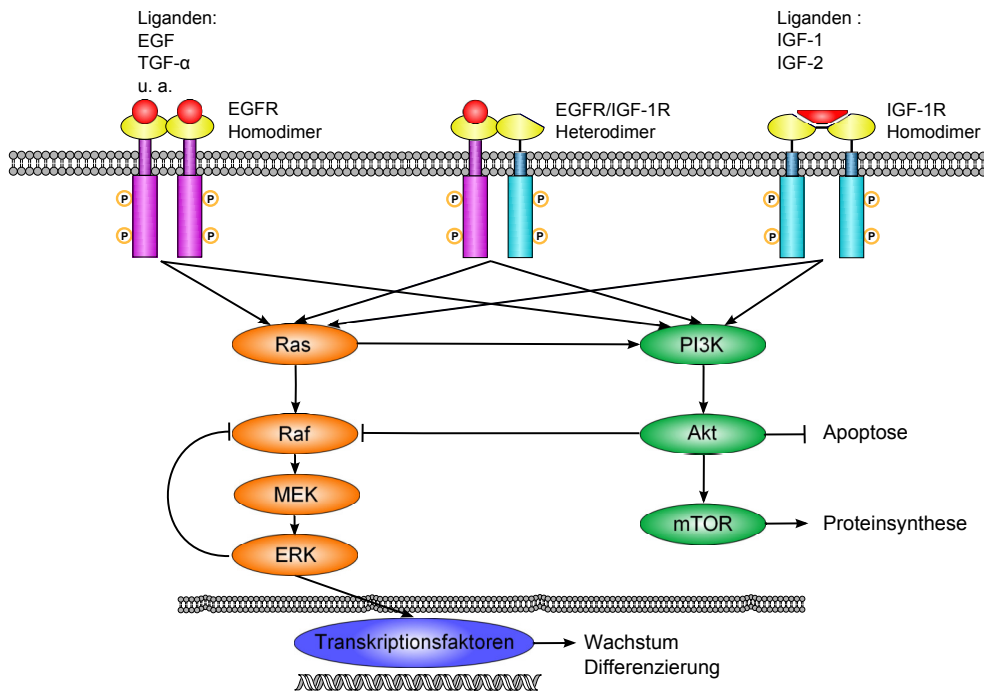


Abbildung 1.5: Fließschema über den Rezeptorcrosstalk zwischen EGFR und IGF-1R (vereinfachte Darstellung) [15]

IGF-1R Moleküle nachgewiesen und umgekehrt [19]. Die Menge an co-präzipitierten IGF-1R stieg nach Stimulation mit EGF an, was eine ligandenabhängige Interaktion vermuten lässt [20].

## 1.4.2 Rezeptorcrosstalk

### Der MAP-Kinase-Weg

Ein Signal nach Aktivierung von EGFR oder IGF-1R führt beiderseits nach Assoziation von Adapterproteinen und Cofaktoren zur Aktivierung der Ras-Kinase, eine kleine Guanosintriphosphat (GTP)ase. Diese wiederum kann mit vielen Effektoren produktiv interagieren, hier seien nur die Raf-Kinase und PI3K (s. u.) genannt.

Raf-Proteine sind Serin/Threonin-Kinasen, die in unterschiedlichen Isoformen gewebespezifisch vorkommen. Aktiviertes Raf ist die erste Stufe von drei „in Serie“ geschalteten Proteinkinasen, die zwei Weiteren sind die MAPK/ERK aktivierende Kinase (MEK) und *extracellular-signal regulated kinase* (ERK). Biochemische

Mechanismen dieser Art werden als MAP-Kinase-Kaskaden bezeichnet. ERK phosphoryliert Substrate sowohl im Zytoplasma als auch im Kern, darunter zahlreiche Transkriptionsfaktoren. Letztendlich wird so die Expressierung von Proteinen, die für Proliferation und Überleben der Zelle nötig sind, ausgelöst.

Ein negativer Regulationsmechanismus führt zur Inaktivierung von Raf, wenn ERK im Überschuss vorhanden ist.

### Der PI3K-Signalweg

PI3K phosphoryliert über einen sekundären Messenger das Protein Akt. Dabei handelt es sich um eine zytosolische Kinase, die in der Zelle mehreren Funktionen nachkommt und von daher ein breites Substratspektrum besitzt. Im Speziellen unterstützt Akt das Überleben der Zelle, indem sie pro-apoptische Proteine inaktiviert. Zudem hat sie eine negativ regulierende Wirkung auf Raf und damit auf den oben beschriebenen MAP-Kinase-Signalweg. Indirekt aktiviert sie *mechanistic target of rapamycin* (mTOR), ein Enzym, was die Translation von Proteinen auslöst. [15]

Bei den hier beschriebenen Abläufen handelt es sich nur um Teile eines Netzwerkes, was in seiner physiologischen Gesamtheit weitaus komplexer funktioniert.

## 1.5 Stand der Forschung

### 1.5.1 Monoklonale Antikörper

#### EGF-Rezeptor

Monoklonale Antikörper, die EGFR adressieren, sind seit über 10 Jahren in der Krebstherapie zugelassen, mittlerweile etabliert und im Rahmen ihrer Möglichkeiten gut wirksam. Die Neuentwicklung solcher Wirkstoffe wird deshalb zur Zeit weniger eifrig verfolgt. Dennoch gibt es einige wirklich innovative Ansätze, die hier kurz beschrieben werden sollen.

Die beiden therapeutisch zugelassenen Biomoleküle Cetuximab und Panitumumab basieren auf IgG und gehören damit physiologisch zur humoralen Immunabwehr. Dadurch haben sie eine eher geringe antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (ADCC). Ihre Wirkung beruht damit hauptsächlich auf der Blockade des EGFR vermittelten Signals. LOHSE *et al.* veröffentlichten unlängst erste vorklinische Untersuchungen über einen Antikörper auf Basis von IgA, mit der Antigenbindungsregion von Cetuximab. Mit diesem Antikörper assoziierte Tumorzellen werden zusätzlich vom zellulären Immunsystem erkannt und eliminiert. [21]

Genetec<sup>TM</sup>/Roche verfolgt den gleichen Zweck mit einem anderen Ansatz: Der ebenfalls gegen EGFR-gerichtete Antikörper Imgatuzumab bewirkt eine erhöhte ADCC durch ein spezielles Glykosylierungsmuster. Eine klinische Studie der Phase II wurde bereits erfolgreich durchgeführt. [22]



### IGF-1-Rezeptor

Antikörper mit dem Target IGF-1R haben bisher keine Zulassung am Markt, werden aber intensiv beforscht. Es soll hier nur eine Auswahl der Kandidaten beschrieben werden, die sich in höheren klinischen Untersuchungsstufen befinden und für diese Arbeit interessante Ansätze verfolgen.

Zu Figitumumab (Pfizer), in Kombination mit etablierten Zytostatika gegen *non-small-cell lung carcinoma* (NSCLC) wurde 2014 eine klinische Studie der Phase III durchgeführt. Diese wurde jedoch, aufgrund des Vorkommens von ernsthaften unerwünschten Effekten und behandlungsassoziierter Todesfälle abgebrochen. [23]

Ein vielversprechender Kandidat ist R1507 der Firma Roche. Der Antikörper wurde 2011, in Kombination mit EGFR-Inhibition durch Erlotinib, in einer Kohorte von unselektierten Patienten mit NSCLC, im Rahmen einer Phase II Studie getestet. Es ergab sich hier keine Überlegenheit, hinsichtlich des progressionsfreien - oder Gesamtüberlebens, gegenüber EGFR-Inhibition allein. Anzumerken ist, dass in dieser Studie weniger als 5 % der Patienten eine EGFR-Mutation trugen, da in dieser Studie EGFR/IGF-1R-Crosstalk als Ursache der Entstehung malignen Zellwachstums angenommen wurde [24]. Eine weitere Phase II Studie, ebenfalls 2011 mit R1507 in Monotherapie bei Patienten mit Ewing-Sarkom zeigte beeindruckende Ergebnisse. Es kam mit signifikanter Häufigkeit zum Stagnieren des Tumorwachstums, in einigen Fällen zum kompletten Rückgang der Hyperplasie [25]. Auf der Basis von Imgatuzumab (EGFR) und R1507 (IGF-1R) ist es bei Roche gelungen moderne bivalente Antikörper mit hohen Affinitäten zum jeweiligen Epitop der beiden Proteine herzustellen. Diese – als XGFR bezeichneten – Antikörper besitzen eine hohe ADCC sowie gesteigerte Wachstumshemmung in diversen Zellmodellen. Erste *in vivo* Untersuchungen zeigen gute Wirksamkeiten in einem Pankreaskarzinom-Xenograft-Modell [26, 27].

Adnexus/Bristol-Myers Squibb verfolgt ebenfalls den Ansatz der simultanen Adressierung von EGFR und IGF-1R mit nur einem Biomolekül. Dabei handelt es sich jedoch nicht um einen Antikörper, sondern um ein kleineres, künstliches Protein: einen sog. Monobody auf Basis von humanem Fibronectin. Die Verbindung – als EI-Tandem bezeichnet – zeigt in ersten präklinischen *in vivo* Untersuchungen eine stärkere Hemmung des Tumorwachstums als EGFR- bzw. IGF-1R-Inhibitoren allein und in Kombination. [28]

### 1.5.2 Small Molecules

#### EGF-Rezeptor

Kurz nach den ersten Antikörpern wurden auch Small Molecules mit dem Target EGFR zugelassen. Ein Hauptproblem in deren Anwendung ist die schnelle Entstehung von Resistenzen. Bemühungen in der aktuellen Entwicklung versuchen dies zu

überwinden. Obwohl noch nicht in Europa auf dem Markt, werden Rocicetinib und Osimertinib bereits zu den EGFR-Inhibitoren der dritten Generation gezählt. Es handelt sich bei beiden Verbindungen um irreversible Inhibitoren, welche kovalent in der ATP-Bindungstasche angreifen.

Eine Phase III Studie zu Rocicetinib in Monotherapie gegen konventionelle Chemotherapie bei NSCLC mit vorliegender T790M-Mutation, wurde vom Entwickler Clovis Oncology im Mai 2016 eingestellt. Gründe dafür waren neben Unzulänglichkeiten im Studiendesign auch schlechte Ansprechraten sowie das Auftreten unerwünschter Effekte: hauptsächlich Hyperglykämien wegen Inhibition des Insulinrezeptors durch einen aktiven Metaboliten von Rocicetinib. [29]

Bei Osimertinib handelt es sich um einen hochselektiven Inhibitor. Alle möglichen Metabolite wurden auf Aktivität an unerwünschten Targets getestet. Die Verbindung zeigt weniger Nebenwirkungen als alle bisher vorhandenen EGFR-Inhibitoren und eine hohe Hirngängigkeit, was für die Wirksamkeit beim Vorhandensein von Metastasen im Gehirn entscheidend ist. Sie bindet kovalent an C797 in der ATP-Bindungstasche und ist so auch bei T790M-Mutation wirksam. Der Arzneistoff wurde im November 2015 durch die *Food and Drug Administration* (FDA) mit der Indikation NSCLC zugelassen. Ein bedingtes Zulassungsverfahren bei der *European Medicines Agency* (EMA) läuft. [30]

Ein dritter interessanter Wirkstoffkandidat ist Avitinib. Der Inhibitor bindet ebenfalls kovalent und hochselektiv an das Target, basiert jedoch auf einer anderen Grundstruktur als die bisher beschriebenen Wirkstoffe der dritten Generation. Er soll ebenfalls bei T790M-Mutation wirksam sein. Klinische Phase I Studien laufen zur Zeit in China und den USA. [31]

### IGF-1-Rezeptor

Small Molecule IGF-1R-Inhibitoren gibt es keine am Markt. Das Target gewinnt in der onkologischen Forschung jedoch mehr und mehr an Bedeutung. Novartis forscht an einer Verbindung mit der Bezeichnung NVP-AEW541. Sie bindet ATP-kompetitiv und reversibel an das Enzym und besitzt Selektivität zwischen IGF-1R und dem Insulinrezeptor. Erste *in vivo* Studien belegen Wachstumshemmung in Fibrosarkom-Xenografts [32]. Bei Versuchen im Zellmodell zeigte sich eine synergistische Wirkung von NVP-AEW541 und dem EGFR-Inhibitor Afatinib [33].

Ein weiterer Kandidat, Linsitinib von OSI Pharmaceuticals ist sowohl gegen IGF-1R als auch den Insulinrezeptor aktiv. Die Verbindung zeigte antiproliferative Aktivität in IGF-1R abhängigen Tumorzelllinien und entsprechenden Xenograft-Modellen [34]. Im August 2016 wurde eine Phase II Studie, über Erlotinib in Kombination mit Linsitinib bzw. Placebo bei NSCLC, vorzeitig entblindet und abgebrochen, da das Auftreten von negativen Ereignissen im Linsitinib-Arm signifikant höher war [35]. Eine weitere Phase II Studie, über die Anwendung bei Ewing-Sarkom dau-

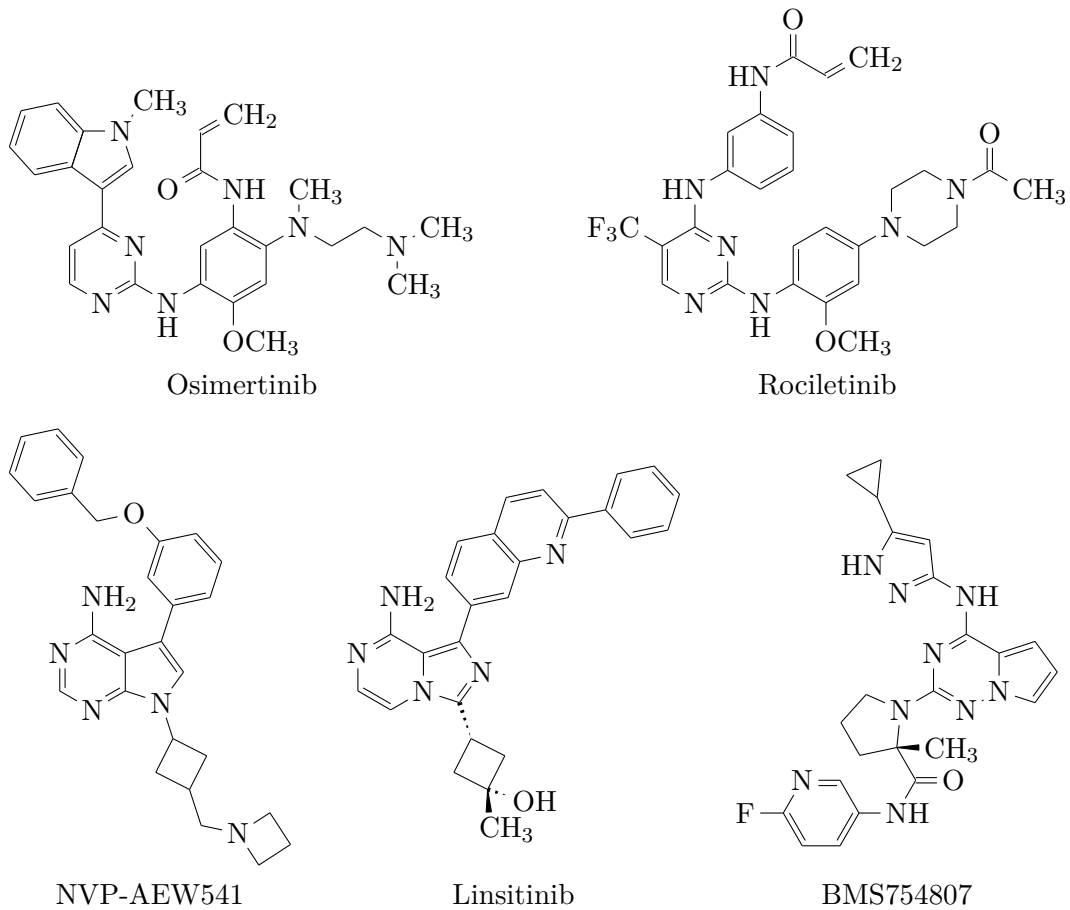


Abbildung 1.6: Strukturformeln der EGFR-Inhibitoren der dritten Generation und IGF-1R-Inhibitoren. Eine Struktur von Avitinib ist bisher nicht veröffentlicht.

ert zur Zeit an [36].

Bristol-Myers Squibb entwickelt einen potenten ATP-kompetitiven Inhibitor mit Aktivität gegen IGF-1R und den Insulinrezeptor, mit der Bezeichnung BMS754807. Die Substanz hat bereits klinische Studien der Phase I durchlaufen [37]. Aktuell konnten bei einem *in vitro* Screening, in Epithelzellen aus Hals-Kopf-Karzinomen, Synergien bei der Wachstumshemmung für BMS754807 in Kombination mit Inhibitoren der ErbB-Rezeptorfamilie nachgewiesen werden [38].

Bei Abbott Laboratories verfolgte man einen ähnlichen Ansatz wie in dieser Arbeit: Es wurde nach Substanzen gesucht, die eine simultane inhibitorische Wirkung auf IGF-1R, EGFR und HER2 haben. Diese sollten in der Krebstherapie Anwendung finden. Nach Hochdurchsatz-Screening und anschließender Strukturoptimierung folgten zwei Veröffentlichungen: 2009 über Verbindungen mit einem Pharmakophor, das dem der Verbindung NVP-AEW541 sehr ähnlich ist [39] und ein Jahr später über einige Imidazo[2,1-*b*]thiazole [40]. Alle Verbindungen wurden *in vitro* am Enzym und im Zellmodell charakterisiert und zeigten Enzymhemmungen mit IC<sub>50</sub>-Werten im oberen nanomolaren Bereich. Weitere Veröffentlichungen zu den Verbindungen sind bisher jedoch nicht erschienen.

### 1.6 Vorangegangene Arbeiten

Die in dieser Arbeit zu untersuchenden Substanzen gehen im Wesentlichen auf die Erkenntnisse von KRUG zurück [41]. Er synthetisierte mehrere Reihen unterschiedlich substituierter 1-Aza-9-oxafluorene und  $\alpha$ -Carboline und untersuchte deren inhibitorische Effekte auf mehrere Proteinkinasen u. a.: EGFR, *vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR)-2 und -3, PDGFR und IGF-1R. In genannter Arbeit fiel eine Substanz dadurch auf, dass sie eine starke und simultane Hemmung von EGFR und IGF-1R zeigte, sonst jedoch sehr selektiv war. Die betreffende Verbindung ist das 6-Brom- $\alpha$ -carbolin **22a** (Abbildung 1.7), was an Position 4 einen unsubstituierten Benzylaminring trägt.

Der Bindungsmodus der 1-Aza-9-oxafluorene und  $\alpha$ -Carboline wurde durch Dockingstudien aufgeklärt. Die Inhibitoren binden an beiden Rezeptoren reversibel in der ATP-Bindungstasche. Der Substituent an Position 6 liegt in der Lösungsmittel-exponierten Region, während der Benzylaminring an Position 4 die hydrophobe Tasche ausfüllt. Der zentrale Trizyklus bildet zwei – bzw. drei – Wasserstoffbrückenbindungen zur Hinge-Region aus [42, 43]. Abbildung 1.8 veranschaulicht den Bindungsmodus der Verbindung **22a** an EGFR analog zu ATP in Abbildung 1.3 (Seite 15).

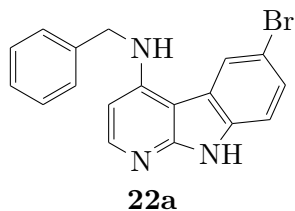


Abbildung 1.7: 6-Brom-4-benzylamino- $\alpha$ -carbolin, welches in [41] durch ein interessantes Selektivitätsprofil auffiel.

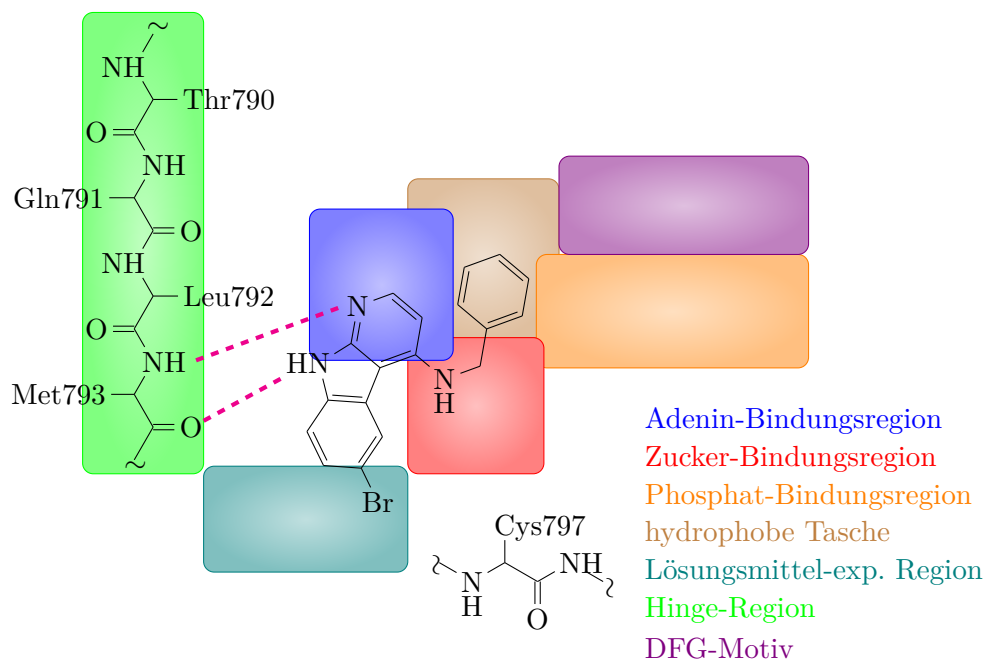


Abbildung 1.8: Bindungsmodus von **22a** an EGFR. Die analogen 1-Aza-9-oxafluorene bilden nur eine Wasserstoffbrückenbindung zu Met793 der Hinge-Region aus, liegen sonst aber ähnlich in der Bindungstasche.

## 2 Zielstellung

Rezeptorcrosstalk und -heterodimerisierung zwischen EGFR und IGF-1R, können als eine Ursache für die Entstehung von Resistenzen gegen EGFR-inhibitorische Small Molecules in der Krebstherapie angesehen werden. Ziel dieser Arbeit ist die Synthese und Charakterisierung von neuartigen chemischen Wirkstoffkandidaten, welche die Reizentstehung an beiden Rezeptoren wirksam blockieren können. Damit soll eine Grundlage zur Überwindung dieser Art von Tumorresistenz geschaffen werden.

Die EGFR/IGF-1R dualselektive Grundstruktur von **22a** soll mit Methoden der organischen Synthese in zwei aufeinander aufbauenden Entwicklungszyklen wie folgt optimiert werden: Position 6, welche in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region liegt, soll mit verschiedenen funktionellen Gruppen substituiert werden. Die eingeführten Substituenten sollen hinsichtlich ihrer Lipophilie und sauren bzw. basischen Eigenschaften variiert werden. Hintergrund dabei ist es zum einen, Löslichkeit und Membrangängigkeit der entstehenden Verbindung pharmakokinetisch günstig zu beeinflussen, zum anderen sollen die Auswirkungen der Substitution auf Aktivität und Selektivität der Verbindung am Rezeptor untersucht werden. Auch der Benzylaminring in Position 4 soll, hauptsächlich an den Positionen 3' und 4', funktionalisiert werden. Variationen sollen den Zweck haben, den sterisch verfügbaren Raum in der hydrophoben Tasche auszuloten.

KRUG beschreibt eine entscheidende Verbesserung der inhibitorischen Eigenschaften durch Erhöhung der Bindungsaffinität mit einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung zur Hinge-Region, wie sie die von ihm synthetisierten  $\alpha$ -Carboline im Gegensatz zu den 1-Aza-9-oxafluorenen ausbilden [41]. Die Gültigkeit dieser Beobachtung an den hier untersuchten Targets soll überprüft werden. Dazu sollen sowohl 1-Aza-9-oxafluorene, mit einem zentralen Furanring im Trizyklus der Grundstruktur, als auch  $\alpha$ -Carboline dargestellt werden, die an dieser Stelle einen Pyrrolring tragen. Zudem sind weitere H-Brücken zur 2-Position des Ringsystems denkbar. Es soll geprüft werden, ob die synthetische Einführung von entsprechenden Akzeptor- bzw. Donatorfunktionen möglich ist.

Die so hergestellten Substanzen sollen auf ihre inhibitorische Wirkung an EGFR und IGF-1R getestet werden. Dazu steht der  $^{33}\text{P}$ PanQinaseAssay<sup>®</sup> der ProQinase GmbH zur Verfügung. Die IC<sub>50</sub>-Werte der Zielverbindungen sollen auf diesem Weg bestimmt werden. Um den Bindungsmodus der Verbindungen an den Zielproteinen festzustellen sollen Dockingstudien an Kristallstrukturen von EGFR und IGF-1R

---

durchgeführt werden. Außerdem sollen so die anhand der  $IC_{50}$ -Werte gefundenen Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR) erklärt werden.

Das *National Cancer Institute* (NCI) in den USA führt ein Screening zur Identifizierung potenzieller Wirkstoffkandidaten für die Krebstherapie durch. Die Auswahl über zu testende Substanzen wird dort nach internen Kriterien getroffen. Verbindungen mit vielversprechenden  $IC_{50}$ -Werten sollen dem NCI zur Testung vorgestellt werden. Erhaltene Ergebnisse sollen im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet werden.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Synthesen

#### 3.1.1 Synthese von 6-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen

##### Syntheseplanung

Zur Weiterentwicklung der von KRUG dargestellten Strukturen soll mit der Derivatisierung der 6-Position des 1-Aza-9-oxafluorengrundkörpers begonnen werden. Die Einführung von hydrophilen funktionellen Gruppen in dieser Position sollte sich günstig auf die physikochemischen Eigenschaften der Verbindungen auswirken [41] (siehe dazu 1.6, Seite 24).

Durch die *para*-Stellung der 6-Position zum Furan-Sauerstoff ist ein elektrophiler Angriff begünstigt. In vorangegangener Arbeit überprüfte KRUG bereits die Nitrierung dieser Position sowie die anschließende Umsetzung des 4-Chlor-substituierten Grundkörpers mit Benzylamin [41]. Es war also naheliegend, dieser Syntheseroute zu folgen.

Der Aufbau des Grundkörpers nach der von COCKER *et al* [44] beschriebenen Variante geht vom 2-Chlor-3-nitropyridin **1** aus. Nach nukleophiler Substitution des Chloratoms durch Phenolat erfolgt die Reduktion der Nitrogruppe von **2** zum entsprechenden Amin **3**. Die Zyklisierung erfolgt analog der von PSCHORR [45] entwickelten Methode zur Arylverknüpfung: Das Amin wird *in situ* zum Diazoniumsalz umgesetzt. Dieses bindet, über einen radikalischen Mechanismus, mit einem Kohlenstoffatom in *ortho*-Stellung des Phenoleters. An Position 4 des so gebildeten 1-Aza-9-oxafluorens **4** ist eine Abgangsgruppe für die spätere Umsetzung mit Benzylaminen nötig. Oxidation des Pyridin-Stickstoffs führt zu **5** und dirigiert die nachfolgende Chlorierung in die *para*-Position zu **6**. Die Nitrogruppe wird durch elektrophile Substitution an Position 6 des aromatischen Systems eingeführt **7**. Die geplante Reaktionsabfolge ist in Abbildung 3.1 dargestellt.

Für die Aktivität als RTK-Inhibitor ist ein voluminöser hydrophober Rest an Position 4 des erhaltenen Moleküls **7** essenziell. Dieser okkupiert bei Bindung am Target die hydrophobe Region der ATP-Bindungstasche. In vorangegangener Arbeit erwiesen sich verschieden substituierte Benzylamine als geeignet. Das Substitutionsmuster hat entscheidenden Einfluss auf die Aktivität und Selektivität der Verbindungen, was auf die Größe der hydrophoben Tasche und die Gatekeeper-Aminosäure der jeweiligen Kinase zurückzuführen ist [42] (siehe hierzu 1.6, Seite 24).



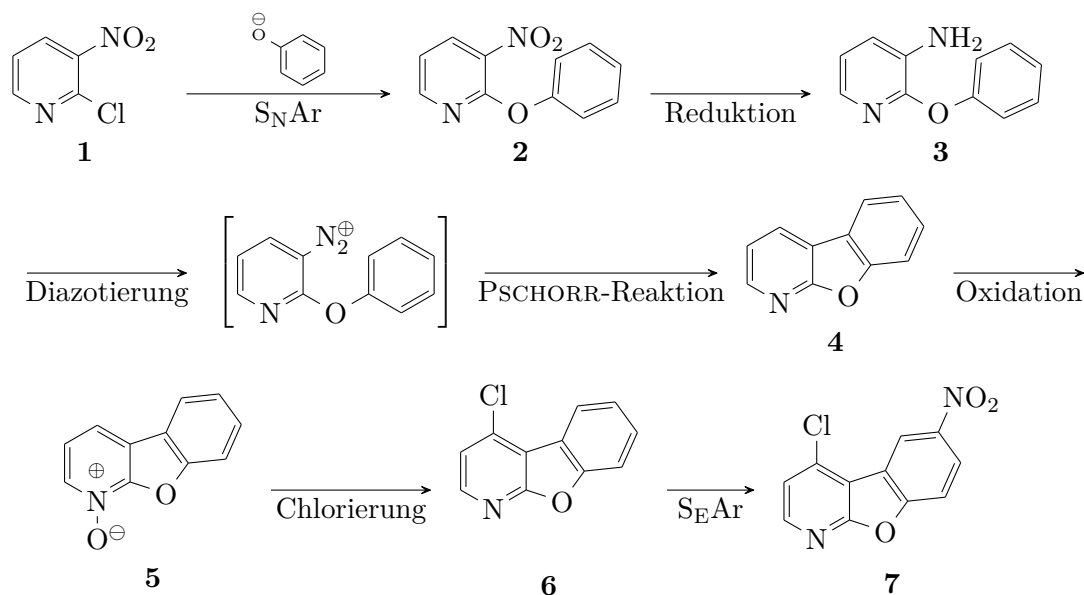


Abbildung 3.1: Geplanter Syntheseweg zur Darstellung von 4-Chlor-6-nitro-1-aza-9-oxafluoren

In vorherigen Experimenten war eine 4'-Methoxy- bzw. 3'- oder 4'-Chlorfunktion am Benzylaminring günstig um EGFR bzw. IGF-1R zu adressieren [42]. Darauf aufbauend erfolgt die Auswahl der Reaktanten: Substituenten sollen sich an Position 3' oder 4' des Aromaten befinden, überwiegend hydrophober Natur sein und Wasserstoffbrückendonator bzw. -akzeptorfunktion haben. Des Weiteren müssen die infrage kommenden Verbindungen entweder kommerziell erhältlich oder synthetisch zugänglich sein, Stabilität in den gewählten Reaktionsbedingungen besitzen und letztendlich gegenüber der abschließenden  $S_NAr$ -Reaktion (siehe Abbildung 3.2) inert sein.

Um eventuell mögliche zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen in der hydrophoben Region auszubilden, wurden Methoxyfunktionen als H-Brückenakzeptoren und Aminofunktionen als H-Brückendonatoren ausgewählt. Die aromatischen Amine sollten weitaus geringer nukleophil als das aliphatische Amin sein und bei der  $S_NAr$ -Reaktion nicht zu Nebenprodukten führen. Unterschiedlich große Halogene sowie eine Nitrogruppe sollen den verfügbaren Raum in der hydrophoben Tasche ausloten. Um die Interaktion mit der Gatekeeper-Aminosäure zu untersuchen wird außerdem  $\alpha$ -Methylbenzylamin gewählt. Eine Übersicht aller Benzylamine liefert Tabelle 3.1.

Die Bindung des Benzylamins an Position 4 von **7** sollte nach [41] durch nukleophile aromatische Substitution möglich sein. Der Pyridinstickstoff sorgt für eine positive Teilladung an der anvisierten Position und Chlorid fungiert als gute Abgangsgruppe

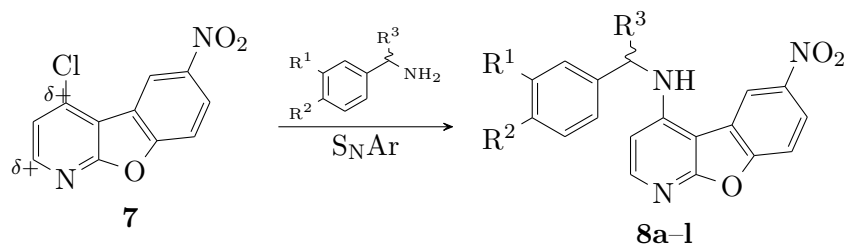


Abbildung 3.2: Umsetzung von 4-Chlor-6-nitro-1-aza-9-oxafluorenen mit verschiedenen substituierten Benzylaminen

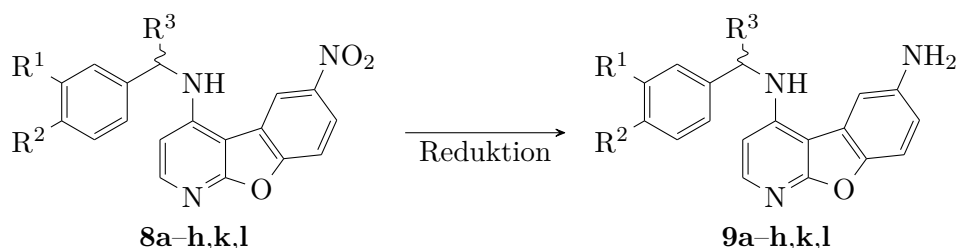


Abbildung 3.3: Reduktion der Nitrogruppe an Position 6 führt zu den analogen Aminoderivaten als weitere Testreihe der 1-Aza-9-oxafluorene.

(Abbildung 3.2).

Da die so erhaltenen Verbindungen als große organische Moleküle vermutlich schlecht wasserlöslich sind, soll diese Eigenschaft in einem weiteren Schritt verbessert werden. Die Affinität und Selektivität am Target sollen dabei möglichst nicht beeinflusst werden. Auch hierfür bietet sich die 6-Position an, da diese, wie bei den meisten bisher durchgeführten Dockingstudien gezeigt [41, 42], in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region am Eingang der Bindungstasche orientiert sein sollte. Reduktion der Nitrogruppe zum Amin (vgl. Abbildung 3.3) soll zu potenziell besser wasserlöslichen Verbindungen führen und bietet zudem eine gute Möglichkeit zu vielfältigen weiteren Derivatisierungen [41], sollten solche von Interesse sein. Alle Vertreter der Testreihe **8a-l** sollen so umgesetzt eine weitere analoge Reihe **9a-l** liefern.

Besondere Aufmerksamkeit muss hier den Verbindungen **8i** und **8j** gelten. Die Reduktion würde unselektiv an beiden Nitrogruppen erfolgen und genauso wie die Hydrierung der Aminobenzylamin-substituierten Verbindungen zu den Derivaten **9a** und **9b** führen. Deshalb soll ausprobiert werden, ob die Umsetzung mit 3- oder 4-Nitrobenzylamin auch nach vorheriger Reduktion der Nitrogruppe der Ausgangsverbindung **7** möglich ist, um die gewünschten Derivate **9i** und **9j** zugänglich zu machen. Abbildung 3.4 stellt dies beispielhaft für die Verbindung **9i** dar. Alle ge-

planten Derivate der Testreihe sind in Tabelle 3.1 gelistet.

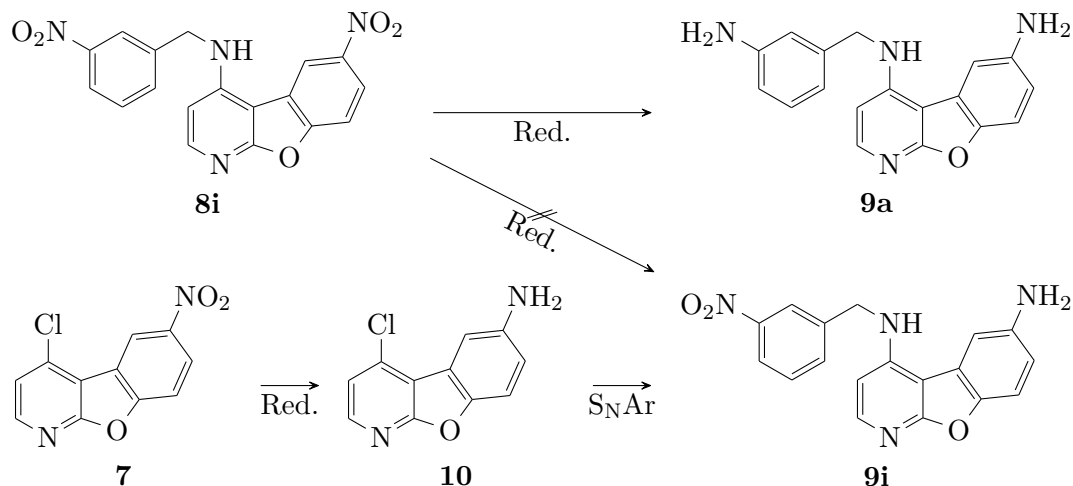


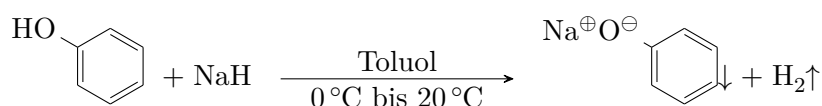
Abbildung 3.4: Gesonderte Syntheseroute für Verbindungen mit Nitrogruppe am Benzylamin-Substituenten und Aminofunktion in Position 6 des Grundkörpers

Verbindung		Substitution			zur Synthese verw. Nukleophil
6-NO <sub>2</sub>	6-NH <sub>2</sub>	-R <sup>1</sup>	-R <sup>2</sup>	-R <sup>3</sup>	
8a	9a	-NH <sub>2</sub>	-H	-H	3-Aminobenzylamin
8b	9b	-H	-NH <sub>2</sub>	-H	4-Aminobenzylamin
8c	9c	-Br	-H	-H	3-Brombenzylamin
8d	9d	-H	-Br	-H	4-Brombenzylamin
8e	9e	-Cl	-H	-H	3-Chlorbenzylamin
8f	9f	-H	-Cl	-H	4-Chlorbenzylamin
8g	9g	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H	3-Methoxybenzylamin
8h	9h	-H	-OCH <sub>3</sub>	-H	4-Methoxybenzylamin
8i	9i	-NO <sub>2</sub>	-H	-H	3-Nitrobenzylamin
8j	9j	-H	-NO <sub>2</sub>	-H	4-Nitrobenzylamin
8k	9k	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	( <i>R</i> )-(+)- $\alpha$ -Methylbenzylamin
8l	9l	-H	-H	..CH <sub>3</sub>	( <i>S</i> )-(-)- $\alpha$ -Methylbenzylamin

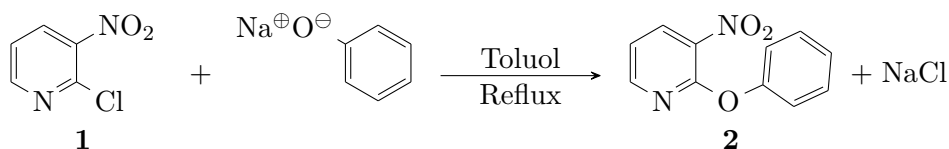
Tabelle 3.1: Übersicht über die geplanten Derivate in den Testreihen der 6-Nitro- und 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene.

### Synthese des 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörpers

Die Darstellung von **2** (s. u.) gelang in guter Ausbeute von 89%. Die Bildung des Produktes folgt dem Mechanismus einer  $S_NAr$ -Reaktion. Als Nukleophil fungiert Phenolat, welches *in situ* erzeugt wurde. Dazu wurde Phenol in Lösung durch Natriumhydrid reaktiv deprotoniert. Als Lösungsmittel wurde Toluol gewählt, da es bei dieser Reaktion inert ist und mit einem Siedepunkt von 111 °C im direkten Folgeschritt eine ausreichend hohe Temperatur für die Substitutionsreaktion gewährleisten kann. Um Nebenreaktionen mit Wasser auszuschließen, wurde das Toluol destilliert und unter Schutzgas gearbeitet. Der Reaktionsverlauf war organoleptisch gut zu verfolgen, da Natriumphenolat als Salz im unpolaren Lösungsmittel einen weißen Niederschlag bildete und entstehender Wasserstoff über ein Blasenzählrohr sichtbar gemacht werden konnte. Um plötzliches Aufschäumen zu vermeiden wurde das Hydrid bei erniedrigter Temperatur zugegeben, die Reaktionstemperatur dann auf Raumtemperatur angehoben. Die Gasentwicklung war, auch bei unterschiedlich großen Ansätzen, schon nach weniger als zwei Stunden beendet.

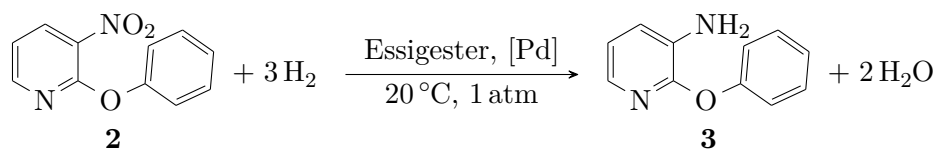


Die Kopplung an 2-Chlor-3-nitropyridin **1** folgte im direkten Anschluss. Sie geschah selektiv an Position 2, da diese durch den doppelten Elektronenzug der Nitrogruppe und des Pyridin-Stickstoffes am stärksten aktiviert ist und zudem ein Chloratom als Abgangsgruppe trägt. Dadurch waren ca. 110 °C in siedendem Toluol ausreichend für eine komplette Umsetzung der recht großen verwendeten Mengen innerhalb von etwa sechs Stunden.



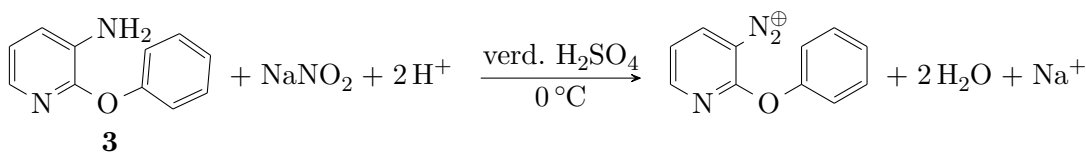
Überschüssiges Hydrid wurde vorsichtig mit Wasser entstört. Polare Nebenprodukte wurden durch Extraktion abgetrennt. Dabei wurde Ether als Extraktionsmittel verwendet, um eine besser flüchtige organische Phase zur Entfernung des Lösungsmittels mit dem Rotationsverdampfer zu erhalten. Zu erwähnen ist hier, dass Paraffin, welches dem Natriumhydridreagenz zur Stabilisierung zugesetzt ist, bei der Extraktion in das Produkt verschleppt wurde. Dies war deutlich im Kernspinresonanz (NMR)-Spektrum zu erkennen. Da Paraffin als gesättigter Kohlenwasserstoff chemisch völlig inert ist und bei der Aufreinigung der Produkte von Folgereaktionen entfernt werden sollte, wurden keine Versuche unternommen die Substanz abzutrennen.

Die Hydrierung der Nitrogruppe funktionierte unkompliziert bei Normdruck und Raumtemperatur mit quantitativer Ausbeute, frei von Nebenprodukten. Als Katalysator wurde Palladium auf Aktivkohle verwendet, als Lösungsmittel Essigester. Die Reaktion wurde unter Ausschluss von Licht durchgeführt. Die Reaktionszeit zeigte sich von der Ansatzgröße unabhängig und betrug 12 h bis 24 h.



Die Partikel des Katalysators erwiesen sich als zu fein, als dass sie mit Filterpapier oder Porzellanfritten hätten abgetrennt werden können. Nach Filtration durch Kieselgel in einer kurzen Chromatographiesäule waren jedoch keine sichtbaren Partikel mehr enthalten. Das nach Entfernen des Lösungsmittels erhaltene Produkt zeigte sich photoinstabil, da es sich auf der Dünnschichtchromatographie (DC)-Platte unter UV-Licht rasch bräunlich-rot verfärbte, und hygroskopisch. Durch Lagerung im Gefrierschrank bei  $-30^\circ\text{C}$  im Dunkeln war es jedoch über Tage und Wochen stabil.

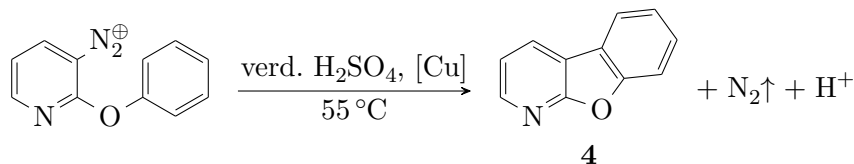
Aus der Aminofunktion an Position 3 wird durch Eintropfen von Natriumnitritlösung unter Kühlung in schwefelsaurer Lösung das Diazoniumsalz gebildet.



Dieser Schritt ist ein wesentlich limitierender Faktor bezüglich der Gesamtausbeute der ganzen Syntheseroute. Die Löslichkeit von **3** im wässrig sauren System ist begrenzt, alternativ führt die Verwendung von organischen Systemen jedoch nicht zum gewünschten Produkt [41]. Diazotierungen von aromatischen Aminen sind idealerweise in Lösung durchzuführen, durch die bessere Löslichkeit des polaren Produktes jedoch auch in Suspension möglich. Bedingung ist, dass der Feststoff möglichst fein suspendiert ist und stark durchmischt wird [46]. Um dies zu gewährleisten wurde zunächst eine Lösung von **3** in einer kleinen Menge Aceton hergestellt und diese dann unter intensivem Rühren in die leicht erwärmte verdünnte Schwefelsäure getropft. So wurde die Präzipitation von **3** in feinen Partikeln erreicht. Der Ansatz wurde rasch auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt und Natriumhydridlösung möglichst langsam zugegeben. Die Bildung des Diazoniumsalzes war durch Verfärben der Reaktionsflüssigkeit von gelblich nach tiefrot gut ersichtlich. Da die Reaktion über einige Zwischenschritte langsam verläuft wurde nach beendeter Zugabe weiter intensiv gerührt.

Nach 45 min wurde Kupferpulver zugegeben und auf  $55^\circ\text{C}$  erwärmt. Der Reaktionsverlauf konnte durch den entstehenden Stickstoff mithilfe eines Blasen Zählers

verfolgt werden. Die Reaktion zeigte sich stets nach weniger als zwei Stunden beendet.

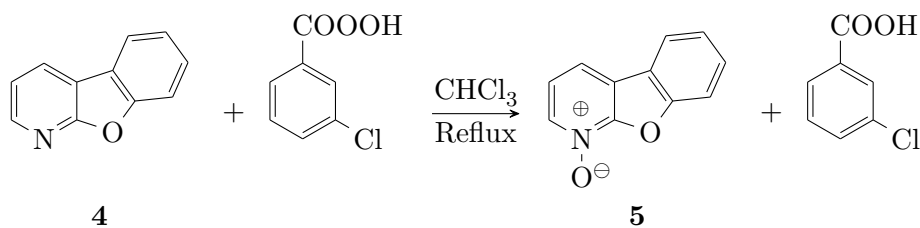


Die PSCHORR-Reaktion bildet durch Aufbau einer kovalenten C-C-Bindung zwischen den beiden Aromaten den 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörper. Sie mag in ihrer Durchführung zunächst eigenartig wirken. Tatsächlich wurden seinerzeit jedoch zahlreiche Reaktionen erforscht, die z. B. ausgehend von Diazoniumsalzen über Abspaltung von Stickstoff und intermediärer Radikalbildung die Ausbildung von kovalenten Bindungen zu aromatischen Ringsystemen bewirken. Ohne Anspruch auf Vollständigkeit seien hier nur beispielhaft die Synthese von Diphensäure nach VORLÄNDER und MEYER [47], die GOMBERG-BACHMANN-Reaktion [48], die ULLMANN-Kopplung [49] oder die SANDMEYER-Reaktion [50] genannt. All diese Reaktionen haben ihre Unterschiede, ähneln sich aber hinsichtlich der verwendeten Edukte oder entstehenden Produkte sowie in der Katalyse. Reaktionsmechanismen finden sich in der Literatur [51, 52], sind nur zum Teil nachgewiesen, mitunter widersprüchlich und vermutlich vielschichtig. Allen gemeinsam ist ein radikalischer Ablauf. Dies lässt bereits vermuten, dass bei der Reaktion mit hoher Wahrscheinlichkeit Nebenprodukte entstehen werden.

4 ist per DC gut zu erkennen, da es auf der noch feuchten Platte unter UV-Licht blau fluoresziert. Wie erwartet wurden weitere unspezifische Produkte detektiert, von denen jedoch keines sauber isoliert und charakterisiert werden konnte. Das Hauptprodukt selbst wurde durch organische Extraktion und Aufreinigung per Säulenchromatographie in ausreichender Ausbeute von etwa 20 % gewonnen. Die in der Literatur beschriebenen Ausbeuten von über 30 % [44] konnten mit dieser Methode nicht reproduziert werden.

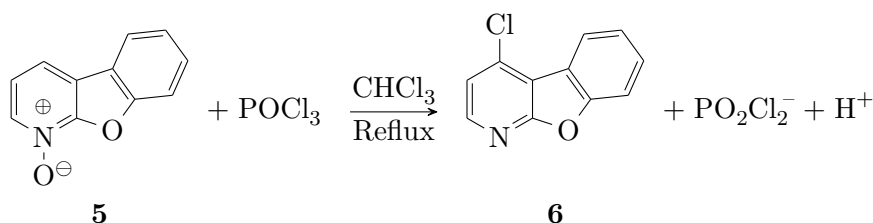
#### Synthese des 4-Chlor-1-aza-9-oxafluorens

Der Pyridin-Stickstoff wurde durch *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) zum Pyridin-*N*-oxid oxidiert. Die Reaktion lief innerhalb von neun Stunden in siedendem Chloroform mit einer Ausbeute von 82 %.



Bei der Extraktion wurde überschüssige *m*-CPBA und durch die Umsetzung entstandene 3-Chlorbenzoesäure in die Chloroformphase verschleppt. Dies war nicht überraschend, die berechneten  $\log P$ -Werte der Verbindungen liegen bei 2,4 bzw. 2,7 [53]. Die Abtrennung gelang durch Wiederaufnahme des Substanzgemisches in einer kleinen Menge erwärmten Chloroform und langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur. Die aromatischen Säuren kristallisierten vollständig. Zur chemischen Handhabung von Pyridin-*N*-oxiden sei gesagt, dass sie sich eher als polare Substanzen verhalten, erkennbar am enthaltenen Dipol.

Die Chlorierung an Position 4 funktionierte mit Phosphoroxychlorid als Chlorierungsreagenz innerhalb von 3,5 h mit guter Ausbeute von 69 %. Das Reagenz wurde dazu zunächst unter Kühlung eingetropft und das Gemisch anschließend zum Sieden erhitzt. Die Desoxygenierung erfolgte simultan.



In vorangegangenen Experimenten war bei einem geringen Anteil des Produktes eine Chlorierung an Position 2 nachweisbar. Dies wird im  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum ersichtlich: Die Kopplungskonstante der Dubletts von den Protonen an Position 3 und 4 sollte, bei ähnlicher chemischer Verschiebung, ca. 8,0 Hz betragen [41]. Die Dubletts der Protonen an Position 2 und 3, bei Chlorierung an der angestrebten 4-Position erscheinen bei  $\sigma=8,34$  ppm und  $\sigma=7,34$  ppm und koppeln mit 5,4 Hz.

Nach Extraktion mit Chloroform und säulenchromatographischer Reinigung zeigte sich **6** überraschenderweise frei von Nebenprodukten. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich in der Durchführung der Säulenchromatographie. Per DC war direkt unter dem fluoreszierenden Spot von **6** eine weitere, ebenfalls fluoreszierende Verbindung von geringerer Menge detektierbar. In der Säule konnte diese vollständig vom Hauptprodukt abgetrennt werden. Bei der Substanz handelte es sich um das an Position 2 chlorierte Nebenprodukt **34**. Die Strukturaufklärung der Verbindung aus dem Reaktionsgemisch gelang aufgrund der geringen Menge nicht. Sie wurde jedoch im Verlauf dieser Arbeit regioselektiv synthetisiert (siehe dazu 3.1.3, Seite 65). Das gemessene  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum soll bereits hier zum Vergleich herangezogen werden (Abbildung 3.5).

Der Mechanismus der Reaktion (siehe Abbildung 3.6) ist zu Beginn ähnlich dem initialen Schritt der VILSMEIER-HAACK-Reaktion: Zunächst bindet das nukleophile N-Oxid an das partiell positive Zentrum des Phosphorylchlorides. Das elektronische System im Pyridin wird davon beeinflusst. Für einen nukleophilen Angriff aktiviert werden die Positionen 2 und 4. An diese bindet ein frei werdendes Chlorid. Unter

### 3 Ergebnisse und Diskussion

Abstraktion eines Protons erfolgen Rearomatisierung und Desoxygenierung [54]. Die Chlorierung an Position 4 ist dabei deutlich begünstigt.

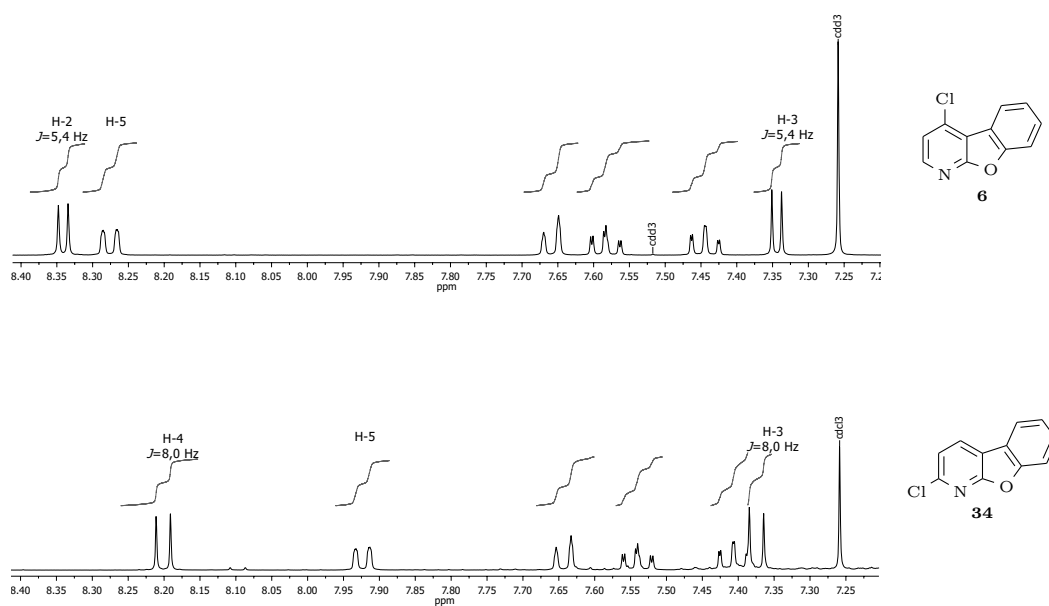


Abbildung 3.5:  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum von **6** in  $\text{CDCl}_3$  bei  $f=400$  MHz. Das Spektrum von **34** ist zum Vergleich darunter abgebildet. Eine Verunreinigung der oberen Substanz ist nicht ersichtlich. Detaillierte Spektreninterpretation findet sich in 6.2.1 bzw. 6.4.2. Gut zu erkennen ist die unterschiedliche Entschirmung von H-5 durch den  $-I$ -Effekt der Chlorfunktion.



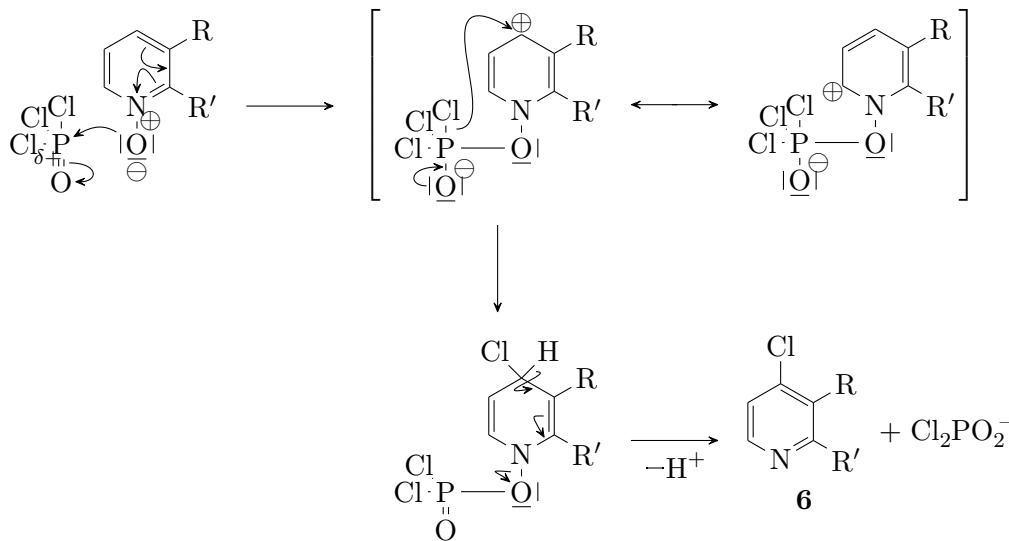


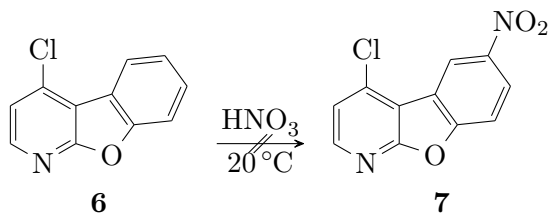
Abbildung 3.6: Reaktionsmechanismus der Chlorierung mit Phosphoroylchlorid. Dargestellt ist nur der Pyridinring des 1-Aza-9-oxafluorens, das weitere Ringsystem ist als Rest gekennzeichnet.

### Synthese des 4-Chlor-6-nitro-1-aza-9-oxafluorens

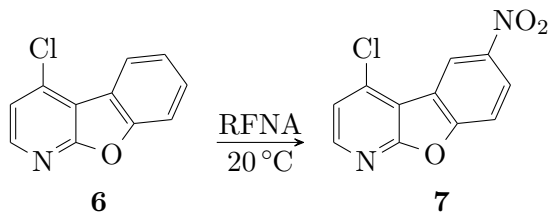
Die Nitrierung von **6** sollte nach der Methode von KRUG [41] mit roter rauchender Salpetersäure (RFNA) möglich sein. Um die Reaktivität des Ringsystems abzuschätzen wurden außerdem Nitrierungen mit Salpetersäure und Nitriersäure ausprobiert.

Die Literatur [46] teilt aromatische Systeme gegenüber der Nitrierung in reaktionsträge, mittel reaktiv und reaktionsfähig ein. Während reaktionsfähige Aromaten bereits von verdünnter Salpetersäure nitriert werden, ist bei reaktionsträgen Aromaten ein Gemisch aus rauchender Salpetersäure (ab einer Konzentration an HNO<sub>3</sub> von über 65% (*m/m*)) und Schwefelsäure nötig. Ausschlaggebend für die Reaktivität ist die Elektronendichte im Aromaten, welche von den elektronischen Effekten vorhandener Substituenten abhängig ist. Bei einer Nitrierung handelt es sich um eine S<sub>E</sub>Ar-Reaktion, als Elektrophil fungiert dabei das Nitroniumion. Da eine Nitrogruppe die Elektronendichte am Aromaten senkt, ist die Nitrierung selbst limitierend.

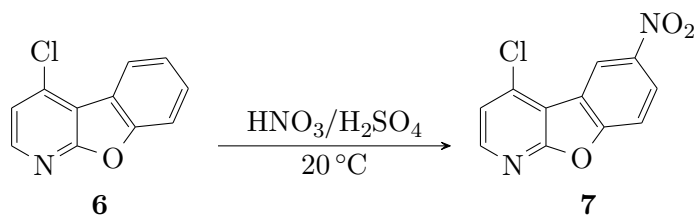
Bei Nitrierung mit konzentrierter Salpetersäure könnte nach einer Stunde keine Umsetzung beobachtet werden.



RFNA ist ein Gemisch aus 84 % Salpetersäure, 13 % Distickstofftetroxid und 3 % Wasser (*m/m/m*). Damit erfolgte die Nitrierung innerhalb von drei Stunden mit quantitativer Ausbeute. **6** wurde unter Kühlung im Eisbad zugegeben und das Gemisch nach beendeter Zugabe bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde durch Verdünnen des Reaktionsansatzes ausgefällt.



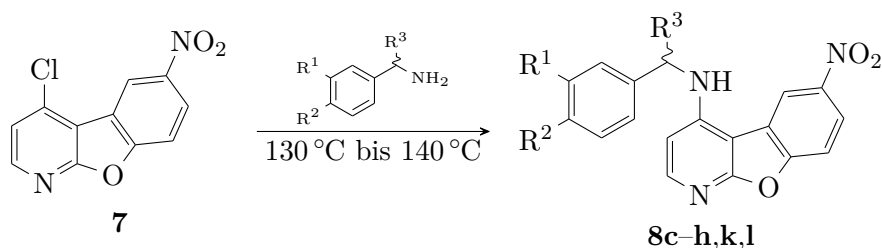
Nitriersäure ist ein Gemisch aus Salpetersäure und Schwefelsäure. Durch die darin herrschenden extrem sauren Bedingungen wird das Gleichgewicht auf die Seite des Nitryl-Kations verschoben, was die Nitrierung begünstigt. Das Mischungsverhältnis kann dabei der Reaktivität des Eduktes angepasst werden. Im durchgeführten Experiment wurde Nitriersäure im Verhältnis 40:60 (*n/n*) frisch hergestellt und unter Rühren und Kühlung zum Edukt **6** getropft. Die Umsetzung war nach zwei Stunden vollständig, das Produkt sauber. Es war, wie bei der Umsetzung mit RFNA, keine weitere Reinigung erforderlich.



Anhand dieser Ergebnisse kann das 4-Chlor-1-aza-9-oxafluoren als ein aromatisches System mittlerer Reaktivität eingestuft werden. Die Nitrierung erfolgte selektiv an Position 6. Eine Mehrfachnitrierung wurde nicht beobachtet. Die Herstellungsmethoden mit RFNA bzw. Nitriersäure sind hinsichtlich Ausbeute, Durchführung und Dauer praktisch gleichwertig.

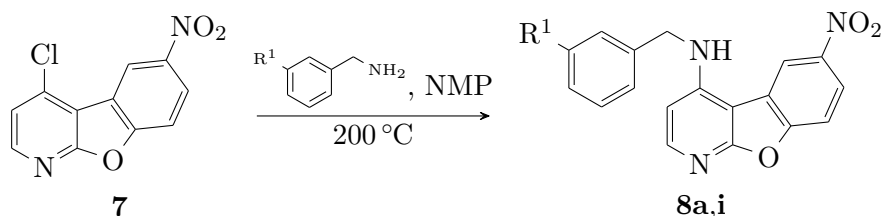
### Umsetzung des 4-Chlor-6-nitro-1-aza-9-oxafluorens mit Benzylaminen

Die Umsetzung mit den ausgewählten Benzylaminen funktionierte nach KRUG [41]. Dazu wurde das Edukt **7** in 15 Teilen Amin suspendiert und unter Schutzgas in der Wärme gerührt. Eine Reaktionstemperatur zwischen 130 °C und 140 °C erwies sich dabei als ideal. Die Reaktionszeit betrug 6 h bis 24 h.



Alle Umsetzungen dieser Art liefen wie geplant ab. Den extremen Reaktionsbedingungen ist es geschuldet, dass unspezifische Nebenprodukte entstanden, was per DC ersichtlich war. Es konnten jedoch alle Produkte mit moderatem Aufwand aufgereinigt werden. Die Ausbeuten waren für die Reaktion akzeptabel und lagen im Bereich von 10 % bis 57 %.

Lag das verwendete Amin bei Raumtemperatur nicht in flüssigem Aggregatzustand vor, wurde *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) als Lösungsmittel verwendet, was es zudem ermöglichte mit einem geringeren Überschuss an Amin (fünf Teile) zu arbeiten. Das System wurde mit dieser Methode auf 200 °C erwärmt, was die Reaktionszeit auf 6 h verkürzte. Die Ausbeuten lagen im Bereich der vorher aufgeführten Methode.



Dies funktionierte problemlos für das 3'-Aminoderivat **8a**. Eine Bindung der aromatischen 3'-Aminofunktion an Position 4 des Grundkörpers wurde, wie erwartet, nicht beobachtet. Bei der Umsetzung mit 4-Aminobenzylamin zu **8b** bildete sich während der Reaktion eine zähe Masse, als Gemisch mehrerer unspezifischer Produkte, die nicht näher charakterisiert werden konnten. **8b** konnte weder erfolgreich isoliert, noch im Gemisch nachgewiesen werden.

Da die Nitro-substituierten Benzylamine nur als Hydrochloride kommerziell erhältlich sind, wurde zunächst durch wässrig organische flüssig-flüssig Extraktion bei pH=10 die freie Base gewonnen. Diese wurde dann unverzüglich mit fünffachen Überschuss an **7** in NMP umgesetzt. Für das 3-Nitro-benzylamin funktionierte dies

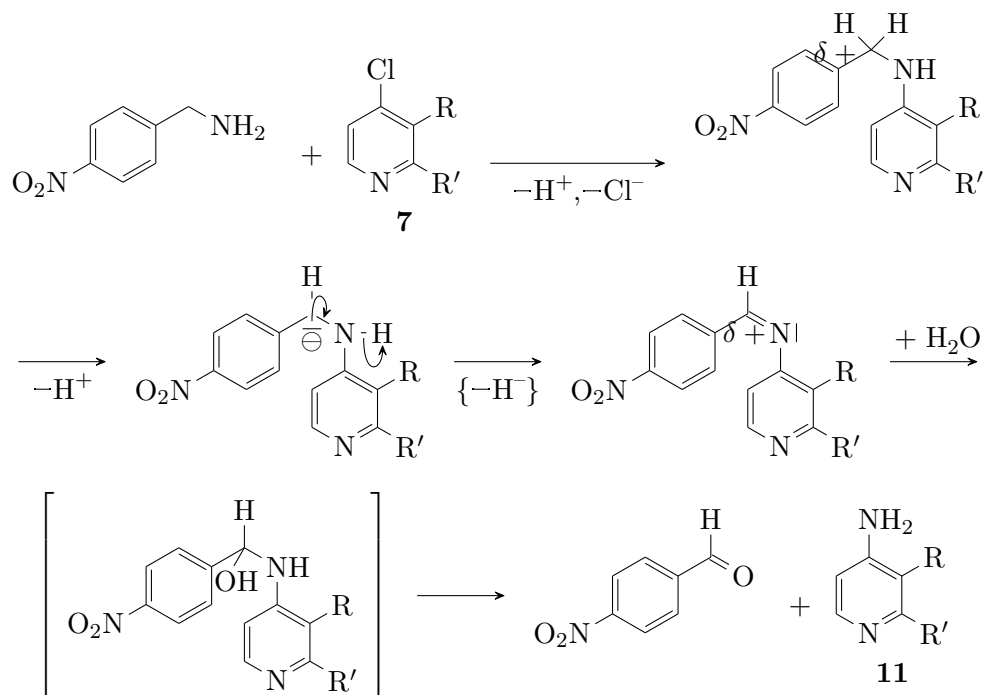


Abbildung 3.7: Reaktionsmechanismus von **7** mit 4-Nitrobenzylamin. Vom 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörper ist nur der Pyridinring dargestellt, das restliche Ringsystem ist als Rest gekennzeichnet.

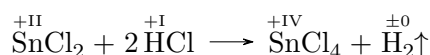
analog zu den anderen Umsetzungen. Aus 4-Nitro-benzylamin konnte bei gleicher Durchführung zwar die freie Base gewonnen werden, nach der Umsetzung in der Wärme wurde jedoch ein polares Substanzgemisch erhalten. Es war möglich daraus das 4-Amino-6-nitro-1-aza-9-oxafluoren **11** zu isolieren. Dazu kann folgender Mechanismus vermutet werden: Zunächst bindet das Amin an Position 4 des Fluorens in der erwarteten Weise. Durch den  $-M$ -Effekt der Nitrogruppe in *para*-Position ist im basischen Milieu eine Deprotonierung der Methylengruppe möglich. Dadurch wird eine Oxidation des Benzylamins zum analogen Imin, unter formaler Abspaltung von Wasserstoff begünstigt. Diese Art der Dehydrierung am Benzylamin ist bekannt, nötige Oxidationsmittel sind nicht vollständig untersucht. Im durchgeführten Experiment ist Lichteinfluss denkbar. Wasserreste, welche durch den vorangegangenen Extraktionsschritt nicht ausgeschlossen werden können, führen zur Hydrolyse und Bildung der primären aromatischen Aminstruktur von **11** und *para*-Nitrobenzaldehyd, welcher, mit im Gemisch enthaltenen Nukleophilen, abreagiert. Abbildung 3.7 stellt den beschriebenen Ablauf dar.

Um die Synthese der gewünschten Zielstruktur zu ermöglichen wurden mildere Reaktionsbedingungen gewählt: **7** wurde in 10 eq. Amin suspendiert, die Temperatur sukzessive erhöht und der Reaktionsverlauf per DC überprüft. Bis 130 °C erfolgte keine Reaktion, bei höheren Temperaturen konnte wieder die Entstehung von **11** beobachtet werden. Weitere Versuche das gewünschte Produkt zugänglich zu machen wurden nicht unternommen.

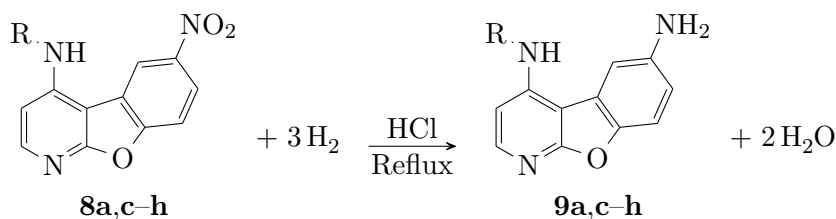
### Reduktion zu 6-Amino-1-aza-9-oxafluorenen

Die nach der Kopplung mit Benzylamin erhaltene erste Testreihe sollte an Position 6 reduziert werden. Ziel dabei war zum einen die Verbesserung der Wasserlöslichkeit der Substanzen, zum anderen könnte dadurch die Affinität zur ATP-Bindungstasche der anvisierten Kinasen verbessert werden, da diese Position, bei Bindung am Target, in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region orientiert sein sollte (siehe Abbildung 1.8).

Die Reduktion mit naszierendem Wasserstoff wurde in vorangegangener Arbeit [41] ausprobiert und soll an dieser Stelle angewendet werden. Naszierender Wasserstoff entsteht bei der Reaktion von Zinn(II)-chlorid mit verdünnter Salzsäure unter Erwärmen.



Da naszierender Wasserstoff reaktiver als Wasserstoffgas ist, ist zur Umsetzung kein Katalysator nötig. Unter Erwärmung zum Reflux zeigte sich die Reaktion in allen Fällen nach einer reichlichen Stunde abgeschlossen. Die anfänglich vorliegende Suspension bildete nach und nach eine klare Lösung, was auf bessere Wasserlöslichkeit der Verbindungen durch Entstehung des Amins hinweist.



Per DC konnten bei allen Umsetzungen geringe Mengen einer Verunreinigung detektiert werden, welche wahrscheinlich durch saure Hydrolyse entstand. Die Reinigung der Produkte war durch Umkristallisation bzw. Säulenchromatographie möglich. Die erhaltenen Ausbeuten waren in den meisten Fällen befriedigend bis gut, streuten aber insgesamt über einen Bereich von 51 % bis 96 %. Zusammenfassend sei gesagt, dass die chromatographische Aufreinigung zwar zeit- und materialintensiv ist, jedoch bei den geringen Ansatzgrößen höhere Ausbeuten ermöglichte. Die

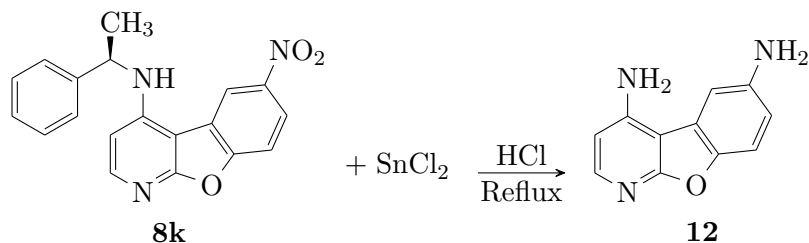
erfolgte Hydrierung zeigte sich deutlich in den  $^1\text{H}$ NMR-Spektren: Die Signale der Protonen fünf und sieben sind deutlich ins Hochfeld verschoben, da nun der Elektronenzug der Nitrogruppe wegfällt.

Bezugnehmend auf Grafik 3.4, war es von Interesse zu untersuchen, ob die Bindung des Benzylamins auch nach vorher erfolgter Reduktion der Nitrogruppe am Grundkörper möglich ist. Da es sich dabei um eine  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Reaktion handelt, sollte eine möglichst niedrige Elektronendichte im aromatischen System günstig sein. Die Aminofunktion hat im Gegensatz zur Nitrogruppe einen +M-Effekt und erhöht dadurch die Elektronendichte im gesamten Fluorensystem. Es war zu erwarten, dass die Reaktion langsamer und mit geringeren Ausbeuten abläuft. Die alternative Abfolge der Syntheseschritte wurde zunächst mit unsubstituierten Benzylamin ausprobiert, das entsprechende Produkt war **9m**. Die Zeit bis zum vollständigen Umsatz des Eduktes war mit 24 h recht lang, die Ausbeute von 1 % marginal. Es bleibt festzuhalten, dass die etablierte Syntheseabfolge zu bevorzugen ist.

**9a** sollte auf zwei Wegen synthetisch zugänglich sein, nämlich durch die Reduktion von **8a** sowie die „doppelte“ Reduktion der Nitrogruppen an Position 6 und 3' von **8i**. Beide Wege wurden ausprobiert und waren zielführend, mit ähnlichem Aufwand und Ausbeuten.

Trotz der schlechten Ergebnisse im Modellversuch mit Benzylamin wurde die Synthese von **9i** durch  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  von 3-Nitrobenzylamin an **10** versucht. Die Umsetzung bei  $200\text{ }^\circ\text{C}$  in NMP lieferte ein Gemisch zahlreicher unspezifischer, hochpolarer Nebenprodukte, welche nicht charakterisiert werden konnten und vermutlich Fragmente der Edukte waren. Daraufhin wurde die Reaktion ohne NMP durchgeführt, mit dem Amin in höherem Überschuss als Lösungsmittel. Nach dem Erreichen von  $130\text{ }^\circ\text{C}$  erfolgte die Umsetzung des Eduktes, die nach 24 h vollständig war. Die Isolierung des Produktes **9i** gelang nicht, es wurde auch hier eine Fragmentierung festgestellt. Offensichtlich macht der Elektronenzug der Nitrogruppe am Benzylamin die ohnehin schon schwer verlaufende  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Reaktion gänzlich unmöglich. Weitere Syntheseveruche wurden nicht unternommen. Abbildung 3.8 soll die beschriebenen Durchführungen verbildlichen.

Bei der Reduktion von **8k**, nach der oben beschriebenen Methode wurde statt des gewünschten Produktes **9k** die Einführung einer primären Aminofunktion an Position 4 beobachtet.



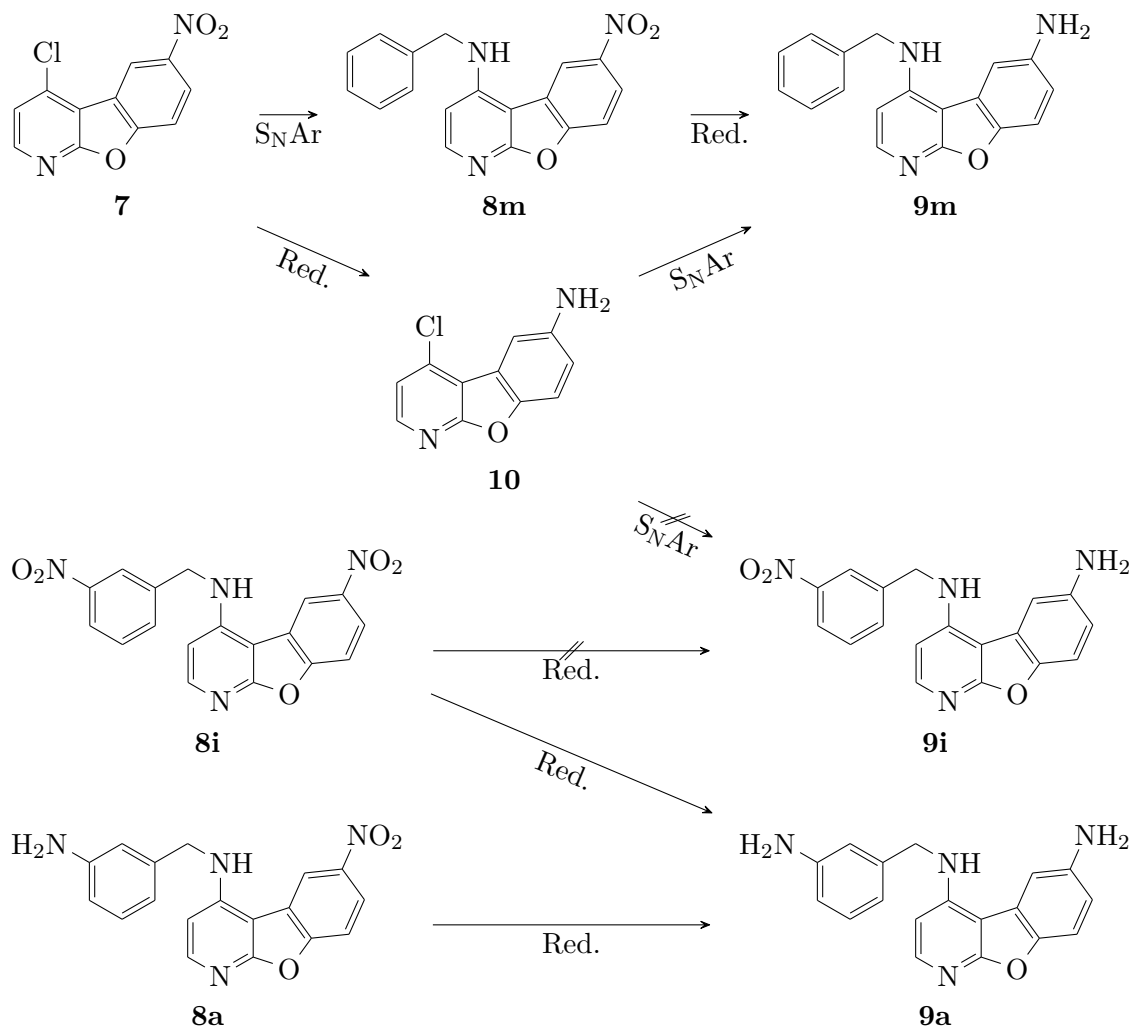


Abbildung 3.8: Schema zur Darstellung des Vorgehens bei der Synthese der 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene. Die obere Zeile entspricht der etablierten Abfolge nach [41]. Die Synthese von **9m** gelang auch in umgekehrter Reihenfolge durch Reduktion und anschließende Kopplung mit Benzylamin, jedoch mit geringer Ausbeute. Eine Darstellung von **9i** auf die gleiche Weise war nicht möglich. **9a** ist durch Reduktion von **8i** oder **8a** gleichermaßen zugänglich.

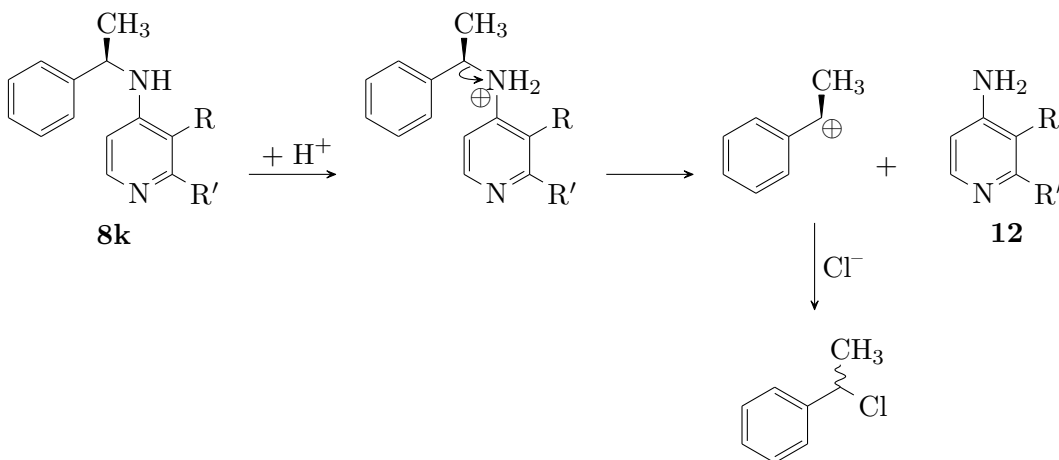
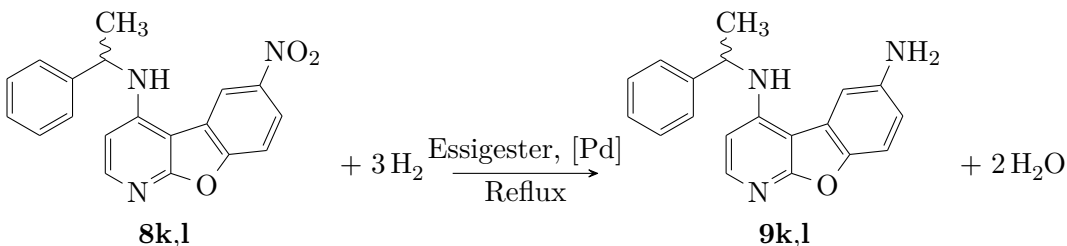


Abbildung 3.9: Bindungsbruch in **8k**: Der 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörper ist als Rest dargestellt. Das aromatische Amin, eine schwache Base, kann sauer katalysiert als Abgangsgruppe zur Bildung eines Carbeniumions führen. An dieses wird nach  $S_N1$  ein Nukleophil (hier Chlorid) substituiert.

Die Verbindung unterscheidet sich von den bisherigen im Wesentlichen durch ein tertiäres  $\alpha$ -Kohlenstoffatom. Unter den eingesetzten sauren Bedingungen wird dadurch ein Bindungsbruch nach  $S_N1$  durch Bildung eines intermediären Carbeniumions wahrscheinlich. So entsteht die isolierte Verbindung **12**, während das Carbokation mit einem Nukleophil abreagiert (siehe Abbildung 3.9).

Um die gewünschten Produkte **9k** und **9l** synthetisieren zu können, ist demnach ein saures Milieu und Hitze zu vermeiden. Die Synthese gelang durch katalytische Hydrierung mit Wasserstoffgas bei Normdruck. Die Reaktionszeit dafür betrug etwa einen Tag, die Ausbeuten dieser Methode waren mit jeweils ca. 30% deutlich schlechter.



Alle 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene zeigten sich in Lösung und unter UV-Licht instabil. Sie wurden deshalb als Feststoff im Gefrierschrank gelagert. Stichproben zeigten keine Zersetzung der Verbindungen unter diesen Bedingungen.



Tabelle 3.2 soll als Übersicht über die beiden Testreihen der 6-Nitro- und 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene dienen.

Verbindung		Substitutionsmuster		
6-NO <sub>2</sub>	6-NH <sub>2</sub>	3'-R	4'-R	α-R
<b>8a</b>	<b>9a</b>	-NH <sub>2</sub>	-H	-H
-	-	-H	-NH <sub>2</sub>	-H
<b>8c</b>	<b>9c</b>	-Br	-H	-H
<b>8d</b>	<b>9d</b>	-H	-Br	-H
<b>8e</b>	<b>9e</b>	-Cl	-H	-H
<b>8f</b>	<b>9f</b>	-H	-Cl	-H
<b>8g</b>	<b>9g</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H
<b>8h</b>	<b>9h</b>	-H	-OCH <sub>3</sub>	-H
<b>8i</b>	-	-NO <sub>2</sub>	-H	-H
-	-	-H	-NO <sub>2</sub>	-H
<b>8k</b>	<b>9k</b>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>
<b>8l</b>	<b>9l</b>	-H	-H	... CH <sub>3</sub>

Tabelle 3.2: Übersicht über die synthetisierten Derivate der Testreihen der 6-Nitro- und 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene.

### 3.1.2 Synthese von 6-substituierten $\alpha$ -Carbolinen

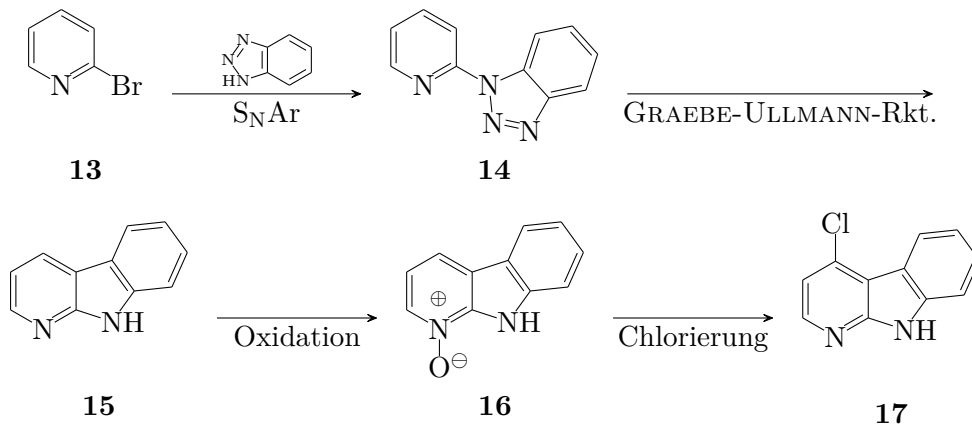
#### Syntheseplanung

Die 6-substituierten 1-Aza-9-oxafluorene des ersten Entwicklungszyklus zeigten nur moderate Aktivität am Targetprotein (siehe 3.2.1, Seite 78). Setzt man den unter 1.6 (Seite 24) beschriebenen Bindungsmodus voraus, könnte die Aktivität durch eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zur Hinge-Region entscheidend verbessert werden. Durch einen H-Donor an Position 9 kann diese Bindung aufgebaut werden. Entsprechendes wurde in vorangegangener Arbeit erforscht [41]. Praktisch muss der Furan-Sauerstoff formal gegen eine NH-Funktion ausgetauscht werden. Der entstehende Trizyklus wird als  $\alpha$ -Carbolin bezeichnet.

Der Aufbau des unsubstituierten  $\alpha$ -Carbolin Grundkörpers ausgehend von 2-Brompyridin **13** baut auf den Erkenntnissen von PECZYŃSKA-CZOCH *et al* [55, 56] auf und wurde in unserer Arbeitsgruppe von KRUG etabliert [41]. Die Methode ist gegenüber der Herstellung der 1-Aza-9-oxafluorene (vgl. 3.1.1 Seite 28) deutlich vereinfacht, da die Schritte der Reduktion und Diazotierung entfallen. Nach der nukleophilen Substitution des Bromatoms durch 1*H*-Benzotriazol zu **14** erfolgt der Ringschluss durch eine modifizierte GRAEBE-ULLMANN-Reaktion: Nach Abspaltung von Stickstoff bindet das Kohlenstoffatom 3a des 1*H*-Benzotriazols über einen radikalischen Mechanismus an Position 3 des Pyridinrings [57] und formt **15**. Danach folgen in gewohnter Weise die N-Oxidation zu **16** mit anschließender *para*-Chlorierung zu **17**. Abbildung 3.10 stellt den Synthesepfad bildlich dar.

Es sollen den Verbindungen des ersten Entwicklungszyklus analoge 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline dargestellt werden. Die erfolgreichsten Substituenten an Position 4 aus der Testung der 1-Aza-9-oxafluorene sollen beibehalten werden: 3'-Brom-, 3'-Chlor- und 3'-Methoxybenzylamin (siehe dazu 3.2.1, Seite 78). Zusätzlich sollen die jeweiligen Derivate ohne Substituenten am Benzylamin synthetisiert werden. Das Syntheschema findet sich in Abbildung 3.11, eine Übersicht über alle geplanten Derivate in Tabelle 3.3.

Um darüber hinaus weitere aktive Verbindungen zu finden, kann analog der Nitrierung über eine  $S_EAr$ -Reaktion ein Bromsubstituent in den unsubstituierten Grundkörper eingeführt werden. Aus den so erhaltenen Verbindungen sind über die ROSEN-MUND-VON-BRAUN-Reaktion [52] die analogen 6-Cyanoderivate zugänglich, welche weitere Derivatisierungsmöglichkeiten eröffnen z. B. die Hydrolyse zur Carbonsäure. Auch hier ist zu erwarten, dass hydrophobe Substituenten an Position 6 für die Aktivität am Target eher ungünstig sind (vgl. 1.6, Seite 24). Die Herstellung der 6-Bromderivate ist daher als Zwischenschritt zu sehen, der weitere hydrophilere Verbindungen ermöglicht. Die Synthese der 6-Brom- und 6-Cyano- $\alpha$ -carboline wurde in vorangegangener Arbeit [41, 58] erprobt und soll hier nachvollzogen werden. Erfolgreich synthetisierte Derivate sollen zu 6-Carboxy- $\alpha$ -carbolinen hydrolysiert werden.

Abbildung 3.10: Geplanter Syntheseweg zur Darstellung von 4-Chlor- $\alpha$ -Carbolin

Der 4-Substituent soll auch in diesen Testreihen variiert werden. Da aromatisch gebundenes Halogen gegenüber der Cyanidierung nicht inert ist, fallen einige vielversprechende Substitutionen am Benzylaminring auf dieser Stufe weg. Um dennoch eine gewisse Bandbreite an Derivaten bereitzuhalten werden nahezu alle Benzylamine der ersten Versuchsreihe, welche sich in der Synthese erfolgreich verarbeiten ließen, beibehalten. Verzichtet wird auf die  $\alpha$ -Methyl-substituierten Benzylamine, da die entsprechenden 1-Aza-9-oxafluorene keine gute Aktivität am Target zeigten und da die entstehenden Zielverbindungen im weiteren Verlauf der Synthese, wie oben beschrieben, unter den sauren Bedingungen der Cyanidierung nicht stabil sind. Zudem wird auf Nitrobenzylamin verzichtet, aufgrund der schlechten Handhabbarkeit im vorangegangenen Entwicklungszyklus. Zusätzlich wird mit 4-Methylbenzylamin und unsubstituierten Benzylamin umgesetzt. Das Reaktionsschema findet sich in Abbildung 3.12, eine Übersicht der umgesetzten Benzylamine gibt Tabelle 3.4.

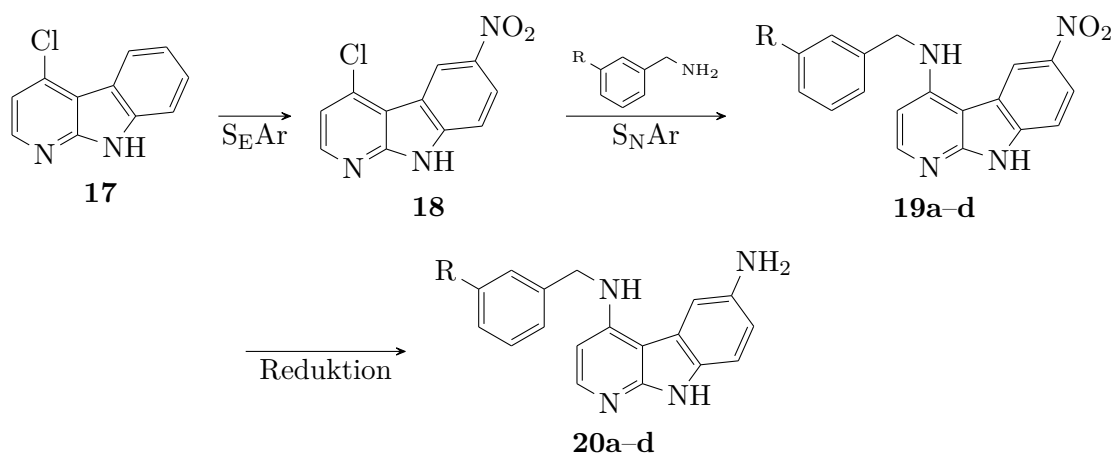


Abbildung 3.11: Nach Nitrierung des  $\alpha$ -Carbolin-Grundkörpers folgt die Umsetzung mit ausgewählten Benzylaminen, danach die Reduktion der Nitrogruppe.

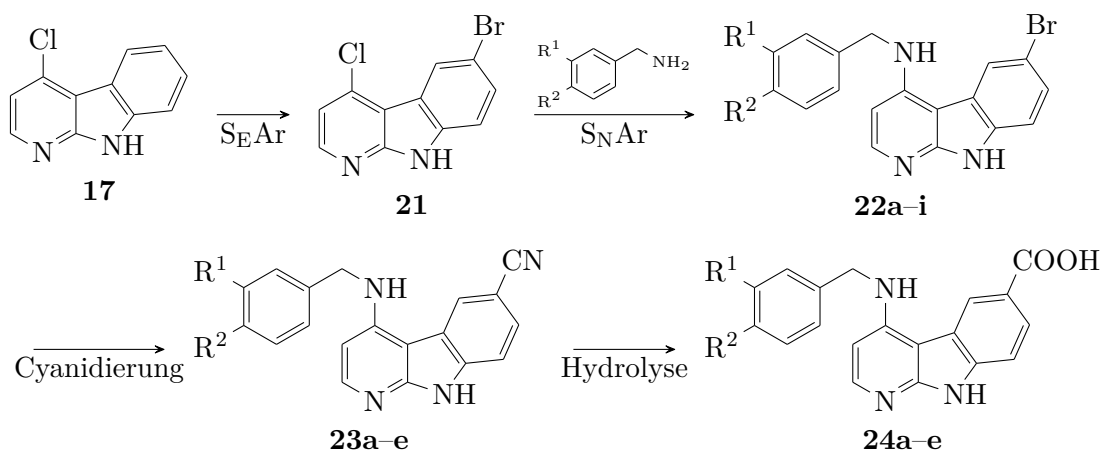


Abbildung 3.12: Weitere Variation des  $\alpha$ -Carbolins: Die Bromierung an Position 6 und anschließende Umsetzung mit einer Auswahl an Benzylaminen ermöglicht die Einführung einer Cyano- sowie Carboxygruppe an Position 6. Ausgenommen sind Verbindungen, welche einen weiteren Halogensubstituenten tragen, da diese auch bei der Cyanidierung reagieren würden.

Verbindung		Substitution	zur Synthese
6-NO <sub>2</sub>	6-NH <sub>2</sub>	-R	verw. Nukleophil
<b>19a</b>	<b>20a</b>	-H	Benzylamin
<b>19b</b>	<b>20b</b>	-Br	3-Brombenzylamin
<b>19c</b>	<b>20c</b>	-Cl	3-Chlorbenzylamin
<b>19d</b>	<b>20d</b>	-OCH <sub>3</sub>	3-Methoxybenzylamin

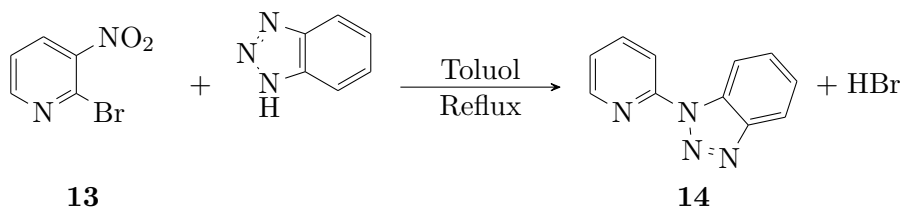
Tabelle 3.3: Übersicht über die geplanten Derivate der 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline als Analoga der jeweiligen 1-Aza-9-oxafluorene. Alle Verbindungen konnten erfolgreich synthetisiert werden.

Verbindung			Substitution		zur Synthese
6-Br	6-CN	6-COOH	-R <sup>1</sup>	-R <sup>2</sup>	verw. Nukleophil
<b>22a</b>	<b>23a</b>	<b>24a</b>	-H	-H	Benzylamin [41]
<b>22b</b>	<b>23b</b>	<b>24b</b>	-NH <sub>2</sub>	-H	3-Aminobenzylamin
<b>22c</b>	-	-	-Br	-H	3-Brombenzylamin
<b>22d</b>	-	-	-H	-Br	4-Brombenzylamin
<b>22e</b>	-	-	-Cl	-H	3-Chlorbenzylamin
<b>22f</b>	-	-	-H	-Cl	4-Chlorbenzylamin
<b>22g</b>	<b>23c</b>	<b>24c</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	3-Methoxybenzylamin
<b>22h</b>	<b>23d</b>	<b>24d</b>	-H	-OCH <sub>3</sub>	4-Methoxybenzylamin
<b>22i</b>	<b>23e</b>	<b>24e</b>	-H	-CH <sub>3</sub>	4-Methylbenzylamin

Tabelle 3.4: Übersicht über alle theoretisch möglichen  $\alpha$ -Carboline mit variabler Substitution an Position 6 und am Benzylaminring. Organisch gebundene Halogene werden bei der ROSENMUND-VON-BRAUN-Reaktion unselektiv umgesetzt. Einige Derivate entfallen daher. Verbindung **22a** wurde bereits in [41] untersucht. Sie wurde nachsynthetisiert, jedoch nicht erneut *in vitro* getestet.

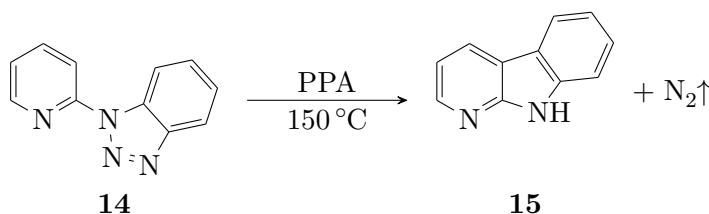
### Synthese des $\alpha$ -Carbolin-Grundkörpers

Die  $S_N$ Reaktion zur Bildung von **14** funktionierte in inertem Toluol unter Reflux selektiv an Position 2. Die Reaktion war auch bei sehr unterschiedlichen Ansatzgrößen immer nach etwa 24 h beendet. Die erreichte Ausbeute von 97 % war ausgezeichnet.



Das Rohprodukt wurde durch Extraktion mit Ether gewonnen. Per DC waren vernachlässigbar geringe Mengen an Verunreinigungen sichtbar. Diese erwiesen sich in den Folgeschritten jedoch als störend. Deshalb wurde bereits hier aus Methanol umkristallisiert. Die dadurch entstehenden Verluste hielten sich in Grenzen und wurden durch die hohe erreichte Reinheit aufgewogen.

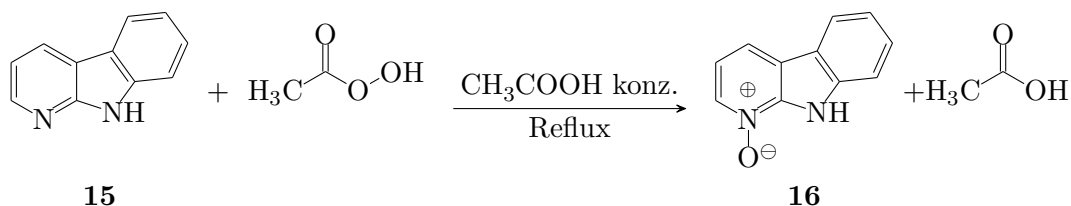
Die Zyklisierung in heißer Polyphosphorsäure (PPA) ist als GRAEBE-ULLMANN-Synthese zur Herstellung von Carbazolen bekannt. In der angewendeten modifizierten Form werden  $\alpha$ -Carboline erhalten. Zugrunde liegt, wie schon bei der PSCHORR-Reaktion zur Herstellung der 1-Aza-9-oxafluorene, ein radikalischer Mechanismus [57]. Da PPA auch im erhitzten Zustand sehr zähflüssig ist wurde, um die Durchmischung zu gewährleisten, ein KPG-Rührer benutzt. Der Reaktionsverlauf ließ sich, da Stickstoff entstand, mit einem Blasenzählrohr beobachten. Die Reaktion war stets nach höchstens 4 h beendet.



Zur Aufarbeitung wurde die PPA während des Abkühlens mit Wasser hydrolysiert und **15** durch Anheben des pH-Wertes ausgefällt.

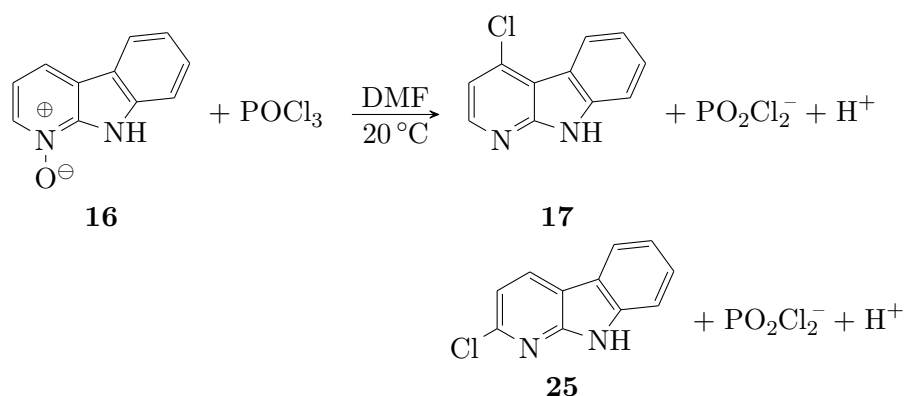
### Synthese des 4-Chlor- $\alpha$ -carbolins

Die Herstellung des Pyridin-*N*-oxides gelang mit ausgezeichneter Ausbeute von 93 %. Das Edukt **15** erwies sich als gut löslich in Essigsäure. Durch Zugabe von Wasserstoffperoxidlösung wurde *in situ* Peressigsäure gebildet, welche bei ausreichend hoher Temperatur den Pyridin-Stickstoff innerhalb von 5 h vollständig zu oxidieren vermochte.



Nach Anheben des pH-Wertes im Reaktionsgemisch fiel das Produkt und konnte sauber abgetrennt werden.

Die *para*-Chlorierung erfolgte ähnlich den 1-Aza-9-oxafluorenen (vgl. 3.1.1, Seite 35 ff.). Als Lösungsmittel wurde Dimethylformamid (DMF) verwendet und die Reaktion, unter Verlängerung der Reaktionszeit auf 24 h, bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Chlorierung erfolgte bevorzugt an der 4-Position, mit einer Ausbeute an **17** von 55 %. Auch hier entstanden geringe Mengen (5 %) des *ortho*-chlorierten Produktes **25**. Der in Abbildung 3.6 (Seite 37) postulierte Mechanismus gilt hier gleichermaßen.



Die beiden Produkte wurden nach Anheben des pH-Wertes als Präzipitat abfiltriert. Sie konnten säulenchromatographisch mit einem Cyclohexan/Essigester-Gradienten sauber voneinander getrennt werden. Die Strukturaufklärung und -zuordnung gelang anhand der <sup>1</sup>HNMR-Spektren. Diese zeigen exakt das erwartete Signalmuster: Bei ähnlicher chemischer Verschiebung ist die Kopplungskonstante zwischen H-3 und H-4 mit 8,1 Hz deutlich größer als die zwischen H-2 und H-3 mit 5,3 Hz. Gut zu erkennen ist die unterschiedliche Entschirmung von H-5 durch den -I-Effekt der Chlorfunktion (Abbildung 3.13).

#### Synthese des 4-Chlor-6-nitro- $\alpha$ -carbolins

Die Nitrierung unter Verwendung von Nitriersäure (Salpetersäure/Schwefelsäure 40:60 (*n/n*)) bei Raumtemperatur über 35 min führte, nach Ausfällung, zu einem

### 3 Ergebnisse und Diskussion

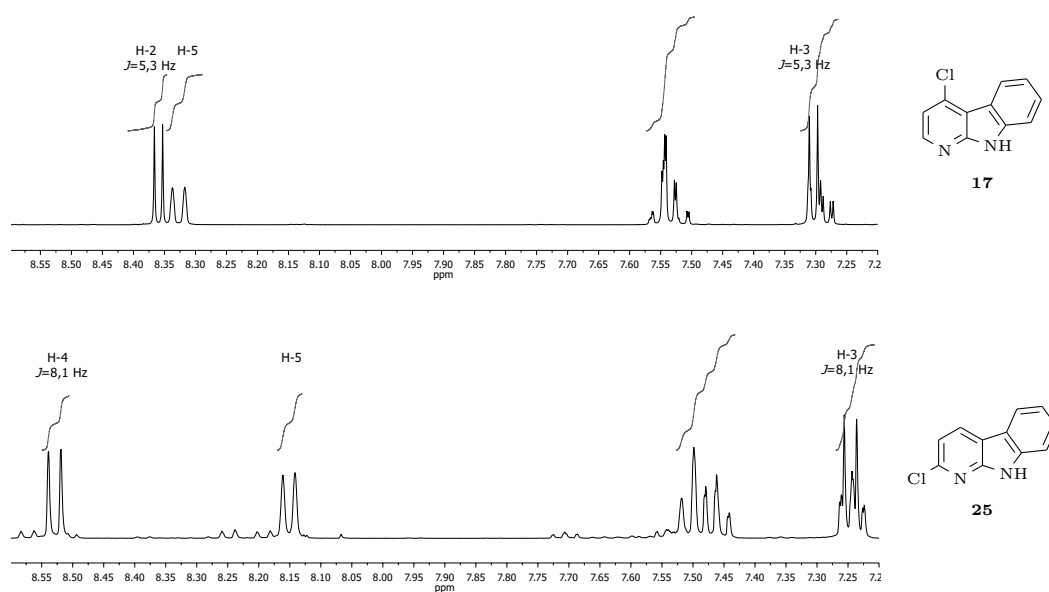
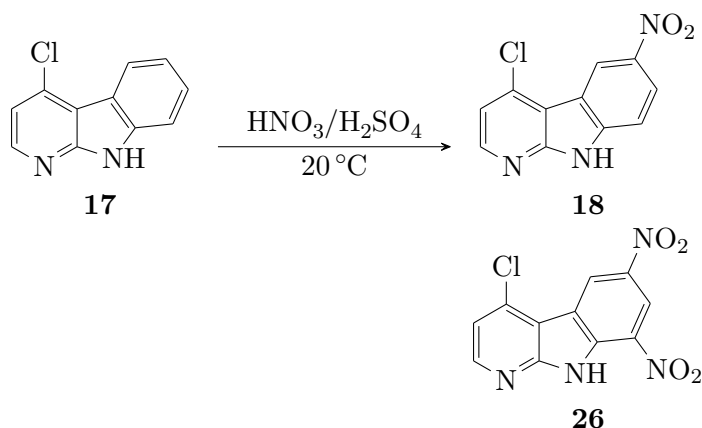


Abbildung 3.13: <sup>1</sup>H NMR-Spektrum von **17** in DMSO-d<sub>6</sub> bei  $f=400$  MHz. Das Spektrum von **25** ist zum Vergleich darunter abgebildet. Detaillierte Spektreninterpretation findet sich in 6.3.1.

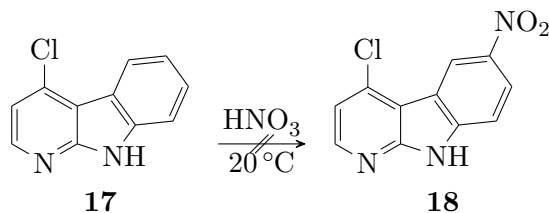


Produktgemisch aus einfach und doppelt nitriertem Grundkörper, ersichtlich an den Massenspektren des Rohproduktes. Die DC-Platte zeigt zwei Hauptprodukte. Die säulenchromatographische Trennung gelang nicht. Die schlechte Löslichkeit der Verbindungen führte zu massivem Tailing. Jedoch konnte das 4-Chlor-6-nitro- $\alpha$ -carbolin **18** sauber durch Umkristallisation aus DMF gewonnen werden. Die Signale im  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum des Produktgemisches lassen auf eine Nitrierung an Position 6 und 8 schließen. Das Mengenverhältnis der beiden Substanzen beträgt ca. 2:1 (Mono-/Dinitroderivat) berechnet anhand der *area under the curve* (AUC) der zugehörigen Signale.



Die Nitrierung mit RFNA lieferte ebenso das Produktgemisch aus **18** und **26**. Bei DC-Untersuchungen fiel auf: Je länger die Reaktion andauert, desto mehr dinitriertes Nebenprodukt entsteht, auch wenn das Edukt **17** noch im Gemisch vorhanden ist. Die Absenkung der Temperatur auf  $0^\circ\text{C}$  änderte daran nichts.

In konzentrierter Salpetersäure bei Raumtemperatur kommt es zu keiner Nitrierungsreaktion. Anheben der Temperatur auf  $50^\circ\text{C}$  führte zwar zur Umsetzung des Eduktes **17**, jedoch entstand hier ein komplexeres Produktgemisch, welches strukturanalytisch nicht vollständig aufgeklärt werden konnte. Denkbar ist eine, durch die Hitze bedingte, unselektive Nitrierung des  $\alpha$ -Carboline-Grundkörpers zusätzlich an Position 3.

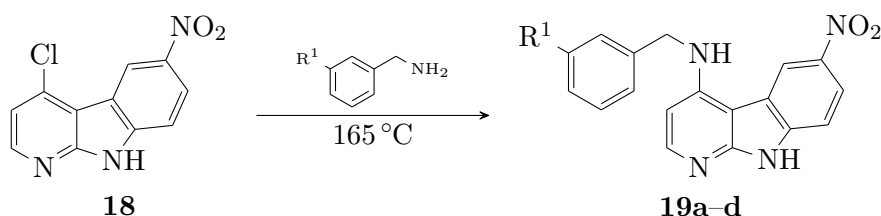


Um möglichst große Ausbeuten an **18** zu erhalten, wurde die Nitrierung mit RFNA als am besten durchführbare Methode gewählt, wobei sie bereits nach 20 min abge-

brochen wurde um die übermäßige Entstehung von **26** zu unterbinden. Zusammenfassend ist festzustellen, dass das  $\alpha$ -Carbolin verglichen mit dem 1-Aza-9-oxafluoren reaktiver gegenüber der Nitrierung ist, da es ein Stickstoffatom an Position 9 trägt. Dieses übt einen geringeren Elektronenzug auf das obere Ringsystem aus und erhöht somit dort die Elektronendichte, was für eine Nitrierungsreaktion, nach  $S_EAr$  ablaufend, begünstigend wirkt.

### Umsetzung des 4-Chlor-6-nitro- $\alpha$ -carbolins mit Benzylaminen

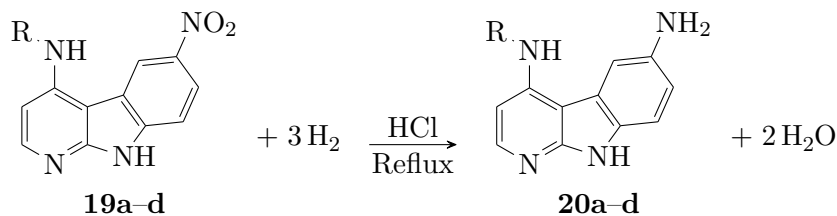
Die Umsetzung mit den vorgesehenen Benzylaminen erfolgte wie in 3.1.1 (Seite 39 f.) beschrieben. Für eine vollständige Umsetzung mussten drastischere Reaktionsbedingungen gewählt werden. Reaktionszeiten von zwei Tagen bei 165 °C waren nötig.



Alle 6-Nitro-substituierten  $\alpha$ -Carboline erwiesen sich als schlecht löslich in den meisten gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln. Dies konnte zur Aufarbeitung genutzt werden. Nach Beendigung der Reaktion wurde der abgekühlte Ansatz in ein Zweiphasensystem aus verdünnter Ammoniaklösung und Chloroform gegossen, so konnten die Produkte als freie Base ausgefällt werden. Überschüssiges Benzylamin wurde, nach der Filtration, durch Waschen des Rückstandes mit Ether entfernt. Durch die vereinfachte Aufarbeitung wurden bessere Ausbeuten im Bereich von 43 % bis 90 % erhalten. Alle Verbindungen dieser Reihe zeigten starkes Tailing auf der DC-Platte unter Verwendung der gängigen Laufmittelgemische. Um reproduzierbares Fließverhalten zu erreichen, war die Zugabe von 1 % (V/V) Ammoniak zum Laufmittel nötig.

### Reduktion zu 6-Amino- $\alpha$ -carbolinen

Die Reduktion der 6-Nitro Gruppe zum analogen Amin funktionierte für die gesamte Testreihe mit naszierendem Wasserstoff, erzeugt aus Zinn(II)-chlorid in verdünnter Salzsäure. Unter Reflux dauerte die vollständige Umsetzung eine reichliche Stunde.



Verbindung		Substitution
6-NO <sub>2</sub>	6-NH <sub>2</sub>	3'-R
<b>19a</b>	<b>20a</b>	-H
<b>19b</b>	<b>20b</b>	-Br
<b>19c</b>	<b>20c</b>	-Cl
<b>19d</b>	<b>20d</b>	-OCH <sub>3</sub>

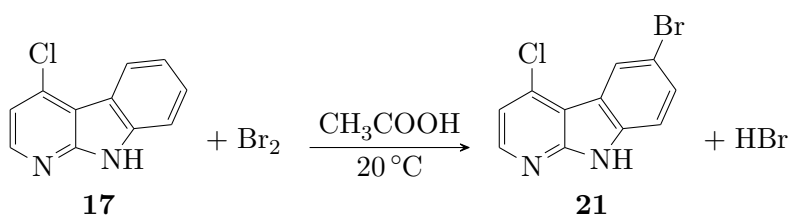
Tabelle 3.5: Übersicht über die synthetisierten Derivate der Testreihen der 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline.

Die jeweiligen Produkte konnten sauber im wässrig-basischen Milieu ausgefällt werden. Die erreichten Ausbeuten lagen mit 41 % bis 71 % etwa im Bereich der Reduktion der 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene. Analytische Daten und sonstige Beobachtungen bestätigten sich ebenfalls (vgl. 3.1.1, Seite 41). Um eine DC-Analytik der Reaktion durchführen zu können, war auch hier der Zusatz von 1 % (V/V) Ammoniak zum Laufmittel nötig.

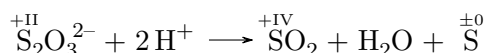
Tabelle 3.5 soll als Übersicht über die beiden Testreihen der 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline dienen.

### Synthese des 6-Brom-4-chlor- $\alpha$ -carbolins

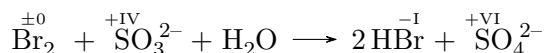
Eine durchführbare Methode zur Bromierung des  $\alpha$ -Carbolin-Grundkörpers wurde bereits von KRUG [41] entwickelt und sollte hier Anwendung finden. Dazu wurde das Edukt **17** in Eisessig gelöst, elementares Brom eingetropft und über 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Es liegt ein einfacher S<sub>E</sub>Ar-Mechanismus zugrunde, wofür zunächst eine heterolytische Spaltung des Brommoleküls erfolgen muss. Das hochpolare Lösungsmittel begünstigte diese. Somit erfolgte die Substitution unter den gewählten milden Bedingungen sehr selektiv an Position 6 mit ausgezeichneter Ausbeute von 94 %.



Bei den ersten Versuchen zur Durchführung dieser Synthese wurde Natriumthio-sulfatlösung zum Entstören überschüssigen Broms verwendet. Diese neigt im sauren Milieu zur Disproportionierung und zur Bildung von elementarem Schwefel [59].



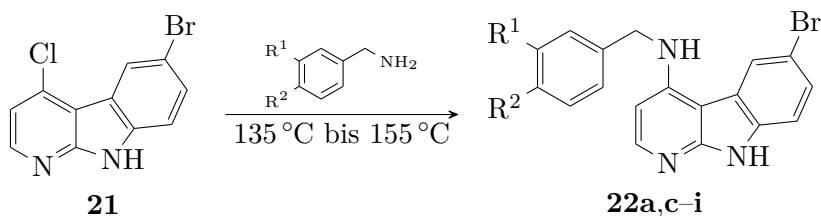
Bei der Folgereaktion mit Benzylamin kam es dadurch zur Bildung von Nebenprodukten (siehe 3.1.5, Seite 71 f.). Als Entstörungsreagenz zur Reduktion des elementaren Broms ist deshalb besser Natriumhydrogensulfitlösung zu verwenden.



Im Ammoniakalischen konnte das Produkt schließlich sauber extrahiert werden. Alle Testsubstanzen, die im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert wurden und die an Position 6 einen Elektronen-ziehenden Substituenten tragen, zeigen ein typisches Signalmuster der Protonen H-5, H-7 und H-8 im  ${}^1\text{H}$ NMR-Spektrum. Es trifft auf die hier beschriebenen 6-Brom- $\alpha$ -carboline genauso zu wie auf die 6-Nitro- $\alpha$ -carboline und 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene. Mit der geringsten chemischen Verschiebung findet man stets das Signal von H-8: ein Dublett mit einer Kopplungskonstante von etwa 9 Hz. Es folgt ein Doppeldublett welches H-7 zuzuordnen ist. Die Kopplungskonstanten betragen zum einen etwa 9 Hz aufgrund der Kopplung mit H-8, zum anderen findet sich eine Kopplungskonstante von etwa 2 Hz, was auf eine Fernkopplung über vier Bindungen schließen lässt. Diese Kopplungskonstante findet man beim Signal von H-5 wieder. Bezogen auf die hier ausgewählten Signale liegt dieses Dublett stets am weitesten im Tieffeld, da die Elektronendichte an Position 5 am geringsten ist. Zur Veranschaulichung findet sich das Spektrum von **21** in Abbildung 3.14. Ändert sich der elektronische Effekt des Substituenten, z. B. nach Reduktion der Nitrogruppe mit  $-M$ -Effekt zur Aminofunktion mit  $+M$ -Effekt, so ändert sich die chemische Verschiebung der Signale, nicht jedoch deren Aufspaltungsmuster in: Dublett, Doppeldublett, Dublett.

### Umsetzung des 6-Brom-4-chlor- $\alpha$ -carbolins mit Benzylaminen

Zur Umsetzung von **21** mit den ausgewählten Benzylaminen waren wie in 3.1.2 (Seite 54) sehr drastische Bedingungen nötig. Die Umsetzung erfolgte mit 15fachen Überschuss des Benzylamins unter Schutzgas bei einer Temperatur von 135 °C bis 155 °C über zwei Tage.



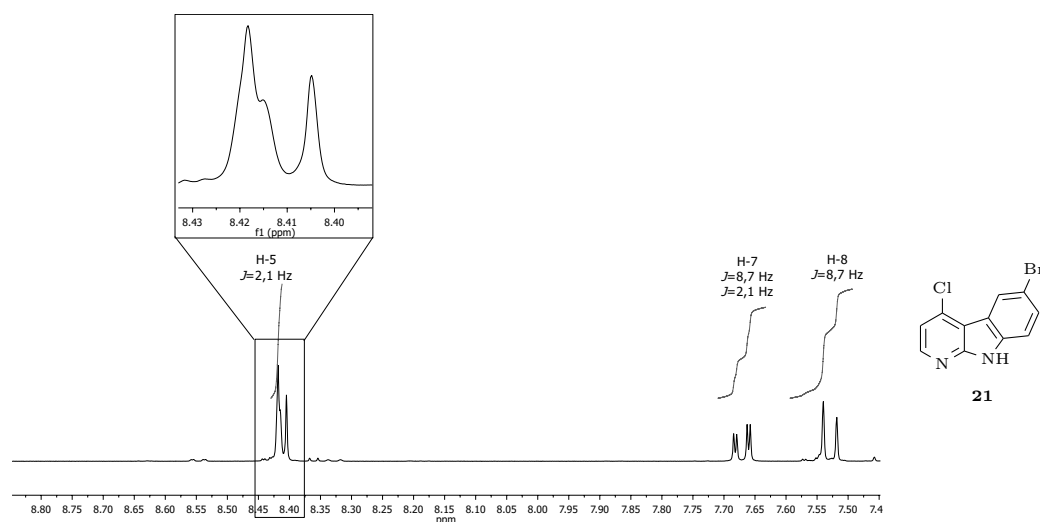


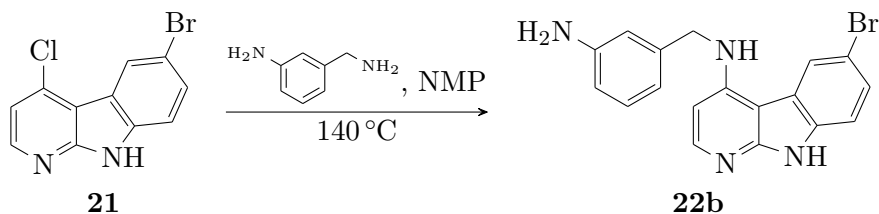
Abbildung 3.14:  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum von **21** in  $\text{DMSO-d}_6$  bei  $f=400$  MHz: Das Signal von H-5 ist von H-2 überlagert, dennoch lassen sich die Kopplungskonstanten eindeutig zuordnen. Detaillierte Spektreninterpretation findet sich in 6.3.4

Nachdem die Reaktion beendet war, konnte das Produkt durch Zugabe von Chloroform ausgefällt werden. Es fiel jeweils ein Gemisch aus dem entsprechenden Derivat von **22** und einem kleinen Anteil des analogen Hydrochlorids. Alle Derivate von **22** sind in den meisten gebräuchlichen Lösungsmitteln sehr schwer löslich. Extraktionen zur Aufarbeitung waren deshalb nur mit sehr großen Mengen an Lösungsmittel durchführbar. Als effizient erwies sich folgende Methode: Der nach Zugabe von Chloroform gewonnene Niederschlag wurde abgetrennt und mit Ether reingewaschen. Wiederaufnahme in heißem Tetrahydrofuran (THF) löste die freie Base, das Hydrochlorid blieb in Suspension und konnte so abgetrennt werden. Es wurden sehr unterschiedliche Ausbeuten an freier Base in einem Bereich von 13 % bis 69 % erzielt.

Die Hydrochloride zeigten sich unter Erwärmen in geringem Maße wasserlöslich. Ein histochemischer Chloridnachweis [60] fiel positiv aus. Die Extraktion der freien Basen mit Essigester war möglich, erforderte jedoch große Mengen an Lösungsmittel.

Eine gesonderte Methode war zur Synthese von **22b** erforderlich, da das Edukt, 3-Aminobenzylamin, nicht flüssig sondern von wachsartiger Konsistenz ist. Durch

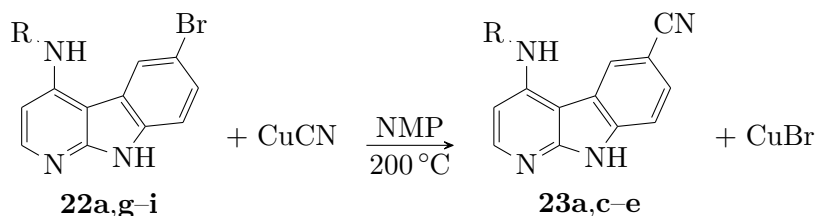
Zugabe von NMP als Lösungsmittel funktionierte die Reaktion mit einem nur dreifachen Überschuss an Reaktant unter gleichen thermischen und zeitlichen Bedingungen.



Die Aufarbeitung erforderte zusätzlich eine Extraktion und säulenchromatographische Reinigung. Die Ausbeute war mit 11 % erwartungsgemäß gering.

### Synthese der 6-Cyano- $\alpha$ -carboline

Die Darstellung der 6-Cyanoderivate erfolgte über die ROSENMUND VON BRAUN-Reaktion. Die nötigen Reaktionsbedingungen wurden wie folgt erreicht: Als polares hochsiedendes Lösungsmittel wurde NMP verwendet. In Dimethylsulfoxid (DMSO) und DMF zeigten sich die Edukte in der Hitze instabil. Ein etwa dreifacher Überschuss von Kupfer(I)-cyanid war ausreichend. Das Reaktionsgemisch wurde mit aufgesetztem Rückflusskühler bis zum gelinden Sieden bei ca. 200 °C erwärmt. Die Reaktionszeiten waren mit bis zu 14 h recht lang. Es wurden gute Ausbeuten von 77 % bis 86 % erreicht. Die Synthese von **23b** war nicht erfolgreich, das Edukt **22b** zeigte sich unter den gegebenen Reaktionsbedingungen instabil.



Der Reaktionsverlauf ließ sich per DC gut verfolgen, da das Produkt, im Gegensatz zum Edukt, unter UV-Licht auf der Platte hellblau fluoresziert. Um reproduzierbare  $R_f$ -Werte messen zu können, war wieder der Zusatz von Ammoniak zum Laufmittel nötig.

Die Produkte konnten nach flüssig-flüssig Extraktion ausgefällt werden. Sie enthielten jedoch Spuren unspezifischer Nebenprodukte, die bei den extremen Reaktionstemperaturen unvermeidbar sind. Diese konnten säulenchromatographisch vom Produkt entfernt werden.

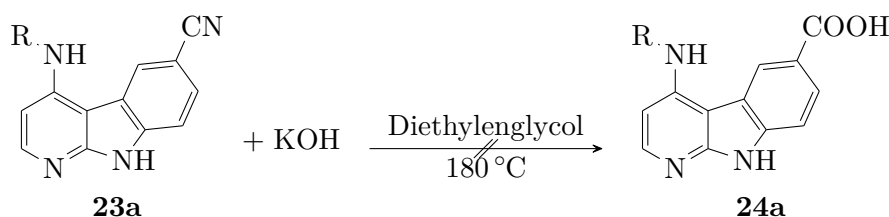
Charakteristisch im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigen sich wieder die Signale von H-3 und H-2 als zwei Dubletts mit einer Kopplungskonstante von ca. 5,7 Hz als AX- Spinsystem bei ungefähr  $\sigma=6,4$  ppm und  $\sigma=8,0$  ppm. Die Signale der Protonen H-8, H-7 und

H-5 zeigen das bekannte Muster aus Dublett, Doppeldublett, Dublett mit  $^3J=8,4$  Hz und  $^4J=1,5$  Hz bei ähnlichen Verschiebungen wie die analogen 6-Bromderivate.

### Synthese der 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline

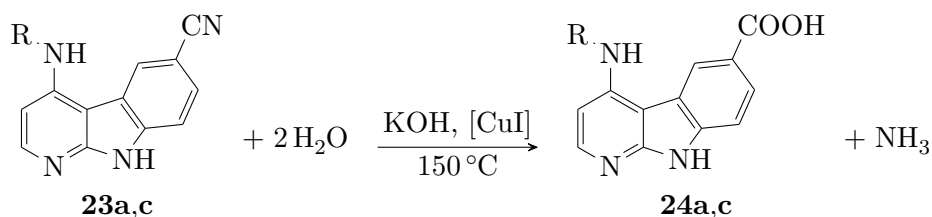
Die Hydrolyse von Nitrilen ist eine etablierte Umsetzung der organischen Synthese und ausführlich in der Literatur beschrieben. Sie gelingt mit starken Säuren oder Alkalilaugen in hohen Konzentrationen in zwei Schritten: Zunächst addiert Wasser oder ein Hydroxid-Ion an das partiell positiv geladene Kohlenstoffatom, unter Bildung eines Säureamids. Dieses hydrolysiert bei den gegebenen Bedingungen weiter zur Carbonsäure. Die Reaktivität gegenüber einem Nukleophil steigt von der tertiär- zur primär gebundenen Nitrilgruppe an. Aromatische Nitrile gelten somit als schwer hydrolysierbar. Arbeitsvorschriften finden sich für die alkalische Verseifung mit Kalilauge [46]. Die Verwendung von Ethylenglycol als Lösungsmittel ermöglicht Reaktionstemperaturen über 100 °C.

Der Vorschrift folgend wurde **23a** mit 2 eq. Kaliumhydroxid in Diethylenglycol über mehrere Stunden auf 180 °C erhitzt. Dabei wurde keine Umsetzung beobachtet.



Die Methode von WESELIŃSKI *et al* verwendet, für strukturell sehr ähnliche Verbindungen, Natriumhydroxid in einem deutlich erhöhten Verhältnis von 15 eq. zusammen mit katalytischen Mengen Kupfer(I)-iodid im wässrigen System [61].

In Anlehnung an diese beiden Methoden konnten die gewünschten Produkte **24a** und **24c** wie folgt hergestellt werden: Das entsprechende Edukt **23a,c** wurde mit 25 eq. bis 30 eq. Natriumhydroxid und 2% (*n/n*)Kupfer(I)-iodid in einem Gemisch gleicher Teile Wasser und Diethylenglycol gelöst und über 18 h bis 22 h zum Reflux erhitzt.



**24a** und **24c** konnten durch Ansäuern der Lösung gefällt und sauber abgetrennt werden. Die erreichten Ausbeuten sind im Bereich von 12% bis 27% eher schlecht, was wohl den extremen Reaktionsbedingungen geschuldet ist.

Die Entstehung der Carboxylfunktion an Position 6 lässt sich im  $^1\text{HNMR}$ -Spektrum gut erkennen: Die charakteristischen Signale der Protonen H-8, H-7 und H-5, sowie das Pyrrol-Proton H-9 sind aufgrund des  $-M$ -Effektes der Säuregruppe weiter ins Tieffeld verschoben. Das Säure-Proton selbst tritt als breites Singulett bei Verschiebungen um 13 ppm auf.

Tabelle 3.6 soll als Übersicht über die drei Testreihen der 6-Brom-, 6-Cyano- und 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline dienen.

Verbindung			Substitutionsmuster		
6-Br	6-CN	6-COOH	3'-R	4'-R	
<b>22a</b>	<b>23a</b>	<b>24a</b>	-H	-H	[41]
<b>22b</b>	-	-	-NH <sub>2</sub>	-H	
<b>22c</b>	-	-	-Br	-H	
<b>22d</b>	-	-	-H	-Br	
<b>22e</b>	-	-	-Cl	-H	
<b>22f</b>	-	-	-H	-Cl	
<b>22g</b>	<b>23c</b>	<b>24c</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	
<b>22h</b>	<b>23d</b>	-	-H	-OCH <sub>3</sub>	
<b>22i</b>	<b>23e</b>	-	-H	-CH <sub>3</sub>	

Tabelle 3.6: Übersicht über die synthetisierten Derivate der Testreihen der 6-Brom-, 6-Cyano- und 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline. Verbindung **22a** wurde bereits in [41] untersucht. Sie wurde nachsynthetisiert, jedoch nicht erneut *in vitro* getestet.



### 3.1.3 Synthese von 2-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen

#### Syntheseplanung

Dockingstudien zeigen, dass 1-Aza-9-oxafluorene bei Bindung am Target eine Wasserstoffbrückenbindung zur Hinge-Region der Kinase ausbilden. Der Pyridin-Stickstoff fungiert dabei als H-Brückenakzeptor. Die  $\alpha$ -Carboline bilden an gleicher Position zwei Wasserstoffbrücken aus, wobei der Pyridin-Stickstoff wieder H-Akzeptor ist und das an den Pyrrol-Stickstoff gebundene Wasserstoffatom als Donator agiert. Dadurch sind  $\alpha$ -Carboline stärkere Kinaseinhibitoren als strukturanaloge 1-Aza-9-oxafluorene [43]. Die durchgeführten *in vitro* Versuche 3.2 (Seite 78 ff.) und Dockingstudien 3.3 (Seite 85 ff.) belegen dies. Physiologisch bildet Adenin, als Teil des ATP-Moleküls, drei Wasserstoffbrückenbindungen aus: zweimal als H-Donator, einmal als Akzeptor (siehe hierzu 1.6 und 1.3.3). Um die Affinität der 1-Aza-9-oxafluorene zum Target zu erhöhen, wäre eine zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung hilfreich. Dies könnte durch die Einführung einer entsprechenden funktionellen Gruppe an Position 2 gelingen. In Frage kommen eine Aminofunktion als H-Donor und eine Methoxyfunktion als H-Akzeptor.

Um diese Strukturen darzustellen, ist es sinnvoll den 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörper mit den entsprechenden Substituenten neu aufzubauen. Für das 2-Methoxy-1-aza-9-oxafluoren **33** besteht dazu ohne weiteres die Möglichkeit. Das nötige Edukt 2-Chlor-6-methoxy-3-nitropyridin **27** ist kommerziell erhältlich, Nebenreaktionen durch die zusätzliche Methoxyfunktion sind bei der etablierten Synthese nicht zu erwarten.

Zur Darstellung des 2-Amino-1-aza-9-oxafluoren **35** ist ein Umweg nötig, da das Vorhandensein einer Aminofunktion bei der Diazotierung zur Bildung von Nebenprodukten führen würde. Es wäre jedoch möglich, vom 2,6-Dichlor-3-nitropyridin **28** ausgehend zunächst das 2-Chlor-1-aza-9-oxafluoren **34** herzustellen. **28** ist ebenfalls kommerziell verfügbar. Ein Nebenprodukt, durch Bindung von Phenolat an Position 6 im ersten Schritt ist nicht zu erwarten. Position 2 ist durch den „doppelten“ Elektronenzug der Nitro- und der Pyridinfunktion ungleich stärker aktiviert. Die Substitution des Chloratoms durch ein primäres Amin erfolgt direkt nach der Zyklisierung. Anschließend sollte N-Oxidation am Pyridin und *para*-Chlorierung in gewohnter Weise möglich sein. Das Beibehalten des Chloratoms an Position 2, was ein weiterer H-Akzeptor wäre, ist nicht möglich, da dies bei der Umsetzung mit den Benzylaminen zu Nebenprodukten führen würde. Die zwei geplanten Syntheseabfolgen sind in Abbildung 3.15 schematisch dargestellt.

Die Substitution von organisch gebundenen Halogenen durch Amine ist an vielen Stellen in der Literatur zu finden. Die Herstellung von sekundären und tertiären Aminen ist für eine große Auswahl an Edukten mit zahlreichen Methoden beschrieben und mit moderatem Aufwand durchführbar. Die Herstellung von primären Aminen aus den analogen Halogenverbindungen gestaltet sich schwieriger. Das liegt zum

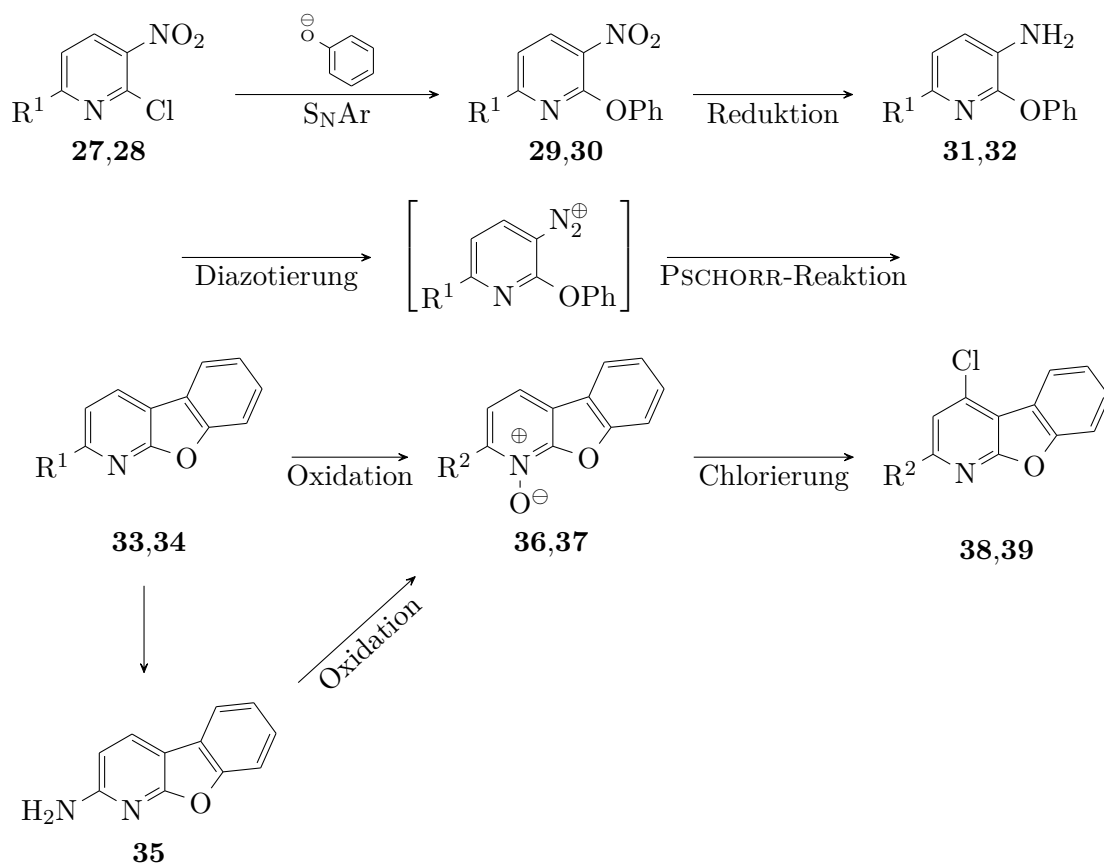


Abbildung 3.15: Geplanter Syntheseweg zur Darstellung von 2-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen. Folgeschritt zu diesem Schema ist die Umsetzung mit Benzylaminen.  $-\text{R}^1$ :  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{Cl}$ ;  $-\text{R}^2$ :  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{NH}_2$

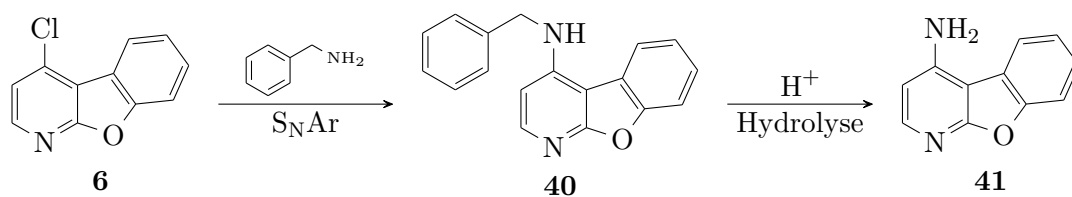


Abbildung 3.16: Synthetische Transformation einer aromatischen Chlorfunktion zum primären aromatischen Amin in zwei Schritten. **6** dient als Modellsubstanz.

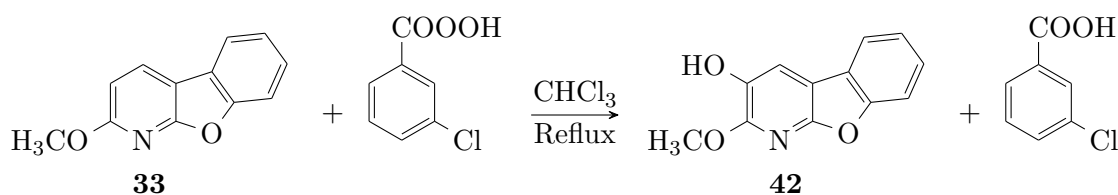
einen daran, dass die entstehenden Produkte oft nukleophiler sind als Ammoniak und somit zu Nebenprodukten führen. Zum anderen kann Ammoniak durch Ligandenaustausch viele der dafür gebräuchlichen Katalysatoren deaktivieren. Methoden, die in nur einem Schritt zum primären Amin führen sind rar und erfordern meist teure Katalysatoren, Inertgasatmosphäre und extrem starke Basen oder die Arbeit mit gasförmigen Ammoniak unter Druck, was nur mit erheblichen apparativen Aufwand realisierbar ist. Eine andere Herangehensweise ist die Synthese in zwei Schritten unter Verwendung von „maskiertem“ Ammoniak. Das bedeutet, dass zunächst z. B. ein sekundäres Amin hergestellt wird, was mit einer guten Abgangsgruppe substituiert ist, die im Folgeschritt abgespalten wird. Der zusätzliche Syntheseschritt geht zwangsläufig mit verminderter Ausbeute bei erhöhten Aufwand einher. [62]

Interessant und durchführbar schien die Methode nach WANG *et al* [63], da sie sich mit den in Abschnitt 3.1.1 (Seite 42) gefundenen Ergebnissen deckt: In einem Zwischenschritt wird Benzylamin an Position 2 gebunden und anschließend sauer hydrolysiert, was zum primären Amin führt. Da alle dazu nötigen Reagenzien und Materialien ohnehin vorhanden sind, soll die Synthese nach dieser Methode erprobt werden. Als Modellsubstanz steht das 4-Chlor-1-aza-9-oxafluoren **6** zur Verfügung (Abbildung 3.16).

### Synthese des 2-Methoxy-1-aza-9-oxfluorens

Die Synthese des 2-Methoxy-1-aza-9-oxfluorens **33** verlief in genau gleicher Weise wie die Synthese des an Position 2 unsubstituierten Derivates (siehe 3.1.1, Seite 32 ff.). Die dort beschriebenen theoretischen Grundlagen, Reaktionsmechanismen und Synthesebeschreibungen gelten analog. Beobachtungen und analytische Messdaten bestätigten sich.

Bei der Oxidation mit *m*-CPBA wurde jedoch, statt des erwarteten Pyridin-*N*-oxides, die an Position 3 hydroxylierte Form **42** mit einer Ausbeute von 4 % isoliert. Die Reaktion lief mit einem dreifachen Überschuss an *m*-CPBA für 30 h unter Reflux.



Organische Peroxycarbonsäuren oxidieren elektronenreiche Doppelbindungen, z. B. in Alkenen, zu Epoxiden. Diese Reaktion ist als PRILEZHAEV-Reaktion [52] bekannt. Durch Übertragung des Mechanismus wird die Bildung von **42** erklärbar. Die *meta*-Position im Pyridinring ist am elektronenreichsten. Der Oxiranring sollte sich demnach zunächst an Position 3 und 4 aufbauen. Das entstehende Epoxid ist instabil

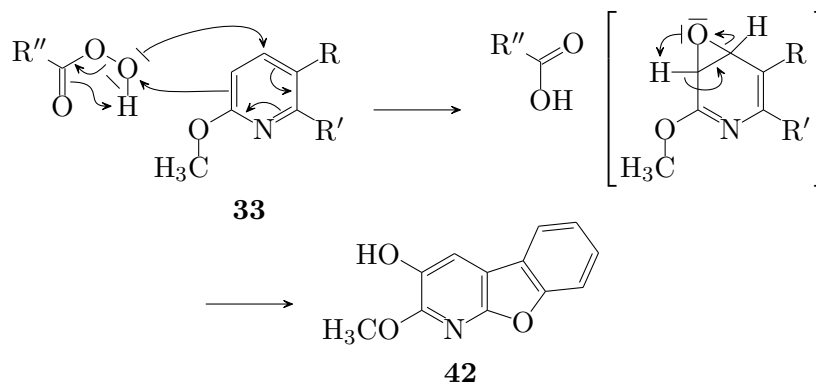
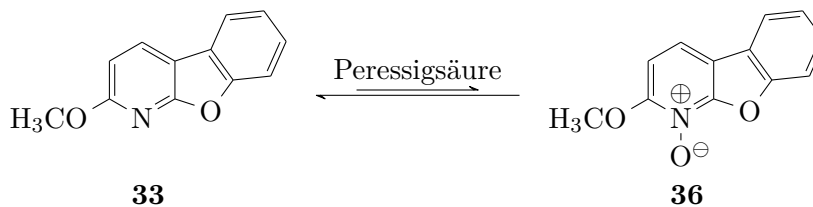


Abbildung 3.17: Hydroxylierung der 3-Position am 1-Aza-9-oxafluoren. Initial bildet sich nach dem Mechanismus einer PRILEZHAEV-Reaktion ein instabiles Epoxid, was nach Umlagerung zur Hydroxygruppe an Position 3 führt. Zur Vereinfachung ist in der oberen Zeile nur der Pyridinring des 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörpers dargestellt und das übrige Ringsystem als Rest gekennzeichnet.

und strebt zur Rearomatisierung. Es folgt die Umlagerung des Protons von Position 3 an ein freies Elektronenpaar des Sauerstoffatoms, einhergehend mit Spaltung der Etherbindung an Position 4. Der Mechanismus ist bildlich in Abbildung 3.17 dargestellt.

Alternativ wurde zur Herstellung von **36** die Oxidation mit Peressigsäure, *in situ* hergestellt aus Wasserstoffperoxid und Essigsäure, ausprobiert. Das Peroxid wurde zunächst im zweifachen Überschuss zugesetzt und das Gemisch zum Reflux erhitzt, was zu keiner Reaktion führte. Nachdem der Überschuss an Oxidationsmittel auf das zehnfache der Stoffmenge von **33** erhöht wurde, erfolgte eine Umsetzung des Eduktes. Dünnschichtchromatographisch zeigte sich, dass der Fortschritt der Reaktion nach 15 h zum Erliegen gekommen war. Nach Aufarbeitung des Ansatzes konnte ein geringer Anteil (6 %) des gewünschten Produktes **36** isoliert werden. Den größten Teil des Stoffgemisches machte jedoch das Edukt **33** aus. Außerdem war ein Anteil nicht definierbarer Nebenprodukte enthalten, bei denen es sich wohl um oxidative Abbauprodukte handelte.



Es wurden weitere Umsetzungen mit höheren und niedrigeren Konzentrationen an Wasserstoffperoxid ausprobiert. Bei geringerer Konzentration erfolgte keine Umsetzung. War die Konzentration höher, kam es zur oxidativen Fragmentierung des Eduktes.

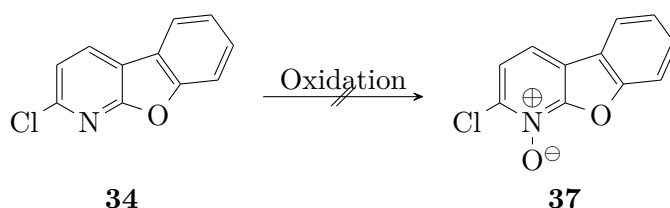
Der geplante Syntheseweg erwies sich, durch derart geringe Ausbeuten bei hohem Aufwand, als praktisch nicht umsetzbar. Es würde unverhältnismäßig hohen Einsatz an Zeit und Material bedeuten, die für die Umsetzung mit Benzylaminen benötigten Mengen an **38** herzustellen. Aus diesem Grund wurden keine weiteren Versuche zur Synthese von **36** durchgeführt.

Der Grund für die nur schwer ablaufende Reaktion liegt offensichtlich in der geänderten Substitution des 1-Aza-9-oxafluorens an Position 2. Damit das freie Elektronenpaar des Pyridin-Stickstoffes nukleophil an der Peroxidstruktur angreifen kann, sollte es möglichst elektronenreich sein. Durch den „doppelten“ –I-Effekt, der beiden benachbarten Sauerstoffatome wird jedoch so viel Elektronendichte von Position 1 abgezogen, dass die Reaktion nicht mehr ablaufen kann. Der induktive Effekt von funktionellen Gruppen am aromatischen Ring korreliert mit deren Elektronegativität. Unter dieser Voraussetzung sollte das 1-Aza-9-oxafluoren **34** mit Chlorsubstituent an Position 2 besser oxidierbar sein als **33**.

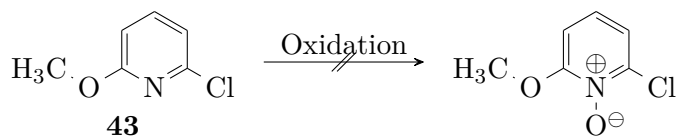
### Synthese des 2-Chlor-1-aza-9-oxafluorens

Zum Aufbau des an Position 2 chlorierten 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörpers **34**, in drei Schritten, wurden die in 3.1.1, (Seite 32) beschriebenen Methoden übertragen. Analytische Ergebnisse bestätigten sich.

Die Oxidation am Pyridinring wurde zunächst auf schonende Art, mit 1,5 eq. *m*-CPBA bei Raumtemperatur versucht. Auch nach mehreren Tagen erfolgte keine Umsetzung. Oxidation mit 2,1 eq. Peressigsäure unter Reflux führte nur zum Abbau des Eduktes.



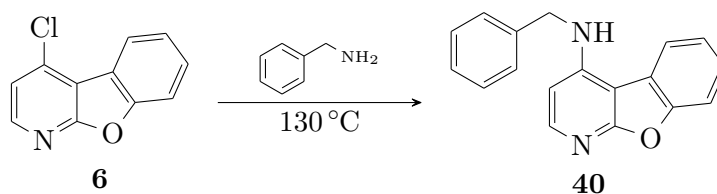
Zur Überprüfung der Beobachtungen wurde kommerziell erhältliches 2-Chlor-6-methoxypyridin **43** mit 4 eq. *m*-CPBA für 20 h unter Reflux, sowie mit 5 eq. Peressigsäure über mehrere Tage unter Reflux, zur Reaktion gebracht. Eine Bildung des Pyridin-*N*-oxides konnte nicht festgestellt werden. Es erfolgte lediglich die allmähliche oxidative Zersetzung.



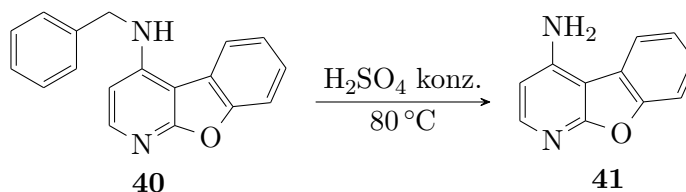
Es bleibt festzustellen, dass auch die 2-Chlorfunktion zu stark elektronenziehend ist um die Bildung des Pyridin-*N*-oxides zu erreichen. Die Elektronegativität von Stickstoff ist annähernd gleich der des Chloratoms, jedoch sollte der  $-I$ -Effekt einer Aminofunktion geringer ausfallen, da der Stickstoff in diesem Fall noch zwei Wasserstoffatome trägt. Das könnte bedeuten, dass die Oxidation des 2-Amino-1-aza-9-oxafluorens **35** nach der geplanten Weise (vgl. Abbildung 3.15) dennoch möglich ist. Es sollte also zunächst an der Modellsubstanz **6** ausprobiert werden, ob die Substitution eines aromatisch gebundenen Chloratoms durch ein primäres Amin gelingt. Bei erfolgreicher Synthese von **41** soll **35** auf gleiche Weise hergestellt werden.

### Transformation der aromatischen Chlorfunktion in ein Anilin

Es erfolgte zunächst die Herstellung des 4-Benzylaminoderivates **40**. Analog zu den in Abschnitt 3.1.1 (Seite 39) beschriebenen Umsetzungen, erfolgte die Reaktion in frisch destilliertem Benzylamin unter Reflux. Da hier der Elektronenzug der 6-Nitrofunktion fehlte, war die Reaktionszeit mit 35 h verlängert. Die Ausbeute von 63 % ist für diese Reaktion brauchbar.



Die anschließende Hydrolyse erfolgte nach der Vorschrift von WANG *et al* [63] in konzentrierter Schwefelsäure, unter leichten Erwärmen während einer Stunde. Die erhaltene Ausbeute von 7 % war ausgesprochen schlecht und deutlich unter den in der Vorschrift beschriebenen 72 %.



Es gibt hier noch Möglichkeiten zur Optimierung der Synthese: So könnten z. B. durch Verwendung von  $\alpha$ -Methylbenzylamin als bessere Abgangsgruppe die Bedingungen der sauren Hydrolyse milder gewählt werden, was die Ausbeute verbessern

könnte. Auch wäre es möglicherweise lohnenswert, die direkte Methode nach XU *et al* auszuprobieren. Diese beschreibt die Substitution von Ammoniak in wässriger Lösung an aromatische Chloride unter Bestrahlung mit Mikrowellen [62].

Im Hinblick auf den dafür nötigen finanziellen und zeitlichen Aufwand, bei geringer Aussicht auf Erfolg auch durch die noch nötigen Folgeschritte, wurden keine weiteren Syntheseversuche unternommen.

### 3.1.4 Synthese von 2-substituierten $\alpha$ -Carbolinen

#### Syntheseplanung

Die *N*-Oxidation der 2-substituierten 1-Aza-9-oxafluorene **33** und **34** konnte trotz intensiver Versuche nicht erfolgreich durchgeführt werden. Die Ursache dafür liegt in den stark elektronenziehenden Effekten der benachbarten Substituenten an Position 2 und 9a des Pyridinrings (siehe 3.1.3, Seiten 63 und 65). Legt man diese These zugrunde, so sollte das 2-Chlor- $\alpha$ -carbolin **25** leichter oxidierbar sein, da es an Position 9 ein weniger elektronegatives Stickstoffatom trägt (Abbildung 3.19).

Als Nebenprodukt der Synthese von **17**, steht **25** in ausreichenden Mengen zur Verfügung. Es soll überprüft werden, ob die zusätzliche Chlorierung an Position 4 nach Oxidation am Pyridinstickstoff möglich ist. Bei erfolgreicher Synthese soll die resultierende Verbindung **44** außerdem an Position 6 bromiert werden. Diese Bemühungen dienen der Untersuchung des Reaktionsverlaufes im angewendeten Syntheseweg. Die hergestellten Produkte werden im Verlauf dieser Arbeit als Vergleichssubstanzen für Infrarot (IR)- und NMR-Analytik benötigt.

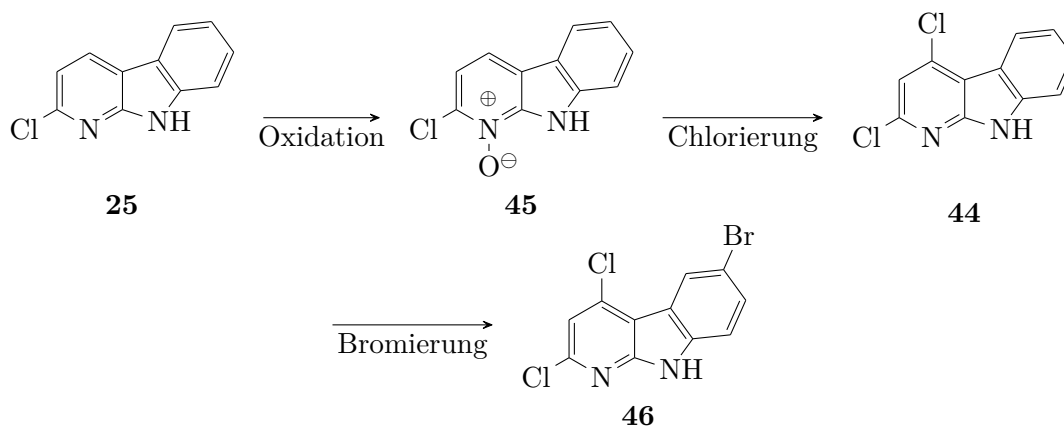


Abbildung 3.18: Es soll geprüft werden, ob die *N*-Oxidation am 2-substituierten  $\alpha$ -Carbolin **25** möglich ist. Nach *p*-Chlorierung und 6-Bromierung wäre so 6-Brom-2,4-dichlor- $\alpha$ -carbolin **46** zugänglich.

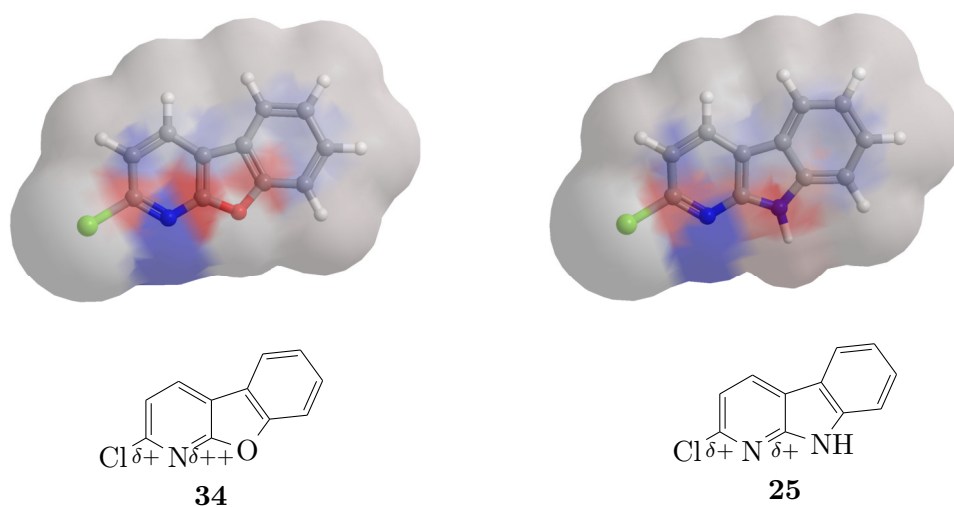
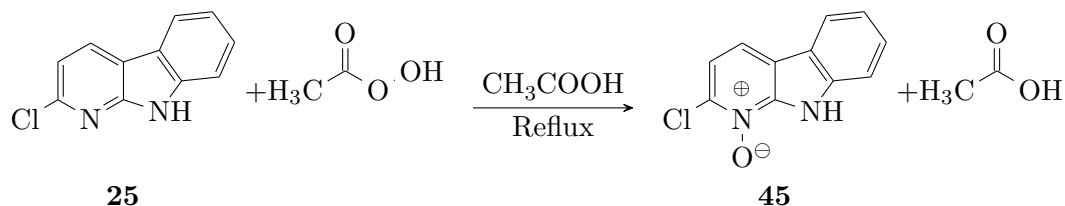


Abbildung 3.19: Gegenüberstellung der Ladungsverteilungen an Position 2 und 9a des 2-Chlor-1-aza-9-oxafluorenes **34** mit dem analogen  $\alpha$ -Carbolin **25** als 3D-Modell (oben) und Strukturformel (unten). Die Ladungsverteilung an der Moleküloberfläche wurde computerchemisch simuliert und ist farbig dargestellt: positive Ladungen rot, negative Ladungen blau, neutrale Oberflächenanteile in Grautönen.



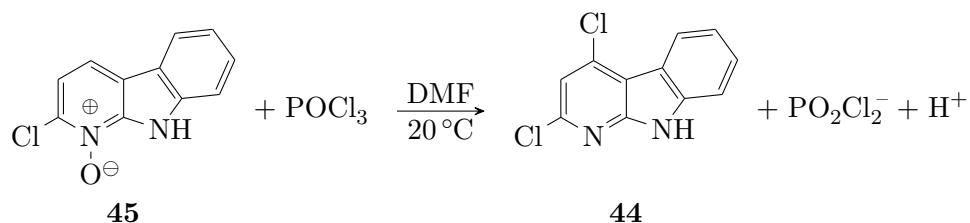
### Synthese des 2,4-Dichlor- $\alpha$ -carbolins

Die Bildung des Pyridin-*N*-oxides ist bei vorhandenem Chlorsubstituent an Position 2 erschwert. Erwartungsgemäß waren extremere Bedingungen zur Oxidation von **25** nötig. Sie gelang mit fünffachen Überschuss an Wasserstoffperoxid in Essigsäure über den Zeitraum von 15 h.



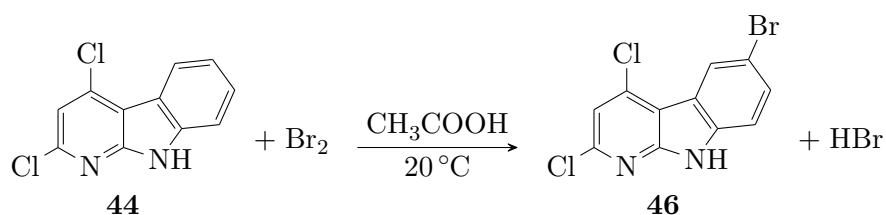
Das Produkt konnte im leicht basischen ausgefällt werden. Die Ausbeute von 55 % war befriedigend.

Die Chlorierung zu **44** wiederum verlief unter gleichen Bedingungen wie beim analogen 2-unsubstituierten  $\alpha$ -Carbolin **16** (vgl. 3.1.2, Seite 50 f.) und lieferte mit 40 % ähnliche Ausbeuten.



### Synthese des 6-Brom-2,4-dichlor- $\alpha$ -carbolins

Die Bromierung an Position 6 erfolgte wie schon beim unsubstituierten  $\alpha$ -Carbolin (3.1.2, Seite 55 f.) mit einem geringen Überschuss an elementarem Brom in Eisessig über etwa einen Tag.



Die erfolgreiche Bromierung war  $^1\text{H}$ NMR-spektroskopisch eindeutig feststellbar. So wurde erneut das charakteristische Kopplungsmuster der Protonen H-8, H-7 und H-5 gemessen: Dublett, Doppeldublett, Dublett mit  $^3J=8,7\text{ Hz}$  und  $^4J=2,0\text{ Hz}$

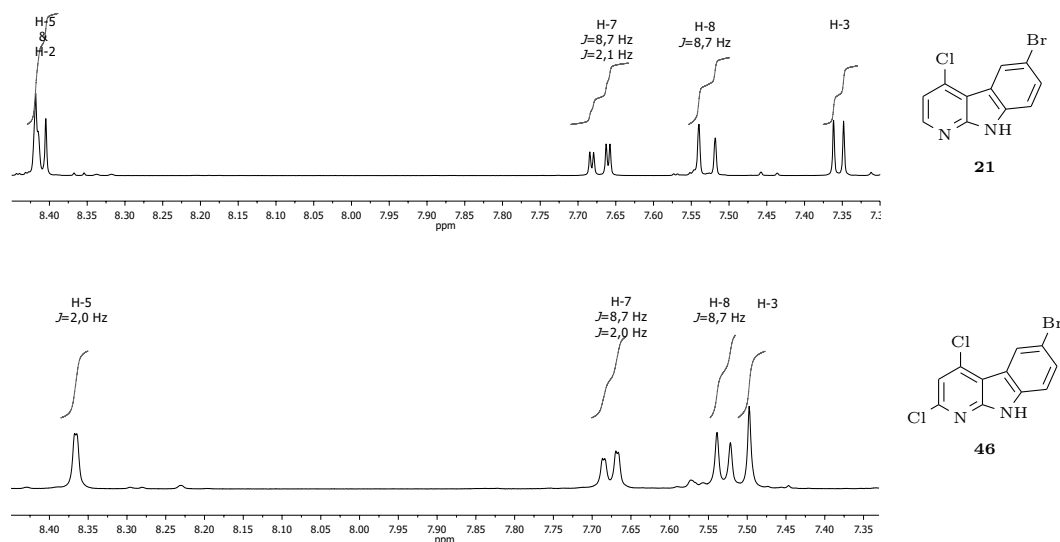


Abbildung 3.20:  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum von **21** und **46** in  $\text{DMSO-d}_6$ : Detaillierte Spektreninterpretation findet sich in 6.3.4 und 6.5.2. Siehe auch Abbildung 3.14.

im Bereich zwischen  $\sigma=7,53$  ppm und  $\sigma=8,37$  ppm (vgl. 3.1.2, Seite 56). H-3 erscheint erwartungsgemäß als Singulett, aufgrund des Elektronenzuges der zusätzlichen Chlorfunktion etwas weiter im Tieffeld, bei  $\sigma=7,50$  ppm.

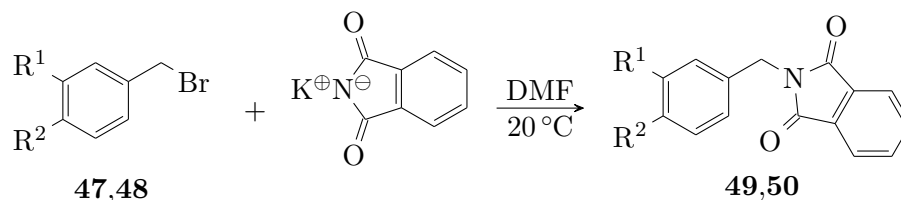
Wie oben erwähnt wurden die 2,4-disubstituierten Verbindungen hauptsächlich als Referenzsubstanzen für NMR- und IR-Analytik hergestellt. Eine weitere Verarbeitung zu aktiven Inhibitoren ist auf diesem Weg nicht möglich. Die nachfolgende Umsetzung mit Benzylamin würde unselektiv an den Positionen 2 und 4 erfolgen. Um die aktive Grundstruktur mit nur einem Benzylaminsubstituenten an Position 4 aufzubauen, müsste eine völlig neue Syntheseroute entwickelt werden, was an dieser Stelle nicht weiter verfolgt wurde.

#### 3.1.5 Weitere Synthesen

##### Synthese von Brombenzylaminen als 4-Substituenten

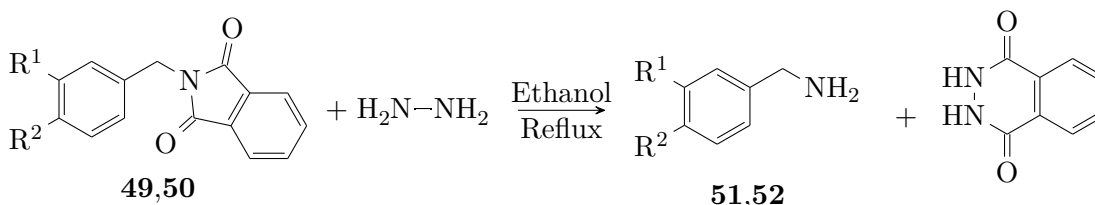
Aus Kostengründen wurde das 3-Brombenzylamin, als Substituent zur Darstellung von **19b** und **22c**, sowie das 4-Brombenzylamin zur Herstellung von **22d** selbst synthetisiert. Dazu wurde die ING-MANSKE-Variante [64] der klassischen GABRIEL-Synthese [52] verwendet: Zunächst koppelt das entsprechende Brombenzylbromid **47**

bzw. **48** unter Anwesenheit von Kaliumcarbonat an Phthalimid zu **49** bzw. **50**. Diese Reaktion verläuft über die Dauer von einer Woche, ist jedoch recht unkompliziert durch Rühren bei Raumtemperatur in DMF möglich.



Das jeweilige Produkt konnte durch Zugabe von Wasser in den Reaktionsansatz ausgefällt und abgetrennt werden.

Die anschließende Hydrazinolyse in siedendem Ethanol lieferte schließlich die Benzylamine **51** und **52** zur weiteren Verwendung.



Das cyclische Phthalhydrazid konnte in einem wässrig-sauren Milieu gefällt und abgetrennt werden. Das Produkt wurde dann, unter erneut basischen Bedingungen, extrahiert. Es ist ratsam das, nach dem Einengen des Extrakts gewonnene, Benzylamin zeitnah weiterzuverarbeiten.

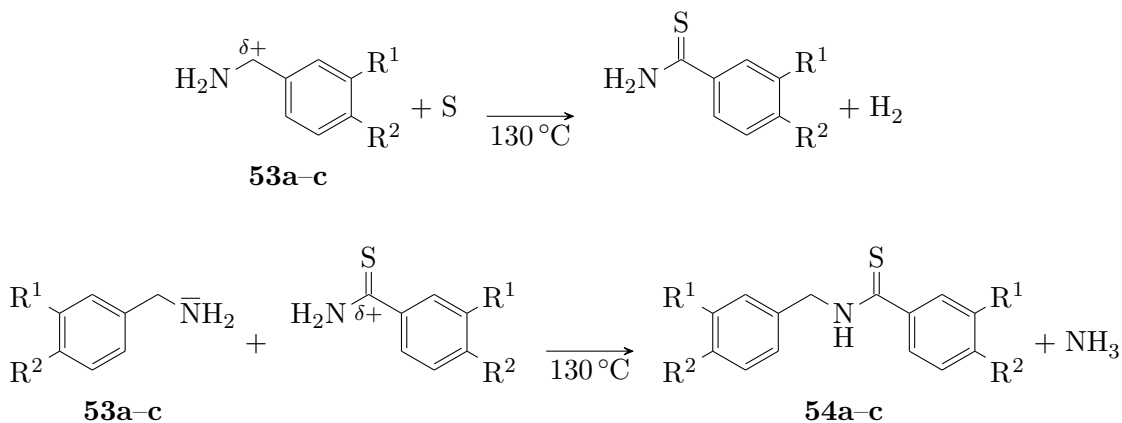
Edukt	Verbindung		Substitution	
	Intermediat	Produkt	-R <sup>1</sup>	-R <sup>2</sup>
<b>47</b>	<b>49</b>	<b>51</b>	-Br	-H
<b>48</b>	<b>50</b>	<b>52</b>	-H	-Br

Tabelle 3.7: Substitutionsschema der Verbindungen zur Synthese der Brombenzylamine. Diese Tabelle dient als Legende zu den Reaktionsgleichungen in diesem Abschnitt.

### Dimerisierung von Benzylaminen zu Benzothiamiden

Wie in 3.1.2 (Seite 55) erwähnt, führte elementarer Schwefel, durch die Aufarbeitung in ein Edukt verschleppt, zur Oxidation von Benzylamin am  $\alpha$ -Kohlenstoff. Das

fürte zur Bildung charakteristischer Nebenprodukte, welche isoliert und strukturell aufgeklärt werden konnten. Die Reaktion erfolgte beim Erhitzen des jeweiligen Benzylamins unter Inertgas über die Dauer von etwa einem Tag. In zwei Schritten kam es zunächst zu einer Oxidationsreaktion und anschließend zu einer intermolekularen S<sub>N</sub>2t-Reaktion.



Die Produkte wurden im leicht basischen extrahiert und säulenchromatographisch gereinigt. Sie wurden zunächst für die 6-Brom- $\alpha$ -carboline **22e,f** und **22g** gehalten. Entscheidend für die Strukturaufklärung waren, neben <sup>1</sup>HNMR- und <sup>13</sup>CNMR-Spektroskopie, die Ergebnisse der Elementaranalyse, in welcher der enthaltene Schwefel bestimmt werden konnte.

Der dargestellte Reaktionsweg wurde basierend auf den Beobachtungen von WU *et al* [65] und LI *et al* [66] als wahrscheinlich angenommen. Genaue Untersuchungen des Reaktionsablaufes, z. B. über die Isolierung von Zwischenprodukten, wurden nicht unternommen.

Verbindung		Substitution	
Edukt	Produkt	−R <sup>1</sup>	−R <sup>2</sup>
<b>53a</b>	<b>54a</b>	−Cl	−H
<b>53b</b>	<b>54b</b>	−H	−Cl
<b>53c</b>	<b>54c</b>	−OCH <sub>3</sub>	−H

Tabelle 3.8: Substitutionsschema der Verbindungen bei der Dimerisierung von Benzylaminen zu Benzothiamiden. Diese Tabelle dient als Legende zu den Reaktionsgleichungen im Abschnitt.

### Dibromierung am $\alpha$ -Carbolin-Grundkörper

Für Folgeprojekte könnten mehrfach bromierte  $\alpha$ -Carboline von Interesse sein. Deshalb soll untersucht werden, ob eine Bromierung des 4-Chlor- $\alpha$ -carbolins **17** an Position 6 und 8 möglich ist. Bei erfolgreicher Synthese solle eine Methode etabliert werden, mit der es möglich ist, größere Mengen des dibromierten Grundkörpers **55** zur weiteren Derivatisierung zugänglich zu machen. MAHMOUD [58] beschreibt genau diese Umsetzung mit einem doppelten Überschuss an Brom, unter sonst identischen Bedingungen wie bei der Synthese des einfach, nur an Position 6, bromierten  $\alpha$ -Carbolins **21** (vgl. 3.1.2, Seite 55).

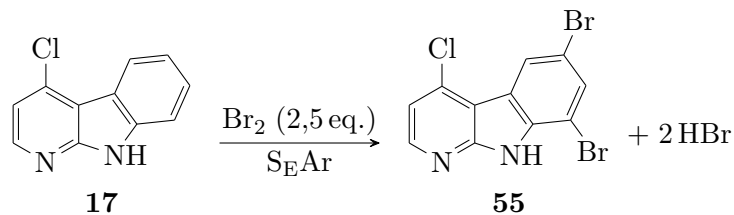
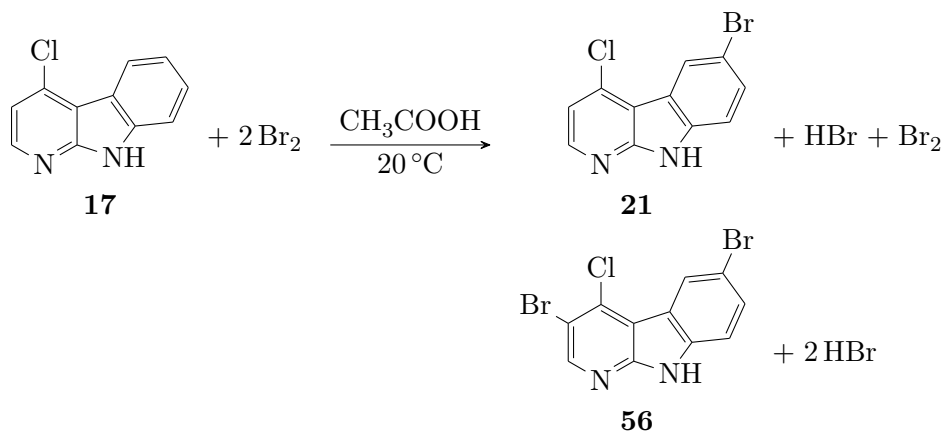


Abbildung 3.21: Synthesemethode nach MAHMOUD [58]. Umsetzung von 4-Chlor- $\alpha$ -carbolin mit einem Überschuss an Brom

Entsprechend der Literaturvorschrift wurde **17** in Eisessig mit elementarem Brom versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Leider konnte die Darstellung der gewünschten Verbindung **55** auf diese Weise nicht reproduziert werden. Eine drastische Erhöhung der Reaktionszeit, von einem Tag auf eine Woche, führte schließlich zur Entstehung geringer Mengen eines zweifach bromierten Produktes **56**. Hauptprodukt der Umsetzung bleibt nach wie vor das einfach bromierte Derivat **21**.



### 3 Ergebnisse und Diskussion

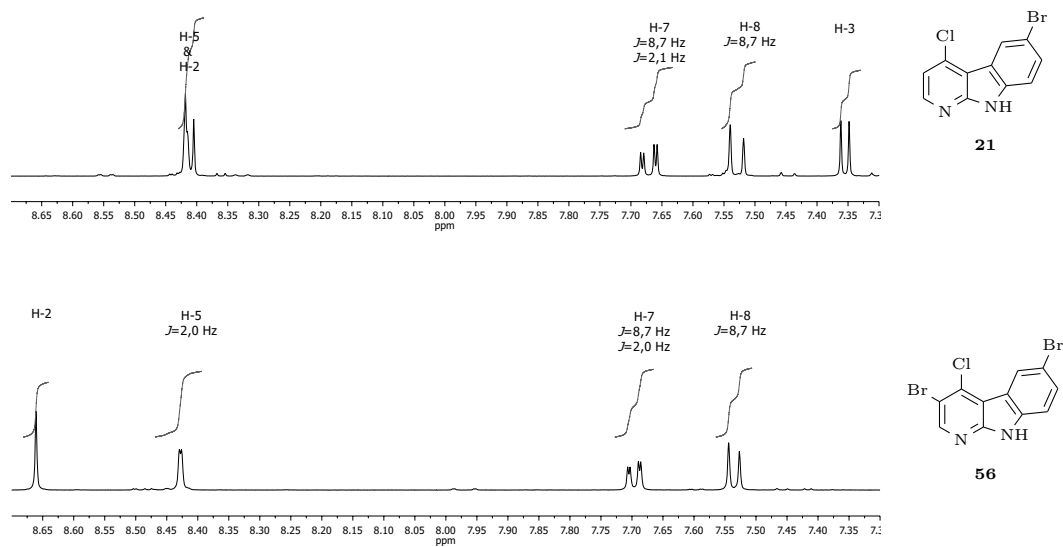
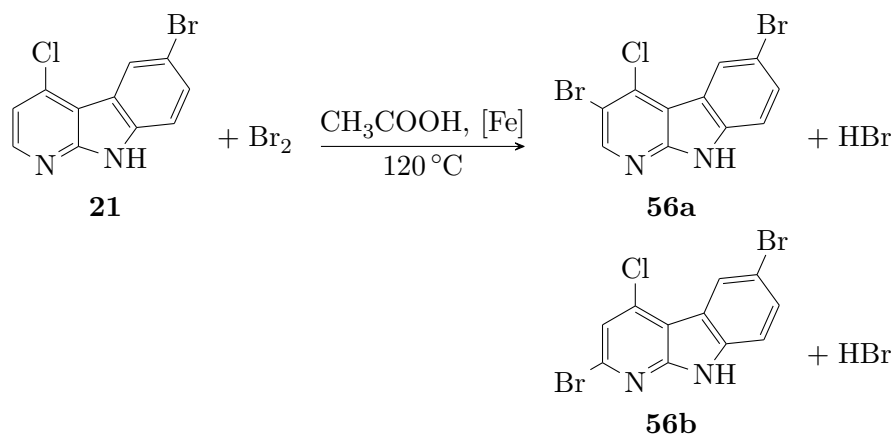


Abbildung 3.22:  $^1\text{H}$ NMR-Spektrum von **21** und **56** in DMSO- $d_6$ : Die Signale von H-8, H-7 und H-5 sind in beiden Spektren zu sehen. Das AX-Spinsystem, zwei Dubletts von H-3 und H-2, ist im unteren Spektrum verschwunden. Dafür findet sich ein einzelnes Singulett. Detaillierte Spektreninterpretation findet sich in 6.3.4 und 6.8.1. Siehe auch Abbildung 3.14.

Das Produktgemisch wurde im Ammoniakalischen extrahiert und säulenchromatographisch getrennt.

Die  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung des Dibromderivates zeigt deutlich, dass die Bromierung nicht wie erwartet an Position 8 geschieht, sondern am Pyridinring an Position 3. So findet sich auch hier das bekannte Signalmuster von H-8, H-7 und H-5: Dublett, Doppeldublett, Dublett mit  $^3J=8,7\text{ Hz}$  und  $^4J=2,0\text{ Hz}$ , bei  $\sigma=7,54\text{ ppm}$ ,  $\sigma=7,70\text{ ppm}$  und  $\sigma=8,43\text{ ppm}$ . Das für H-3 und H-2 charakteristische AX-Spinsystem, was üblicherweise als zwei Dubletts zu erkennen war, verschwindet. Dafür erscheint ein einzelnes Singulett bei einer Verschiebung von  $8,66\text{ ppm}$ , was für eine Bromierung am Pyridinring spricht. Der Elektronenzug des Heteroatoms deaktiviert den Ring gegenüber elektrophilen Angriff. Eine  $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$  Reaktion ist damit an Position 3 zu erwarten, da diese eine relativ höhere Elektronendichte besitzt. Das Singulett wird deshalb H-2 zugeordnet. Die Ausbeute von nur  $0,5\%$  ist enttäuschend gering.

Zur Erhöhung der Ausbeute wurde die Bromierung unter drastischeren Bedingungen durchgeführt. In Anlehnung der Arbeitsvorschriften des Organikums [46], wurde das bereits einfach bromierte Derivat **21** in Eisessig gelöst, katalytische Mengen Eisen zugegeben, das Gemisch zum Reflux erhitzt, äquimolare Mengen an Brom zugetropft und eine weitere Stunde unter Reflux gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde per DC überwacht. Die Eisen- und Bromzugabe wurde in gleicher Weise fünf mal wiederholt und die Reaktion dann abgebrochen. Die Ausbeute an zweifach bromierten Produkt lag bei etwa  $2\%$ , sie war also nur geringfügig größer als im vorangegangenen Syntheserversuch. Für die effiziente Darstellung der gewünschten Zielverbindung bleibt auch diese Methode ohne praktische Relevanz.



Die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopische Untersuchung des Produktes (Abbildung 3.23) zeigte, dass es sich um ein Isomergemisch aus **56a** und **56b** im Mengenverhältnis 1:1 handelte. Offenbar führen die extremeren Reaktionsbedingungen zu einer unselektiven Bromierung am Pyridinring. Eine Trennung der Isomere gelang nicht.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

---

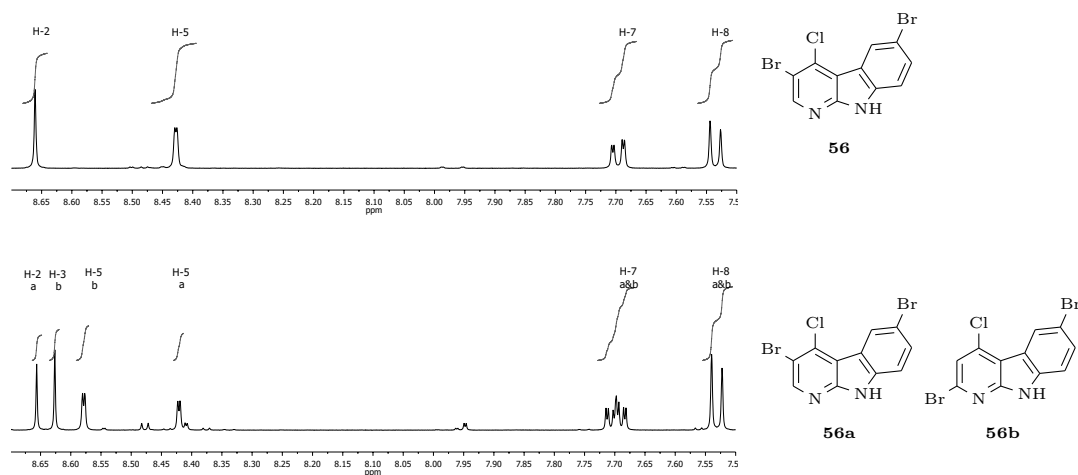


Abbildung 3.23: <sup>1</sup>H NMR-Spektrum von **56** und dem Isomerengemisch des zweiten Syntheserversuches: Die Signale von H-8 und H-7 sind beinahe identisch. Deutlich verschoben zeigen sich die Signale von H-5 und H-2 bzw. H-3. Aus den Integralkurven lässt sich auf ein Stoffmengenverhältnis von etwa 1:1 schließen.

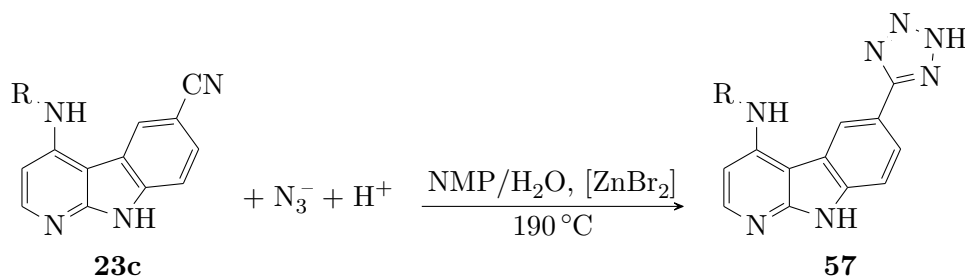
Es wurden keine weiteren Versuche zur Synthese zweifach bromierter  $\alpha$ -Carboline unternommen.



### Synthese des 6-Tetrazo- $\alpha$ -carbolins

Eine bekannte Derivatisierung von Nitrilgruppe ist die Umsetzung mit Natriumazid zum Tetrazol, im Sinne einer 1,3-dipolaren Zykladdition. Die daraus resultierende Verbindung ist interessant, da Tetrazole bei ähnlicher Azidität lipophiler als die analogen Carbonsäuren sind. Die Derivatisierung könnte also Auswirkungen auf die biopharmazeutischen Eigenschaften der Verbindung z. B. durch verbesserte Membrangängigkeit haben [41].

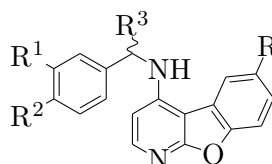
Vorschriften zur Umsetzung sind zahlreich dokumentiert. Meist wird das Nitril als Edukt in einem polaren hochsiedenden Lösungsmittel mit der äquimolaren Menge an Natriumazid unter Gegenwart eines geeigneten Katalysators in der Wärme umgesetzt. DMSO als Lösungsmittel ist zu vermeiden, da sich die  $\alpha$ -Carboline beim Erwärmen darin als instabil erwiesen [41]. Frei nach PALDE *et al* [67] wurde folgende Methode gewählt: Das Nitrilderivat **23c** wurde in NMP gelöst im Reaktionsgefäß vorgelegt. Die zehnfache Stoffmenge Natriumazid und katalytische Mengen Zinkbromid wurden in Wasser gelöst eingetropt. Das Volumenverhältnis von NMP/Wasser betrug nach beendeter Zugabe 4:1. Anschließend wurde das Gemisch unter Inertgasatmosphäre erhitzt. Die Reaktion war nach 36 h abgeschlossen, was für Umsetzungen dieser Art recht lang ist. Hier zeigte sich erneut, dass die 6-Cyano- $\alpha$ -carboline sehr stabil sind, was für Folgeumsetzungen sehr drastische Bedingungen nötig macht.



Das entstandene Produkt konnte im Säuren extrahiert werden. Die Ausbeute von nur 4% zeigt deutlich, dass diese Umsetzung noch optimiert werden muss.

3.2 *In vitro* Testung am Targetprotein

## 3.2.1 Erster Entwicklungszyklus: 1-Aza-9-oxafluorene



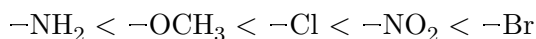
Verb.	Substitution				IC <sub>50</sub> -Wert	
	-R	-R <sup>1</sup>	-R <sup>2</sup>	-R <sup>3</sup>	EGFR wt (μM)	IGF-1R (μM)
8a	-NO <sub>2</sub>	-NH <sub>2</sub>	-H	-H	44,93	* 42,95 ± 4,89
8c	-NO <sub>2</sub>	-Br	-H	-H	8,52 ± 0,25	18,10 ± 2,72
8d	-NO <sub>2</sub>	-H	-Br	-H	10,06 ± 0,54	19,90 ± 10,84
8e	-NO <sub>2</sub>	-Cl	-H	-H	17,05 ± 0,22	19,85 ± 12,98
8f	-NO <sub>2</sub>	-H	-Cl	-H	31,56 ± 10,94	24,64 *
8g	-NO <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H	34,26 ± 6,51	31,55 ± 1,69
8h	-NO <sub>2</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub>	-H	25,72 ± 0,22	23,56 ± 1,24
8i	-NO <sub>2</sub>	-NO <sub>2</sub>	-H	-H	11,55 ± 3,39	16,60 ± 1,60
8k	-NO <sub>2</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	23,80 ± 0,12	31,56 *
8l	-NO <sub>2</sub>	-H	-H	.. CH <sub>3</sub>	30,98	* 36,37 ± 0,69
9a	-NH <sub>2</sub>	-NH <sub>2</sub>	-H	-H	11,82 ± 2,90	62,05 ± 6,98
9c	-NH <sub>2</sub>	-Br	-H	-H	2,90 ± 1,92	n. a.
9d	-NH <sub>2</sub>	-H	-Br	-H	n. a.	n. a.
9e	-NH <sub>2</sub>	-Cl	-H	-H	5,00 ± 0,35	31,95 ± 2,36
9f	-NH <sub>2</sub>	-H	-Cl	-H	n. a.	n. a.
9g	-NH <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H	2,18 ± 0,02	3,75 ± 0,25
9h	-NH <sub>2</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub>	-H	n. a.	n. a.
9l	-NH <sub>2</sub>	-H	-H	.. CH <sub>3</sub>	n. a.	n. a.

Tabelle 3.9: IC<sub>50</sub>-Werte der 1-Aza-9-oxafluorene. Verbindungen mit IC<sub>50</sub>-Werten über 100 μM sind als nicht aktiv gekennzeichnet. \*Wert auf Grundlage einer Einzelbestimmung.

### Interpretation der Ergebnisse am EGF-Rezeptor

Bei den 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorenen **8a,c-i** lag ein Großteil der gemessenen IC<sub>50</sub>-Werte im unteren mikromolaren Bereich. Diese sind noch nicht ausreichend, um die entsprechenden Verbindungen als potente Rezeptorantagonisten zu bezeichnen. Es lassen sich jedoch sehr nützliche SAR ableiten.

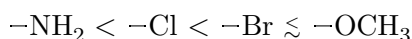
Am Benzylaminring fiel auf, dass sich eine Substitution der 3'-Position generell günstig auswirkt. Von allen analog 3'- und 4'-substituierten Derivaten (außer mit Methoxysubstitution) waren 3'-Verbindungen wirksamer. Es galt:



Aminogruppen hatten die geringste Affinität zum Rezeptor. Danach stieg sie über die Methylethergruppe zu den Halogenen hin an. Brom war der Rest mit der stärksten gemessenen Aktivität dieser Reihe. Die Nitrosubstitution lag auf einem Level mit den Halogenen. Voluminöse, lipophile und elektronenreiche funktionelle Gruppen mit H-Brückenakzeptorfunktion waren also günstig, während H-Brückendonatoren mit +M-Effekt deutlich unwirksamer waren.

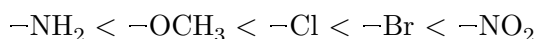
Die Enantiomere **8k** und **8l**, mit einer (*R*)- bzw. (*S*)-Methylgruppe am  $\alpha$ -Kohlenstoff des 4-Benzylaminrestes waren von eher geringer Affinität zum Target. Die bestimmten IC<sub>50</sub>-Werte lagen im Bereich der analogen, 4'-substituierten Verbindungen. Daraus lässt sich schließen, dass am EGFR keine Bevorzugung einer stereoselektiven Verbindung durch die Gatekeeper-Aminosäure am Eingang der hydrophoben Tasche vorliegt.

Bei den 6-Amino-1-aza-9-oxafluorenen **9a,c-h** bestätigten sich die Beobachtungen betreffend der Position des Substituenten am Benzylaminring: Die 3'-Derivate erreichten IC<sub>50</sub>-Werte im oberen nanomolaren Bereich, während sich alle 4'-substituierten Verbindungen als wirkungslos herausstellten. Insgesamt wurden die Affinitäten, verglichen mit der vorhergehenden Reihe, zu beiden Extremen verschoben. **9g** und **9c** waren die aktivsten Verbindungen dieser Testreihe am EGFR. Für die 3'-Substitution galt folgende Ordnung:



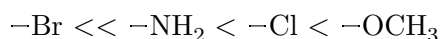
### Interpretation der Ergebnisse am IGF-1-Rezeptor

Die 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene **8a,c-i** zeigten ein sehr ähnliches Affinitätsprofil zum IGF-1R wie schon zum EGFR. So waren die 3'-substituierten Derivate i. d. R. effektiver als die entsprechend an Position 4' substituierten Verbindungen. Auch hier fiel die Methoxysubstitution aus dem Rahmen. **8h** hatte einen geringeren IC<sub>50</sub>-Wert als **8g**. Es galt:



Die 3'-Aminosubstitution war ungünstig, auch die enantiomeren 4- $\alpha$ -Methylbenzylaminderivate **8k** und **8l** stellten sich als nicht besonders gute IGF-1R-Inhibitoren heraus.

Sehr interessant erwiesen sich die Ergebnisse der 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene **9a,c-h**: Alle 4'-substituierten Derivate zeigten sich komplett unwirksam. Eine 3'-Substitution am Benzylaminring führte auch hier zu den aktiven Verbindungen. Innerhalb dieser Reihe jedoch, wurden sehr abweichende Beobachtungen zu den bisherigen gemacht. Mit aufsteigender Affinität zum Rezeptor, ließen sich die Verbindungen wie folgt ordnen:



Dies lässt vermuten, dass die hydrophobe Tasche des IGF-1R weniger Raum bietet, als die des EGFR. Sterisch große Substituenten bewirkten einen starken Aktivitätsabfall. Speziell die IC<sub>50</sub>-Werte der beiden Halogene klappten so weit auseinander wie in keiner anderen Testreihe.

Das 3'-Methoxyderivat **9g** ist somit die Verbindung mit der höchsten Aktivität an beiden Rezeptoren. Das 6-Amino-3'-brom-1-aza-9-oxafluoren **9c** ist die wirksamste EGFR-selektive Substanz dieses Entwicklungszyklus.

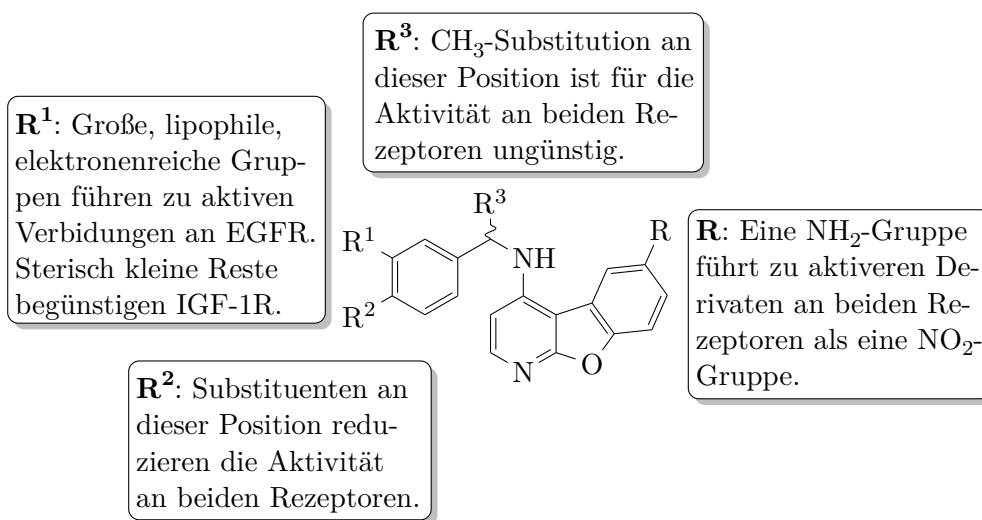
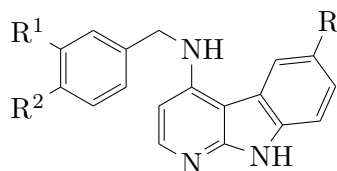


Abbildung 3.24: Zusammenfassung der SAR der getesteten 1-Aza-9-oxafluorene für EGFR und IGF-1R

3.2.2 Zweiter Entwicklungszyklus:  $\alpha$ -Carboline

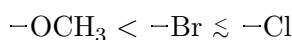
Verb.	Substitution			IC <sub>50</sub> -Wert	
	-R	-R <sup>1</sup>	-R <sup>2</sup>	EGFR wt ( $\mu$ M)	IGF-1R ( $\mu$ M)
19a	-NO <sub>2</sub>	-H	-H	2,89 $\pm$ 0,30	4,51 $\pm$ 0,13
19b	-NO <sub>2</sub>	-Br	-H	1,42 $\pm$ 0,45	2,19 $\pm$ 0,36
19c	-NO <sub>2</sub>	-Cl	-H	1,03 $\pm$ 0,30	1,93 $\pm$ 0,21
19d	-NO <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	4,19 $\pm$ 0,36	6,22 $\pm$ 0,92
20a	-NH <sub>2</sub>	-H	-H	3,85 $\pm$ 0,27	76,79 $\pm$ *
20b	-NH <sub>2</sub>	-Br	-H	1,34 $\pm$ 0,23	14,63 $\pm$ 1,66
20c	-NH <sub>2</sub>	-Cl	-H	1,73 $\pm$ 0,08	13,34 $\pm$ 0,63
20d	-NH <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	4,03 $\pm$ 0,09	24,65 $\pm$ 0,50
22b	-Br	-NH <sub>2</sub>	-H	1,27 $\pm$ 0,10	3,73 $\pm$ 0,01
22c	-Br	-Br	-H	3,20 $\pm$ 0,16	20,59 $\pm$ 1,72
22d	-Br	-H	-Br	5,61 $\pm$ 0,64	6,14 $\pm$ 1,15
22e	-Br	-Cl	-H	4,52 $\pm$ 3,08	24,08 $\pm$ *
22f	-Br	-H	-Cl	n. a.	15,91 $\pm$ 0,24
22g	-Br	-OCH <sub>3</sub>	-H	4,31 $\pm$ 0,21	68,28 $\pm$ 10,83
22h	-Br	-H	-OCH <sub>3</sub>	14,55 $\pm$ 5,08	15,51 $\pm$ 0,14
22i	-Br	-H	-CH <sub>3</sub>	3,49 $\pm$ 0,65	4,84 $\pm$ 0,07
23a	-CN	-H	-H	0,81 $\pm$ 0,21	2,38 $\pm$ 0,13
23c	-CN	-OCH <sub>3</sub>	-H	0,90 $\pm$ 0,15	2,00 $\pm$ 0,10
23d	-CN	-H	-OCH <sub>3</sub>	1,98 $\pm$ 0,23	1,87 $\pm$ 0,01
23e	-CN	-H	-CH <sub>3</sub>	2,00 $\pm$ 0,01	2,71 $\pm$ 0,77
24a	-COOH	-H	-H	1,72 $\pm$ 0,12	22,98 $\pm$ 2,09
24c	-COOH	-OCH <sub>3</sub>	-H	1,75 $\pm$ 0,25	16,42 $\pm$ 0,55

Tabelle 3.10: IC<sub>50</sub>-Werte der  $\alpha$ -Carboline; \*Wert auf Grundlage einer Einzelbestimmung.

### Interpretation der Ergebnisse am EGF-Rezeptor

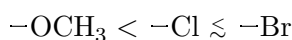
Die  $\alpha$ -Carboline des zweiten Entwicklungszyklus zeigten deutlich höhere Affinitäten als die dazu analogen 1-Aza-9-oxafluorene, wobei bei Verbindungen mit eher hohen  $IC_{50}$ -Werten eine verhältnismäßig große Aktivitätssteigerung zu beobachten war. Die Vermutung, dass es durch die Aminofunktion an Position 9 des Ringsystems zur Ausbildung einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung zur Hinge-Region kommt, wurde dadurch bekräftigt.

Bei den  $\alpha$ -Carbolinen mit 6-Nitrofunktion **19a–d** zeigte sich erneut, dass die Halogensubstitution am Benzylaminring für die Aktivität als Enzyminhibitor günstiger ist, als eine Methyletherfunktion. Es galt:



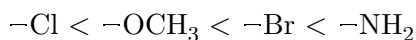
Das 3'-Chlorderivat **19c** war die aktivste Verbindung dieser Reihe. Das ist überraschend, da sich bisher das größere Bromatom an dieser Position i. d. R. als günstiger erwies. Die 6-Nitro- $\alpha$ -carboline sind Inhibitoren des EGFR mit  $IC_{50}$ -Werten im unteren mikromolaren Bereich.

Auch bei den 6-Amino- $\alpha$ -carbolenen **20a–d** waren die mit Halogensubstitution an der 3'-Position effektivere Inhibitoren als die mit Methoxysubstitution. Wobei hier wieder galt:



Es muss erwähnt werden, dass die 6-Aminofunktion nicht zu einer deutlichen Aktivitätssteigerung gegenüber den 6-Nitroderivaten führte, so wie es bei den 1-Aza-9-oxafluorenen beobachtet wurde. Man kann sagen, dass die beiden Testreihen bezüglich ihrer  $IC_{50}$ -Werte auf etwa dem gleichen Level lagen.

Die  $\alpha$ -Carboline mit Bromatom an 6-Position **22b–i** fügten sich zunächst in die bisherigen Beobachtungen: Substitution an 3' des Benzylamins führte zur besseren Enzyminhibitoren. Die verschiedenen Substituenten ordneten sich hinsichtlich ihrer Aktivitäten jedoch wie folgt:



Diese Reihe wich deutlich von den bisher gefundenen SAR ab. Die Verbindung mit Aminosubstitution bewirkte die mit Abstand beste Inhibition. Eine weitere interessante Beobachtung konnte bei den zwei weniger aktiven, 4'-substituierten Verbindungen **22h** mit Methoxyfunktion und dem Methylderivat **22i** gemacht werden: Für die Substanz mit dem kleineren Methylrest wurde ein deutlich niedrigerer  $IC_{50}$  gemessen, als beim größeren Methoxyrest, welcher außerdem noch Wasserstoffbrückenakzeptorfunktionen besitzt. Die hydrophobe Tasche des Targetenzym ist an

dieser Stelle offensichtlich räumlich stark begrenzt, da nur kleine lipophile Reste zu wirksamen Inhibitoren führten.

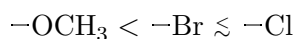
Die aktivsten, in dieser Arbeit hergestellten, Verbindungen waren die 6-Cyano- $\alpha$ -carboline **23a,c–e**. Die gemessenen IC<sub>50</sub>-Werte lagen im oberen nanomolaren Bereich. Auch hier war Substitution an Position 3' des Benzylaminrings begünstigt. Der deutliche Aktivitätsunterschied des 4'-Methoxyderivates zur 4'-Methylverbindung (**23d** und **23e**) war nicht mehr so gravierend, wie bei den entsprechenden 6-Bromderivaten (**22h** und **22i**).

Die zwei hergestellten 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline **24a** und **24c** zeigten eine ähnliche Aktivität am EGFR mit guten IC<sub>50</sub>-Werten im unteren mikromolaren Bereich.

### Interpretation der Ergebnisse am IGF-1-Rezeptor

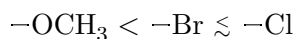
Am IGF-1R wirkte sich die Aktivitätssteigerung durch die zusätzliche Wasserstoffbrücke zum Pyrrol-Stickstoff noch deutlicher aus. Die IC<sub>50</sub>-Werte erfuhren eine Verminderung um weit mehr das Zehnfache.

Für die Derivate der 6-Nitro- $\alpha$ -carboline **19a–d** ordneten sich die 3'-Substituenten, hinsichtlich ihrer Aktivität in der gleichen Reihenfolge, wie schon am EGFR beobachtet:



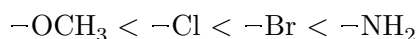
Auch hier wurden IC<sub>50</sub>-Werte im unteren mikromolaren Bereich gemessen. **19c** kann somit als potenter Proteinkinaseinhibitor mit dualer Aktivität an EGFR und IGF-1R bezeichnet werden.

In der Reihe der 6-Amino- $\alpha$ -carboline **20a–d** bestätigte sich der SAR-Effekt am Benzylamin der vorher diskutierten Reihe:

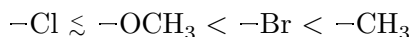


Im Gesamten waren die Derivate dieser Reihe jedoch etwas weniger aktiv, als die 6-Nitro- $\alpha$ -carboline. Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu dem, was bei den analog substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen festgestellt wurde, was wahrscheinlich durch den veränderten Bindungsmodus begründet ist.

Für die  $\alpha$ -Carboline mit Bromatom an 6-Position **22b–i** wurde ein abweichender Effekt von allen bisher diskutierten Verbindungen beobachtet: Substitution an Position 4' führte zu aktiveren Substanzen als die gleichartige 3'-Substitution. Insgesamt zeigten die Vertreter dieser Testreihe nur geringe Aktivität an IGF-1R. IC<sub>50</sub>-Werte im unteren mikromolaren Bereich erreichten das 3'-Aminoderivat **22b**, sowie **22i** mit 4'-Methylsubstitution. Die Substitutionen an 3'-Position ließen sich, nach ihrer Inhibition des Rezeptors, wie folgt ordnen:



Für die Substitutionen an 4' galt eine andere Reihenfolge:



Belastbare Aussagen zu SAR lassen sich mit diesen Ergebnissen nicht machen.

Die 6-Cyano- $\alpha$ -carboline **23a,c-e** waren auch am IGF-1R die aktivsten Verbindungen dieser Arbeit. Die gemessenen IC<sub>50</sub>-Werte lagen alle im unteren mikromolaren Bereich und unterschieden sich nur wenig voneinander. Die größte inhibitorische Aktivität zum IGF-1R zeigte das 4'-Methoxyderivat **23d**. Es können jedoch alle Derivate dieser Reihe als gute, dualaktive EGFR und IGF-1R Inhibitoren bezeichnet werden.

Die 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline zeigten eine nur geringe Aktivität am IGF-1R im mittleren mikromolaren Bereich. Im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen können sie somit als EGFR-selektiv gelten.

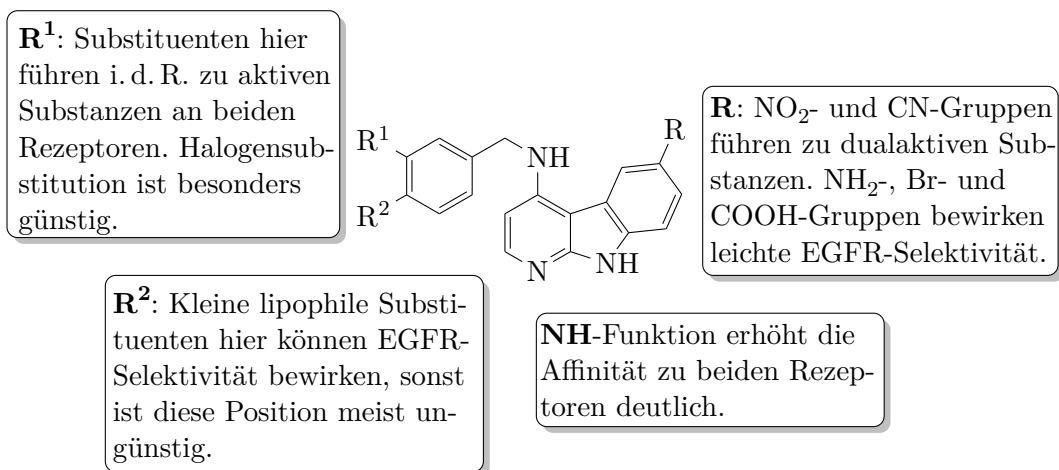


Abbildung 3.25: Zusammenfassung der SAR der getesteten  $\alpha$ -Carboline für EGFR und IGF-1R



## 3.3 Molekulares Docking

### 3.3.1 Problemstellung und Substanzauswahl

Die *in vitro* Aktivitäten der  $\alpha$ -Carboline waren im Allgemeinen besser, als die der analogen 1-Aza-9-oxafluorene. Gestützt auf Erkenntnisse aus vorangegangenen Arbeiten liegt nahe, dass dies durch eine zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung verursacht wird, die von der 9-Aminofunktion des Liganden zur Hinge-Region der Kinase zustande kommt. Diese These soll mithilfe des molekularen Dockings gestützt werden.

Bei den 6-Amino-1-aza-9-oxafluorenen **9a,c-h** der ersten Testreihe, fielen z. T. deutliche Unterschiede in der Aktivität zwischen den Derivaten mit *meta*- bzw. *para*-Substitution am 4-Benzylring auf. Mithilfe des Dockings soll versucht werden, dieses Phänomen zu erklären.

Die genannte Testreihe zeichnet sich durch einen weiteren interessanten Sachverhalt aus: Waren sonst große Substituenten in *meta*-Position meist günstig für die Aktivität an EGFR, zeigte die 3'-Bromverbindung **9c** an IGF-1R eine überraschend geringe Aktivität, verglichen mit z. B. dem analogen 3'-Chlorderivat **9e** (siehe 3.2.1, Seite 80). Auch dieser Sachverhalt soll durch die Computersimulation untersucht werden.

In Tabelle 3.11 sind die, für das Docking ausgewählten Substanzen und ihre IC<sub>50</sub>-Werte an den untersuchten Rezeptoren gelistet.

### 3.3.2 Allgemeine Ergebnisse

Die ausgewählten Verbindungen wurden in das aktive Zentrum der Kinase gedockt. Bekannt ist, dass sie kompetitiv zu ATP in der ATP-Bindungstasche angreifen (siehe 1.6, Seite 24 f. und Abbildung 1.8). Der Trizyklus der Testsubstanzen imitiert den Adenin-Teil des Biomoleküls. Wasserstoffbrückenbindungen zur Hinge-Region sind entscheidend für die Affinität des natürlichen, sowie der synthetischen Liganden. Eine solche Bindung entsteht bei allen Testsubstanzen zwischen dem Pyridin-Stickstoff an Position 1 und Met793 von EGFR bzw. Met1082 von IGF-1R. Die getesteten  $\alpha$ -Carboline bilden eine weitere H-Brücke zur Carbonylfunktion der gleichen Aminosäure des jeweiligen Rezeptors aus. Der Wasserstoffbrückendonator ist hier das Pyrrol-NH im Trizyklus des Liganden. Darin liegt der Grund für die i. d. R. höhere Rezeptoraffinität der  $\alpha$ -Carboline, verglichen mit den analogen 1-Aza-9-oxafluorenen. Abgebildet sind beispielhaft **20b** an EGFR (Abbildung 3.28) und **19b** an IGF-1R (Abbildung 3.32).

Unterschiede im Bindungsmodus sind v. a. durch die verschiedenen Gatekeeper-Aminosäuren der beiden Kinasen begründet. Das sind Thr790 (EGFR) bzw. Met1079 (IGF-1R). Selektive Affinität zu nur einer der untersuchten Kinasen wurde durch ebendiese Aminosäuren verursacht, bzw. durch die unterschiedlich großen hydro-

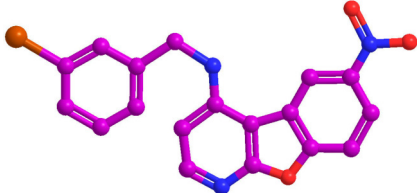
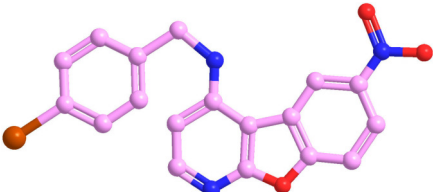
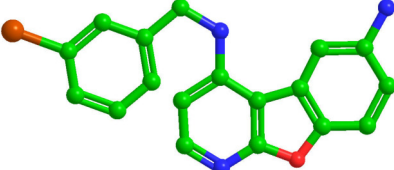
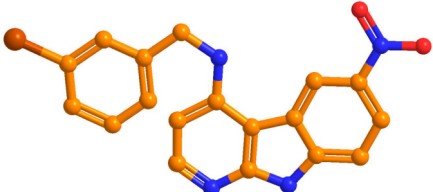

Nr.	Verbindung 3D-Modell	IC <sub>50</sub> -Wert (μM)	
		EGFR	IGF-1R
8c		8,52	18,10
8d		10,06	19,90
9c		2,90	n. a.
19b		1,42	2,19
20b		1,34	14,63

Tabelle 3.11: 3D-Modelle und IC<sub>50</sub>-Werte der gedockten Verbindungen. Heteroatome sind wie folgt farblich codiert: Brom braun, Stickstoff blau, Sauerstoff rot. Das Kohlenstoff-Grundgerüst der Moleküle ist zur besseren Orientierung in den gleichen Farben abgebildet wie in den folgenden Abbildungen. Wasserstoffatome sind ausgeblendet. Die dargestellte Konformation der 3D-Modelle ist den gewohnten Strukturformeln nachempfunden.

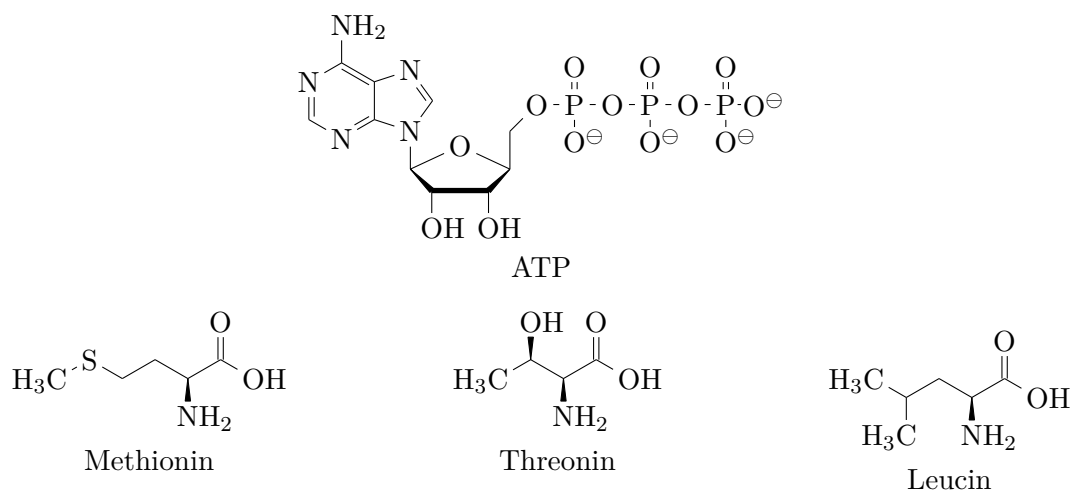


Abbildung 3.26: Strukturformel von ATP, dem natürlichen Substrat der Kinase, sowie von den Aminosäuren, die als Proteinseitenketten an der Bindung des Liganden beteiligt sind.

phoben Taschen.

### 3.3.3 Ergebnisse des Dockings am EGF-Rezeptor

Wie bereits erwähnt, bilden alle gedockten Verbindungen eine Wasserstoffbrückenbindung zu Met793 der Hinge-Region aus. Chemisch gesehen ist der entsprechende H-Brückendonator die NH-Funktion einer Peptidbindung und Teil des Proteinrückgrates.

Die Testsubstanzen mit Aminofunktion an Position 6, z. B. **9c** und **20b**, bilden eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zu Leu718 im P-Loop des Proteins aus (vgl. 1.3.3, Seite 16). Die Lage des Moleküls wird dadurch an einer zusätzlichen Stelle verankert, wodurch der 4-Benzylring des Liganden tiefer in die hydrophobe Tasche der Kinase gedrängt wird. In *meta*-Position dieses Ringes kommt es dadurch zu begünstigenden VAN-DER-WAALS-Interaktionen mit Met766, Leu788 (nicht abgebildet) und dem Gatekeeper Thr790 (Abbildungen 3.27 und 3.28). Eine *para*-Substitution in den Verbindungen **9d,f,h** führt zu einer sterischen Kollision und damit zum Aktivitätsverlust.

Die 6-Nitroderivate z. B. **8c,d** und **19b** liegen insgesamt weniger tief und flexibler in der ATP-Bindungstasche. Es wird sowohl die *meta*- als auch die *para*-Substitution am Benzylring in der hydrophoben Tasche toleriert, wobei die *meta*-substituierten Verbindungen nach wie vor aktiver sind (Abbildungen 3.29 und 3.30).

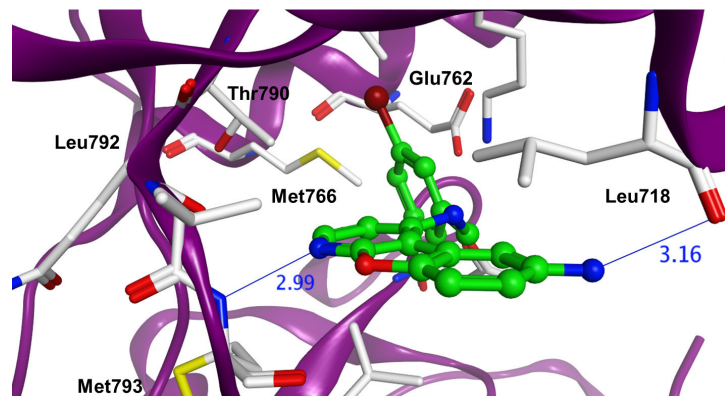


Abbildung 3.27: Dockingresultate an EGFR: Der Pyridinring fungiert als H-Brückenakzeptor mit der Hinge-Region (Amid-NH von Met793). Der *meta*-Brombenzylring von **9c** (grün) befindet sich in der hydrophoben Tasche nahe des Gatekeepers, diese wird von Met766, Leu788 und Thr790 gebildet. Die 6-Aminogruppe ist Wasserstoffbrückendonator zum Rückgrat des P-Loops (Leu718).

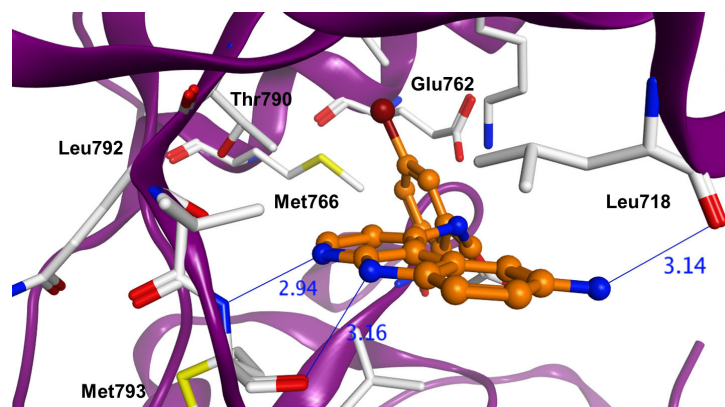


Abbildung 3.28: Der o.g. Bindungsmodus wird gleichermaßen bei den  $\alpha$ -Carbolinderivaten beobachtet (z.B. **20b** in orange). Eine zweite Wasserstoffbrückenbindung entsteht zwischen dem Pyrrol-NH und der Carbonylgruppe von Met793. Bindungslängen der H-Brücken sind in Ångström angegeben.

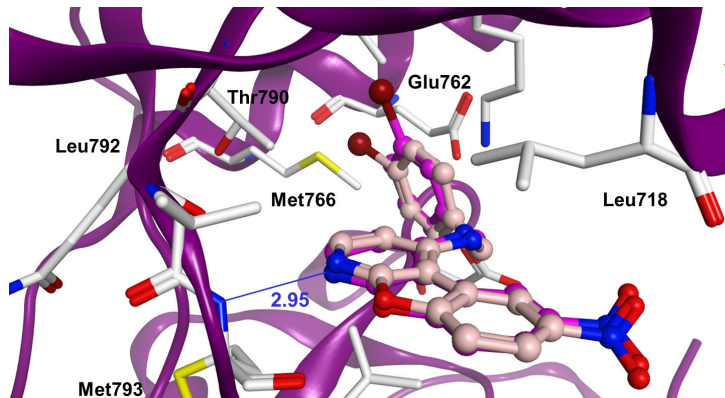


Abbildung 3.29: Bei einer 6-Nitrosubstitution (z. B. **8c** magenta und **8d** rosa) können sowohl ein *meta*- als auch ein *para*-substituierter Benzylring in die hydrophobe Tasche hinter dem Gatekeeper aufgenommen werden.

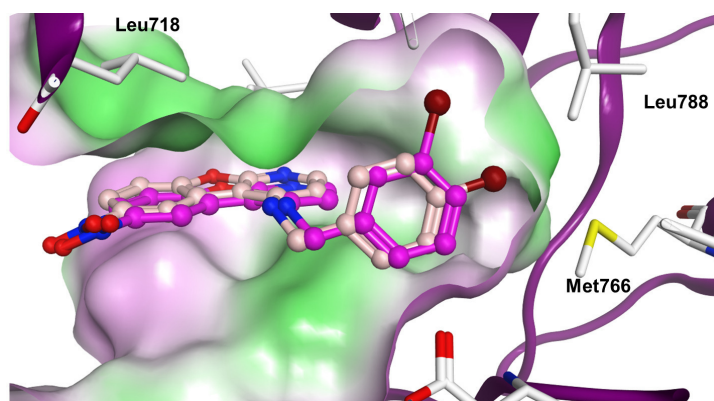


Abbildung 3.30: Gezeigt ist die molekulare Oberfläche der Bindungstasche von EGFR. Hydrophobe Bereiche sind grün markiert, hydrophile Teile magenta. Gedockt sind die Inhibitoren **8c** und **8d**.

### 3.3.4 Ergebnisse des Dockings an IGF-1-Rezeptor

Die gedockten Beispielverbindungen zeigen auch an IGF-1R die o. g. für 1-Aza-9-oxafluorene und  $\alpha$ -Carboline typischen Wasserstoffbrückenbindungen zur Hinge-Region. Dies ist nicht überraschend, da speziell diese Region der ATP-Bindungstasche streng konserviert ist und der beschriebene Bindungsmodus auch für viele strukturell ähnliche Verbindungen an weiteren Proteinkinasen gilt [43, 68].

Die selektive Affinität zu nur einer der untersuchten Kinasen kommt hauptsächlich dadurch zustande, dass sich die Gatekeeper-Aminosäuren am Eingang zur hydrophoben Tasche unterscheiden. Verglichen mit Thr790 des EGFR ist Met1079 des IGF-1R lipophiler, sterisch größer jedoch auch flexibler.

Auffällig ist, dass eine *meta*-Substitution am Benzylaminrest auch hier meist günstiger ist (Abbildungen 3.31 und 3.32). Bei *para*-Substitution nimmt der Benzylring eine andere Konformation ein und liegt weniger tief in der hydrophoben Tasche (Abbildung 3.33). Darin kann die Inaktivität der *para*-substituierten Verbindungen **9d,f,h** begründet liegen. Die Ursache für die Inaktivität der *meta*-Bromverbindung **9c** konnte anhand der durchgeführten Dockingstudien nicht erklärt werden.

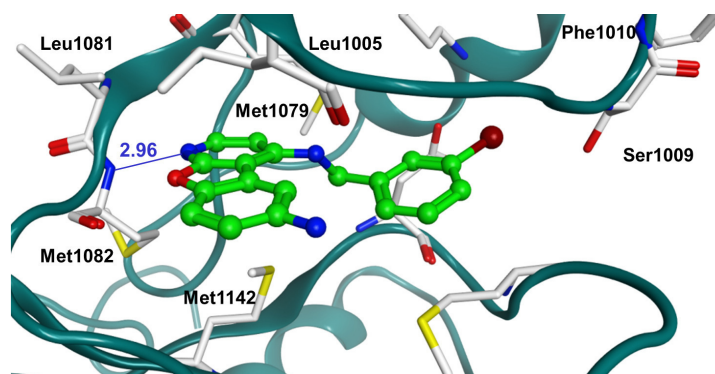


Abbildung 3.31: Dockingergebnisse an IGF-1R: Der Pyridinring geht eine Wasserstoffbrückenbindung mit der Hinge-Region des Proteinrückgrates ein (Amid-NH von Met1082). Der *meta*-Brombenzylring von **9c** (grün) befindet sich in der Nähe der Gatekeeper-Aminosäure Met1079.

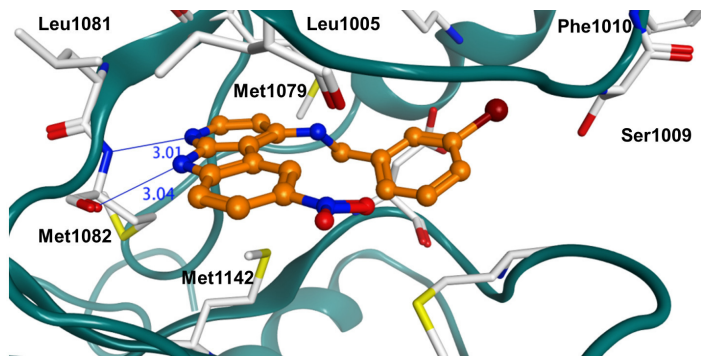


Abbildung 3.32: Der gleiche Bindungsmodus gilt für die  $\alpha$ -Carboline (z. B. das gezeigte **19b** in orange). Eine zweite Wasserstoffbrückenbindung kommt zwischen dem Pyrrol-NH und der Carbonylgruppe von Met1082 zustande.

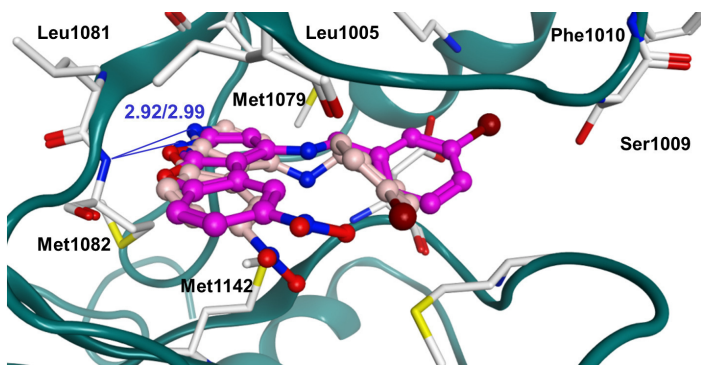


Abbildung 3.33: Dockingergebnisse für die 1-Aza-9-oxafluorenderivate **8c** magenta und **8d** rosa. Der hydrophobe Benzylaminring der *para*-substituierten Verbindung **8d** nimmt eine andere Position, weniger tief in der hydrophoben Tasche ein.

## 3.4 *In vitro* Testung am Zellmodell

### 3.4.1 Problemstellung und Substanzauswahl

Das NCI der Vereinigten Staaten führt im Rahmen des *Developmental Therapeutics Program* (DTP) ein Screening an 60 humanen Krebszelllinien durch. Dieser Assay steht akademischen und privaten Einrichtungen zur Verfügung und ermöglicht es, potenziell zytostatisch wirksame Verbindungen auf ihre wachstumshemmenden Eigenschaften zu testen. Die im Assay untersuchten Zelllinien entstammen verschiedenen Geweben. Sie repräsentieren Krebsarten der Lunge, Ovarien, Nieren, Prostata und Brust sowie des Dickdarms und zentralen Nervensystems. Zudem sind Leukämie- und Melanomzellen vertreten.

Das Screening wurde über mehrere Jahre entwickelt und wird in identischer Weise seit 1990 durchgeführt. Es können bis zu 1000 Verbindungen monatlich charakterisiert werden. Inzwischen steht ein Datenpool von mehr als 88 000 synthetischen Verbindungen und 34 000 natürlichen Extrakten zur Verfügung.

Es wurde ursprünglich angenommen, dass das Screening geeignet sein würde Zelltyp-spezifische Verbindungen mit klinischer Aktivität gegen solide Tumoren zu finden. Inzwischen musste man feststellen, dass die Histologie einer Krebszelle nur selten auf die Wirksamkeit von Zytostatika schließen lässt. Vielmehr ist es so, dass die Expression molekularer Targets über Resistenz oder Empfindlichkeit der Zelle gegenüber Wirkstoffen entscheidet.

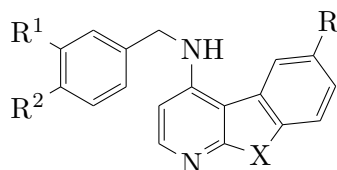
Gestützt auf diese Erkenntnis, wurde die molekularbiologische Erforschung der 60 NCI-Krebszelllinien enorm vorangetrieben und sie gehören heute wahrscheinlich zu den am ausführlichst untersuchten Zellen im Laborgebrauch.

Das NCI entscheidet nach internen Kriterien, welche Substanzen im Assay getestet werden. Nach Übermittlung der Strukturen und zugehörigen  $IC_{50}$ -Werte, fiel die Auswahl auf die in Tabelle 3.12 aufgeführten Verbindungen.

Es ist nicht zu erwarten, dass sich die hergestellten Verbindungen als Zytostatika mit breitem Wirkspektrum herausstellen. Entsprechend der zu Beginn gesetzten Zielstellung, können sie nur auf Krebszellen wirken, die EGFR und IGF-1R im mindestens normalen Maße exprimieren. Beide Proteine sind für die 60 Zelllinien des Screenings quantifiziert und die Daten beim NCI öffentlich zugänglich [69].

Expressionsraten für das EGFR-Protein sind als prozentuale Werte in der Quelle angegeben und wurden wie folgt ermittelt: Das Protein wurde per Western Blot auf eine Membran übertragen und auf dieser densitometrisch vermessen. Als Referenz dienten A431-Zellen. Diese Zellen, gewonnen aus einem humanen Plattenepithelkarzinom, sind dafür bekannt, dass sie EGFR stark überexprimieren. Die Rezeptordichte an der Membran einer solchen Zelle beträgt  $3 \cdot 10^6$ , was etwa 0,2 % des zellulären Gesamtproteins ausmacht. Normale Fibroblasten tragen  $1 \cdot 10^5$  EGF-Rezeptoren an ihrer Oberfläche, das sind nur 3,3 % gegenüber den A431-Zellen [70]. In der folgenden





Verb.	Substitution				IC <sub>50</sub> -Wert	
	-R	-R <sup>1</sup>	-R <sup>2</sup>	X	EGFR (μM)	IGF-1R (μM)
<b>9c</b>	-NH <sub>2</sub>	-Br	-H	O	2,90	n. a.
<b>9g</b>	-NH <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	O	2,18	3,75
<b>19c</b>	-NO <sub>2</sub>	-Cl	-H	NH	1,03	1,93
<b>23a</b>	-CN	-H	-H	NH	0,81	2,38
<b>23c</b>	-CN	-OCH <sub>3</sub>	-H	NH	0,90	2,00
<b>23d</b>	-CN	-H	-OCH <sub>3</sub>	NH	1,98	1,87

Tabelle 3.12: Zwei 1-Aza-9-oxafluorene und vier  $\alpha$ -Carboline wurden vom NCI für die Testung im *60 Cell One-Dose Screen* ausgewählt.

Ergebnisdarstellung wurden Expressionsraten ab 10 % als Überexpression gewertet.

IGF-1R kommt in sehr vielen Zellen physiologisch vor und wird praktisch in jeder der 60 Krebszelllinien exprimiert. Die Rezeptordichte an der Zelloberfläche unterscheidet sich auch auf gesunden Zellen sehr stark, abhängig davon welchem Gewebe sie entstammen. Die in der Datenbank zugänglichen Expressionsraten von IGF-1R-Protein in den 60 NCI-Krebszelllinien entstammen einem systematisch durchgeführten *reverse phase protein array* (RPPA)-Experiment, welches zur Erforschung des Proteoms der Zellen durchgeführt wurde. Mit dem RPPA ist es möglich, ein komplexes Proteingemisch mithilfe hochspezifischer Antikörper ohne vorherige Auftrennung quantitativ zu charakterisieren. Die Methode ermöglicht enormen Probendurchsatz. Sie ist in der Literatur im Detail beschrieben [71] und soll hier nur umrissen werden: Aus den 60 untersuchten Krebszelllinien wurden zunächst Lysate hergestellt. Der Gesamtproteingehalt in den Überständen wurde durch einen Bicinchoninsäure (BCA)-Assay bestimmt, die Proben anschließend auf einheitliche Proteinkonzentration eingestellt und in acht Schritten seriell verdünnt. Eine solche Verdünnungsreihe wurde für jede untersuchte Zelllinie hergestellt und anschließend vollautomatisch mit einem „GeneTac“-Roboter (Genomic Solutions Inc.) auf Nitrocellulose gedruckt. Das zu untersuchende Protein wurde mit dem entsprechenden Antikörper markiert. Zur Detektion wurde das „Catalyzed Signal Amplification System“ (Dako) verwendet. Die Methode liefert letztendlich einen logarithmischen Wert, der die exprimierte

Menge des betreffenden Proteins, bezogen auf zelluläres Gesamtprotein widerspiegelt. Da für IGF-1R eine allgemein anerkannte Referenzlinie nicht vorhanden ist, können die ermittelten Expressionsraten nur untereinander verglichen werden.

Für die Brustkrebszellen MDA-MB-468 fehlten die Angaben zur Proteinexpression im Datensatz des NCI. Es handelt sich hierbei jedoch um eine gebräuchliche und gut untersuchte Zelllinie. Die nötigen Informationen finden sich in der Literatur [72, 73].

Hochregulierte EGF-Rezeptoraktivität kann zu gesteigertem Zellwachstum und verminderter Apoptose führen und somit Krebs verursachen. Die zu Beginn beschriebene Heterodimerisierung mit IGF-1R ist ein möglicher Mechanismus der Resistenzentwicklung gegenüber wachstumshemmenden Wirkstoffen die auf EGFR abzielen. Die hier untersuchten Verbindungen sollten also vornehmlich das Wachstum von Zelllinien hemmen, die die genannten Rezeptoren stark exprimieren. Im Umkehrschluss ist jedoch nicht zu erwarten, dass jede Zelllinie die entsprechende Expressionsraten aufweist, sensibel gegenüber den hier getesteten Verbindungen sein muss. Das hat verschiedene Gründe: Rezeptor-regulierte Zellwachstumsmechanismen sind sehr vielschichtig und auf mehreren Ebenen kontrolliert. In einigen Zelltypen könnte es auf der Zellmembran zu weiteren Heterodimerisierungen, mit anderen RTK der ErbB-Familie kommen. Dieses Phänomen ist bekannt und in der Literatur beschrieben. So wurde festgestellt, dass v. a. HER2 in der Lage ist besonders aktive Dimere mit EGFR zu bilden [12]. Zudem ist es möglich, dass in der anschließenden Transduktionskaskade abgeschaltete Signale durch Rezeptor-Crosstalk ersetzt werden. Letztendlich kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass in einigen Zellen mutierte Varianten der anvisierten Kinasen vorliegen, welche gegenüber den untersuchten Inhibitoren unsensibel sind. Auch bereits therapeutisch eingesetzte EGFR-Inhibitoren wie z. B. Gefitinib wirken hauptsächlich gegen das Wachstum von Tumoren, die EGFR überexprimieren. Dennoch ist das EGFR-Level leider kein sicherer Marker für Therapieerfolg.

#### 3.4.2 Ergebnisse

In Tabelle 3.13 sind die relativen Wachstumsraten aller Zelllinien, die unter Anwesenheit von einem der sechs Inhibitoren weniger als 33 % betragen, abgedruckt. Das ist gleichbedeutend mit einer Verminderung des Zellwachstums um mehr als zwei Drittel.

Zunächst fällt ins Auge, dass alle 6-Cyano- $\alpha$ -carboline **23a,c,d**, obwohl sie sehr vielversprechende IC<sub>50</sub>-Werte an den Targetproteinen aufwiesen, am Zellmodell nur geringe bis keine Wachstumshemmende Wirkung zeigten.

Das EGFR-selektive 1-Aza-9-oxafluoren **9c** zeigte eine starke Hemmung des Wachstums der Brustkrebszelllinie MDA-MB-468. Das besagte molekulare Target wird in diesen Zellen übermäßig stark exprimiert. Das strukturverwandte, an EGFR und

Zelle	Expression		Zellwachstum (%)					
	EGFR	IGF-1R	<b>9c</b>	<b>9g</b>	<b>19c</b>	<b>23a</b>	<b>23c</b>	<b>23d</b>
HOP-62	+	+	81,6	71,9	10,8	97,3	99,5	86,2
NCI-H460	+	+	77,2	70,7	26,8	90,1	96,8	65,8
SNB-75	–	+	84,8	85,9	7,8	99,9	146,4	93,5
SK-MEL-5	+	+	42,6	12,8	83,7	87,6	88,5	73,9
OVCAR-4	++	+	65,3	55,0	–35,0	108,1	105,0	78,5
HS 578T	++	+	83,6	84,2	17,5	118,2	111,8	97,2
MDA-MB-468	++	+	27,8	14,5	69,0	85,4	91,6	72,8

Tabelle 3.13: Ausgewählte Ergebnisse der Testung am Zellmodell. Angegeben ist das Zellwachstum in Prozent bei einer Inhibitorkonzentration von 10  $\mu\text{M}$ , bezogen auf die Wachstumskontrolle. Expressionsraten der beiden Targetproteine sind wie folgt angegeben: ++ Überexpression, + Expression in normalem Maße, – keine Expression.

IGF-1R dualaktive Derivat **9g** hemmte das Wachstum dieser Zellen noch stärker, außerdem das der Zelllinie SK-MEL-5, die einem Melanom entstammt. Im Gegensatz zu MDA-MB-468, weisen diese Zellen nur ein normales Level an EGFR auf, IGF-1R ist auf beiden Zellen vorhanden. Legt man die anfänglich beschriebene Heterodimerisierung zugrunde, können die gemessenen Werte erklärt werden: Das Wachstum von MDA-MB-468 wird, aufgrund der hohen Rezeptordichte, vermutlich sehr stark durch den EGFR-Signalweg gesteuert und kann somit durch EGFR-Inhibitoren eingeschränkt werden. SK-MEL-5 weist ein geringeres EGFR-Level auf. Erwartungsgemäß kann der selektive EGFR-Inhibitor **9c** das Zellwachstum nur teilweise, hier um ca. 60 % hemmen. Die dualaktive Verbindung **9g** führte in gleicher Konzentration zu einer Wachstumshemmung von beinahe 90 %. Als Ursache kann angenommen werden, dass in diesem Fall eine Heterodimerisierung von EGFR und IGF-1R zum unkontrollierten Zellwachstum führte, die durch den dualen Inhibitor unterbunden werden konnte.

Das 6-Nitro- $\alpha$ -carbolin **19c** zeigte die ausgeprägtesten zytostatischen Eigenschaften der untersuchten Verbindungen. Es hemmte das Wachstum von zwei NSCLC-Linien, HOP-62 und NCI-H460. Beide Zelllinien exprimieren die anvisierten Targets in normalem Maße. Auf OVCAR-4, einer Zelllinie aus einem Ovariakarzinom, wirkte die Verbindung sogar zytotoxisch. Diese Zellen tragen eine übermäßig große Menge an EGFR auf ihrer Membran. Das Wachstum einer weiteren Brustkrebszelllinie, HS 578T wurde durch **19c** ebenfalls stark gehemmt, auch hier liegt EGFR-Überexpression vor. All diese Ergebnisse lassen sich anhand des EGFR-Signalweges erklären.

Die für SNB-75 gemessenen Werte können durch die aufgestellte These nicht erklärt werden. Die Zelllinie entstammt einem Karzinom des Zentralnervensystems (ZNS) und exprimiert kein EGFR. Dennoch vermochte **19c** das Wachstum dieser Zellen, bezogen auf die Kontrolle, um über 90 % zu vermindern. Möglicherweise sind hier andere Proteinkinasen für das unkontrollierte Zellwachstum verantwortlich, auf welche der Inhibitor ebenfalls wirksam ist. Infrage kommt z. B. VEGFR. Die Expression von VEGFR-1 ist in besagter Zelllinie belegt [69]. Um dies zu überprüfen, wäre eine ausführliche Testung der Substanz an weiteren tumorrelevanten Proteinkinasen nötig (siehe 4.2, Seite 99).

Nach den hier gemessenen Werten erwies sich **19c** als der erfolgversprechendste Wirkstoffkandidat der untersuchten Verbindungen.

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

### 4.1 Zusammenfassung

Die moderne gezielte Krebstherapie, mit monoklonalen Antikörpern und Small Molecules, ist der konventionellen Chemotherapie durch Selektivität am Target und bessere Verträglichkeit überlegen. Die genauen Mechanismen der Krebsentstehung sind bisher jedoch nur in geringem Maße erforscht und somit fehlt es, trotz aller Fortschritte, an gezielten Wirkstoffen gegen viele Arten von soliden Tumoren und hämatologischen Erkrankungen. Ein großes Problem der bisher angewendeten Arzneimittel ist die rasche Entstehung von Resistenzen. Aktuelle Erkenntnisse der onkologischen Forschung belegen die Tatsache, dass Heterodimerisierungen und Rezeptorcrosstalk zwischen EGFR und IGF-1R zu Resistenzen gegen zugelassene EGFR-Inhibitoren führen.

In vorangegangener Arbeit zu Kinaseinhibitoren fiel ein 6-Brom-4-benzylamino- $\alpha$ -carbolin durch starke, simultane und selektive Hemmung der beiden genannten Proteinkinasen auf. Eine Optimierung der gefunden Leitstruktur und die Charakterisierung *in vitro* sollten Gegenstand dieser Arbeit sein.

Wie geplant konnten zwei Testreihen von 6-Nitro- bzw. 6-Amino-1-aza-9-oxafluorenen synthetisiert werden, welche an Position 4 eine Auswahl substituierter Benzylamine trugen. Es wurden etablierte Synthesewege genutzt und weiterentwickelt. Chemisch interessant war dabei v. a. der Aufbau des zentralen Trizyklus durch die PSCHORR-Reaktion, eine intramolekulare radikalische Arylverknüpfung. Sie funktionierte nach den vorhandenen Syntheseprotokollen, stellte jedoch in der Abfolge der Reaktionen für die Endausbeute einen stark limitierenden Schritt dar. Insgesamt waren, bis zu den gewünschten Zielstrukturen, sieben bzw. acht einzelne Syntheseschritte nötig. Es konnten 19 Verbindungen für die Testung am Zielprotein bereitgestellt werden.

Darauf aufbauend, wurden in einem zweiten Entwicklungszyklus mehrere Testreihen von  $\alpha$ -Carbolinen synthetisiert. Die Aktivität am Rezeptor sollte so, durch eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Proteinrückgrat und der neu eingeführten Pyrrolfunktion, erhöht werden. Der intramolekulare Ringschluss erfolgte hier ebenfalls radikalisch, jedoch weniger kompliziert über Diazotierung und Thermolyse mit besseren Ausbeuten. Es wurden zu den aktivsten 1-Aza-9-oxafluorenen analoge 6-Nitro- und 6-Amino- $\alpha$ -carboline dargestellt, darüber hinaus 6-Brom-, 6-Cyano- und 6-Carboxyverbindungen. Die Einführung einer funktionellen Gruppe an

Position 6 des Aromaten durch elektrophile Substitution ist für die  $\alpha$ -Carboline, verglichen mit den 1-Aza-9-oxafluorenen, begünstigt. Bis zum Vorhandensein der jeweiligen Zielstrukturen waren zwischen sechs und acht Syntheseschritten nötig. Letztendlich standen 22 Testverbindungen zur Verfügung. Darüber hinaus gelang die Darstellung einer 6-Tetrazolverbindung durch die Umsetzung des entsprechenden Nitrils in einer 1,3-dipolaren Zykloadditionsreaktion mit Natriumazid.

Die *in vitro* Testung an den Rezeptorproteinen wurde in Kooperation bei der ProQinase GmbH in Freiburg durchgeführt. Die 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene erwiesen sich wirksamer als die entsprechenden 6-Nitroderivate. Am Benzylaminring war v. a. Substitution an Position 3' günstig. Sterisch kleine Reste erhöhten dabei die Aktivität an beiden Rezeptoren, größere Substituenten verschoben das Selektivitätsprofil in Richtung EGFR. Diese Erkenntnisse zeigten, dass IGF-1R eine kleinere hydrophobe Tasche als EGFR besitzt.

Die im zweiten Entwicklungszyklus hergestellten  $\alpha$ -Carboline hatten i. d. R. eine erhöhte Aktivität an beiden Rezeptoren, wodurch die Hypothese einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung zur Hinge-Region bestätigt wurde. Für die verschiedenen Substituenten an Position 6 wurden folgende SAR festgestellt: Nitro- und Cyanofunktionen führten zu dualer Aktivität, Amino-, Brom- und Carboxygruppen verursachten eine leichte EGFR-Selektivität. Am Benzylaminring zeigte sich 3'-Substitution erneut als günstig. Die aktivsten Verbindungen trugen Chlor- oder Bromfunktionen an dieser Position.

Dockingstudien wurden in Kooperation mit der Abteilung Medizinische Chemie am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität (MLU) Halle-Wittenberg durchgeführt. Es bestätigte sich der anfänglich postulierte Bindungsmodus: Der ggf. substituierte Benzylaminring okkupiert die hydrophobe Tasche hinter der Gatekeeper-Aminosäure, während der zentrale Trizyklus eine (1-Aza-9-oxafluorene) bzw. zwei ( $\alpha$ -Carboline) Wasserstoffbrückenbindungen zur Hinge-Region ausbildet. Position 6 liegt in Richtung der Lösungsmittel-exponierten Region. Die hohen Aktivitäten der 6-Aminoverbindungen an EGFR konnten an dieser Stelle aufgeklärt werden: Die funktionelle Gruppe an dieser Position bildet eine zusätzliche H-Brücke zum Proteinrückgrat im Bereich des P-Loops (Leu718) aus.

Es konnten sechs Verbindungen zur *in vitro* Testung an das NCI in den USA gesendet werden. Die EGFR-selektive Verbindung **9c** und die dualaktive Substanz **9g** entstammten dem ersten Entwicklungszyklus, aus dem zweiten wurden das 6-Nitro- $\alpha$ -carbolin **19c** sowie die 6-Cyanoderivate **23a,c** und **23d** ausgewählt.

Die Ergebnisse von **9c** und **9g** untermauerten die gestellte These, dass es durch simultane EGFR/IGF-1R-Inhibition möglich ist, eine starke Hemmung des übermäßigen Zellwachstums in Krebszellen zu verursachen. Die Melanomzellen SK-MEL-5 exprimieren EGFR und IGF-1R. Während der selektive EGFR-Inhibitor ihr Wachstum nur teilweise eindämmen konnte, bewirkte der dualaktive Inhibitor eine beinahe vollständige Wachstumshemmung. Insgesamt sprachen sieben verschiedene Zellini-

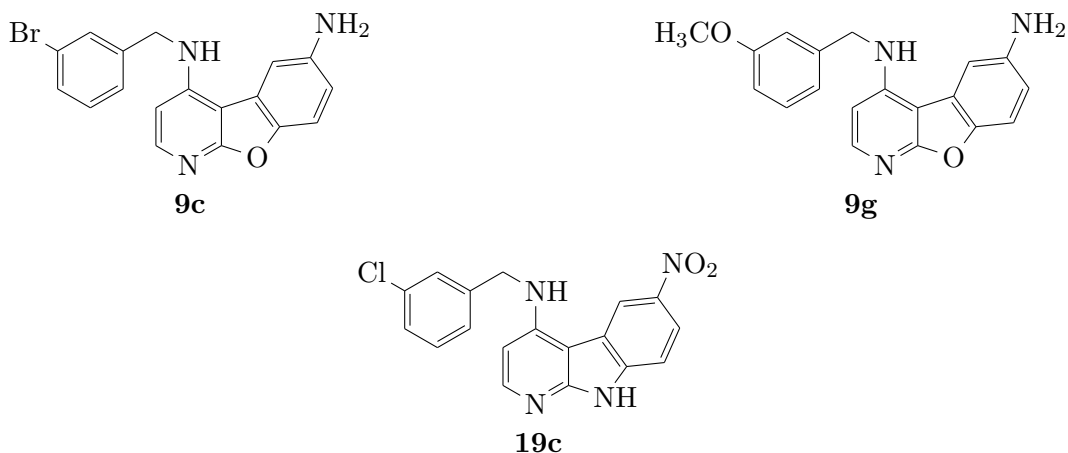


Abbildung 4.1: Strukturformeln der Verbindungen, welche *in vitro* die größte wachstumshemmende Wirkung an den Modellzellen des NCI zeigten.

en mit Wachstumshemmungen über 70 % auf die Verbindungen an, viele davon mit übermäßiger EGFR-Expression. Neben den bereits genannten Verbindungen zeigte auch **19c** gute zytostatische Eigenschaften. Trotz der vielversprechenden  $IC_{50}$ -Werte an den Targetproteinen, zeigten die 6-Cyano- $\alpha$ -carboline **23a,c,d** am Zellmodell nur geringe – bis keine – Wachstumshemmende Wirkung. Die Strukturformeln der drei vielversprechendsten Wirkstoffkandidaten dieser Arbeit sind in Abbildung 4.1 gezeigt.

## 4.2 Ausblick

Um ein komplettes Selektivitätsprofil der Topsubstanzen dieser Arbeit zu erhalten, sind weitere Kinasetestungen nötig. Dazu sollten die Verbindungen **9c,g** und **19c** zunächst auf ihre Aktivität am Insulinrezeptor geprüft werden, da dieser strukturell dem IGF-1R sehr ähnlich ist. Substanzen, die in dieser Hinsicht nicht selektiv sind haben bisher keine Marktzulassung erreicht (siehe 1.5.2, Seite 22 f.). Zudem könnte es von Nutzen sein, weitere krebisrelevante Targets zu prüfen. Dafür kommen die VEGFR- und PDGFR-Familien sowie weitere Vertreter der ErbB-Familie infrage. Die Testung an krebisüblichen mutierten Formen von EGFR könnte dazu beitragen, die Ergebnisse des *NCI 60 Cell One-Dose Screen* besser erklären zu können. Alle genannten Proteinkinase sind im Portfolio der ProQinase, die Testung wäre dort möglich.

Um mögliche schädigende Effekte in gesunden Zellen ausschließen zu können, sollte ein Zytotoxizitätstest durchgeführt werden. Ein dafür entwickelter MTT-Assay an peripheren mononuklearen Blutzellen steht in der Abteilung Klinische Pharmazie

am pharmazeutischen Institut der Universität Greifswald zur Verfügung. Eine Kooperation mit dieser Abteilung besteht und die Durchführung des Assays ist geplant.

Um die Ursachen für das Nichtansprechen trotz Rezeptorexpression in einigen der NCI-Zelllinien weiter zu untersuchen, sollte man die Signalentstehung an den Rezeptoren direkt vermessen. Dafür steht, ebenfalls in Greifswald, ein Test mit phosphorylierungsabhängigen Antikörpern zur Verfügung. Die entsprechenden Zelllinien sind über das NCI beziehbar.

Der nächste Schritt auf dem Weg zum Arzneistoff wäre die vorklinische *in vivo* Testung an einem geeigneten Modellorganismus. In der onkologischen Forschung verwendet man üblicherweise xenotransplantierte Nacktmäuse. Diese athymischen Mäuse zeigen keine Abstoßungsreaktionen auf körperfremdes Gewebe. Die Transplantation von humanen Modelltumoren – auch aus Zellkultur – in diese Mäuse ist dadurch möglich. Um den zu Beginn postulierten Mechanismus der Resistenzentstehung durch EGFR/IGF-1R Interaktion zu überprüfen ist es nötig, einen molekularbiologisch ausreichend charakterisierten humanen Modelltumor zu transplantieren. Ein geeignetes Modell ist in der Literatur beschrieben, zur Testung der simultanen Inhibition von EGFR und IGF-1R durch monoklonale Antikörper [27]. Das Ersuchen nach einer Kooperation könnte in Betracht gezogen werden.

Die Weiterentwicklung und Charakterisierung des 6-Tetrazo- $\alpha$ -carbolins **57** sollte im Auge behalten werden. Die Verbindung hat das Potenzial hoher Rezeptoraffinität durch zusätzliche Wasserstoffbrückendonator- und Akzeptorfunktionen, die Bindungen an das Proteinrückgrat des P-Loops ausbilden könnten. Es sollten 3'-Halogen- und 3'-Methoxyderivate synthetisiert und deren Aktivität an den Rezeptortargets vermessen werden.



**Teil II**

**Experimenteller Teil**

# 5 Allgemeine Methoden

## 5.1 Methoden der Synthese

Einige Reaktionen wurden im Rahmen dieser Arbeit mehrmals und in verschiedenen Ansatzgrößen durchgeführt. Zur Versuchsbeschreibung wurde in dem Fall eine charakteristische Durchführung ausgewählt.

Erfolgte die Herstellung für eine Reihe an Substanzen nach immer gleichem Muster, ist auf die entsprechende allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) verwiesen. Detaillierte Beschreibungen der hier aufgeführten Methoden finden sich in der Literatur [46].

**Chemikalien** entstammen, sofern nicht anders spezifiziert, den Beständen der Chemikalienausgabe am Institut für Pharmazie der MLU Halle-Wittenberg. Von Feinchemikalien, die extra bezogen wurden, ist der Hersteller in Fußnoten verzeichnet. Wurden Lösungsmittel vor der Verwendung aufbereitet, so geschah dies nach den in der Literatur beschriebenen Methoden [46] und ist an entsprechender Stelle angegeben. Zugegebene Mengen sind in der tatsächlich verwendeten Menge nach Masse oder Volumen verzeichnet. Erfolgte die Zugabe nach einem für die jeweilige Umsetzung benötigten Stoffmengenverhältnis, so ist dieses ebenfalls angegeben.

**Einwaagen** mit einer Genauigkeit von 1 mg wurden auf einer digitalen Analysenwaage der Firma Sartorius bestimmt. Werte auf 0,1 g genau angegeben, wurden mit einer elektronischen Präzisionswaage der Firma Scaltec Instruments gemessen. Wichtige technische Daten sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

	Sartorius	SCALTEC	Mettler-Toledo
	<i>Basic BA 210 S</i>	<i>SBA 62</i>	<i>XS105DU</i>
Wägebereich	210 g	4200 g	41 g
Ablesbarkeit	0,1 mg	0,1 g	0,01 mg
Standardabweichung	± 0,1 mg	0,2 g	0,01 mg
Linearitätsabweichung	± 0,2 mg	0,1 g	0,13 mg

Tabelle 5.1: verwendete Waagen [74–76]

**Reaktionen** wurden in Kolben aus Borosilikatglas durchgeführt. Zur gleichmäßigen Durchmischung des Reaktionsansatzes wurde ein Magnetrührwerk mit passendem Rührfisch verwendet. Waren erhöhte Temperaturen nötig, so wurde der Reaktionskolben durch ein mit Siliconöl befülltes Ölbad beheizt. Als Medium für Kältebäder wurde Eiswasser benutzt. Wenn nötig wurde zur stärkeren Temperaturabsenkung Natriumchlorid zugegeben. Angegebene Reaktionstemperaturen beziehen sich auf die Temperatur des Mediums im verwendeten Wärme- bzw. Kältebad. Angegebene Reaktionszeiten gelten ab Erreichen der Reaktionstemperatur. Der Reaktionsverlauf wurde in angemessenen Abständen per DC überwacht. Davon abweichende Methoden sind ggf. angegeben.

**Extraktionen** wurden in Scheidetrichtern geeigneter Größe durchgeführt. Die verwendeten Lösungsmittel, deren Volumina, gegebenenfalls angepasste pH-Werte und die jeweils durchgeführten Wiederholungen sind angegeben. Die organischen Lösungen wurden im Anschluss an die Extraktion vereinigt, wasserfreies Natriumsulfat *quantum satis* zugegeben und die so erhaltene Suspension für mindestens 30 min intensiv gerührt. Anschließend wurde bei Normdruck durch einen Papierfilter der Porenweite 12 µm bis 15 µm filtriert und mit dem jeweiligen Lösungsmittel gründlich gewaschen. Die Lösungen wurden unter Verwendung eines Rotationsverdampfers vollständig eingengt.

**Säulenchromatographie** erfolgte bei Normdruck an Kieselgel 60<sup>1</sup> als stationäre Phase. Die verwendeten Lösungsmittelgemische als mobile Phase sind jeweils angegeben. Erwies sich das Rohprodukt als im Laufmittel unlöslich, so wurde es zunächst in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst, mit einem Überschuss an Kieselgel versetzt und durch Abziehen des Lösungsmittels adsorbiert.

**Filtration durch eine Nutsche** (syn. einen BÜCHNERtrichter) wurde zur Abtrennung von feinen Präzipitaten vorgenommen. Dazu wurde ein BÜCHNERtrichter, in seiner Größe der zu filtrierenden Menge entsprechend, dicht auf einer Saugflasche platziert. Ein Papierfilter der Porenweite 8 µm bis 12 µm von passendem Durchmesser wurde eingelegt und mit dem verwendeten Suspensionsmedium angefeuchtet. Es wurde Vakuum angelegt. Das zu filtrierende Gemisch wurde vorsichtig in die Nutsche gegossen. Nachdem die Flüssigkeit durchgesaugt war, wurde der Filtrerrückstand gewaschen. Dazu wurde i. d. R. das jeweilige Suspensionsmedium, gekühlt auf 4 °C, verwendet. Abweichende Lösungsmittel sind angegeben.

**Filtration durch Kieselgel** wurde zur Abtrennung von besonders fein suspendierten Feststoffen wie z. B. Hydrierungskatalysatoren durchgeführt. Dazu wurde eine kurze

---

<sup>1</sup>Merck KGaA

Chromatographiesäule mit Porzellanfritte von ausreichendem Durchmesser zu ca. 5 cm mit Kieselgel 60<sup>2</sup> gefüllt, die zu reinigende Suspension aufgetragen und bei Normdruck durch die Sperrschicht laufen gelassen. Es wurde gründlich mit dem jeweiligen Lösungsmittel nachgewaschen.

**Umkristallisation** erfolgte durch Lösen der Substanz in einer kleinen Menge des angegebenen, siedenden Lösungsmittels. Die Lösungsmittelmenge wurde unter kontinuierlichem Sieden sukzessive erhöht, bis die Substanz vollständig gelöst war. Anschließend wurde die Lösung verschlossen, unter Rühren auf Raumtemperatur abgekühlt und mindestens weitere 30 min gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgenutscht, dafür wurde Filterpapier mit einer Porenweite von 8 µm bis 12 µm verwendet. Der Filtrerrückstand wurde, sofern nicht anders angegeben, mit dem gleichen auf ca. 5 °C abgekühlten Lösungsmittel gewaschen, kurz trockengesaugt und wenn nötig weiter getrocknet.

**Trocknung** der Produkte erfolgte entweder in der Trockenpistole oder im Exsikkator. Die Trockenpistole wurde bei Verwendung mit frischem Phosphorpentoxid befüllt, die Substanz in die Trockenkammer eingelegt, evakuiert und mit siedendem Methanol beheizt. Trocknung im Exsikkator erfolgte über Blaugel im Vakuum.

## 5.2 Methoden der Analytik

**Ausbeuten** wurden durch auswägen der Substanzen ermittelt. Zu den verwendeten Waagen siehe Abschnitt 5.1 (Seite 102). Außer der absolut bestimmten Masse ist eine kurze Beschreibung des Produktes angegeben sowie die errechnete Stoffmenge und der Anteil in Prozent bezogen auf die maximal mögliche Menge an Produkt.

**Dünnschichtchromatographie** wurde unter Verwendung von Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator durchgeführt. Die Substanzen wurden als schmale Bande in Lösung (Acteon, Methanol oder THF) aufgetragen. Die Entwicklung erfolgte im angegebenen Laufmittel bei Kammersättigung. Die Laufstrecke betrug dabei jeweils ca. 9 cm. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht bei  $\lambda=254$  nm. Laufstrecken wurden mit der Genauigkeit von 1 mm vermessen. Die daraus berechneten  $R_f$ -Werte sind jeweils angegeben.

**Massenspektrometrie** wurde an einem „Finnigan LCQ Classic“ der Thermo Electron Corporation durchgeführt. Die Probe wurde direkt injiziert und durch ein Elektrospray ionisiert. Zur Detektion der Massen wurde eine Quadrupol-Ionenfalle ver-

---

<sup>2</sup>Merck KGaA

wendet. Es wurde jeweils ein volles Spektrum zwischen 50 Da bis 1000 Da im positiven sowie negativen Ionisierungsmodus aufgezeichnet. Im Folgenden angegeben ist jeweils das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des Molekülpeaks, wenn das jeweilige Molekül im entsprechenden Modus detektierbar war. Die Werte sind mit einer Genauigkeit von 0,1 Da gerundet. Die Spektren wurden auf das Auftreten charakteristischer Isotopenpeaks geprüft.

**Magnetresonanzspektroskopie** Die Geräte, welche zur Aufnahme der NMR-Spektren dienen sind auf der Homepage der Universität verzeichnet [77]. Als interner Standard dienen die verwendeten deuterierten Lösungsmittel. Die angegebenen chemischen Verschiebungen sind auf Tetramethylsilan (TMS) bezogen. Zum Prozessieren wurde die Software „MestReNova 8.0.0“ (Mestrelab Research S.L.) verwendet.

Die gemessenen  $^1\text{H}$ NMR-Daten sind wie folgt in den Monographien verzeichnet: In Klammern angegeben ist die bei Messung verwendete Arbeitsfrequenz und das deuterierte Lösungsmittel. Es werden alle Signale anhand ihrer chemischen Verschiebung der Größe nach geordnet angegeben. In Klammern folgt jeweils die Interpretation der gemessenen Signale: Die Multiplizitäten sind in Abkürzungen (s: Singulett, d: Dublett, t: Triplett, m: Multipllett, br: breites Signal) und Kombinationen daraus angegeben. Es folgt die Kopplungskonstante, der die Anzahl der Bindungen, über die die skalare Kopplung erfolgt, vorangestellt ist. Weiterhin folgt die Intensität des Signals und die strukturelle Zuordnung. War diese, aufgrund von unabhängig gleichen oder sehr ähnlichen Kopplungskonstanten nicht eindeutig möglich, so wurde sie durch Aufnahme von zweidimensionalen  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY-Spektren abgesichert.

$^{13}\text{C}$ NMR-Spektren wurden als APT-Spektren und  $^1\text{H}$ -Breitband-entkoppelt aufgenommen. Angegeben sind die Arbeitsfrequenz und das verwendete deuterierte Lösungsmittel. Es ist die chemische Verschiebung von jedem Signal, aufsteigend nach Größe geordnet angegeben. Die Interpretation in Klammern beinhaltet den, aus dem Spektrum ersichtlichen Grad der Substitution als Abkürzung (p: primär, s: sekundär, t: tertiär, q: quartär) und die strukturelle Zuordnung.

**Schmelzpunktbestimmung** wurde an einem „Boetius PHMK 05“ Heiztischmikroskop (VEB Wägetechnik Rapido Radebeul) durchgeführt. Temperaturen bis 360 °C konnten bestimmt werden. Waren Literaturwerte vorhanden, so wurde der nach Einfachbestimmung ermittelte Wert verglichen. Bei nicht verzeichneten Substanzen wurde ein Mittelwert nach Dreifachbestimmung gebildet. Gegebenenfalls sind Schmelzbereiche angegeben. Konnten unter dem Mikroskop eindeutige Modifikationsänderungen beobachtet werden, sind diese mit der zugehörigen Temperatur in Klammern angegeben.

**Infrarotspektroskopie** wurde an einem „IFS 28“ FTIR-Spektrometer der Firma Bruker mit KBr-Strahlenteiler und pyroelektrischen DTGS-Detektor durchgeführt. Die Konfiguration des Gerätes und das Prozessieren der Ergebnisse erfolgte mit der zugehörigen Werkssoftware „OPUS 4.2.“ Es wurden ATR-Interferogramme der ungelösten Feststoffe auf einem ZnSe-Kristall aufgenommen.

In den Monographien angegeben sind: die Wellenzahlen relevanter Signale, absteigend nach ihrer Größe geordnet, in Klammern folgt die Signalintensität in abgekürzter Form (w: *weak*, m: *medium*, s: *strong*, vs: *very strong*, br: *broad*), die Zuordnung des Schwingungstyps ( $\nu$ : Valenzschwingung,  $\delta$ : Deformationsschwingung,  $r$ : Schaukelschwingung, wenn eindeutig zuzuordnen außerdem Angaben zur Symmetrie als Indizes *sy*: symmetrisch, *as*: antisymmetrisch) und die Strukturzuordnung soweit wie eindeutig möglich.

**Elementaranalyse** Kohlenstoff-, Wasserstoff-, Stickstoff- und Schwefelbestimmungen wurden an einem „CHNS-932“ Analyseautomaten der LECO Corporation nach dem Prinzip der Verbrennungsanalytik durchgeführt. Es wurde für jede Messung eine Probenmenge von etwa 1 mg eingewogen. Alle Substanzen wurden in Doppelbestimmung gegen einen Standard (Acetanilid oder Coffein) vermessen. Die in den Monographien abgedruckten Werte sind der prozentuale Massenanteil des jeweiligen Elements, als arithmetisches Mittel der beiden Bestimmungen, gerundet mit einer Genauigkeit von 0,1 %.

Zur Brom- und Chlorbestimmung wurden jeweils ca. 5 mg der Verbindung eingewogen und durch SCHÖNIGER-Aufschluss als gelöste Halogenide in eine leicht alkalische Absorptionslösung verbracht. Danach wurde die Lösung mit 0,1 N Salpetersäure gegen Dinitrophenol auf einen leicht sauren pH-Wert eingestellt. Die Lösung wurde anschließend mercurimetrisch mit 0,01 N Quecksilber(II)-perchloratlösung gegen Diphenylcarbazon titriert. Enthaltene Halogenide wurden durch diese Methode simultan erfasst. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt und das arithmetische Mittel berechnet. Die Angabe in den Monographien erfolgt wie oben.

### 5.3 Methoden der Computerchemie

**Eigenschaften** für alle synthetisierten chemischen Verbindungen sind in den folgenden Monographien als Tabelle oben rechts abgedruckt. Die angegebenen systematischen Namen, Summenformeln, molaren Massen und ggf. elementaren Zusammensetzungen wurden mit der Software „ChemBioDraw<sup>®</sup>Ultra“, Version-13 (PerkinElmer) berechnet. Handelt es sich um bekannte Substanzen sind zudem CAS-Nummer [78] und in der Literatur vorhandene Schmelztemperaturen angegeben.

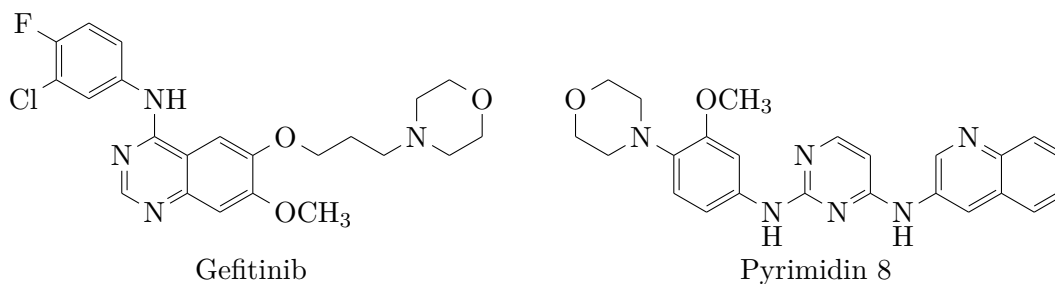


Abbildung 5.1: Strukturformeln der Inhibitoren, welche mit den verwendeten 3D-Strukturen von EGFR und IGF-1R co-kristallisiert waren.

**3D-Modelle** der Moleküle wurden mithilfe der Software „ChemBio3D®Ultra“, Version-13 (PerkinElmer) erstellt. Die Bindungslängen und -winkel der Strukturformel wurden zunächst an empirische Standardwerte angeglichen. Die Energie des Moleküls wurde anschließend im MM2-Kraftfeld minimiert.

**Oberflächenladung** Von den, aus der Beschreibung im letzten Absatz erhaltenen, 3D-Modellen wurde die Elektronendichte nach dem erweiterten HÜCKEL-Modell berechnet. Zur bildlichen Darstellung wurde die Lösungsmittel-zugängliche Oberfläche des Moleküls gewählt. Diese wurde durchscheinend abgebildet und Oberflächenladungen darauf farblich markiert: positive Ladungen rot, negative blau, wobei die Farbintensität mit der Ladungsdichte korreliert. Bereiche neutraler Ladung sind in Grautönen dargestellt.

**Molekulares Docking** wurde in Kooperation mit der Abteilung Medizinische Chemie am Institut für Pharmazie der MLU Halle-Wittenberg durchgeführt.

Die 3D-Strukturen der untersuchten Kinasen, EGFR und IGF-1R, sind bekannt und in der Proteindatenbank [18] hinterlegt. Von den verfügbaren RÖNTGEN-Kristallstrukturen wurden diejenigen ausgewählt, die mit einem Liganden kristallisiert waren, der den hier untersuchten Verbindungen strukturell am ähnlichsten war. Diese waren 2ITY: die Kinasedomäne von EGFR [17] co-kristallisiert mit Gefitinib und 3QQU: IGF-1R [79], mit einem Inhibitor, der in der genannten Quelle als Pyrimidin 8 bezeichnet wird.

Die Proteinstrukturen wurden wie folgt bearbeitet: Wassermoleküle und die gebundenen Liganden wurden gelöscht, Wasserstoffatome hinzugefügt und die so erhaltenen Strukturen energieminiert. Dafür wurde das MMF94-Kraftfeld und das Verfahren der konjugierten Gradienten angewendet, bis ein Gradient von 0,01 kcal/mol erreicht war.

Die Software „GOLD 5.2“ (Cambridge Crystallographic Data Centre) wurde verwendet, um die ausgewählten Verbindungen in die ATP-Bindungstasche von EGFR

und IGF-1R zu docken. Alle Durchläufe wurden mit den voreingestellten Programmoptionen vollführt. Die Bindungsstelle wurde an der Gatekeeper-Aminosäure (Thr790 für EGFR und Met1079 für IGF-1R) mit einem Radius von 15 Å für beide Kinasen definiert. Die gewählte Fitnessfunktion war „Goldscore“. Eine Wasserstoffbrückenbindung zu einer NH-Funktion der Hinge-Region des jeweiligen Proteins wurde als gegeben definiert: Met793 für EGFR und Met1082 für IGF-1R. Der entsprechende H-Brückenakzeptor am Liganden wurde variabel belassen. Für jedes untersuchte Molekül wurden 30 Dockingdurchläufe vollzogen.

Verschiedene Bindungsmodi wurden wie folgt identifiziert: Die Konformation des Liganden wurde in Cluster geordnet. Maßgabe für die Zugehörigkeit zu einem Cluster war eine Abweichung des RMSD-Wertes der Heteroatome von  $\leq 1$  Å.

Um die Verwendbarkeit der Methode zu prüfen, wurden zunächst die in der ursprünglichen Kristallstruktur gebundenen Liganden (s. o.) in das jeweilige Protein gedockt. Die RMSD-Werte zwischen dem am besten klassifizierten Dockingergebnis und der realen Kristallstruktur lagen unter 1 Å (0,71 Å für EGFR mit Gefitinib und 0,48 Å für IGF-1R mit Pyrimidin 8). Somit kann die verwendete Methode als brauchbar angesehen werden.

### 5.4 Methoden der Charakterisierung am Targetprotein

IC<sub>50</sub>-Werte der Testsubstanzen an den Targetproteinkinasen EGFR wt und IGF-1R wurden in Kooperation bei der ProQinase GmbH (Freiburg) durchgeführt. Technische Details zu den verwendeten Kinasen, die Durchführung des Assays, sowie Materialverzeichnisse sind im Onlineauftritt der Firma einsehbar [80].

**Proteinkinasen** wurden bei der ProQinase rekombinant in Sf-9-Zellen als GST-Fusionsproteine exprimiert. Alle Kinasen wurden aus humaner cDNA hergestellt und per GSH-Affinitätschromatographie gereinigt. Affinitäts-Tags wurden bei der Aufreinigung entfernt. Die Reinheit der Proteinkinasen wurde per SDS-PAGE mit Coomassie-Färbung geprüft, die Identität per Massenspektrometrie [81, 82].

**Testsubstanzen** wurden zu 3 mg in Eppendorfgläser eingewogen. Zur Bestimmung wurde eine Analysenwaage der Firma Mettler-Toledo, Modell „XS105DU“ verwendet (siehe Tabelle 5.1). Beim Kooperationspartner wurden daraus Stammlösungen einer Konzentration von  $1 \cdot 10^{-2}$  M in DMSO hergestellt. Je 100 µl dieser Lösungen wurden in Spalte 2 dreier 96-Well-Master Plates pipettiert.

Vor der Testung wurden die  $1 \cdot 10^{-2}$  M Stammlösungen in Spalte 2 der Master Plates einer halblogarithmischen Reihenverdünnung mit DMSO als Lösungsmittel unterzogen. Daraus entstanden zehn einzelne Konzentrationen mit einem Verdünnungsendpunkt bei  $3 \cdot 10^{-7}$  M in Spalte 12. Die Spalten 1 und 7 wurden mit DMSO als



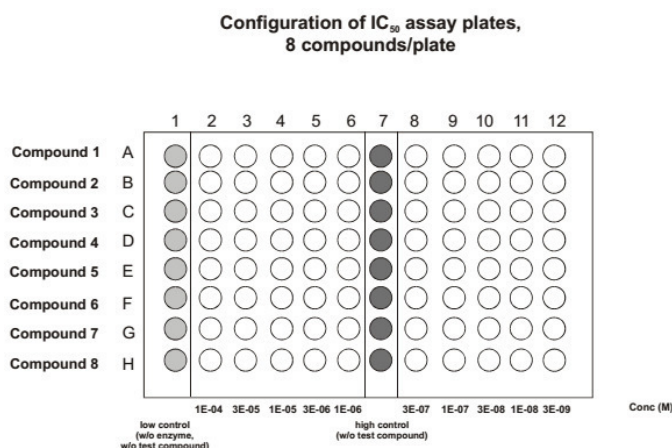


Abbildung 5.2: Pipettierschema der zum Assay verwendeten 96-Well-Platten. Die Testsubstanzen sind in halblogarithmischen Verdünnungsreihen aufgetragen. Spalte 1 und Spalte 7 enthalten als Kontrollen keine Testsubstanzen.

Kontrollen befüllt. Anschließend wurden die reihenverdünnten Platten, durch das Überführen von 2x je 5  $\mu$ l jedes Wells in zwei identische Sätze *Compound Dilution Plates* kopiert.

Während der weiteren Verarbeitung wurden 45  $\mu$ l Wasser in jedes Well der *Compound Dilution Plates* zugefügt. Um ein Ausfallen der gelösten Stoffe zu minimieren wurde dieser Schritt nur wenige Minuten vor dem Überführen der Lösungen in die *Assay Plates* vorgenommen. Die Platten wurden intensiv geschüttelt und als *Compound Dilution Plates 10 % DMSO* bezeichnet. Sie enthielten Konzentrationen von  $1 \cdot 10^{-3}$  M bis  $3 \cdot 10^{-8}$  M in halblogarithmischen Schritten. Die *Compound Dilution Plates* wurden am Ende eines Arbeitstages verworfen.

Für die Assays (s. u.) wurden 5  $\mu$ l Lösung eines jeden Wells der *Compound Dilution Plates 10 % DMSO* in die *Assay Plates* überführt. Das Endvolumen des Assays betrug 50  $\mu$ l. Alle Substanzen wurden doppelt in zehn Assay-Endkonzentrationen im Bereich von  $1 \cdot 10^{-4}$  M bis  $3 \cdot 10^{-9}$  M getestet. Die DMSO Endkonzentration im Reaktionsgemisch betrug überall 1 %.

Das Pipettierschema einer IC<sub>50</sub>-*Assay Plate* ist in Abbildung 5.2 dargestellt.

**Löslichkeitsprobleme mit Testsubstanzen** 33 der 40 Testverbindungen zeigten IC<sub>50</sub>-Kurven mit unregelmäßigen Kurvenverläufen aufgrund von Löslichkeitsproblemen bei den höchsten Konzentrationen, nachdem Wasser zu den Stammlösungen in

100 %igem DMSO zugefügt wurde. Dies könnte sich negativ auf die korrekte Bestimmung der  $IC_{50}$ -Werte auswirken und somit die Ableitung aussagekräftiger SAR erschweren (s. u.). Verbindungen, bei denen Löslichkeitsprobleme auftraten sind in den Tabellen 7.2 und 7.4 mit einem Stern gekennzeichnet.

**$^{33}$ PanQinase Assay<sup>®</sup>** Der radiometrische Assay wurde verwendet, um die Kinaseaktivität zweier Proteinkinasen zu messen. Alle Assays wurden in 96-Well-Flash-Plates<sup>™</sup> in 50  $\mu$ l Reaktionsvolumen durchgeführt. Das Reaktionsgemisch wurde in vier Schritten in folgender Reihenfolge einpipettiert:

- 20  $\mu$ l Assaypuffer (Standardpuffer)
- 5  $\mu$ l ATP-Lösung (in Wasser)
- 5  $\mu$ l Testsubstanzlösung (in 10 % DMSO)
- 10  $\mu$ l Enzymlösung

Der Assay für alle Proteinkinasen enthielt:

- 70 mM HEPES-Natronlauge-Puffer (pH=7,5)
- 3 mM Magnesiumchlorid
- 3 mM Manganchlorid
- 3  $\mu$ M Natriumorthovanadat
- 1,2 mM DTT
- 50  $\mu$ g/ml PEG<sub>20000</sub>
- 15  $\mu$ M ATP
- [ $\gamma$ - $^{33}$ P]-ATP ( $\approx 7 \cdot 10^5$  cpm pro Well)
- Proteinkinase (nach Tabellen 7.1 und 7.3)
- Substrat (ebd.)

Die Reaktionsgemische wurden 60 min bei 30 °C inkubiert. Mit 50  $\mu$ l Phosphorsäure (2 % (V/V)) wurde die Reaktion gestoppt. Die Platten wurden abgesaugt und zwei mal mit je 200  $\mu$ l Natriumchloridlösung (0,9 % (m/V)) gewaschen. Die  $^{33}$ P<sub>i</sub>-Aufnahme in das Substrat wurde mit einem Platten-Szintillationszähler „Microbeta“ (Wallac) bestimmt.

Alle Assays wurden in einem BeckmanCoulter Laborautomaten mit „SAGIAN<sup>™</sup>“ Betriebssoftware durchgeführt.

**Auswertung der Rohdaten** Die IC<sub>50</sub>-Kurven von 33 der 40 Testsubstanzen zeigten Löslichkeitsprobleme. Um realistischere IC<sub>50</sub>-Werte zu schaffen, wurden Ausreißer im höheren Konzentrationsbereich aus der Berechnung ausgeschlossen. Die abgedruckten Tabellen enthalten nur IC<sub>50</sub>-Werte, die nach Berechnung ohne Ausreißer erhalten wurden.

Der Medianwert der Zählraten in Spalte 1 (entsprechend 8 Wells) jeder *Assay Plate* wurde als *low Control* definiert. Dieser Wert spiegelt die Bindung unspezifischer Radioaktivität an der Platte wider, unter Vorhandensein von Substrat, ohne Proteinkinase. Der Medianwert der Zählraten in Spalte 7 (wiederum 8 Wells) jeder *Assay Plate* wurde als *high Control* angenommen, das bedeutet: volle Aktivität der Kinase ohne Vorhandensein eines Inhibitors. Die Differenz zwischen *high-* und *low Control* wurde als 100%ige Aktivität angenommen.

Der *low Control*-Wert einer Platte wurde vom *high Control*-Wert und allen 80 „Testverbindungs-Werten“ der jeweiligen Platte subtrahiert. Die Restaktivität (in Prozent) für jedes Well der betreffenden Platte wurde nach folgender Formel berechnet:

$$a_{res} = 100 \cdot \frac{n_{Cmpd} - n_{lowControl}}{n_{highControl} - n_{lowControl}}$$

*a* ... Aktivität

*n* ... radioaktive Zählrate

Die Restaktivitäten für jede Konzentration und die IC<sub>50</sub>-Werte der Verbindungen wurden mit der Software „quattro/Workflow V 3.1.0“ (quattro research GmbH) automatisch berechnet.

**Ergebnisse** Die IC<sub>50</sub>-Werte aller Testsubstanzen sind in den Tabellen 7.2 und 7.4 (Seite 206 f.) zusammengefasst. Diese Tabellen enthalten alle IC<sub>50</sub>-Werte, bestimmt wie oben beschrieben. Zudem sind die zugehörigen Anstiege der Kurven abgedruckt. Alle IC<sub>50</sub>-Werte, die außerhalb des Bereiches der gemessenen Konzentrationen ( $<3 \cdot 10^{-9}$  M;  $>1 \cdot 10^{-4}$  M) lagen sind grau gedruckt.

Kurvenanstiege über  $-0,4$  sind ebenfalls in grau gedruckt. Die zugehörigen Kurven verlaufen ungewöhnlich flach, dies deutet an, dass keine wesentliche Inhibition gemessen werden konnte.

Die Tabellen 3.9 und 3.10 (Seite 78 f.) enthalten Daten der o. g. Tabellen in Modifizierter Form: Abgedruckt ist der Mittelwert der doppelt bestimmten IC<sub>50</sub>-Werte für jede Verbindung. Waren die Werte größer als  $1 \cdot 10^{-4}$  M oder lagen sie außerhalb des vermessenen Konzentrationsbereiches (und hatten einen Kurvenanstieg größer als  $-0,4$ ) so ist die Verbindung als nicht aktiv (n. a.) gesetzt.

**Qualitätskontrolle** Als Parameter für die Qualität des Assays wurde der Z-Faktor [83] der *low Control*- und *high Control*-Werte jeder *Assay Plate* (je 8 Wells) genutzt. Die interne Qualitätskontrolle der ProQinase sieht eine Wiederholung des Assays bei einem Z-Faktor unter 0,4 vor [84]. Die in den durchgeführten Versuchen bestimmten Z-Faktoren lagen nie unter 0,45 und in den meisten Fällen über 0,6, was für eine gute bis exzellente Assayqualität spricht.

### 5.5 Methoden der Charakterisierung am Zellmodell

Das NCI der Vereinigten Staaten führt, im Rahmen des DTP ein Screening an 60 humanen Tumorzelllinien aus unterschiedlichen Geweben durch. Eine Auswahl der Substanzen dieser Arbeit wurde damit auf ihre zellwachstumshemmende Wirkung untersucht. Die Arbeiten am NCI wurden mit einem „TECAN Freedom 200“ Laborroboter durchgeführt.

**Humane Tumorzelllinien** des Screenings wurden in RPMI-1640 Medium kultiviert, was 5 % fetales Rinderserum und 2 mM L-Glutamin enthält. Für das Screeningexperiment wurden die Zellen in einer Suspension zu 100  $\mu$ l in 96-Well-Mikrotiterplatten überführt. Die Beladungsdichte lag zwischen 5000 und 40 000 Zellen pro Well, abhängig von der Teilungsrate der jeweiligen Zelllinie. Anschließend wurden die Mikrotiterplatten bei 37 °C, unter einer Atmosphäre aus 5 % CO<sub>2</sub> und 95 % Luft, bei 100 % relativer Luftfeuchtigkeit für 24 h inkubiert. Zwei Platten jeder Zelllinie wurden *in situ* mit Trichloressigsäure (TCA) fixiert (s. u.). Diese Platten dienten als Kontrolle der Zellpopulation vor Zugabe der Testsubstanzen ( $T_z$ ).

**Testsubstanzen** wurden in DMSO zum 400fachen der finalen Testkonzentration gelöst und im Frost gelagert. Unmittelbar vor der Verwendung wurde ein Aliquot des Konzentrats aufgetaut und auf das doppelte der gewünschten Testkonzentration mit dem finalen Medium, was 50  $\mu$ g/ml Gentamicin enthielt, verdünnt. Je 100  $\mu$ l dieser Verdünnung wurden in die Wells der o. g. Mikrotiterplatten pipettiert, welche bereits 100  $\mu$ l Zellsuspension enthielten, wodurch die benötigte Endkonzentration der Testverbindungen von 10  $\mu$ M erreicht wurde. Wells ohne Inhibitor dienten als Wachstumskontrolle ( $C$ ).

**NCI 60 Cell One-Dose Screen** Nach Zugabe der Testsubstanzen wurden die Platten weitere 48 h unter den o. g. Bedingungen inkubiert. Adherente Zellen wurden anschließend *in situ* durch vorsichtige Zugabe von 50  $\mu$ l kalter TCA (50 % ( $m/V$ )) fixiert. Die finale TCA-Konzentration in den Wells betrug 10 %. Die Platten wurden 60 min bei 4 °C inkubiert. Der Überstand wurde verworfen, die Platten fünf mal mit Leitungswasser gewaschen und an der Luft getrocknet. 100  $\mu$ l Sulforhodamin

B-Lösung (0,4 % ( $m/V$ )) in verdünnter Essigsäure 1 % ( $m/V$ )) wurde zugefügt und die Platten 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Gebundener Farbstoff wurde anschließend in TRIS-Puffer gelöst und die Absorption der einzelnen Wells mit einem automatischen Plattenreader, bei einer Wellenlänge von 515 nm vermessen. Für suspendierte Zellen galt im Wesentlichen die gleiche Methode, außer dass die Zellen durch vorsichtige Zugabe von 50  $\mu$ l TCA (80 % ( $m/V$ )) fixiert wurden. Die finale TCA-Konzentration in den Wells betrug hier 16 %.

**Darstellung der Ergebnisse** Durch den Assay wurde für jede Zelllinie ein prozentualer Wert erhalten, der das Zellwachstum beschreibt. Dieser bezieht sich auf die Kontrolle ohne Inhibitor ( $C$ ) und auf die Zellpopulation vor Zugabe der Testsubstanzen ( $T_z$ ). Dadurch wird sowohl Wachstumshemmung (Werte von 0 % bis 100 %), als auch Zytotoxizität (Werte unter 0 %), erkennbar.

Zur Veranschaulichung ein paar Beispiele: Ein Wert von 100 % bedeutet keine Hemmung des Zellwachstums. Ein Wert von 40 % bedeutet 60 % Wachstumshemmung. 0 % würde bedeuten, dass während des Experiments kein Zellwachstum stattfand. -40 % bedeutet 40 % Lethalität. Ein gemessener Wert von -100 %, würde bedeuten, dass alle Zellen tot sind [85].

Zur besseren Übersicht werden die gemessenen Werte im praktischen Teil dieser Arbeit in einem Balkendiagramm dargestellt. Dafür wird zunächst das arithmetische Mittel aus den Werten aller Zelllinien berechnet. Dieser Wert der „mittleren Wachstumsprozente“ wird im Diagramm als Ursprung gesetzt und die Balken nach links und rechts weisend abgebildet. Ein nach links weisender Balken bedeutet, dass die Substanz bei der betreffenden Zelllinie schwächer wirksam als im Durchschnitt war. Bei einem nach rechts weisenden Balken war sie entsprechend stärker wirksam. Die Länge der Balken korreliert direkt mit der Differenz zum Mittelwert.

## 6 Synthesen

### 6.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

**AAV 1** 4-Chlor-1-aza-9-oxafluoren wurde, mit dem entsprechenden Benzylamin im angegebenen Mengenverhältnis in 5 ml NMP<sup>1</sup> gelöst und unter Rühren, Reflux und Argonatmosphäre erhitzt. Reaktionszeit und -temperatur sind jeweils verzeichnet. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz in 50 ml Essigester gegossen und mit 50 ml Wasser versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch drei mal mit je 25 ml Essigester extrahiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde wie jeweils beschrieben weiter aufgereinigt.

**AAV 2** 4-Chlor-1-aza-9-oxafluoren wurde, im angegebenen Mengenverhältnis, im entsprechenden Benzylamin suspendiert und unter Rühren, Reflux und Argonatmosphäre erhitzt. Reaktionszeit und -temperatur sind jeweils verzeichnet. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz in 50 ml gesättigte Kaliumcarbonatlösung gegossen und mit 100 ml Essigester versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch drei mal mit je 50 ml Essigester extrahiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde wie jeweils beschrieben weiter aufgereinigt.

**AAV 3** Der jeweils beschriebene Reaktionsansatz wurde für den angegebenen Zeitraum unter Rühren und Argonatmosphäre zum Reflux erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Ansatz in das 1,5-fache Volumen an Wasser gegossen, mit Natronlauge (10 M) auf pH=12 eingestellt und fünf mal mit Essigester, jeweils im Volumenverhältnis 1:1, extrahiert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde wie beschrieben weiter aufgereinigt.

**AAV 4** Die angegebene Menge des 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorenderivates wurde in 10 ml Essigester gelöst und Palladium auf Bariumsulfat (10 % (m/m))<sup>2</sup> als Hydrierungskatalysator zugegeben. Das Gemisch wurde unter Wasserstoffatmosphäre, bei Normdruck und Raumtemperatur für den angegebenen Zeitraum gerührt. Anschließend wurde der fein suspendierte Katalysator über Kieselgel abfiltriert und das

---

<sup>1</sup>Sigma-Aldrich

<sup>2</sup>Fluka

Lösungsmittel bei Unterdruck entfernt. Eventuelle weitere Reinigungsschritte sind angegeben.

**AAV 5** Die angegebene Menge des 4-Chlor-6-nitro- $\alpha$ -carbolins wurden in 15 eq. des betreffenden Benzylamins suspendiert und unter Argonatmosphäre, mit aufgesetzten Rückflusskühler unter Rühren erhitzt. Zeit und Temperatur sind angegeben. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz, nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur, in ein Zweiphasensystem aus 10 ml Ammoniaklösung (10 % (*m/m*)) und 25 ml Chloroform gegossen, und für 30 min intensiv gerührt. Der auskristallisierte Feststoff wurde durch eine Nutsche filtriert, mit Ether gewaschen und an der Luft getrocknet.

**AAV 6** Die angegebene Menge des 6-Nitro- $\alpha$ -carbolins wurde in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) mit 6 eq. Zinn-(II)-chlorid-dihydrat für 75 min unter Rühren und Argonatmosphäre zum Reflux (bei etwa 110 °C) erhitzt. Dabei bildete sich eine klare Lösung. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz in 20 ml Wasser gegossen und mit Natriumhydroxidlösung (10 M) auf pH=12 eingestellt, wobei das Produkt auskristallisierte. Die so entstandene Suspension wurde 30 min gerührt, durch einen BÜCHNERtrichter filtriert, mit Wasser gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

**AAV 7** Die angegebene Menge des 6-Brom-4-chlor- $\alpha$ -carbolins wurden in 15 eq. des betreffenden Benzylamins suspendiert und unter Argonatmosphäre, mit aufgesetzten Rückflusskühler unter Rühren erhitzt. Zeit und Temperatur sind angegeben. Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz, nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur, in 25 ml Chloroform gegossen und für 1 h gerührt. Der auskristallisierte weiße Feststoff wurde durch eine Nutsche filtriert und mit Ether gewaschen. Das so erhaltene Rohprodukt wurde, nach Trocknen an der Luft, in 20 ml THF resuspendiert, unter Rühren abgekühlt und erneut abgenutscht. Das Produkt wurde durch Einengen des Filtrates erhalten.

**AAV 8** Die angegebene Menge des 6-Brom- $\alpha$ -carbolins und 2,7 eq. Kupfer(I)-cyanid<sup>3</sup> wurden in NMP gelöst und unter Argon, mit aufgesetztem Rückflusskühler auf 200 °C erhitzt. Reaktionsvolumina und -zeiten finden sich in der jeweiligen Monographie. Anschließend wurde das Gemisch in die fünffache Menge (*V/V*) Essigester gegossen und mit dem halben Volumen an Ammoniaklösung (20 % (*m/m*)) gewaschen, die Waschlösung anschließend mit frischem Essigester reextrahiert. Das Rohprodukt zeigte sich durch verschlepptes NMP ölig. Zugabe von Wasser führte zum Ausfallen der gewünschten Produkte als hellbraunes Präzipitat. Dieses wurde abgenutscht, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Zur entgeltigen Aufreinigung wurde das Produkt in einer kleinen Menge THF gelöst, an Kieselgel adsorbiert und alle

---

<sup>3</sup>Sigma-Aldrich

unspezifischen Verunreinigungen säulenchromatographisch mit Essigester/Methanol (95:5 (V/V)) entfernt.

**AAV 9** Das jeweilige 6-Cyano- $\alpha$ -carbolin wurde mit einem Überschuss Natronlauge und katalytischen Mengen Kupfer(I)-iodid in 5 ml eines Wasser/Diethylenglycol-Gemisches (50:50 (V/V)) suspendiert. Der Ansatz wurde die angegebene Zeit zum Reflux, bei etwa 150 °C, erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit Salzsäure (37% (m/m)) auf pH=1 eingestellt, 30 min gerührt, durch einen BÜCHNERtrichter filtriert und mit verdünnter Salzsäure (0,1 mol/l) gewaschen. Der Rückstand wurde im Exsikkator getrocknet.

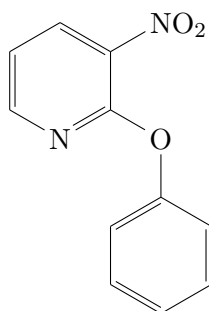
**AAV 10** 200 mg (0,71 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden in 15 eq. des jeweiligen Benzylamins suspendiert und unter Schutzgas für den angegebenen Zeitraum auf 130 °C erwärmt. Durch elementaren Schwefel, der durch die vorangegangene Aufarbeitung (vgl. 3.1.2) im Edukt enthalten war, wurde das Benzylamin am  $\alpha$ -Kohlenstoff oxidiert und dime-rierte mit einem zweiten Molekül. Das Reaktionsgemisch wurde in 50 ml gesättigte Kaliumcarbonatlösung gegossen, mit 50 ml Essigester versetzt, die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch einmal mit 25 ml Essigester extrahiert. Das so erhaltene gelbe ölige Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (75:25 (V/V)) gereinigt.



## 6.2 Darstellung der 6-substituierten 1-Aza-9-oxafluorene

### 6.2.1 Synthese des 1-Aza-9-oxafluoren-Grundkörpers

#### 3-Nitro-2-phenoxy-pyridin **2**



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	216,20 g/mol
CAS-Nummer	76893-44-2
Schmelzbereich	88 °C bis 91 °C [43]

**Darstellung:** 19,0 g (202 mmol, 1,3 eq.) Phenol wurden in 425 ml frisch destilliertem Toluol gelöst. Die Lösung wurde im Eisbad auf 2 °C gekühlt und 10,5 g (262 mmol, 1,6 eq.) Natriumhydridsuspension (60 % (m/m)) in Paraffin zugegeben. Das Eisbad wurde entfernt, ein Blasenähler aufgesetzt und das Gemisch bei Raumtemperatur bis zum Ende der Gasentwicklung (ca. 90 min) gerührt. 25,7 g (162 mmol, 1,0 eq.) 2-Chlor-3-nitropyridin<sup>4</sup> **1** wurden zugegeben und der Ansatz für 5,5 h unter Argonatmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurden 300 ml Wasser vorsichtig zugegeben. Das Gemisch wurde in einen großvolumigen Scheidetrichter überführt, mit 300 ml Ether versetzt, die Phasen getrennt und die organische Phase noch drei mal mit je 200 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit je 200 ml gesättigter Kaliumcarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt.

**Ausbeute:**  $m = 31,3$  g orange Kristalle ( $n = 145$  mmol,  $\eta = 89$  %)

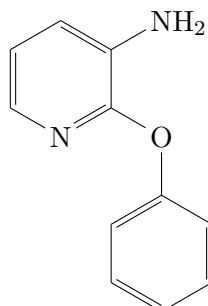
**DC:**  $R_f = 0,38$  (Cyclohexan/Essigester 70:30 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 217,2$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 6,96 (dd,  $^3J = 7,9$  Hz,  $^3J = 4,9$  Hz, 1 H, H-5); 6,98 bis 7,03 (m, 2 H, H-2' und H-6'); 7,06 bis 7,13 (m, 2 H, H-3' und H-5'); 7,20 bis 7,34 (m, 1 H, H-4'); 8,15 (dd,  $^3J = 4,9$  Hz,  $^4J = 1,5$  Hz, 1 H, H-6); 8,17 (dd,  $^3J = 7,9$  Hz,  $^4J = 1,5$  Hz, 1 H, H-4)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 89$  °C

<sup>4</sup>Acros Organics

2-Phenoxyppyridin-3-amin **3**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O
molare Masse	186,21 g/mol
CAS-Nummer	28664-62-2
Schmelzbereich	100 °C bis 102 °C [43]

**Darstellung:** 30,8 g (142 mmol, 1,0 eq.) **2** wurden in 500 ml Essigester gelöst. Als Hydrierungskatalysator wurden 3,0 g (entsprechend 2% Pd (*n/n*)) Palladium auf Aktivkohle (10% (*m/m*))<sup>5</sup> zugegeben und die Suspension für 24 h unter Wasserstoffatmosphäre bei Normdruck gerührt. Die Atmosphäre wurde bei Bedarf erneuert. Nach Abschluss der Reaktion wurde das Gemisch durch Kieselgel filtriert, das Lösungsmittel bei Unterdruck entfernt und das so erhaltene Produkt ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe umgesetzt.

**Ausbeute:** *m* = 26,5 g rötliche Kristalle (*n* = 142 mmol, *quantitativ*)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,30 (Cyclohexan/Essigester 70:30 (*V/V*))

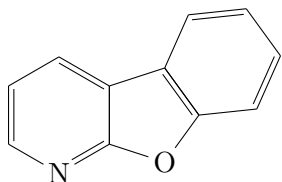
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 187,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 3,94 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,85 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4,9 Hz, 1 H, H-5); 7,04 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,6 Hz, 1 H, H-4); 7,11 bis 7,21 (m, 3 H, H-2', H-4' und H-6'); 7,34 bis 7,43 (m, 2 H, H-3' und H-5'); 7,57 (dd, <sup>3</sup>*J* = 4,9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,6 Hz, 1 H, H-6);

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ (ppm) = 5,21 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,86 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4,8 Hz, 1 H, H-5); 7,03 bis 7,10 (m, 3 H, H-2', H-4' und H-6'); 7,13 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,7 Hz, 1 H, H-4); 7,30 (dd, <sup>3</sup>*J* = 4,8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,7 Hz, 1 H, H-6); 7,34 bis 7,40 (m, 2 H, H-3' und H-5')

**Schmelzpunkt:** *ϑ* = 101 °C

<sup>5</sup>Sigma-Aldrich

**Benzofuro[2,3-*b*]pyridin 4****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> NO
molare Masse	169,18 g/mol
CAS-Nummer	25337-58-0
Schmelzbereich	57 °C bis 61 °C [42]

**Darstellung:** 15,0 g (81 mmol, 1,0 eq.) **3** wurden in 20 ml Aceton unter leichtem Erwärmen gelöst und bei 35 °C in 1,21 Schwefelsäure (5 % (*m/m*)) unter starkem Rühren eingetropf, wodurch eine feine Suspension erhalten wurde. Die Mischung wurde im Kältebad auf 0 °C abgekühlt und eine Lösung – von 5,6 g (81 mmol, 1 eq.) Natriumnitrit in 120 ml Wasser – über einen Tropftrichter unter ständigen und intensiven Rühren langsam eingetropf. Die Mischung wurde über 45 min weiter gerührt, wobei die Temperatur konstant bei 0 °C gehalten wurde. 60,0 g (980 mmol, 12 eq.) Kupferpulver wurden zugegeben, ein Blasenähler aufgesetzt und der Reaktionsansatz während 90 min bei 55 °C gerührt. Nach Ende der Gasentwicklung wurde das Gemisch auf Raumtemperatur gekühlt, 300 ml Chloroform zugegeben und der Feststoff abgenutscht. Die Phasen wurden getrennt, und die wässrige Phase drei mal mit je 150 ml Chloroform extrahiert. Das Rohprodukt, eine schwarze ölige Flüssigkeit, wurde auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (90:10 (*V/V*)) getrennt.

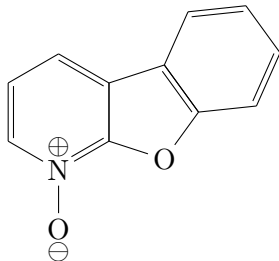
**Ausbeute:**  $m = 3,0$  g gelbe Kristalle ( $n = 18$  mmol,  $\eta = 22$  %)

**DC:**  $R_f = 0,24$  (Cyclohexan/Essigester 90:10 (*V/V*))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 170,3$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7,34 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,6$  Hz, <sup>3</sup> $J = 5,0$  Hz, 1 H, H-3); 7,39 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,3$  Hz, 1 H, H-6); 7,53 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,3$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,3$  Hz, 1 H, H-7); 7,64 (d, <sup>3</sup> $J = 8,3$  Hz, 1 H, H-8); 7,95 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-5); 8,27 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,6$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,6$  Hz, 1 H, H-4); 8,45 (dd, <sup>3</sup> $J = 5,0$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-2)

**Schmezbereich:**  $\vartheta = 56$  °C bis 58 °C

**Benzofuro[2,3-*b*]pyridin-1-oxid 5****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>
molare Masse	185,18 g/mol
CAS-Nummer	31874-93-8
Schmelzbereich	176 °C bis 178 °C [42]

**Darstellung:** 5,9 g (35 mmol, 1,0 eq.) **4** wurden in 60 ml Chloroform gelöst und 12,9 g (61 mmol, 1,5 eq.) *m*-CPBA<sup>6</sup> (70 % (*m/m*)) unter Rühren portionsweise zugegeben. Der Ansatz wurde 9 h zum Reflux erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden 80 ml Wasser zugegeben und mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=9 eingestellt. Weitere 80 ml Chloroform wurden zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase sechs mal mit je 80 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Unterdruck entfernt. Der so erhaltene beige Feststoff wurde in siedendem Chloroform gelöst und während des langsamen Abkühlens intensiv gerührt, wobei enthaltene *m*-CPBA auskristallisierte. Die Suspension wurde filtriert und erneut zur Trockne eingengt.

**Ausbeute:** *m* = 5,3 g beiger Feststoff (*n* = 29 mmol,  $\eta$  = 82 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,23 (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

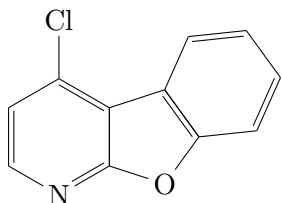
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 186,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7,37 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6,5 Hz, 1 H, H-3); 7,40 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, 1 H, H-6); 7,50 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, 1 H, H-7); 7,56 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,9 Hz, 1 H, H-5); 7,76 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, 1 H, H-8); 7,97 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,0 Hz, 1 H, H-4); 8,54 (dd, <sup>3</sup>*J* = 6,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,0 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 166 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3109 (m,  $\nu$  C-H); 1596 (m,  $\nu$  C-C); 1586 (m,  $\nu$  C-C); 1573 (s,  $\nu$  C-C); 1282 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1224 (vs,  $\nu_{sy}$  C-O Furan); 752 (m,  $\delta$  C-H)

<sup>6</sup>Sigma-Aldrich

4-Chlorbenzofuro[2,3-*b*]pyridin **6**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> ClNO
molare Masse	203,63 g/mol
CAS-Nummer	31874-94-9
Schmelzbereich	78 °C bis 79 °C [42]

**Darstellung:** 5,4 g (29 mmol, 1,0 eq.) **5** wurden in 15 ml frisch destilliertem Chloroform gelöst und im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. 52,8 ml (580 mmol, 20,0 eq.) Phosphorylchlorid<sup>7</sup> wurden unter Rühren und Argonatmosphäre zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und der Ansatz für 3,5 h zum Reflux erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung im Unterdruck weitgehend eingengt, dann mit 30 ml Chloroform versetzt. 60 ml Eiswasser wurden zugegeben und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert. Weitere 120 ml Chloroform wurden zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase vier mal mit je 90 ml Chloroform extrahiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (90:10 (V/V)) gereinigt.

**Ausbeute:**  $m = 4,0$  g weißer Feststoff ( $n = 20$  mmol,  $\eta = 69\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,63$  (Cyclohexan/Essigester 70:30 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 204,4$  Da  $[M+H]^+$

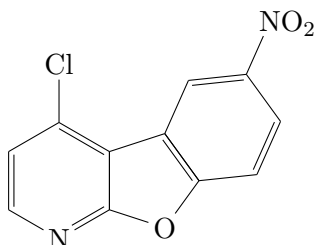
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7,34 (d,  $^3J = 5,4$  Hz, 1 H, H-3); 7,44 (ddd,  $^3J = 7,8$  Hz,  $^3J = 7,3$  Hz,  $^4J = 1,0$  Hz, 1 H, H-6); 7,58 (ddd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^3J = 7,3$  Hz,  $^4J = 1,4$  Hz, 1 H, H-7); 7,66 (dd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^4J = 1,0$  Hz, 1 H, H-8); 8,28 (dd,  $^3J = 7,8$  Hz,  $^4J = 1,4$  Hz, 1 H, H-5); 8,34 (d,  $^3J = 5,4$  Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 75$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3086 (m,  $\nu$  C-H); 2923 (m,  $\nu$  C-H); 2853 (m,  $\nu$  C-H); 1573 (vs,  $\nu$  C=N Pyridin); 1468 (m,  $\nu$  C-C); 1423 (m,  $\nu$  C-C); 1389 (m,  $\nu$  C-C); 1274 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1188 (s,  $\nu_{sy}$  C-O Furan); 1108 (m,  $\nu$  C-Cl); 783 (s,  $\delta$  C-H)

<sup>7</sup>Sigma-Aldrich

## 6.2.2 Synthese der 6-Nitro-1-aza-9-oxafluorene

4-Chlor-6-nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin 7

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>5</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	248,62 g/mol
Schmelzbereich	189 °C bis 193 °C [41]

**Darstellung:** 1,0 g (5 mmol) **6** wurden bei 0 °C portionsweise und langsam in 5 ml RFNA<sup>8</sup> gegeben und anschließend 3 h bei 0 °C gerührt. Das Gemisch wurde in Eis gegossen, mit 20 ml Wasser verdünnt und 30 min gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde durch einen BÜCHNERtrichter filtriert und über Nacht zwischen Filterpapier getrocknet. Das entstandene Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung zur Synthese weiterer Verbindungen verwendet.

**Ausbeute:**  $m = 1,3$  g gelbliches Pulver ( $n = 5$  mmol, *quantitativ*)

**DC:**  $R_f = 0,20$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 249,1$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 7,78 (d,  $^3J = 5,5$  Hz, 1 H, H-3); 8,10 (d,  $^3J = 9,1$  Hz, 1 H, H-8); 8,57 (d,  $^3J = 5,5$  Hz, 1 H, H-2); 8,58 (d,  $^3J = 9,1$  Hz, 1 H, H-7); 8,95 (s, 1 H, H-5)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 113,3 (t, C-8); 113,9 (q, C-4a); 118,1 (t, C-3); 121,2 (t, C-5); 121,4 (q, C-4b); 124,8 (t, C-7); 138,7 (q, C-4); 143,9 (q, C-6); 148,7 (t, C-2); 156,6 (q, C-8a); 163,7 (q, C-9a)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 181$  °C bis 186 °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 158$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3097 (m,  $\nu$  C-H); 1585 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1520 (s,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1452 (m,  $\nu$  C-C); 1344 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1314 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1229 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1070 (s,  $\nu_{sy}$  C-Cl); 830 (s,  $\delta$  C-H)

<sup>8</sup>Sigma-Aldrich

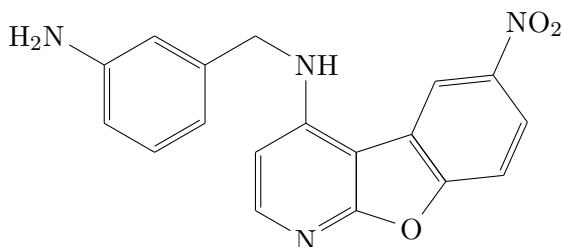
**Alternative Darstellung:** In einem trockenen Rundkolben wurden 10 ml konzentrierte Salpetersäure vorgelegt und bei 0 °C unter Rühren 12 ml konzentrierte Schwefelsäure eingetropt. Die so frisch hergestellte Nitriersäure wurde unter Kühlung zu 2,0 g (10 mmol) **58** getropft und das Gemisch anschließend bei Raumtemperatur für zwei Stunden gerührt. Der Ansatz wurde in 250 ml Eiswasser gegossen, der ausgefallene Feststoff abgenutscht und im Vacuum getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 2,5$  g gelbliches Pulver ( $n = 10$  mmol, *quantitativ*)

**DC:**  $R_f = 0,20$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 249,0$  Da  $[M+H]^+$

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 186$  °C

***N*-(3-Aminobenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 8a**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	334,34 g/mol
Elementaranteil	C 64,7 %
	H 4,2 %
	N 19,8 %
	O 14,4 %

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **7** und 1,2 g (10 mmol, 10 eq.) 3-Aminobenzylamin<sup>9</sup> wurden nach AAV 1 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 6 h bei 200 °C. Das erhaltene Rohprodukt, ein gelbes Öl, wurde auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (50:50 (V/V)) gereinigt, anschließend wurde aus Isopropanol umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 136$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,41$  mmol,  $\eta = 40$  %)

**DC:**  $R_f = 0,16$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 335,2$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 333,3$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 3,49 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 4,61 (d, <sup>3</sup> $J = 5,5$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 5,44 (t, <sup>3</sup> $J = 5,5$  Hz, 1 H, NH); 6,60 (d, <sup>3</sup> $J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 6,65 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-4'); 6,71 (s, 1 H, H-2'); 6,79 (d, <sup>3</sup> $J = 7,7$  Hz, 1 H, H-6'); 7,18 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,7$  Hz 1 H, H-5'); 7,69 (d, <sup>3</sup> $J = 9,0$  Hz, 1 H, H-8); 8,18 (d, <sup>3</sup> $J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,39 (dd, <sup>3</sup> $J = 9,0$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,1$  Hz 1 H, H-7); 8,64 (d, <sup>4</sup> $J = 2,1$  Hz, 1 H, H-5)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,63 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 4,63 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,56 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-4'); 6,64 (d, <sup>3</sup> $J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 6,68 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-6'); 6,76 (s, 1 H, H-2'); 7,02 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz 1 H, H-5'); 7,39 (br, 1 H, NH); 7,81 (d, <sup>3</sup> $J = 9,0$  Hz, 1 H, H-8); 8,06 (d, <sup>3</sup> $J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,40 (dd, <sup>3</sup> $J = 9,0$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz 1 H, H-7); 9,12 (d, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-5)

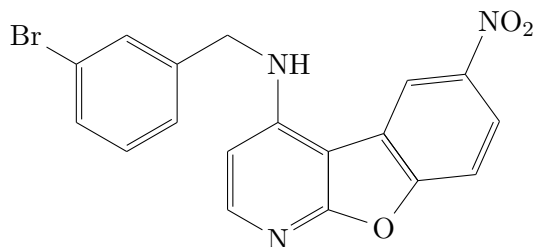
**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 109$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3398 (m,  $\nu$  N-H sek.); 3290 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3190 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3104 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2849 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1602 (s,  $\delta$  N-H); 1583 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1515 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1484 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1466 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1443 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1337 (vs,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1318 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1232 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 806 (m,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 62,4 (C); 4,1 (H); 16,0 (N)

<sup>9</sup>Sigma-Aldrich



***N*-(3-Brombenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin **8c******Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	398,22 g/mol
Elementaranteil	C 54,3 %
	H 3,0 %
	Br 20,1 %
	N 10,6 %
	O 12,1 %

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 1,9 g (10 mmol, 10 eq.) 3-Brombenzylamin<sup>10</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 21 h bei 120 °C. Das Rohprodukt wurde aus Cyclohexan/Essigester (80:20 (V/V)) umkristallisiert, wodurch **8c** als gelber Feststoff in hoher Reinheit erhalten wurde.

**Ausbeute:**  $m = 208$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,52$  mmol,  $\eta = 51$  %)

**DC:**  $R_f = 0,42$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 400,1$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 398,2$  Da [M-H]<sup>-</sup>

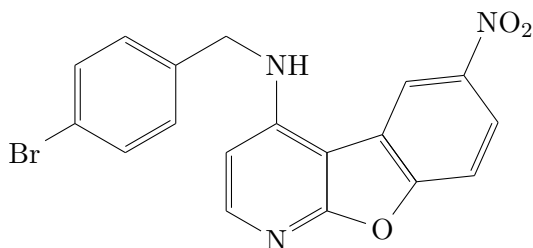
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,69 (d,  $^3J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,59 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 7,31 (dd,  $^3J = 7,8$  Hz,  $^3J = 7,8$  Hz 1 H, H-5'); 7,45 (d,  $^3J = 7,8$  Hz, 2 H, H-4' und H-6'); 7,65 (s, 1 H, H-2'); 7,90 (d,  $^3J = 9,2$  Hz, 1 H, H-8); 7,99 (t,  $^3J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 8,03 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,38 (dd,  $^3J = 9,2$  Hz,  $^4J = 2,1$  Hz, 1 H, H-7); 9,45 (d,  $^4J = 2,1$  Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 216$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3438 (m,  $\nu$  N-H); 3085 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2943 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1603 (s,  $\delta$  N-H); 1594 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1506 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1474 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1448 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1426 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1338 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1318 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1221 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 997 (m,  $\nu$  C-Br); 806 (s,  $\delta$  C-H arom.); 772 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 53,0 (C); 3,0 (H); 17,2 (Br); 10,4 (N)

<sup>10</sup>Acros Organics

***N*-(4-Brombenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 8d****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	398,22 g/mol

**Darstellung:** 150 mg (0,60 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 1,0 g (5 mmol, 8 eq.) 4-Brombenzylamin<sup>11</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h bei 130 °C. Das Rohprodukt wurde aus Essigester umkristallisiert und über Phosphorpentoxid getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 59$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,15$  mmol,  $\eta = 25$  %)

**DC:**  $R_f = 0,50$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 398,0$  Da [M+H]<sup>+</sup>

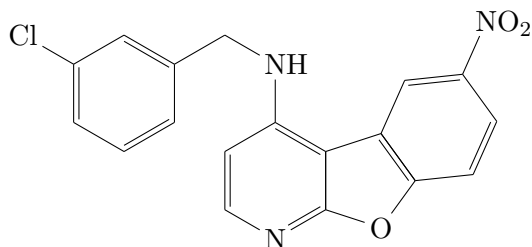
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 396,2$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 4,66 (d,  $^3J = 5,7$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,55 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,40 (d,  $^3J = 8,1$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,54 (d,  $^3J = 8,1$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,89 (d,  $^3J = 8,9$  Hz, 1 H, H-8); 8,01 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,03 (br, 1 H, NH); 8,38 (dd,  $^3J = 8,9$  Hz,  $^4J = 2,2$  Hz, 1 H, H-7); 9,46 (d,  $^4J = 2,2$  Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 253$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3437 (s,  $\nu$  N-H); 3093 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2960 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1601 (s,  $\delta$  N-H); 1580 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1508 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1487 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1474 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1451 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1336 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1318 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1215 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1049 (m,  $\nu$  C-Br); 801 (s,  $\delta$  C-H arom.); 786 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

<sup>11</sup>Sigma-Aldrich

**N-(3-Chlorbenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-b]pyridin-4-amin 8e****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	353,76 g/mol
Elementaranteil	C 61,1 %
	H 3,4 %
	Cl 10,0 %
	N 11,9 %
	O 13,6 %

**Darstellung:** 150 mg (0,60 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 1,5 g (10 mmol, 17 eq.) 3-Chlorbenzylamin<sup>12</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 18 h bei 145 °C. Das Rohprodukt wurde mit wenig Cyclohexan/Essigester (50:50 (V/V)) versetzt, worauf **8e** auskristallisierte. Der Feststoff wurde abgenutscht und *in vacuo* über Phosphorpentoxid getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 58$  mg feine gelbe Kristalle ( $n = 0,16$  mmol,  $\eta = 27\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,35$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 354,2$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 352,3$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 4,70 (d,  $^3J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,58 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 7,29 bis 7,42 (m, 3 H, H-4', H-5' und H-6'); 7,51 (s, 1 H, H-2'); 7,90 (d,  $^3J = 9,0$  Hz, 1 H, H-8); 8,00 (t,  $^3J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 8,03 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,38 (dd,  $^3J = 9,0$  Hz,  $^4J = 1,7$  Hz 1 H, H-7); 9,45 (d,  $^4J = 1,7$  Hz 1 H, H-5)

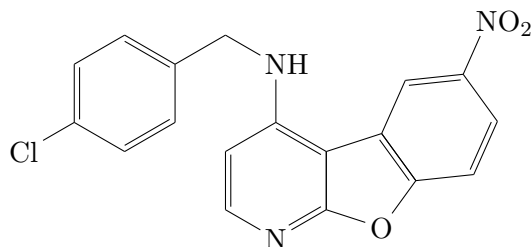
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 44,9 (s, CH<sub>2</sub>); 99,4 (q, C-4a); 102,6 (t, C-3); 111,6 (t, C-8); 117,5 (t, C-5); 121,9 (t, C-7); 123,0 (q, C-4b); 125,4 (t, C-4'); 126,6 (t, C-6'); 126,9 (t, C-5'); 130,3 (t, C-2'); 133,1 (q, C-1'); 141,4 (q, C-3'); 143,7 (q, C-6); 148,3 (t, C-2); 150,1 (q, C-9a); 155,2 (q, C-4); 165,0 (q, C-8a)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 243$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3437 (m,  $\nu$  N-H); 3086 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2945 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1604 (s,  $\delta$  N-H); 1594 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1507 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1475 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1444 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1430 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1339 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1318 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1222 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1075 (m,  $\nu$  C-Cl); 806 (s,  $\delta$  C-H arom.); 772 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 59,5 (C); 3,4 (H); 10,3 (Cl); 11,5 (N)

<sup>12</sup>Acros Organics

***N*-(4-Chlorbenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 8f**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	353,76 g/mol
Elementaranteil	C 61,1 %
	H 3,4 %
	Cl 10,0 %
	N 11,9 %
	O 13,6 %

**Darstellung:** 150 mg (0,60 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 1,5 g (10 mmol, 17 eq.) 4-Chlorbenzylamin<sup>13</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h bei 120 °C. Das ölige Rohprodukt lieferte nach Umkristallisation aus Cyclohexan/Essigester (20:80 (V/V)) das gewünschte Produkt als gelben Feststoff in hoher Reinheit. Die Kristalle wurden *in vacuo* über Phosphorpentoxid getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 75$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,21$  mmol,  $\eta = 35$  %)

**DC:**  $R_f = 0,45$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 354,1$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 352,2$  Da  $[M-H]^-$

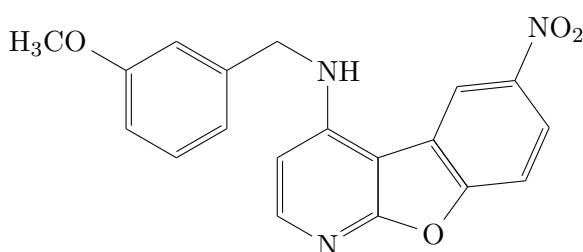
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,66 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,54 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 7,38 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,44 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,87 (d, <sup>3</sup>*J* = 9,1 Hz, 1 H, H-8); 8,00 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>2/3</sub> = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,00 (br, 1 H, NH); 8,36 (dd, <sup>3</sup>*J* = 9,1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,4 Hz, 1 H, H-7); 9,44 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,4 Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 257$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 235$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3436 (s,  $\nu$  N-H); 3096 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2962 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1603 (s,  $\delta$  N-H); 1580 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1509 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1491 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1491 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1474 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1438 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1336 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1319 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1199 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1082 (m,  $\nu$  C-Cl); 796 (s,  $\delta$  C-H arom.); 786 (m, *r* CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 57,1 (C); 3,3 (H); 8,1 (Cl); 11,0 (N)

<sup>13</sup>Acros Organics

**N-(3-Methoxybenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-b]pyridin-4-amin 8g****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
molare Masse	349,35 g/mol
Elementaranteil	C 65,3 %
	H 4,3 %
	N 12,0 %
	O 18,3 %

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 2,2 g (16 mmol, 16 eq.) 3-Methoxybenzylamin<sup>14</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 6 h bei 140 °C. Das als gelbes Öl erhaltene Rohprodukt wurde aus Isopropanol umkristallisiert und über Phosphorpentoxid getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 201$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,58$  mmol,  $\eta = 57$  %)

**DC:**  $R_f = 0,41$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 350,2$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 348,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

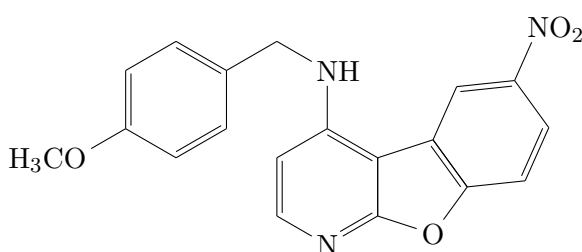
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 3,72 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,65 (d, <sup>3</sup>J = 5,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,57 (d, <sup>3</sup>J = 5,9 Hz, 1 H, H-3); 6,82 (d, <sup>3</sup>J = 7,6 Hz, 1 H, H-4'); 7,00 (d, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, 1 H, H-6'); 7,01 (s, 1 H, H-2'); 7,25 (dd, <sup>3</sup>J = 7,9 Hz, <sup>3</sup>J = 7,6 Hz, 1 H, H-5'); 7,88 (d, <sup>3</sup>J = 8,9 Hz, 1 H, H-8); 7,99 (t, <sup>3</sup>J = 5,1 Hz, 1 H, NH); 8,01 (d, <sup>3</sup>J = 5,9 Hz, 1 H, H-2); 8,37 (dd, <sup>3</sup>J = 8,9 Hz, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, 1 H, H-7); 9,46 (d, <sup>4</sup>J = 1,9 Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 193$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3427 (s,  $\nu$  N-H); 3096 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2913 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 2839 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1601 (vs,  $\delta$  N-H); 1593 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1510 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1490 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1472 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1457 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1432 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1337 (vs,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1320 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1257 (s,  $\nu_{as}$  C-O Ether); 1229 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1039 (m,  $\nu_{sy}$  C-O Ether); 805 (m,  $\delta$  C-H arom.); 782 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 62,5 (C); 4,2 (H); 11,7 (N)

<sup>14</sup>Sigma-Aldrich

***N*-(4-Methoxybenzyl)-6-nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 8h**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
molare Masse	349,35 g/mol
Elementaranteil	C 65,3 %
	H 4,3 %
	N 12,0 %
	O 18,3 %

**Darstellung:** 100 mg (0,40 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 0,9 g (6 mmol, 15 eq.) 4-Methoxybenzylamin<sup>15</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h bei 140 °C. Das als braunes Öl erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (60:40 (V/V)) als Eluent getrennt und anschließend aus Isopropanol umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 30$  mg feine gelbe Kristalle ( $n = 0,09$  mmol,  $\eta = 23$  %)

**DC:**  $R_f = 0,31$  (Cyclohexan/Essigester 60:40 (V/V))

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 348,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-**d**6):  $\delta$  (ppm) = 3,71 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,06 (d, <sup>3</sup> $J = 6,0$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,59 (d, <sup>3</sup> $J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 6,90 (d, <sup>3</sup> $J = 8,3$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,36 (d, <sup>3</sup> $J = 8,3$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,89 (d, <sup>3</sup> $J = 9,1$  Hz, 1 H, H-8); 7,98 (t, <sup>3</sup> $J = 6,0$  Hz, 1 H, NH); 8,00 (d, <sup>3</sup> $J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,37 (dd, <sup>3</sup> $J = 9,1$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-7); 9,45 (d, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-5)

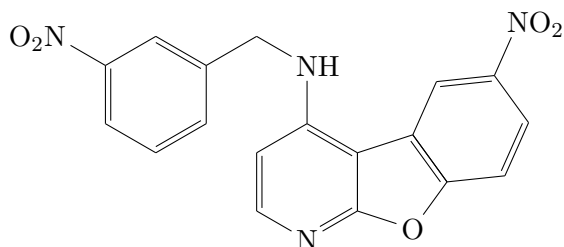
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-**d**6):  $\delta$  (ppm) = 44,9 (s, CH<sub>2</sub>); 54,9 (p, CH<sub>3</sub>); 99,2 (q, C-4a); 102,6 (t, C-3); 111,5 (t, C-8); 113,8 (t, C-3' und C-5'); 117,3 (t, C-5); 121,8 (t, C-7); 123,1 (q, C-4b); 128,0 (t, C-2' und C-6'); 130,4 (q, C-1'); 143,7 (q, C-6); 148,1 (t, C-2); 150,2 (q, C-9a); 155,2 (q, C-4); 158,2 (q, C-4'); 165,0 (q, C-8a)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 226$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3435 (s,  $\nu$  N-H); 3096 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2939 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 2838 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1603 (s,  $\delta$  N-H); 1581 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1510 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1476 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1460 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1337 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1320 (m,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1244 (s,  $\nu_{as}$  C-O Ether); 1223 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1028 (m,  $\nu_{sy}$  C-O Ether); 806 (m,  $\delta$  C-H arom.)

**EA:**  $\omega$  (%) = 64,4 (C); 4,5 (H); 10,9 (N)

<sup>15</sup>Acros Organics

**6-Nitro-N-(3-nitrobenzyl)benzofuro[2,3-b]pyridin-4-amin 8i****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>
molare Masse	364,32 g/mol
Elementaranteil	C 59,3 %
	H 3,3 %
	N 15,4 %
	O 22,0 %

**Darstellung:** 943 mg (5,00 mmol, 5,0 eq.) *m*-Nitrobenzylamin-hydrochlorid<sup>16</sup> wurden in 50 ml Wasser gelöst und mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=10 gebracht. Die Lösung wurde drei mal mit je 50 ml Essigester extrahiert, um *m*-Nitrobenzylamin als freie Base zu erhalten. Diese wurde mit 250 mg (1,00 mmol, 1,0 eq.) **7** nach AAV 1 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 6 h bei 200 °C. Das Rohprodukt wurde zunächst aus Methanol und anschließend aus Aceton umkristallisiert.

**Ausbeute:** *m* = 95 mg hellbrauner Feststoff (*n* = 0,26 mmol,  $\eta$  = 26 %)

**DC:**  $R_f$  = 0,40 (Cyclohexan/Essigester 40:60 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z$  = 365,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z$  = 363,3 Da [M-H]<sup>-</sup>

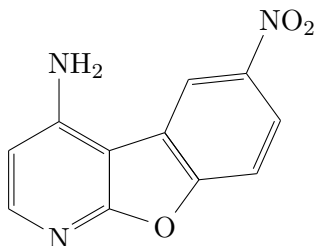
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 4,83 (d,  $^3J$  = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,62 (d,  $^3J$  = 5,9 Hz, 1 H, H-3); 7,65 (dd,  $^3J$  = 7,8 Hz,  $^3J$  = 7,8 Hz 1 H, H-5'); 7,88 bis 7,93 (m, 2 H, H-4' und H-6'); 8,03 (d,  $^3J$  = 5,9 Hz, 1 H, H-2); 8,07 (t,  $^3J$  = 6,2 Hz, 1 H, NH); 8,12 (d,  $^3J$  = 9,0 Hz, 1 H, H-8); 8,34 (dd,  $^3J$  = 2,0 Hz,  $^3J$  = 2,0 Hz 1 H, H-2'); 8,39 (dd,  $^3J$  = 9,0 Hz,  $^4J$  = 2,4 Hz, 1 H, H-7); 9,45 (d,  $^4J$  = 2,4 Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta$  = 294 °C bis 305 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3436 (m,  $\nu$  N-H); 3096 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2962 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1604 (s,  $\delta$  N-H); 1581 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1526 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1506 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1474 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1448 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1336 (vs,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1319 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1226 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 811 (m,  $\delta$  C-H arom.)

**EA:**  $\omega$  (%) = 57,4 (C); 3,8 (H); 14,4 (N)

<sup>16</sup>Sigma-Aldrich

**6-Nitrobenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 11****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	229,19 g/mol

**Darstellung:** 943 mg (5,00 mmol, 5,0 eq.) *p*-Nitrobenzylamin Hydrochlorid<sup>17</sup> wurden in 50 ml Wasser gelöst und mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=10 gebracht. Die Lösung wurde drei mal mit je 50 ml Essigester extrahiert, um *p*-Nitrobenzylamin als freie Base zu erhalten. Diese wurde mit 250 mg (1,00 mmol, 1,0 eq.) **7** nach AAV 1 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 6 h bei 200 °C. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (40:60 (V/V)) aufgetrennt und anschließend aus Aceton umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 93$  mg orangeroter Feststoff ( $n = 0,41$  mmol,  $\eta = 41$  %)

**DC:**  $R_f = 0,35$  (Cyclohexan/Essigester 40:60 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 230,2$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 328,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

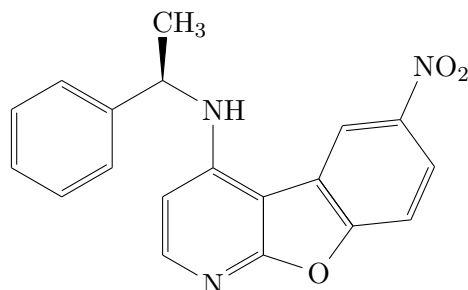
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 6,63 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,27 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 7,83 (d,  $^3J = 9,0$  Hz, 1 H, H-8); 7,95 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,32 (dd,  $^3J = 9,0$  Hz,  $^4J = 2,4$  Hz, 1 H, H-7); 9,26 (d,  $^4J = 2,4$  Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 329$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 225$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3477 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3338 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3106 (w,  $\nu$  C-H); 3051 (w,  $\nu$  C-H); 1644 (s,  $\delta$  N-H); 1598 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1517 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1504 (s,  $\nu$  C-C); 1454 (m,  $\nu$  C-C); 1408 (w,  $\nu$  C-C); 1337 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1322 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1198 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1103 (m,  $\nu_{sy}$  C-O Furan); 816 (m,  $\delta$  C-H)

<sup>17</sup>Sigma-Aldrich



**(R)-6-Nitro-N-(1-phenylethyl)benzofuro[2,3-b]pyridin-4-amin 8k****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	333,35 g/mol

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 1,9 g (16 mmol, 16 eq.) (*R*)-(+)- $\alpha$ -Methylbenzylamin<sup>18</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 15 h bei 110 °C. Das so erhaltene Rohprodukt wurde zunächst aus Isopropanol und anschließend aus Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 33$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,10$  mmol,  $\eta = 10\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,45$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

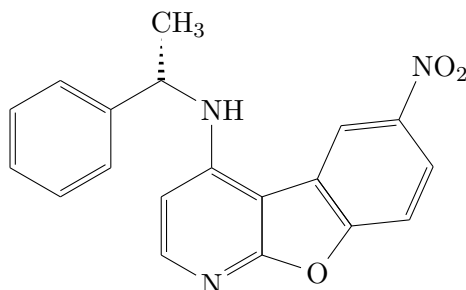
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 334,1$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Aceton-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 1,76 (d,  $^3J = 6,9$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>); 5,94 (dd,  $^3J = 6,9$  Hz,  $^3J = 6,9$  Hz, 1 H, CH); 6,56 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 6,93 (d,  $^3J = 6,9$  Hz, 1 H, NH); 7,21 bis 7,31 (m, 1 H, H-4'); 7,30 bis 7,40 (m, 2 H, H-3' und H-5'); 7,52 bis 7,60 (m, 2 H, H-2' und H-6'); 7,81 (d,  $^3J = 9,0$  Hz, 1 H, H-8); 8,01 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,41 (dd,  $^3J = 9,0$  Hz,  $^4J_{7/5} = 2,4$  Hz, 1 H, H-7); 9,11 (d,  $^4J = 2,4$  Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 83$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3606 (m,  $\nu$  N-H); 3028 (m,  $\nu_{as}$  C-H aliph. prim.); 2988 (m,  $\nu_{sy}$  C-H aliph. prim.); 2936 (m,  $\nu$  C-H arom.); 1601 (vs,  $\delta$  N-H); 1580 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1514 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1491 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1451 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1337 (vs,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1327 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1248 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 757 (m,  $\delta$  C-H arom.)

<sup>18</sup>Sigma-Aldrich

**(S)-6-Nitro-N-(1-phenylethyl)benzofuro[2,3-b]pyridin-4-amin 8l**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	333,35 g/mol

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 1,9 g (16 mmol, 16 eq.) (*S*)-(–)- $\alpha$ -Methylbenzylamin<sup>19</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 17 h bei 130 °C. Das so erhaltene Rohprodukt wurde zunächst aus Isopropanol und anschließend aus Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 111$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,33$  mmol,  $\eta = 33\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,45$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS:** [ESI-negativ]  $m/z = 332,3$  Da [M–H]<sup>–</sup>

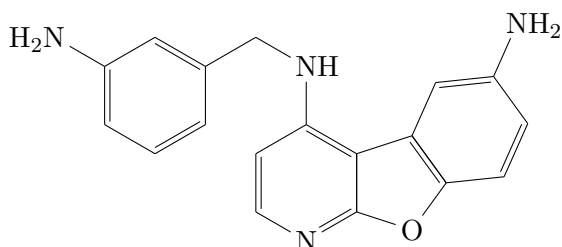
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm) = 1,70 (d,  $^3J = 6,8$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,90 bis 5,02 (m, 1 H, CH); 6,50 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 1 H, H-3); 7,23 (t,  $^3J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,34 (dd,  $^3J = 7,5$  Hz,  $^3J = 7,3$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,48 (d,  $^3J = 7,1$  Hz, 1 H, NH); 7,52 (d,  $^3J = 7,5$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,87 (d,  $^3J = 9,1$  Hz, 1 H, H-8); 7,97 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 1 H, H-2); 8,38 (dd,  $^3J = 9,1$  Hz,  $^4J = 2,5$  Hz, 1 H, H-7); 9,47 (d,  $^4J = 2,5$  Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 85$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>–1</sup>) = 3606 (m,  $\nu$  N–H); 3028 (m,  $\nu_{as}$  C–H aliph. prim.); 2988 (m,  $\nu_{sy}$  C–H aliph. prim.); 2938 (m,  $\nu$  C–H arom.); 1601 (vs,  $\delta$  N–H); 1580 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1512 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1491 (m,  $\nu$  C–C arom.); 1451 (m,  $\delta$  C–H aliph.); 1337 (vs,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1327 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1249 (s,  $\nu_{as}$  C–O Furan); 757 (m,  $\delta$  C–H arom.)

<sup>19</sup>Sigma-Aldrich

## 6.2.3 Synthese der 6-Amino-1-aza-9-oxafluorene

***N*<sup>4</sup>-(3-Aminobenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin **9a******Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O
molare Masse	304,35 g/mol
Elementaranteil	C 71,0 %
	H 5,3 %
	N 18,4 %
	O 5,3 %

**Darstellung:** 50 mg (0,15 mmol, 1,0 eq.) **8a** wurden in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 202 mg (0,90 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (10:90 (V/V)) als Eluent aufgereinigt. Nachdem die Verunreinigung mit höherem *R<sub>f</sub>*-Wert abgetrennt war, wurde **9a** mit Essigester von der Säule gewaschen.

**Ausbeute:** *m* = 44 mg gelber Feststoff (*n* = 0,14 mmol,  $\eta$  = 96 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,35 (Essigester)

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 305,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 4,44 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,0 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,82 (s, 2 H, H<sub>2</sub>N-3'); 4,98 (s, 2 H, H<sub>2</sub>N-6); 6,34 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,9 Hz, 1 H, H-3); 6,40 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, 1 H, H-4'); 6,51 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, 1 H, H-6'); 6,55 (s, 1 H, H-2'); 6,72 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,3 Hz 1 H, H-7); 6,94 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz 1 H, H-5'); 7,09 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,0 Hz, 1 H, NH); 7,29 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 1 H, H-8); 7,51 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,3 Hz, 1 H, H-5); 7,82 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,9 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta$  = 203 °C bis 206 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3343 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3219 (m,  $\nu$  N-H prim.); 2924 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2854 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1596 (vs,  $\delta$  N-H); 1511 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1478 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1208 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1122 (m,  $\nu$  N-H); 825 (w,  $\delta$  N-H); 801 (m,  $\delta$  N-H)

**EA:**  $\omega$  (%) = 68,5 (C); 6,3 (H); 14,1 (N)

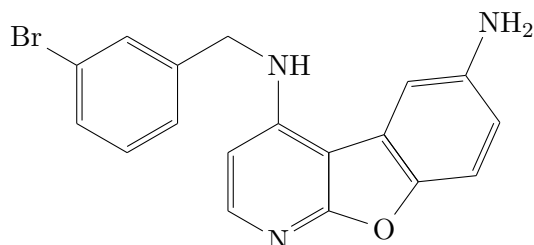
**Alternative Darstellung:** 50 mg (0,14 mmol, 1,0 eq.) **8i** wurden in 10 ml Salzsäure (10% (*m/m*)) suspendiert und 372 mg (1,65 mmol, 12 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1 Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 90 min. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wurde Essigester als mobile Phase verwendet.

**Ausbeute:**  $m = 38$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,12$  mmol,  $\eta = 89\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,35$  (Essigester)

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 305,2$  Da  $[M+H]^+$

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 204$  °C

***N*<sup>4</sup>-(3-Brombenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin **9c******Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> BrN <sub>3</sub> O
molare Masse	368,23 g/mol

**Darstellung:** 50 mg (0,13 mmol, 1,0 eq.) **8c** wurden in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 170 mg (0,75 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (20:80 (V/V)) gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 34 mg weißer Feststoff (*n* = 0,09 mmol, *η* = 73 %)

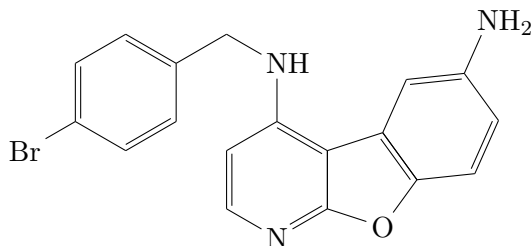
**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,24 (Cyclohexan/Essigester 40:60 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 368,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** *δ* (ppm) = 4,60 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,83 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,39 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,73 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz 1 H, H-7); 7,24 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 1 H, NH); 7,29 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, 1 H, H-6'); 7,30 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 1 H, H-4'); 7,37 bis 7,46 (m, 2 H, H-5' und H-8); 7,51 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 6,59 (dd, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, 1 H, H-2'); 7,85 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:** *ϑ* = 191 °C

**IR (ATR):** *ν̃* (cm<sup>-1</sup>) = 3336 (s, *ν* N-H prim.); 3212 (m, *ν* N-H prim.); 1596 (vs, *δ* N-H); 1511 (m, *ν* C-C arom.); 1479 (s, *δ* C-H aliph.); 1427 (m, *ν* C-C arom.); 1209 (m, *ν<sub>as</sub>* C-O Furan); 1129 (m, *ν* N-H); 1069 (m, *ν* C-Br); 835 (w, *δ* N-H); 806 (m, *δ* N-H)

***N*<sup>4</sup>-(4-Brombenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin 9d****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> BrN <sub>3</sub> O
molare Masse	368,23 g/mol

**Darstellung:** 20 mg (0,05 mmol, 1,0 eq.) **8d** wurden in 5 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 68 mg (0,30 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (20:80 (*V/V*)) gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 10 mg orange Kristalle (*n* = 0,03 mmol,  $\eta$  = 54 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,32 (Cyclohexan/Essigester 20:80 (*V/V*))

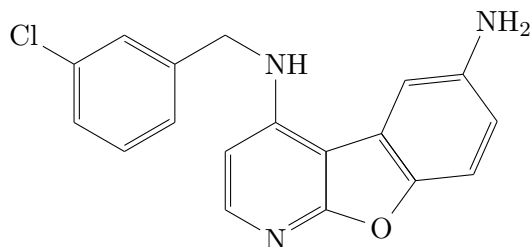
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 368,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 366,2 Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,57 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,82 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,35 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,73 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,3 Hz, 1 H, H-7); 7,22 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 1 H, NH); 7,29 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, 1 H, H-8); 7,35 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,50 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,3 Hz, 1 H, H-5); 7,51 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,83 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 247 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3389 (m,  $\nu$  N-H sek.); 3266 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3169 (m,  $\nu$  N-H prim.); 2923 (s,  $\nu$  C-H arom.); 2853 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1612 (vs,  $\delta$  N-H); 3593 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1505 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1475 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1461 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1451 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1206 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1127 (m,  $\nu$  N-H); 1067 (m,  $\nu$  C-Br); 811 (m,  $\delta$  N-H); 796 (s,  $\delta$  N-H)

***N*<sup>4</sup>-(3-Chlorbenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin **9e******Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> O
molare Masse	323,78 g/mol
Elementaranteil	C 66,8 %
	H 4,4 %
	Cl 11,0 %
	N 13,0 %
	O 5,0 %

**Darstellung:** In eine Suspension von 100 mg (0,28 mmol, 1,0 eq.) **8e** in 20 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) wurden 383 mg (1,70 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (20:80 (*V/V*)) als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 56 mg rosa Kristalle (*n* = 0,17 mmol,  $\eta$  = 61 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,32 (Cyclohexan/Essigester 20:80 (*V/V*))

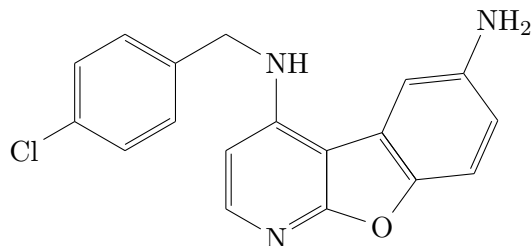
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 324,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,62 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,85 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,40 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,75 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz 1 H, H-7); 7,25 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 1 H, NH); 7,31 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 1 H, H-8); 7,28 bis 7,40 (m, 3 H, H-4', H-5' und H-6'); 7,46 (s, 1 H, H-2'); 7,52 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 7,86 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 180 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3344 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3221 (m,  $\nu$  N-H prim.); 2923 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2853 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1596 (vs,  $\delta$  N-H); 1511 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1479 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1447 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1431 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1209 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1187 (m,  $\nu$  C-Cl); 1130 (m,  $\nu$  N-H); 830 (w,  $\delta$  N-H); 801 (m,  $\delta$  N-H)

**EA:**  $\omega$  (%) = 66,3 (C); 4,9 (H); 9,8 (Cl); 11,8 (N)

***N*<sup>4</sup>-(4-Chlorbenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin **9f******Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> O
molare Masse	323,78 g/mol

**Darstellung:** 50 mg (0,14 mmol, 1,0 eq.) **8f** wurden in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 191 mg (0,85 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 105 min. Umkristallisation des Rohproduktes aus Chloroform lieferte **9f** in hoher Reinheit als leicht rosa schimmernde Kristalle.

**Ausbeute:** *m* = 23 mg rosa Kristalle (*n* = 0,07 mmol,  $\eta$  = 51 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,26 (Cyclohexan/Essigester 20:80 (*V/V*))

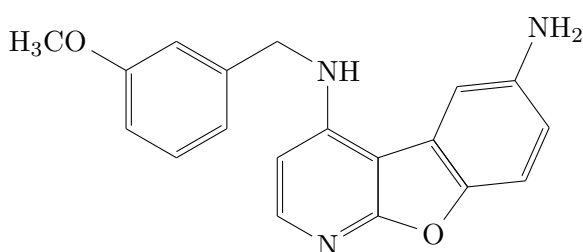
**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 322,3 Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,58 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,83 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,36 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,74 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-7); 7,22 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 1 H, NH); 7,30 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 1 H, H-8); 7,37 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,41 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,52 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 7,83 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 239 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3332 (br,  $\nu$  N-H); 2916 (w,  $\nu$  C-H arom.); 1602 (vs,  $\delta$  N-H); 1511 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1480 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1459 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1199 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1126 (m,  $\nu$  N-H); 1092 (m,  $\nu$  C-Cl); 830 (w,  $\delta$  N-H); 805 (m,  $\delta$  N-H)



***N*<sup>4</sup>-(3-Methoxybenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin 9g****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	319,36 g/mol
Elementaranteil	C 71,5 %
	H 5,4 %
	N 13,2 %
	O 10,0 %

**Darstellung:** 50 mg (0,14 mmol, 1,0 eq.) **8g** wurden in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 194 mg (0,86 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das so erhaltene Rohprodukt wurde auf Kieselgel aufgezogen, und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (80:20 (*V/V*)) gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 28 mg hellbrauner Feststoff (*n* = 0,09 mmol,  $\eta$  = 63 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,06 (Cyclohexan/Essigester 60:40 (*V/V*))

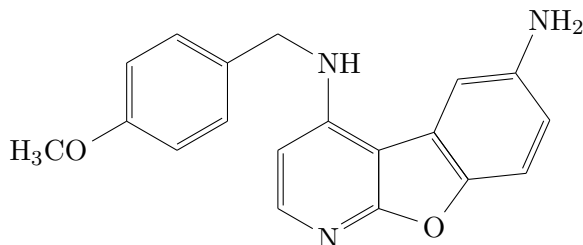
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 320,3 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 3,72 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,58 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,0 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,84 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,40 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,72 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz 1 H, H-7); 6,81 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,9 Hz, 1 H, H-6'); 6,93 bis 6,99 (m, 2 H, H-2' und NH); 7,15 bis 7,26 (m, 2 H, H-4' und H-5'); 7,29 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 1 H, H-8); 7,53 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 7,83 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta$  = 148 °C bis 150 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3350 (br,  $\nu$  N-H); 2970 (s,  $\nu$  C-H aliph. prim.); 2924 (s,  $\nu$  C-H arom.); 2855 (m,  $\nu$  C-H aliph. sek.); 1598 (vs,  $\delta$  N-H); 1511 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1479 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1451 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1436 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1260 (s,  $\nu_{as}$  C-O Ether); 1208 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1121 (m,  $\nu$  N-H); 1018 (s,  $\nu_{sy}$  C-O Ether); 830 (w,  $\delta$  N-H); 806 (m,  $\delta$  N-H)

**EA:**  $\omega$  (%) = 68,7 (C); 6,8 (H); 9,1 (N)

***N*<sup>4</sup>-(4-Methoxybenzyl)benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin 9h****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	319,36 g/mol

**Darstellung:** 50 mg (0,14 mmol, 1,0 eq.) **8h** wurden in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 190 mg (0,84 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das erhaltene Produkt zeigte sich frei von Nebenprodukten und wurde nicht weiter aufgereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 39 mg grünbrauner Feststoff (*n* = 0,12 mmol,  $\eta$  = 87 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,16 (Cyclohexan/Essigester 40:60 (*V/V*))

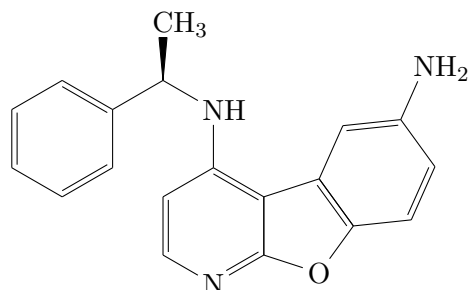
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 320,1 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 318,3 Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 3,71 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,58 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,83 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,42 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,9 Hz, 1 H, H-3); 6,73 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz 1 H, H-7); 6,89 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,13 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 1 H, NH); 7,30 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, 1 H, H-8); 7,33 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,51 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 7,84 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,9 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta$  = 222 °C bis 226 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3419 (s,  $\nu$  N-H sek.); 3310 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3204 (m,  $\nu$  N-H prim.); 2961 (s,  $\nu$  C-H aliph. prim.); 2927 (s,  $\nu$  C-H arom.); 2856 (m,  $\nu$  C-H aliph. sek.); 1604 (vs,  $\delta$  N-H); 1586 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1511 (vs,  $\nu$  C-C arom.); 1478 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1463 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1245 (s,  $\nu_{as}$  C-O Ether); 1208 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1110 (s,  $\nu$  N-H); 1027 (s,  $\nu_{sy}$  C-O Ether); 816 (m,  $\delta$  N-H); 801 (m,  $\delta$  N-H)

**(R)-N<sup>4</sup>-(1-phenylethyl)benzofuro[2,3-b]pyridin-4,6-diamin 9k****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O
molare Masse	303,37 g/mol

**Darstellung:** 20 mg (0,06 mmol, 1,0 eq.) **8k** wurden mit 1 mg (entsprechend 2 % Pd (*n/n*)) Katalysator nach AAV 4 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (40:60 (V/V)) als mobile Phase gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 6 mg rotbraune Kristalle (*n* = 0,02 mmol,  $\eta$  = 33 %)

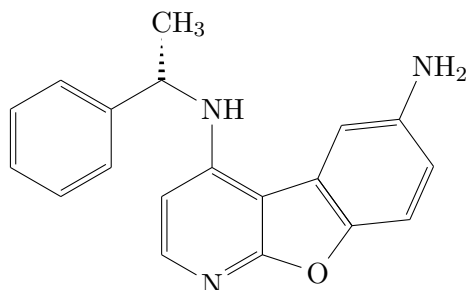
**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,22 (Cyclohexan/Essigester 40:60 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 304,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 1,68 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,7 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,82 bis 4,91 (m, 1 H, CH); 4,93 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,33 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,9 Hz, 1 H, H-3); 6,48 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,0 Hz, 1 H, NH); 6,74 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,1 Hz 1 H, H-7); 7,23 (t, <sup>3</sup>*J* = 7,3 Hz, 1 H, H-4'); 7,31 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 1 H, H-8); 7,33 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,3 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,49 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,52 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,1 Hz, 1 H, H-5); 7,81 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,9 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 162 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (m,  $\nu$  N-H sek.); 3345 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3219 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3028 (w,  $\nu_{as}$  C-H aliph. prim.); 3959 (m,  $\nu_{sy}$  C-H aliph. prim.); 2924 (m,  $\nu$  C-H arom.); 1596 (vs,  $\delta$  N-H); 1504 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1478 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1451 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1201 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1141 (m,  $\nu$  N-H); 835 (m,  $\delta$  N-H); 806 (m,  $\delta$  N-H)

**(S)-N<sup>4</sup>-(1-phenylethyl)benzofuro[2,3-b]pyridin-4,6-diamin 9l**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O
molare Masse	199,07 g/mol
Elementaranteil	C 75,2 %
	H 5,7 %
	N 13,9 %
	O 5,3 %

**Darstellung:** 50 mg (0,15 mmol, 1,0 eq.) **8l** wurden mit 3 mg (entsprechend 2 % Pd (*n/n*)) Katalysator nach AAV 4 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 34 h. Das erhaltene Rohprodukt wurde in einer kleinen Menge Chloroform gelöst und durch Zugabe des etwa dreifachen Volumens an Cyclohexan auskristallisiert. Der erhaltene Feststoff wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (40:60 (V/V)) gereinigt.

**Ausbeute:**  $m = 13$  mg rosa Kristalle ( $n = 0,04$  mmol,  $\eta = 29$  %)

**DC:**  $R_f = 0,29$  (Cyclohexan/Essigester 40:60 (V/V))

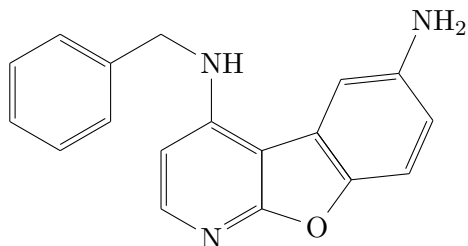
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 304,2$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 1,62 (d,  $^3J = 6,7$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,78 bis 4,91 (m, 1 H, CH); 4,91 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,31 (d,  $^3J_2 = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 6,46 (d,  $^3J = 7,1$  Hz, 1 H, NH); 6,73 (dd,  $^3J = 8,7$  Hz,  $^4J = 2,1$  Hz 1 H, H-7); 7,21 (t,  $^3J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,29 (d,  $^3J = 8,6$  Hz, 1 H, H-8); 7,31 (dd,  $^3J = 7,3$  Hz,  $^3J = 7,1$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,47 (d,  $^3J = 7,1$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,50 (d,  $^4J = 2,1$  Hz, 1 H, H-5); 7,79 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 131$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (m,  $\nu$  N-H sek.); 3344 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3219 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3028 (w,  $\nu_{as}$  C-H aliph. prim.); 3975 (w,  $\nu_{sy}$  C-H aliph. prim.); 2926 (w,  $\nu$  C-H arom.); 1594 (vs,  $\delta$  N-H); 1504 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1478 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1450 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1201 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1141 (m,  $\nu$  N-H); 835 (w,  $\delta$  N-H); 806 (m,  $\delta$  N-H)

**EA:**  $\omega$  (%) = 73,7 (C); 6,0 (H); 12,7 (N)

***N*<sup>4</sup>-Benzylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin 9m****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O
molare Masse	289,34 g/mol
Schmelzbereich	216 °C bis 223 °C [41]

**Darstellung:** 100 mg (0,45 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 0,7 g (7 mmol, 15 eq.) frisch destillierten Benzylamin<sup>20</sup> nach AAV 2 (6.1, Seite 114) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h bei 145 °C. Das Rohprodukt wurde aus Ether umkristallisiert.

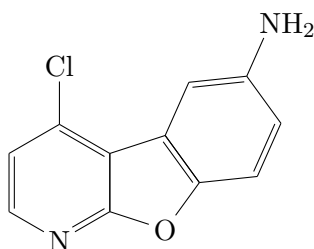
**Ausbeute:**  $m = 2$  mg gelber Feststoff ( $n = 0,01$  mmol,  $\eta = 1$  %)

**DC:**  $R_f = 0,11$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 290,08$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 208$  °C

<sup>20</sup>Fluka

4-Chlorbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-6-amin 10

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> ClN <sub>2</sub> O
molare Masse	218,64 g/mol
Elementaranteil	C 60,4 %
	H 3,2 %
	N 12,8 %
	O 7,3 %

**Darstellung:** 175 mg (0,70 mmol, 1,0 eq.) **7** wurden in 15 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 953 mg (4,22 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 85 min. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (30:70 (*V/V*)) als Eluent aufgereinigt.

**Ausbeute:**  $m = 220$  mg goldgelber Feststoff ( $n = 1,01$  mmol,  $\eta = 83$  %)

**DC:**  $R_f = 0,35$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (*V/V*))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 219,2$  Da  $[M+H]^+$

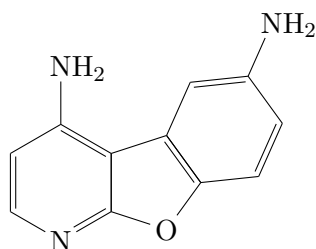
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 5,27 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,91 (dd,  $^3J = 8,8$  Hz,  $^4J = 2,4$  Hz, 1 H, H-7); 7,42 (d,  $^4J = 2,4$  Hz, 1 H, H-5); 7,48 (d,  $^3J = 8,8$  Hz, 1 H, H-8); 7,53 (d,  $^3J = 5,5$  Hz, 1 H, H-3); 8,34 (d,  $^3J = 5,5$  Hz, 1 H, H-2)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 105,4 (t, C-8); 111,9 (t, C-3); 114,8 (q, C-4a); 116,5 (t, C-5); 119,7 (t, C-7); 120,8 (q, C-4b); 129,1 (q, C-6); 137,1 (q, C-4); 145,7 (q, C-8a); 145,9 (q, C-9a); 146,7 (t, C-2)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 201$  °C bis 205 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3342 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3215 (s,  $\nu$  N-H prim.); 2921 (w,  $\nu$  C-H); 1633 (m,  $\delta$  N-H); 1576 (vs,  $\nu$  C=N Pyridin); 1484 (vs,  $\nu$  C-C); 1448 (s,  $\nu$  C-C); 1397 (m,  $\nu$  C-C); 1276 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1194 (m,  $\nu_{sy}$  C-O Furan); 1011 (m,  $\nu$  C-Cl); 801 (s,  $\delta$  C-H)

**EA:**  $\omega$  (%) = 59,6 (C); 3,4 (H); 12,2 (N)

**Benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4,6-diamin 12****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O
molare Masse	199,07 g/mol
Elementaranteil	C 66,3 %
	H 4,6 %
	N 21,1 %
	O 8,0 %

**Darstellung:** 50 mg (0,15 mmol, 1,0 eq.) **8k** wurden in 10 ml Salzsäure (10 % (*m/m*)) suspendiert und 203 mg (0,90 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat zugegeben. Die Umsetzung erfolgte nach AAV 3 (6.1, Seite 114). Die Reaktionszeit betrug 75 min. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Chloroform umkristallisiert und anschließend säulenchromatographisch mit Essigester als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 14 mg gelbe Kristalle (*n* = 0,07 mmol,  $\eta$  = 50 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,18 (Essigester)

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 200,3 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,76 (s, 2 H, H<sub>2</sub>N-6); 6,48 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-3); 6,55 (s, 2 H, H<sub>2</sub>N-4); 6,67 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,3 Hz 1 H, H-7); 7,25 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, 1 H, H-8); 7,35 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,3 Hz, 1 H, H-5); 7,79 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 275 °C

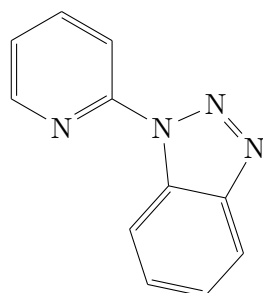
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3421 (m,  $\nu$  4-N-H prim.); 3378 (m,  $\nu$  4-N-H prim.); 3338 (m,  $\nu$  6-N-H prim.); 3217 (m,  $\nu$  6-N-H prim.); 2923 (vs,  $\nu$  C-H); 2853 (s,  $\nu$  C-H); 1600 (m,  $\delta$  N-H); 1584 (m,  $\nu$  C=N Pyridin); 1477 (m,  $\nu$  C-C); 1390 (m,  $\nu$  C-C); 1187 (s,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 825 (m,  $\delta$  C-H)

**EA:**  $\omega$  (%) = 67,2 (C); 5,7 (H); 17,2 (N)

## 6.3 Darstellung der 6-substituierten $\alpha$ -Carboline

### 6.3.1 Synthese des $\alpha$ -Carbolin-Grundkörpers

#### 1-(Pyridin-2-yl)-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol **14**



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub>
molare Masse	196,21 g/mol
CAS-Nummer	13174-93-1
Schmelzbereich	109 °C bis 110 °C [43]

**Darstellung:** 50,0 g (420 mmol, 1,0 eq.) 1*H*-Benzotriazol<sup>21</sup> wurden in 220 ml Toluol suspendiert und 79,6 g (504 mmol, 1,2 eq.) 2-Brompyridin<sup>22</sup> **13** zugegeben. Das Gemisch wurde unter Rühren zum Reflux erhitzt, wobei sich zunächst eine klare Lösung bildete und anschließend ein weißer Feststoff ausfiel. Die Reaktion war unter diesen Bedingungen nach 23 h beendet. Das Gemisch wurde in 1 l Essigester gegossen. Durch Zugabe von 100 ml Kaliumhydroxidlösung (10 % (*m/m*)) wurde der Feststoff gelöst. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase zwei mal mit je 300 ml der o. g. Kaliumhydroxidlösung gewaschen. Das erhaltene Produkt wurde aus Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:** *m* = 80,0 g weiße, nadelförmige Kristalle (*n* = 407 mmol,  $\eta$  = 97 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,53 (Cyclohexan/Essigester 75:25 (*V/V*))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 197,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7,33 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4,9 Hz, 1 H, H-5'); 7,46 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-5); 7,61 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-6); 7,95 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, 1 H, H-4'); 8,13 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-4); 8,31 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, <sup>5</sup>*J* = 0,9 Hz, 1 H, H-3'); 8,62 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 4,9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, <sup>5</sup>*J* = 0,9 Hz, 1 H, H-6'); 8,67 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-7)

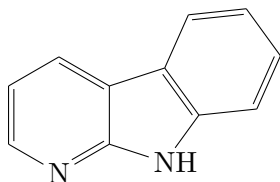
**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 110 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3112 (m,  $\nu$  C–H); 3065 (m,  $\nu$  C–H); 3017 (m,  $\nu$  C–H); 1594 (s,  $\nu$  C=N Triazol); 1584 (s,  $\nu$  C=N Triazol); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1487 (s,  $\nu$  C–C); 1474 (s,  $\nu$  N=N Triazol); 1439 (s,  $\nu$  N=N Triazol); 767 (s,  $\delta$  C–H); 748 (s,  $\delta$  C–H)

<sup>21</sup>Sigma-Aldrich

<sup>22</sup>Sigma-Aldrich



**9H-Pyrido[2,3-b]indol 15****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>
molare Masse	168,20 g/mol
CAS-Nummer	244-76-8
Schmelzbereich	210 °C bis 212 °C [43]

**Darstellung:** 29,4 g PPA<sup>23</sup> wurden in einem Rundkolben mit KPG-Rührer auf 150 °C erwärmt, dann wurden 11,4 g (58 mmol, 1,0 eq.) **14** unter Rühren portionsweise zugegeben. Die Temperatur wurde bei 150 °C gehalten. Das Gemisch verfärbte sich von farblos über gelb in ein dunkles braun und begann zu schäumen. Nach beendeter Zugabe wurde weiter bei 150 °C gerührt, bis nach 3,5 h die Stickstoffentwicklung zum Erliegen gekommen war. Während des Abkühlens wurde das Gemisch vorsichtig mit 50 ml Wasser verdünnt, anschließend durch Zugabe von Natriumhydroxidlösung (10 M) auf pH=10 eingestellt und über Nacht gerührt. Die erhaltene Suspension wurde in 250 ml Wasser gegossen, im Eisbad auf 0 °C gekühlt und durch einen BÜCHNERtrichter filtriert. Ausgefallenes Dinatriumhydrogenphosphat wurde durch sorgfältiges Waschen mit Wasser entfernt und der erhaltene bräunliche Rückstand im Exsikkator getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 3,6$  g beiger Feststoff ( $n = 21$  mmol,  $\eta = 36$  %)

**DC:**  $R_f = 0,26$  (Cyclohexan/Essigester 60:40 (V/V))

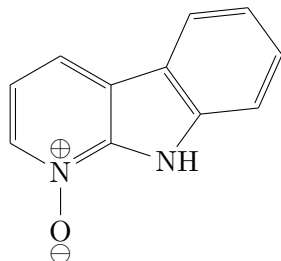
**DC:**  $R_f = 0,53$  (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 169,3$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,18 (dd, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, <sup>3</sup>J = 4,8 Hz, 1 H, H-3); 7,20 (ddd, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, <sup>3</sup>J = 7,0 Hz, <sup>4</sup>J = 1,3 Hz, 1 H, H-6); 7,43 (ddd, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz, <sup>3</sup>J = 7,0 Hz, <sup>4</sup>J = 1,2 Hz, 1 H, H-7); 7,48 (ddd, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz, <sup>3</sup>J = 1,3 Hz, <sup>5</sup>J = 0,6 Hz, 1 H, H-8); 8,14 (dddd, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, <sup>4</sup>J = 1,2 Hz, <sup>5</sup>J = 0,6 Hz, <sup>5</sup>J = 0,6 Hz, 1 H, H-5); 8,39 (dd, <sup>3</sup>J = 4,8 Hz, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, 1 H, H-2); 8,48 (ddd, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, <sup>4</sup>J = 1,6 Hz, <sup>5</sup>J = 0,6 Hz, 1 H, H-4); 11,74 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 210$  °C

<sup>23</sup>Sigma-Aldrich

**9H-Pyrido[2,3-b]indol-1-oxid 16****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O
molare Masse	184,20 g/mol
CAS-Nummer	26148-55-0
Schmelzbereich	234 °C bis 238 °C [43]

**Darstellung:** 3,6 g (21 mmol, 1,0 eq.) **15** wurden in 30 ml konzentrierter Essigsäure gelöst und 4,4 g (45 mmol, 2,1 eq) Wasserstoffperoxidlösung (35 % (*m/m*)) eingetropf. Die Lösung wurde 5 h zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderten Druck teilweise entfernt, anschließend das braune Öl unter Rühren mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=8 eingestellt und über Nacht gerührt. Der ausgefallene braune Feststoff wurde abgenutscht und im Exsikkator bis zur Massenkonzanz getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 3,6$  g gelbbrauner Feststoff ( $n = 20$  mmol,  $\eta = 93$  %)

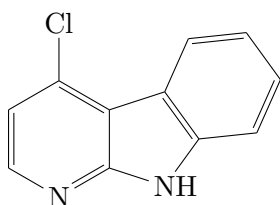
**DC:**  $R_f = 0,21$  (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 185,2$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 183,4$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,21 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6,3 Hz, 1 H, H-3); 7,28 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6,9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-6); 7,51 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6,9 Hz, 1 H, H-7); 7,56 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-8); 8,16 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, 1 H, H-2); 8,19 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>5</sup>*J* = 0,8 Hz, 1 H, H-5); 8,33 (dd, <sup>3</sup>*J* = 6,3 Hz, <sup>5</sup>*J* = 0,8 Hz, 1 H, H-4); 12,56 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 227$  °C bis 231 °C

4-Chlor-9H-pyrido[2,3-b]indol **17**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> ClN <sub>2</sub>
molare Masse	202,64 g/mol
CAS-Nummer	25208-32-6
Schmelzbereich	231 °C bis 234 °C [43] 231 °C bis 234 °C [44]

**Darstellung:** 3,6 g (20 mmol, 1,0 eq.) **16** wurden in 15 ml absoluten DMF unter Rühren und Argonatmosphäre gelöst. Bei 0 °C auf dem Eisbad wurden 4,2 ml (7,1 g, 47 mmol, 2,4 eq.) Phosphoroxychlorid<sup>24</sup> mit einer Spritze langsam eingetropft. Das Gemisch wurde 24 h gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Reaktionsansatz unter Kühlung in 50 ml Wasser gegossen, Kaliumhydroxidlösung (10 % (m/m)) wurde eingetropft, bis pH=12 erreicht war. Die entstandene Suspension wurde für 30 min gerührt, über einen BÜCHNERtrichter filtriert, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde in THF gelöst, an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (80:20 (V/V)) gereinigt. Nachdem alle Verunreinigungen und Nebenprodukte mit höheren  $R_f$ -Werten von der Säule gewaschen waren, wurde das Fließmittelverhältnis zu Cyclohexan/Essigester (50:50 (V/V)) geändert. Außer dem Hauptprodukt **17** wurden auch 5 % des, an Position 2 chlorierten, Nebenproduktes **25** isoliert.

**Ausbeute:**  $m = 2,3$  g gelblich weiße Kristalle ( $n = 11$  mmol,  $\eta = 58$  %)

**DC:**  $R_f = 0,52$  (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,06$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,30$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 203,3$  Da [M+H]<sup>+</sup>

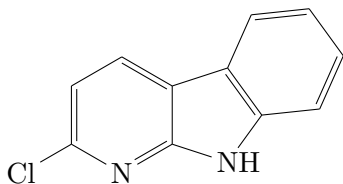
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 201,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,27 bis 7,32 (m, 1 H, H-6); 7,30 (d, <sup>3</sup>J = 5,3 Hz, 1 H, H-3); 7,50 bis 7,57 (m, 2 H, H-7 und H-8); 8,33 (dd, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, <sup>4</sup>J = 1,3 Hz, 1 H, H-5); 8,36 (d, <sup>3</sup>J = 5,3 Hz, 1 H, H-2); 12,16 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 231$  °C

**IR (ATR) =  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>)** 3131 (s,  $\nu$  N-H); 3081 (s,  $\nu$  C-H); 3054 (s,  $\nu$  C-H); 1624 (s,  $\nu$  C-C); 1571 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1296 (s,  $\nu$  N-H); 999 (w,  $\nu$  C-Cl); 791 (m,  $\delta$  C-H)

<sup>24</sup>Sigma-Aldrich

**2-Chlor-9H-pyrido[2,3-b]indol 25****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> ClN <sub>2</sub>
molare Masse	202,64 g/mol
CAS-Nummer	26869-12-5
Schmelzbereich	225 °C bis 230 °C [41]

**Darstellung:** Die Verbindung wurde bei der Synthese von **17** als Nebenprodukt erhalten.

**Ausbeute:**  $m = 184$  mg weiße Kristalle ( $n = 0,91$  mmol,  $\eta = 5\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,52$  (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,41$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,56$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

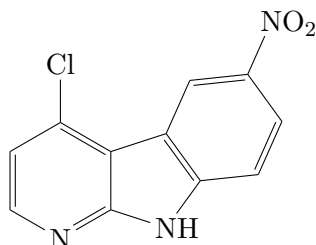
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 203,1$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 201,5$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,24 (dd, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, <sup>3</sup>J = 7,1 Hz, 1 H, H-6); 7,25 (d, <sup>3</sup>J = 8,1 Hz, 1 H, H-3); 7,46 (dd, <sup>3</sup>J = 8,3 Hz, <sup>3</sup>J = 7,1 Hz, 1 H, H-7); 7,51 (d, <sup>3</sup>J = 8,3 Hz, 1 H, H-8); 8,15 (d, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, 1 H, H-5); 8,53 (d, <sup>3</sup>J = 8,1 Hz, 1 H, H-4); 12,01 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 232$  °C

**IR (ATR) =  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>)** 3150 (vs,  $\nu$  N-H); 3091 (m,  $\nu$  C-H); 3060 (m,  $\nu$  C-H); 1599 (m,  $\nu$  C-C); 1577 (m,  $\nu$  C-C); 1568 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1323 (s,  $\nu$  N-H); 1000 (s,  $\nu$  C-Cl); 767 (s,  $\delta$  C-H)

6.3.2 Synthese der 6-Nitro- $\alpha$ -carboline4-Chlor-6-nitro-9H-pyrido[2,3-b]indol **18**

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	247,64 g/mol
CAS-Nummer	25207-88-9
Schmelzpunkt	>320 °C [41]

**Darstellung:** 500 mg (2,47 mmol) **17** wurden unter Kühlung bei 0 °C portionsweise in 3 ml RFNA<sup>25</sup> eingetragen. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und der Ansatz 35 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen, 10 ml Wasser wurden zugesetzt und das Gemisch mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=10 eingestellt. Die Suspension wurde über Nacht gerührt, dann abgenutscht. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus DMF umkristallisiert und im Exsikkator getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 466$  mg gelblich schimmernder Feststoff ( $n = 1,88$  mmol, 76 %)

**DC:**  $R_f = 0,20$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

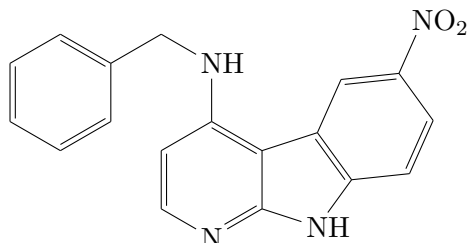
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 248,1$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 246,6$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,47 (d, <sup>3</sup>J = 5,3 Hz, 1 H, H-3); 7,70 (d, <sup>3</sup>J = 9,0 Hz, 1 H, H-8); 8,40 (dd, <sup>3</sup>J = 9,0 Hz, <sup>4</sup>J = 2,4 Hz, 1 H, H-7); 8,50 (d, <sup>3</sup>J = 5,3 Hz, 1 H, H-2); 9,10 (d, <sup>4</sup>J = 2,4 Hz, 1 H, H-5); 12,92 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta > 360$  °C

<sup>25</sup>Sigma-Aldrich

***N*-Benzyl-6-nitro-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 19a****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	318,34 g/mol

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **18** wurden in Benzylamin<sup>26</sup> suspendiert nach AAV 5 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 160 °C.

**Ausbeute:**  $m = 224$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,70$  mmol, 69 %)

**DC:**  $R_f = 0,32$  (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 319,2$  Da [M+H]<sup>+</sup>

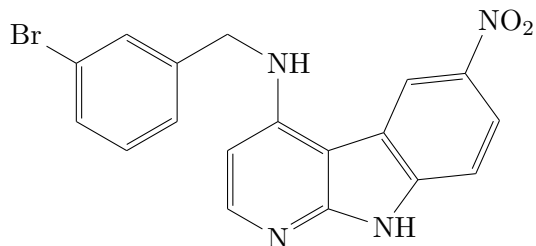
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 317,4$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,66 (d, <sup>3</sup> $J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,43 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,21 (t, <sup>3</sup> $J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,31 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,3$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,46 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,54 (d, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, 1 H, H-8); 7,67 (t, <sup>3</sup> $J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 7,99 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,26 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-7); 9,42 (d, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-5); 12,26 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 226$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 217$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3415 (m,  $\nu$  N-H); 2972 (vs,  $\nu$  C-H aliph.); 1596 (s,  $\delta$  N-H); 1497 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1477 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1467 (s,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1454 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1383 (m,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1316 (m,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 747 (s,  $\delta$  C-H arom.); 728 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

<sup>26</sup>Fluka

***N*-(3-Brombenzyl)-6-nitro-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 19b****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> BrN <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	397,23 g/mol

**Darstellung:** 160 mg (0,65 mmol, 1,0 eq.) **18** wurden in 3-Brombenzylamin<sup>27</sup> suspendiert nach AAV 5 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 42 h bei 165 °C.

**Ausbeute:**  $m = 232$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,59$  mmol, 91 %)

**DC:**  $R_f = 0,33$  (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 397,7$  Da [M+H]<sup>+</sup>

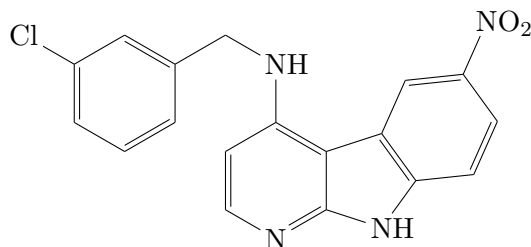
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 395,4$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 4,67 (d, <sup>3</sup> $J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,34 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,29 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-6'); 7,37 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-5'); 7,42 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-4'); 7,54 (d, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, 1 H, H-8); 7,62 (s, 1 H, H-2'); 7,66 (t, <sup>3</sup> $J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 8,02 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,26 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-7); 9,40 (d, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-5); 12,28 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 343$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 328$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3433 (m,  $\nu$  N-H); 2974 (vs,  $\nu$  C-H aliph.); 1599 (vs,  $\delta$  N-H); 1570 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1509 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1490 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1472 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1451 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1379 (m,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1314 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 898 (m,  $\nu$  C-Br); 782 (s,  $\delta$  C-H arom.); 767 (s,  $r$  CH<sub>2</sub>)

<sup>27</sup>Eigensynthese siehe 6.6.1, Seite 197 f.

***N*-(3-Chlorbenzyl)-6-nitro-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 19c**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	352,78 g/mol
Elementaranteil	C 61,3 %
	H 3,7 %
	Cl 10,1 %
	N 15,9 %
	O 9,1 %

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **18** wurden in 3-Chlorbenzylamin<sup>28</sup> suspendiert nach AAV 5 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 165 °C.

**Ausbeute:** *m* = 186 mg gelbe Kristalle (*n* = 0,53 mmol, 52 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,32 (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 353,3 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 351,4 Da [M-H]<sup>-</sup>

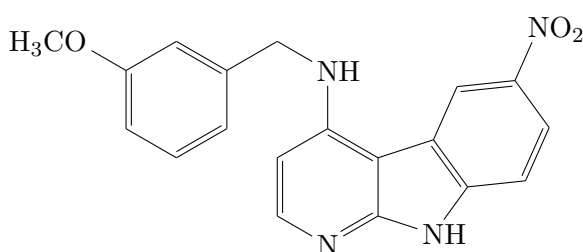
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6): δ (ppm) = 4,67 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,34 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 7,28 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, 1 H, H-6'); 7,35 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz 1 H, H-5'); 7,39 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,7 Hz, 1 H, H-4'); 7,48 (s, 1 H, H-2'); 7,55 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,9 Hz, 1 H, H-8); 7,67 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 1 H, NH); 8,01 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,26 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-7); 9,41 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 12,29 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:** *ϑ* = 347 °C (Modifikationsänderung bei *ϑ* = 315 °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3431 (w,  $\nu$  N-H); 2957 (vs,  $\nu$  C-H aliph.); 1597 (s,  $\delta$  N-H); 1578 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1510 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1492 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1470 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1457 (s,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1381 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1324 (m,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1111 (s,  $\nu$  C-Cl); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.)

<sup>28</sup> Acros Organics



***N*-(3-Methoxybenzyl)-6-nitro-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 19d****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	348,36 g/mol
Elementaranteil	C 65,5 %
	H 4,6 %
	N 16,1 %
	O 13,8 %

**Darstellung:** 250 mg (1,01 mmol, 1,0 eq.) **18** wurden in 3-Methoxybenzylamin<sup>29</sup> suspendiert nach AAV 5 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h bei 145 °C.

**Ausbeute:**  $m = 149$  mg sonnengelbe Kristalle ( $n = 0,43$  mmol, 42 %)

**DC:**  $R_f = 0,29$  (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 349,3$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 347,4$  Da [M-H]<sup>-</sup>

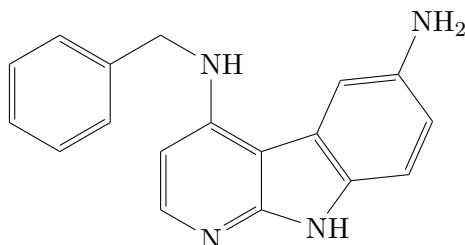
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,62 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,34 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 6,79 (ddd, <sup>3</sup> $J = 8,1$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,5$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,1$  Hz, 1 H, H-6'); 6,94 bis 7,02 (m, 2 H, H-2' und H-4'); 7,22 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,1$  Hz, <sup>3</sup> $J = 8,1$  Hz 1 H, H-5'); 7,53 (d, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, 1 H, H-8); 7,64 (t, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 1 H, NH); 8,00 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,26 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-7); 9,41 (d, <sup>4</sup> $J = 2,2$  Hz, 1 H, H-5); 12,25 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 329$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 283$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3433 (s,  $\nu$  N-H); 3086 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2973 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2885 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1600 (vs,  $\delta$  N-H); 1585 (vs,  $\nu$  C=N Pyridin); 1508 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1487 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1475 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1456 (s,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1312 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1280 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1269 (vs,  $\nu_{as}$  C-O); 1038 (s,  $\nu_{sy}$  C-O); 786 (m,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 63,7 (C); 4,8 (H); 15,4 (N)

<sup>29</sup>Sigma-Aldrich

6.3.3 Synthese der 6-Amino- $\alpha$ -carboline***N*<sup>4</sup>-Benzyl-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4,6-diamin 20a**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub>
molare Masse	288,35 g/mol

**Darstellung:** 100 mg (0,31 mmol, 1,0 eq.) **19a** wurden mit 425 mg (1,88 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat nach AAV 6 (6.1, Seite 115) umgesetzt.

**Ausbeute:**  $m = 46$  mg beige Kristalle ( $n = 0,16$  mmol, 51 %)

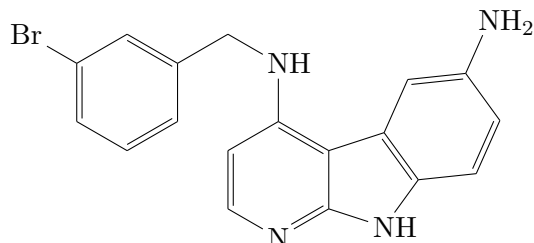
**DC:**  $R_f = 0,20$  (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 289,25$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 4,46 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 4,59 (d, <sup>3</sup> $J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,13 (d, <sup>3</sup> $J = 5,7$  Hz, 1 H, H-3); 6,71 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,0$  Hz, 1 H, H-7); 6,75 (t, <sup>3</sup> $J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 7,11 (d, <sup>3</sup> $J = 8,9$  Hz, 1 H, H-8); 7,20 (t, <sup>3</sup> $J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,30 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,5$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,3$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,39 (d, <sup>3</sup> $J = 7,5$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,53 (d, <sup>4</sup> $J = 2,0$  Hz, 1 H, H-5); 7,80 (d, <sup>3</sup> $J = 5,7$  Hz, 1 H, H-2); 10,90 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 263$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 260$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3451 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3370 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3107 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3029 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 3029 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1593 (s,  $\delta$  N-H); 1515 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1494 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1473 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1451 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1321 (s,  $\nu$  N-H); 791 (s,  $\delta$  C-H arom.)

***N*<sup>4</sup>-(3-Brombenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4,6-diamin 20b****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>4</sub>
molare Masse	367,25 g/mol

**Darstellung:** 100 mg (0,25 mmol, 1,0 eq.) **19b** wurden mit 341 mg (1,51 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat nach AAV 6 (6.1, Seite 115) umgesetzt.

**Ausbeute:**  $m = 44$  mg weißlich gelbe Kristalle ( $n = 0,12$  mmol, 48 %)

**DC:**  $R_f = 0,19$  (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

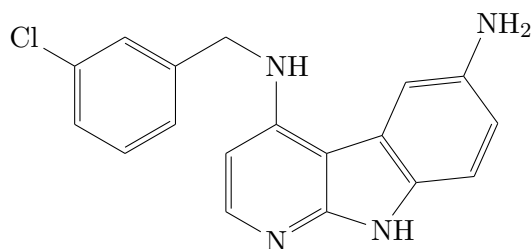
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 367,9$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 365,9$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,60 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,8 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,70 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,13 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-3); 6,73 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,0 Hz, 1 H, H-7); 6,89 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,8 Hz, 1 H, NH); 7,13 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-8); 7,27 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, 1 H, H-5'); 7,41 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz 2 H, H-4' und H-6'); 7,55 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,0 Hz, 1 H, H-5); 7,58 (dd, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, 1 H, H-2'); 7,83 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-2); 10,99 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 220$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3384 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3314 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3135 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3053 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2924 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1593 (vs,  $\delta$  N-H); 1569 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1516 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1499 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1471 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1440 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1428 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1321 (s,  $\nu$  N-H); 849 (m,  $\nu$  C-Br); 796 (m,  $\delta$  C-H arom.);

***N*<sup>4</sup>-(3-Chlorbenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4,6-diamin 20c**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>4</sub>
molare Masse	322,80 g/mol
Elementaranteil	C 67,0 %
	H 4,7 %
	Cl 11,0 %
	N 17,4 %

**Darstellung:** 100 mg (0,28 mmol, 1,0 eq.) **19c** wurden mit 384 mg (1,70 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat nach AAV 6 (6.1, Seite 115) umgesetzt.

**Ausbeute:**  $m = 37$  mg beige Kristalle ( $n = 0,11$  mmol, 40 %)

**DC:**  $R_f = 0,18$  (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

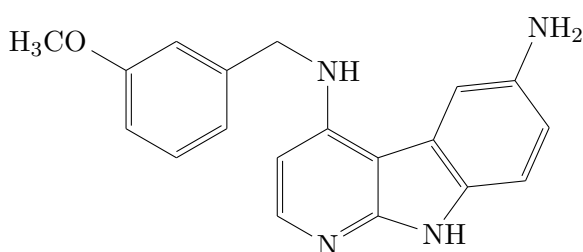
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 323,3$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,47 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 4,60 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,11 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-3); 6,72 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,0 Hz, 1 H, H-7); 6,84 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 1 H, NH); 7,11 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, 1 H, H-8); 7,27 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-6'); 7,34 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz 1 H, H-5'); 7,37 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-4'); 7,44 (dd, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-2'); 7,54 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,0 Hz, 1 H, H-5); 7,82 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-2); 10,94 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 251$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 228$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3390 (s,  $\nu$  N–H prim.); 3318 (m,  $\nu$  N–H prim.); 3136 (m,  $\nu$  C–H arom.); 3054 (s,  $\nu$  C–H aliph.); 2925 (s,  $\nu$  C–H aliph.); 1594 (vs,  $\delta$  N–H); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1516 (m,  $\nu$  C–C arom.); 1499 (m,  $\nu$  C–C arom.); 1471 (s,  $\delta$  C–H aliph.); 1442 (m,  $\nu$  C–C arom.); 1431 (m,  $\nu$  C–C arom.); 1321 (s,  $\nu$  N–H); 1008 (m,  $\nu$  C–Cl); 796 (m,  $\delta$  C–H arom.)

**EA:**  $\omega$  (%) = 63,2 (C); 4,6 (H); 11,3 (Cl); 15,9 (N)

***N*<sup>4</sup>-(3-Methoxybenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4,6-diamin 20d****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O
molare Masse	318,38 g/mol
Elementaranteil	C 71,7 %
	H 5,7 %
	N 17,6 %
	O 5,0 %

**Darstellung:** 100 mg (0,29 mmol, 1,0 eq.) **19d** wurden mit 389 mg (1,72 mmol, 6,0 eq.) Zinn(II)-chlorid-dihydrat nach AAV 6 (6.1, Seite 115) umgesetzt.

**Ausbeute:** *m* = 65 mg beige Kristalle (*n* = 0,20 mmol, 71 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,19 (Essigester/Ammoniak 99:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 319,3 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,56 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,60 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,14 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-3); 6,72 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 2,0 Hz, 1 H, H-7); 6,76 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 1 H, NH); 6,78 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,1 Hz, 1 H, H-6'); 6,93 bis 7,03 (m, 2 H, H-2' und H-4'); 7,11 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-8); 7,22 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,1 Hz, <sup>3</sup>*J* = 8,1 Hz 1 H, H-5'); 7,53 (d, <sup>4</sup>*J* = 2,0 Hz, 1 H, H-5); 7,81 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-2); 10,94 (s, 1 H, H-9)

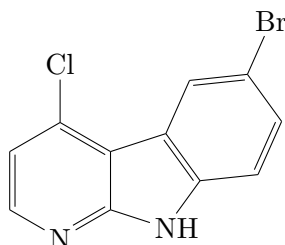
**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 210 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3379 (s,  $\nu$  N-H prim.); 3317 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3136 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3039 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2919 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1592 (vs,  $\delta$  N-H); 1513 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1502 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1473 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1453 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1437 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1321 (s,  $\nu$  N-H); 1279 (s,  $\nu_{as}$  C-O); 1047 (m,  $\nu_{sy}$  C-O); 805 (m,  $\delta$  C-H arom.)

**EA:**  $\omega$  (%) = 68,4 (C); 5,6 (H); 16,8 (N)

6.3.4 Synthese der 6-Brom- $\alpha$ -carboline

## 6-Brom-4-chlor-9H-pyrido[2,3-b]indol 21



## Eigenschaften

Summenformel	$C_{11}H_6BrClN_2$
molare Masse	281,54 g/mol
CAS-Nummer	1175675-60-1
Schmelzbereich	200 °C bis 208 °C [43]

**Darstellung:** 1,0 g (5 mmol, 1,0 eq.) **17** wurden in 50 ml Eisessig gelöst. Unter Rühren wurden 0,3 ml (0,94 g, 5,9 mmol, 1,2 eq.) elementares Brom eingetropft, woraufhin ein gelblicher Feststoff ausfiel. Nach Rühren für 24 h bei Raumtemperatur war die Reaktion beendet. Zur Aufarbeitung wurde wässrige Natriumhydrogensulfidlösung (37% (*m/m*)) eingetropft, der Ansatz auf dem Eisbad gekühlt und mit konzentrierter Ammoniaklösung auf pH=10 eingestellt. Es wurde je drei mal mit 50 ml Chloroform und 50 ml Essigester extrahiert.

**Ausbeute:**  $m = 1,3$  g gelblich weiße, nadelförmige Kristalle ( $n = 5$  mmol, *quantitativ*)

**DC:**  $R_f = 0,14$  (Cyclohexan/Essigester 75:25 (*V/V*))

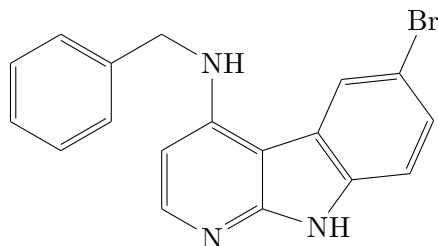
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 283,1$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 281,3$  Da  $[M-H]^-$

**$^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) = 7,36 (d,  $^3J = 5,2$  Hz, 1 H, H-3); 7,53 (d,  $^3J = 8,7$  Hz, 1 H, H-8); 7,67 (dd,  $^3J = 8,7$  Hz,  $^4J = 2,1$  Hz, 1 H, H-7); 8,41 (d,  $^3J = 5,2$  Hz, 1 H, H-2); 8,42 (d,  $^4J = 2,1$  Hz, 1 H, H-5); 12,37 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 265$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3122 (s,  $\nu$  N-H); 2953 (m,  $\nu$  C-H); 1605 (s,  $\nu$  C-C); 1570 (vs,  $\nu$  C=N Pyridin); 1492 (m,  $\nu$  C-C); 1277 (s,  $\nu$  N-H); 1088 (m,  $\nu$  C-Cl); 864 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H)

**N-Benzyl-6-brom-9H-pyrido[2,3-b]indol-4-amin 22a**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> BrN <sub>3</sub>
molare Masse	352,24 g/mol
CAS-Nummer	1262849-95-5
Schmelzbereich	295 °C bis 303 °C [43]

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden suspendiert in 2,9 g (27 mmol, 15 eq.) frisch destilliertem Benzylamin<sup>30</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 145 °C.

**Ausbeute:**  $m = 435$  mg weißer, kristalliner Feststoff ( $n = 1,23$  mmol,  $\eta = 69$  %)

**DC:**  $R_f = 0,24$  (Cyclohexan/Essigester 20:80 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,65$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 352,4$  Da [M+H]<sup>+</sup>

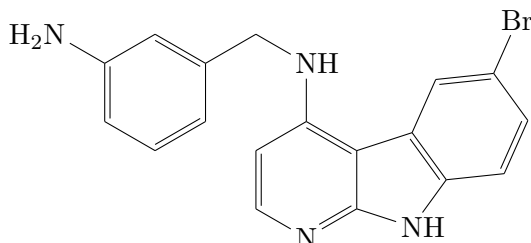
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 350,5$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,62 (d,  $^3J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,24 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,20 (t,  $^3J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,27 (t,  $^3J = 6,1$  Hz, 1 H, NH); 7,30 (dd,  $^3J = 7,4$  Hz,  $^3J = 7,4$  Hz 2 H, H-3' und H-5'); 7,35 (d,  $^3J = 8,5$  Hz, 1 H, H-8); 7,40 (d,  $^3J = 7,4$  Hz, 1 H, H-2' und H-6'); 7,44 (dd,  $^3J = 8,5$  Hz,  $^4J = 1,9$  Hz, 1 H, H-7); 7,91 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,66 (d,  $^4J = 1,9$  Hz, 1 H, H-5); 11,60 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 295$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 259$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3455 (m,  $\nu$  N-H); 3101 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3028 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2924 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1595 (vs,  $\delta$  N-H); 1580 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1511 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1466 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1449 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1430 (m,  $\nu$  C-C arom.); 873 (m,  $\nu$  C-Br); 791 (s,  $\delta$  C-H arom.); 772 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

<sup>30</sup>Fluka

***N*-(3-Aminobenzyl)-6-brom-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22b****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>4</sub>
molare Masse	367,25 g/mol

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** und 612 mg (5,01 mmol, 2,8 eq.) 3-Aminobenzylamin<sup>31</sup> wurden in 5 ml wasserfreiem NMP<sup>32</sup> gelöst und unter Reflux und Rühren für 48 h auf 140 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz mit 50 ml Essigester versetzt und 25 ml Wasser zugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch drei mal mit je 25 ml Essigester extrahiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt, dabei wurden zunächst alle unpolaren Verunreinigungen mit Chloroform von der Säule gewaschen, dann wurde dem Elutionsmittel Isopropanol zugesetzt (95:5 (V/V)). Die relevanten Fraktionen wurden vereinigt und eingengt, mit Ether gewaschen, der Rückstand in THF aufgenommen, filtriert und das Filtrat bis zur Trockne eingengt.

**Ausbeute:**  $m = 69$  mg weißer Feststoff ( $n = 0,19$  mmol,  $\eta = 11$  %)

**DC:**  $R_f = 0,21$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 367,2$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,47 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 5,12 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,22 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 6,39 (d,  $^3J = 8,0$  Hz, 1 H, H-4'); 6,53 (d,  $^3J = 7,5$  Hz, 1 H, H-6'); 6,56 (s, 1 H, H-2'); 6,94 (dd,  $^3J = 8,0$  Hz,  $^3J = 7,5$  Hz, 1 H, H-5'); 7,24 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1 H, NH); 7,35 (d,  $^3J = 8,6$  Hz, 1 H, H-8); 7,44 (dd,  $^3J = 8,6$  Hz,  $^4J = 1,9$  Hz, 1 H, H-7); 7,91 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,66 (d,  $^4J = 1,9$  Hz, 1 H, H-5); 11,62 (s, 1 H, H-9)

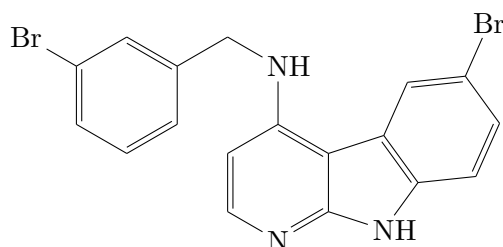
**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 246$  °C bis 252 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3453 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3371 (m,  $\nu$  N-H prim.); 3028 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2922 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2836 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1595 (vs,  $\delta$  N-H sek.); 1512 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1489 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1458 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1440 (s,  $\nu$  N-H prim.); 874 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

<sup>31</sup>Sigam-Aldrich

<sup>32</sup>Fluka



**6-Brom-*N*-(3-brombenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22c****Eigenschaften**

Summenformel	$C_{18}H_{13}Br_2N_3$
molare Masse	431,13 g/mol
Elementaranteil	C 50,2 %
	H 3,0 %
	Br 37,1 %
	N 9,8 %

**Darstellung:** 280 mg (0,99 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 3-Brombenzylamin<sup>33</sup> **51** nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 155 °C.

**Ausbeute:**  $m = 158$  mg weißer Feststoff ( $n = 0,37$  mmol,  $\eta = 37\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,41$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 432,0$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 430,1$  Da  $[M-H]^-$

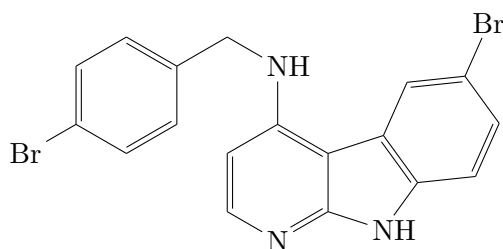
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,62 (d,  $^3J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,24 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,23 bis 7,31 (m, 2 H, NH und H-5'); 7,41 (d,  $^3J = 7,9$  Hz, 2 H, H-4' und H-6'); 7,54 (d,  $^3J = 8,7$  Hz, 1 H, H-8); 7,60 (s, 1 H, H-2'); 7,67 (dd,  $^3J = 8,7$  Hz,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-7); 7,94 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,64 (d,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-5); 11,65 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 240$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3448 (m,  $\nu$  N-H); 3121 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2950 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2830 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1593 (vs,  $\delta$  N-H); 1568 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1512 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1491 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1465 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1445 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1430 (s,  $\nu$  C-C arom.); 869 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 772 (m,  $\nu$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 48,5 (C); 2,9 (H); 40,6 (Br); 9,1 (N)

<sup>33</sup>Eigensynthese siehe 6.6.1, Seite 197 f.

**6-Brom-*N*-(4-brombenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22d**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>3</sub>
molare Masse	431,13 g/mol
Elementaranteil	C 50,2 %
	H 3,0 %
	Br 37,1 %
	N 9,8 %

**Darstellung:** 166 mg (0,59 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 4-Brombenzylamin<sup>34</sup> **52** nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 155 °C.

**Ausbeute:** *m* = 100 mg leicht bräunlicher Feststoff (*n* = 0,23 mmol,  $\eta$  = 39 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,34 (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 432,1 Da [M+H]<sup>+</sup>

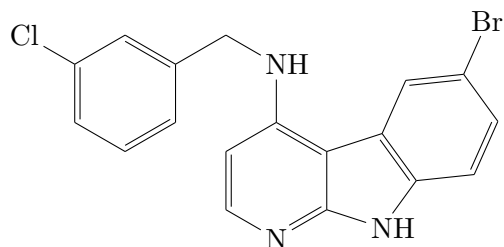
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,60 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,0 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,22 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 7,30 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,0 Hz, 1 H, NH); 7,34 bis 7,40 (m, 3 H, H-2', H-6' und H-8); 7,46 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,7 Hz, 1 H, H-7); 7,51 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,4 Hz, 1 H, H-3' und H-5'); 7,93 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,65 (d, <sup>4</sup>*J* = 1,7 Hz, 1 H, H-5); 11,64 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 287 °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta$  = 258 °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3459 (m,  $\nu$  N-H sek., arom.); 3459 (m,  $\nu$  N-H); 3027 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2918 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2835 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1595 (vs,  $\delta$  N-H); 1574 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1513 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1485 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1466 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1448 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 874 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 52,5 (C); 4,1 (H); 38,9 (Br); 7,7 (N)

<sup>34</sup>Eigensynthese siehe 6.6.2, Seite 199 f.

**6-Brom-*N*-(3-chlorbenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22e****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> BrClN <sub>3</sub>
molare Masse	386,68 g/mol
Elementaranteil	C 55,9 %
	H 3,4 %
	Br 20,7 %
	Cl 9,2 %
	N 10,9 %

**Darstellung:** 300 mg (1,07 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 3-Chlorbenzylamin<sup>35</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 27 h bei 145 °C.

**Ausbeute:**  $m = 56$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,14$  mmol,  $\eta = 13$  %)

**DC:**  $R_f = 0,34$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,23$  (Cyclohexan/Essigester 20:80 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 388,1$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 386,2$  Da [M-H]<sup>-</sup>

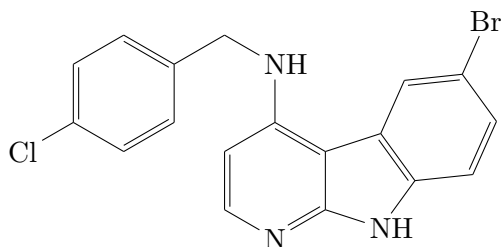
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,62 (d,  $^3J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,24 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,23 bis 7,49 (m, 7 H, NH H-2', H-4', H-5', H-6', H-7 und H-8); 7,93 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,64 (d,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-5); 11,63 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 252$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3456 (m,  $\nu$  N-H); 3100 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2915 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2833 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1592 (vs,  $\delta$  N-H); 1572 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1511 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1465 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1433 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1135 (m,  $\nu$  C-Cl); 874 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 767 (s,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 55,3 (C); 3,4 (H); 19,5 (Br); 8,6 (Cl); 10,3 (N)

<sup>35</sup>Acros Organics

**6-Brom-*N*-(4-chlorbenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22f****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> BrClN <sub>3</sub>
molare Masse	386,68 g/mol
Elementaranteil	C 55,9 %
	H 3,4 %
	Br 20,7 %
	Cl 9,2 %
	N 10,9 %

**Darstellung:** 250 mg (0,89 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 4-Chlorbenzylamin<sup>36</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 150 °C.

**Ausbeute:** *m* = 236 mg gelblich weiße Kristalle (*n* = 0,61 mmol,  $\eta$  = 67 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,41 (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 388,1 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 386,3 Da [M-H]<sup>-</sup>

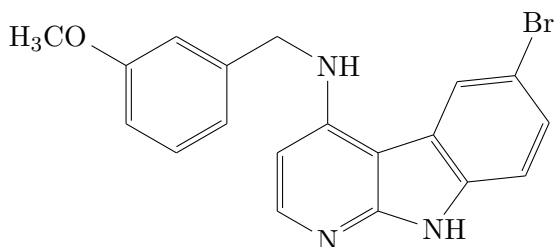
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 4,61 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,22 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 7,27 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 1 H, NH); 7,35 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-8); 7,36 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,1 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,42 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,1 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,45 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-7); 7,92 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,64 (d, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-5); 11,62 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 264 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3444 (m,  $\nu$  N-H); 3095 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2918 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2833 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1595 (vs,  $\delta$  N-H); 1576 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1512 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1488 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1465 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1445 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1089 (m,  $\nu$  C-Cl); 874 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 56,2 (C); 3,9 (H); 18,9 (Br); 8,4 (Cl); 10,0 (N)

<sup>36</sup> Acros Organics

**6-Brom-*N*-(3-methoxybenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22g**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>3</sub> O
molare Masse	382,26 g/mol
Elementaranteil	C 59,7 %
	H 4,2 %
	Br 20,9 %
	N 11,0 %
	O 4,2 %

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 3-Methoxybenzylamin<sup>37</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 135 °C.

**Ausbeute:**  $m = 501$  mg weißer, kristalliner Feststoff ( $n = 1,31$  mmol,  $\eta = 74$  %)

**DC:**  $R_f = 0,48$  (Chloroform/Methanol 95:5 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 382,6$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 380,5$  Da [M-H]<sup>-</sup>

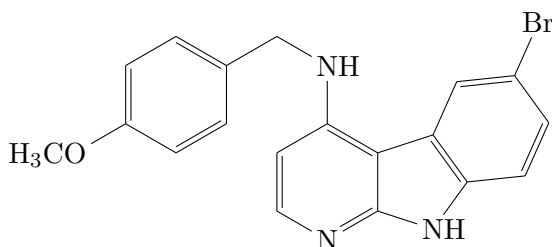
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*6):  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 2 H, CH<sub>3</sub>); 4,59 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,24 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 6,78 (d, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, 1 H, H-6'); 6,93 bis 7,04 (m, H-2' und H-4'); 7,22 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, 1 H, H-5'); 7,25 (t, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 1 H, NH); 7,35 (d, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, 1 H, H-8); 7,45 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,8$  Hz, 1 H, H-7); 7,92 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,65 (d, <sup>4</sup> $J = 1,8$  Hz, 1 H, H-5); 11,61 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 246$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3457 (s,  $\nu$  N-H); 3004 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2918 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2834 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1593 (vs,  $\delta$  N-H); 1513 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1489 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1462 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1252 (s,  $\nu_{as}$  C-O); 1033 (m,  $\nu_{sy}$  C-O); 873 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (m,  $\delta$  C-H arom.); 777 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 58,6 (C); 4,2 (H); 20,1 (Br); 10,6 (N)

<sup>37</sup>Sigma-Aldrich

**6-Brom-*N*-(4-methoxybenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22h****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>3</sub> O
molare Masse	382,26 g/mol
Elementaranteil	C 59,7 %
	H 4,2 %
	Br 20,9 %
	N 11,0 %
	O 4,2 %

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 4-Methoxybenzylamin<sup>38</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 140 °C.

**Ausbeute:** *m* = 267 mg gelblich weiße Kristalle (*n* = 0,70 mmol,  $\eta$  = 38 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,43 (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 382,1 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 380,2 Da [M-H]<sup>-</sup>

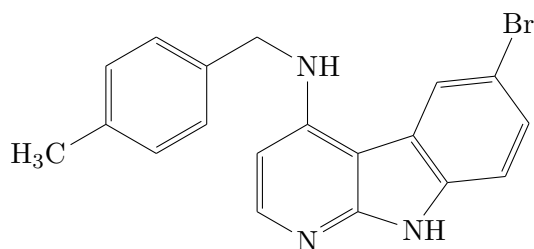
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 5,54 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,25 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,86 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,22 (t, <sup>3</sup>*J* = 6,2 Hz, 1 H, NH); 7,32 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,34 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-8); 7,43 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-7); 7,91 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,64 (d, <sup>4</sup>*J* = 1,8 Hz, 1 H, H-5); 11,58 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 248 °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3428 (m,  $\nu$  N-H); 3086 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2998 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2932 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1594 (vs,  $\delta$  N-H); 1562 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1510 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1461 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1451 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1281 (s,  $\nu_{as}$  C-O); 1025 (m,  $\nu_{sy}$  C-O); 879 (s,  $\nu$  C-Br); 801 (m,  $\delta$  C-H arom.); 791 (m, *r* CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 58,5 (C); 4,2 (H); 16,7 (Br); 10,5 (N)

<sup>38</sup> Acros Organics

**6-Brom-*N*-(4-methylbenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22i****Eigenschaften**

Summenformel	$C_{19}H_{16}BrN_3$
molare Masse	366,26 g/mol
Elementaranteil	C 62,3 %
	H 4,4 %
	Br 21,8 %
	N 11,5 %

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 4-Methylbenzylamin<sup>39</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 145 °C.

**Ausbeute:**  $m = 155$  mg gelber kristalliner Feststoff ( $n = 0,42$  mmol,  $\eta = 24$  %)

**DC:**  $R_f = 0,51$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 368,1$  Da  $[M+H]^+$

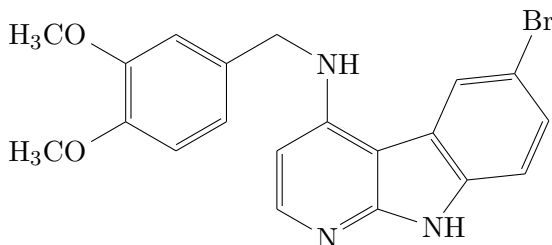
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 2,24 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,56 (d, <sup>3</sup>*J* = 6,1 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,22 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 7,10 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, 1 H, H-3' und H-5'); 7,17 bis 7,27 (m, 1 H, NH); 7,28 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,34 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-8); 7,44 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, 1 H, H-7); 7,90 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,64 (d, <sup>4</sup>*J* = 1,9 Hz, 1 H, H-5); 11,60 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 281$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 251$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3462 (w,  $\nu$  N-H); 3098 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3023 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2916 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 1595 (vs,  $\delta$  N-H); 1512 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1465 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1445 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1422 (m,  $\nu$  C-C arom.); 875 (s,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m, *r* CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 60,9 (C); 4,8 (H); 18,9 (Br); 9,8 (N)

<sup>39</sup>Acros Organics

**6-Brom-*N*-(3,4-dimethoxybenzyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22j****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	412,29 g/mol
Elementaranteil	C 58,3 %
	H 4,4 %
	Br 19,4 %
	N 10,2 %
	O 7,8 %

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 3,4-Dimethoxybenzylamin<sup>40</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 145 °C.

**Ausbeute:**  $m = 169$  mg gelblicher, kristalliner Feststoff ( $n = 0,41$  mmol,  $\eta = 23$  %)

**DC:**  $R_f = 0,39$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 414,4$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 3,68 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 3,70 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,53 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,27 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 6,86 (d, <sup>3</sup> $J = 8,2$  Hz, 1 H, H-5'); 6,90 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,2$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,8$  Hz, 1 H, H-6'); 7,04 (d, <sup>4</sup> $J = 1,8$  Hz, 1 H, H-2'); 7,20 (t, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 1 H, NH); 7,34 (d, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, 1 H, H-8); 7,44 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,9$  Hz, 1 H, H-7); 7,92 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,64 (d, <sup>4</sup> $J = 1,9$  Hz, 1 H, H-5); 11,59 (s, 1 H, H-9)

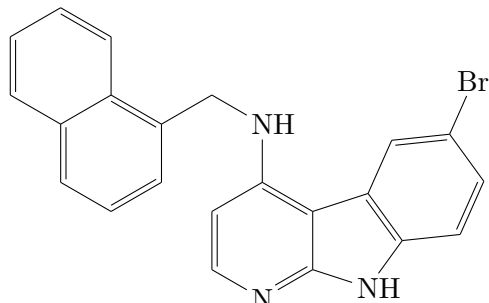
**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 263$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3397 (m,  $\nu$  N-H); 2993 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2927 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2902 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1589 (vs,  $\delta$  N-H); 1559 (m,  $\nu$  C=N Pyridin); 1515 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1488 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1459 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1446 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1266 (vs,  $\nu_{as}$  C-O); 1026 (s,  $\nu_{sy}$  C-O); 859 (m,  $\nu$  C-Br); 896 (m,  $\delta$  C-H arom.); 781 (s,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 58,1 (C); 4,5 (H); 17,6 (Br); 9,5 (N)

<sup>40</sup>Sigma-Aldrich



**6-Brom-*N*-(naphthalen-1-ylmethyl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 22k****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>3</sub>
molare Masse	402,29 g/mol
Elementaranteil	C 65,7 %
	H 4,0 %
	Br 19,9 %
	N 10,5 %

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit 1-Aminomethylnaphthalin<sup>41</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 140 °C.

**Ausbeute:**  $m = 205$  mg beiger Feststoff ( $n = 0,51$  mmol,  $\eta = 29$  %)

**DC:**  $R_f = 0,47$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 404,9$  Da  $[M+H]^+$

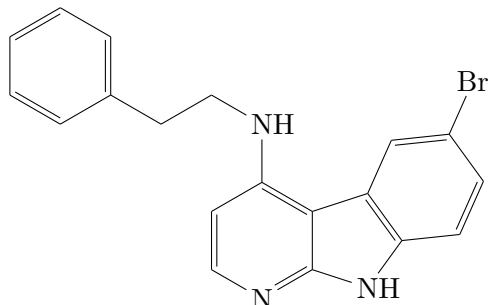
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 5,11 (d,  $^3J = 6,0$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,20 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 7,32 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1 H, NH); 7,35 bis 7,64 (m, 7 H, 7x H im Naphthylring); 7,80 (d,  $^3J = 8,0$  Hz, 1 H, H-8); 7,89 (d,  $^3J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 7,96 (dd,  $^3J = 8,0$  Hz,  $^4J = 1,5$  Hz, 1 H, H-7); 8,96 (d,  $^4J = 1,5$  Hz, 1 H, H-5); 11,64 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 303$  °C bis 305 °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 298$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3457 (m,  $\nu$  N-H); 3100 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3032 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2949 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1593 (vs,  $\delta$  N-H); 1558 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1509 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1491 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1467 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1442 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 874 (m,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 762 (s,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 64,4 (C); 4,5 (H); 17,9 (Br); 9,1 (N)

<sup>41</sup>Sigma-Aldrich

**6-Brom-*N*-phenethyl-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin 21**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>3</sub>
molare Masse	366,26 g/mol
Elementaranteil	C 62,3 %
	H 4,4 %
	Br 21,8 %
	N 11,5 %

**Darstellung:** 500 mg (1,78 mmol, 1,0 eq.) **21** wurden mit Phenethylamin<sup>42</sup> nach AAV 7 (6.1, Seite 115) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 h bei 145 °C.

**Ausbeute:**  $m = 308$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,84$  mmol,  $\eta = 47\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,35$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 368,7$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 366,6$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*6):**  $\delta$  (ppm) = 2,92 bis 3,03 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>); 3,52 bis 3,63 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,48 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 6,62 (t, <sup>3</sup> $J = 6,0$  Hz, 1 H, NH); 7,09 bis 7,27 (m, 1 H, H-4'); 7,25 bis 7,37 (m, 5 H, H-1', H-2', H-5', H-6' und H-8); 7,42 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,9$  Hz, 1 H, H-7); 8,04 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,45 (d, <sup>4</sup> $J = 1,9$  Hz, 1 H, H-5); 11,58 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 258$  °C

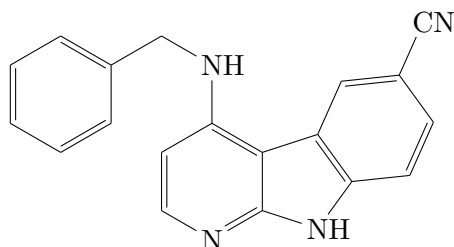
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3423 (s,  $\nu$  N-H); 3102 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3024 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2943 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2924 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1590 (vs,  $\delta$  N-H); 1558 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1515 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1493 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1465 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1453 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1436 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 879 (m,  $\nu$  C-Br); 786 (s,  $\delta$  C-H arom.); 772 (s,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 61,2 (C); 4,3 (H); 19,4 (Br); 11,0 (N)

<sup>42</sup>Sigma-Aldrich

6.3.5 Synthese der 6-Cyano- $\alpha$ -carboline

## 4-(Benzylamino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril 23a



## Eigenschaften

Summenformel	$C_{19}H_{14}N_4$
molare Masse	298,35 g/mol
Schmelzpunkt	>320 °C [41]
Elementaranteil	C 76,5 %
	H 4,7 %
	N 18,8 %

**Darstellung:** 350 mg (0,99 mmol, 1,0 eq.) **22a** und 240 mg (2,68 mmol, 2,7 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 10 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 14 h.

**Ausbeute:**  $m = 245$  mg beiger Feststoff ( $n = 0,82$  mmol,  $\eta = 83$  %)

**DC:**  $R_f = 0,33$  (Essigester/Ammoniak 100:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 299,3$  Da  $[M+H]^+$

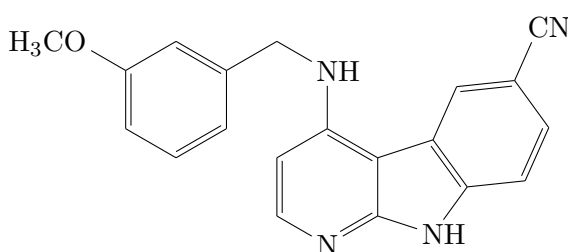
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 297,4$  Da  $[M-H]^-$

**$^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  (ppm) = 4,64 (d,  $^3J = 6,2$  Hz, 2 H,  $CH_2$ ); 6,33 (d,  $^3J = 5,7$  Hz, 1 H, H-3); 7,21 (t,  $^3J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,31 (dd,  $^3J = 7,5$  Hz,  $^3J = 7,3$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,40 (t,  $^3J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 7,41 (d,  $^3J = 7,5$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,53 (dd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^5J = 0,6$  Hz, 1 H, H-8); 7,70 (dd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^4J = 1,5$  Hz, 1 H, H-7); 7,98 (d,  $^3J = 5,7$  Hz, 1 H, H-2); 8,97 (dd,  $^4J = 1,5$  Hz,  $^5J = 0,6$  Hz, 1 H, H-5); 12,03 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 335$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 310$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3415 (s,  $\nu$  N-H); 3063 (w,  $\nu$  C-H arom.); 3022 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2999 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2924 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2850 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2219 (s,  $\nu$  C $\equiv$ N); 1596 (vs,  $\delta$  N-H); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1518 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1491 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1477 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1453 (m,  $\nu$  C-C arom.); 791 (m,  $\delta$  C-H arom.); 772 (w,  $r$   $CH_2$ )

**EA:**  $\omega$  (%) = 73,6 (C); 5,9 (H); 14,6 (N)

4-((3-Methoxybenzyl)amino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril **23c**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O
molare Masse	328,13 g/mol
Elementaranteil	C 73,2 %
	H 4,9 %
	N 17,1 %
	O 4,9 %

**Darstellung:** 450 mg (1,18 mmol, 1,0 eq.) **22g** und 285 mg (3,18 mmol, 2,7 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 15 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

**Ausbeute:**  $m = 331$  mg beiger Feststoff ( $n = 1,01$  mmol,  $\eta = 86$  %)

**DC:**  $R_f = 0,32$  (Essigester/Ammoniak 100:1 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 329,3$  Da  $[M+H]^+$

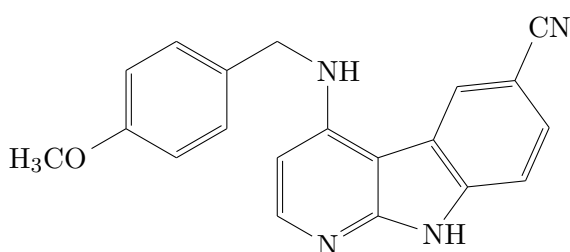
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 327,4$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,60 (d, <sup>3</sup>J = 6,2 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,33 (d, <sup>3</sup>J = 5,8 Hz, 1 H, H-3); 6,78 (ddd, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz, <sup>4</sup>J = 2,6 Hz, <sup>4</sup>J = 1,0 Hz 1 H, H-6'); 6,94 bis 7,01 (m, 2 H, H-2' und H-4'); 7,22 (dd, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz, 1 H, H-H-5'); 7,37 (t, <sup>3</sup>J = 6,2 Hz, 1 H, NH); 7,53 (d, <sup>3</sup>J = 8,4 Hz, 1 H, H-8); 7,70 (dd, <sup>3</sup>J = 8,4 Hz, <sup>4</sup>J = 1,5 Hz, 1 H, H-7); 7,98 (d, <sup>3</sup>J = 5,8 Hz, 1 H, H-2); 8,96 (d, <sup>4</sup>J = 1,5 Hz, 1 H, H-5); 12,03 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 303$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 264$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3414 (s,  $\nu$  N-H); 2999 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2931 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2833 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2219 (s,  $\nu$  C≡N); 1593 (vs,  $\delta$  N-H); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1517 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1463 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1259 (s,  $\nu_{as}$  C-O); 1039 (m,  $\nu_{sy}$  C-O); 786 (m,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 70,1 (C); 5,1 (H); 15,7 (N)

4-((4-Methoxybenzyl)amino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril **23d**

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O
molare Masse	328,13 g/mol
Elementaranteil	C 73,2 %
	H 4,9 %
	N 17,1 %
	O 4,9 %

**Darstellung:** 100 mg (0,26 mmol, 1,0 eq.) **22h** und 63 mg (0,70 mmol, 2,7 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 3 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 7 h.

**Ausbeute:**  $m = 70$  mg weißer Feststoff ( $n = 0,21$  mmol,  $\eta = 81$  %)

**DC:**  $R_f = 0,51$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 329,6$  Da  $[M+H]^+$

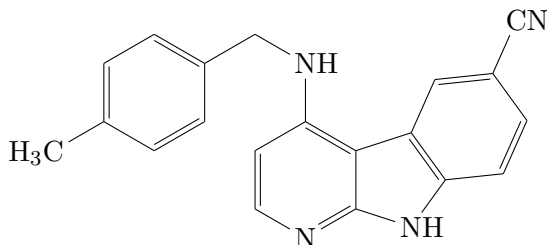
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 327,4$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,56 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,35 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 6,87 (d, <sup>3</sup> $J = 8,6$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,29 bis 7,39 (m, 3 H, H-3', H-5' und NH); 7,52 (d, <sup>3</sup> $J = 8,4$  Hz, 1 H, H-8); 7,70 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,4$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-7); 7,98 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,96 (d, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-5); 12,02 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 312$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3421 (s,  $\nu$  N-H); 2998 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2932 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2903 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2831 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2219 (s,  $\nu$  C≡N arom.); 1599 (vs,  $\delta$  N-H); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1510 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1478 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1443 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1419 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1248 (s,  $\nu_{as}$  C-O); 1036 (m,  $\nu_{sy}$  C-O); 786 (m,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 68,0 (C); 4,9 (H); 15,6 (N)

4-((4-Methylbenzyl)amino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril **23e**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub>
molare Masse	312,38 g/mol
Elementaranteil	C 76,9 %
	H 5,2 %
	N 17,9 %

**Darstellung:** 100 mg (0,27 mmol, 1,0 eq.) **22i** und 63 mg (0,70 mmol, 2,6 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 3 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 7 h.

**Ausbeute:**  $m = 65$  mg beiger Feststoff ( $n = 0,21$  mmol,  $\eta = 78$  %)

**DC:**  $R_f = 0,55$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 313,8$  Da [M+H]<sup>+</sup>

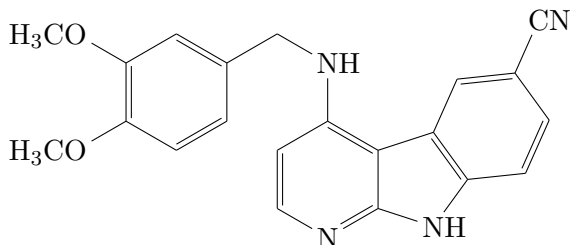
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 311,8$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 2,24 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,58 (d, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,31 (d, <sup>3</sup>J = 5,7 Hz, 1 H, H-3); 7,11 (d, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,29 (d, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,36 (t, <sup>3</sup>J = 6,5 Hz, 1 H, NH); 7,52 (d, <sup>3</sup>J = 8,4 Hz, 1 H, H-8); 7,69 (dd, <sup>3</sup>J = 8,4 Hz, <sup>4</sup>J = 1,5 Hz, 1 H, H-7); 7,97 (d, <sup>3</sup>J = 5,7 Hz, 1 H, H-2); 8,96 (d, <sup>4</sup>J = 1,5 Hz, 1 H, H-5); 12,02 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 316$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 252$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3416 (s,  $\nu$  N-H sek., arom.); 3000 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2920 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2850 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2220 (s,  $\nu$  C≡N arom.); 1596 (vs,  $\nu$  N-H sek., arom.); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1514 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1478 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1447 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 786 (m,  $\delta$  C-H arom.); 767 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 71,2 (C); 5,5 (H); 14,2 (N)

4-((3,4-Dimethoxybenzyl)amino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril **23f**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	358,40 g/mol

**Darstellung:** 100 mg (0,24 mmol, 1,0 eq.) **22j** und 59 mg (0,66 mmol, 2,8 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 3 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 7 h.

**Ausbeute:**  $m = 65$  mg weißer Feststoff ( $n = 0,18$  mmol,  $\eta = 75$  %)

**DC:**  $R_f = 0,19$  (Chloroform/Methanol 90:10 (V/V))

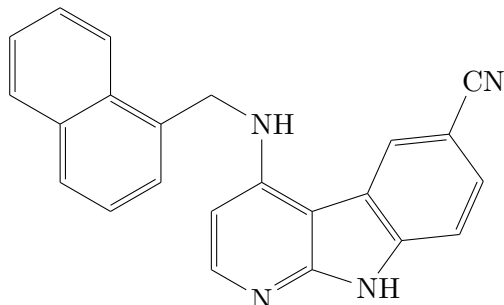
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 359,2$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 357,4$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 3,69 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 3,71 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,55 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,37 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-3); 6,87 (d, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, 1 H, H-6'); 6,92 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,7$  Hz, 1 H, H-5'); 7,06 (d, <sup>4</sup> $J = 1,7$  Hz, 1 H, H-2'); 7,33 (t, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 1 H, NH); 7,52 (d, <sup>3</sup> $J = 8,4$  Hz, 1 H, H-8); 7,70 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,4$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-7); 7,99 (d, <sup>3</sup> $J = 5,8$  Hz, 1 H, H-2); 8,96 (d, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-5); 12,01 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 296$  °C

## 4-((Naphthalen-1-ylmethyl)amino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril 23g



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>23</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub>
molare Masse	348,14 g/mol
Elementaranteil	C 79,3 %
	H 4,6 %
	N 16,1 %

**Darstellung:** 100 mg (0,25 mmol, 1,0 eq.) **22k** und 60 mg (0,67 mmol, 2,7 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 3 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 7 h.

**Ausbeute:**  $m = 39$  mg beiger Feststoff ( $n = 0,82$  mmol,  $\eta = 44$  %)

**DC:**  $R_f = 0,41$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 349,1$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 347,4$  Da  $[M-H]^-$

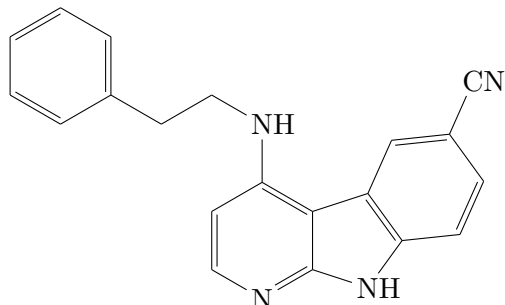
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm) = 5,12 (d,  $^3J = 6,4$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,29 (d,  $^3J = 5,6$  Hz, 1 H, H-3); 7,29 bis 7,85 (m, 9 H, NH, 7x H im Naphthylring, H-2); 7,96 (d,  $^3J = 8,0$  Hz, 1 H, H-8); 8,32 (dd,  $^3J = 8,0$  Hz,  $^4J = 1,7$  Hz, 1 H, H-7); 9,01 (d,  $^4J = 1,7$  Hz, 1 H, H-5); 12,06 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 327$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 312$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3417 (s,  $\nu$  N-H); 3043 (m,  $\nu$  C-H arom.); 3002 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2939 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2838 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2221 (s,  $\nu$  C≡N); 1594 (vs,  $\delta$  N-H); 1573 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1517 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1492 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1477 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1443 (m,  $\nu$  C-C arom.); 767 (s,  $\delta$  C-H arom.); 733 (w,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 73,7 (C); 4,6 (H); 14,3 (N)



4-(Phenethylamino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonitril **23h**

## Eigenschaften

Summenformel	$C_{20}H_{16}N_4$
molare Masse	312,38 g/mol
Elementaranteil	C 76,9 %
	H 5,2 %
	N 17,9 %

**Darstellung:** 100 mg (0,27 mmol, 1,0 eq.) **221** und 65 mg (0,73 mmol, 2,7 eq.) Kupfer(I)-cyanid wurden in 3 ml NMP gelöst und nach AAV 8 (6.1, Seite 115) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 14 h.

**Ausbeute:**  $m = 62$  mg beiger Feststoff ( $n = 0,20$  mmol,  $\eta = 74$  %)

**DC:**  $R_f = 0,37$  (Chloroform/Isopropanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 313,7$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 311,6$  Da  $[M-H]^-$

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, **DMSO- $d_6$** ):  $\delta$  (ppm) = 2,93 bis 3,02 (m, 2 H,  $CH_2$ ); 3,65 bis 3,54 (m, 2 H,  $CH_2$ ); 6,56 (d,  $^3J = 5,1$  Hz, 1 H, H-3); 6,75 (t,  $^3J = 6,0$  Hz, 1 H, NH); 7,26 bis 7,39 (m, 5 H, 7x H im Naphthyling); 7,51 (d,  $^3J = 8,4$  Hz, 1 H, H-8); 7,67 (dd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^4J = 1,4$  Hz, 1 H, H-7); 8,09 (d,  $^3J = 5,1$  Hz, 1 H, H-2); 8,78 (d,  $^4J = 1,4$  Hz, 1 H, H-5); 12,01 (s, 1 H, H-9)

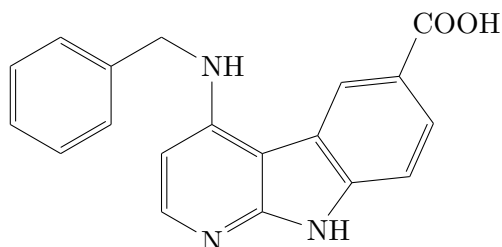
**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 294$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 242$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3404 (s,  $\nu$  N-H); 3081 (w,  $\nu$  C-H arom.); 3020 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2943 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2837 (m,  $\nu$  C-H aliph.); 2220 (s,  $\nu$  C $\equiv$ N); 1593 (vs,  $\delta$  N-H); 1571 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1519 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1494 (s,  $\delta_{as}$  C-H aliph.); 1477 (s,  $\delta_{sy}$  C-H aliph.); 1459 (m,  $\nu$  C-C arom.); 806 (m,  $\delta$  C-H arom.); 786 (m,  $r$   $CH_2$ )

**EA:**  $\omega$  (%) = 75,2 (C); 5,1 (H); 17,4 (N)

6.3.6 Synthese der 6-Carboxy- $\alpha$ -carboline

## 4-(Benzylamino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonsäure 24a



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	317,35 g/mol

**Darstellung:** 100 mg (0,34 mmol, 1 eq.) **23a** mit 330 mg (8,25 mmol, 24 eq.) Natriumhydroxid und 1 mg (2% (n/n)) Kupfer(I)-oxid wurden nach AAV 9 (6.1, Seite 116 f.) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 18 h.

**Ausbeute:**  $m = 11$  mg weiße Kristalle ( $n = 0,04$  mmol,  $\eta = 12\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,49$  (Essigester/Methanol 90:10 (V/V))

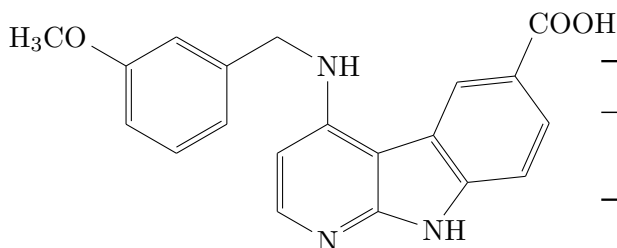
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 318,2$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 316,3$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,84 (d,  $^3J = 6,2$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,70 (d,  $^3J = 7,2$  Hz, 1 H, H-3); 7,26 (t,  $^3J = 7,3$  Hz, 1 H, H-4'); 7,34 (dd,  $^3J = 7,3$  Hz,  $^3J = 6,9$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,42 (d,  $^3J = 6,9$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,72 (d,  $^3J = 8,6$  Hz, 1 H, H-8); 8,08 (d,  $^3J = 7,2$  Hz, 1 H, H-2); 8,10 (dd,  $^3J = 8,6$  Hz,  $^4J = 1,7$  Hz, 1 H, H-7); 8,80 (t,  $^3J = 6,2$  Hz, 1 H, NH); 9,22 (d,  $^4J = 1,7$  Hz, 1 H, H-5); 12,90 (br, 1 H, COOH); 12,98 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 356$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 312$  °C)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3095 (br,  $\nu$  O-H Carbonsäure); 2865 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1683 (s,  $\nu$  C=O Carbonsäure); 1635 (vs,  $\nu$  C-C arom.); 1601 (s,  $\delta$  N-H); 1555 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1466 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1373 (m,  $\nu$  C-O Carbonsäure); 1204 (m,  $\delta$  O-H Carbonsäure); 767 (m,  $\delta$  C-H arom.); 742 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

4-((3-Methoxybenzyl)amino)-9H-pyrido[2,3-b]indol-6-carbonsäure **24c**

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	347,37 g/mol

**Darstellung:** 100 mg (0,30 mmol, 1 eq.) **23c** mit 365 mg (9,13 mmol, 30 eq.) Natriumhydroxid und 1 mg (2% (*n/n*)) Kupfer(I)-oxid wurden nach AAV 9 (6.1, Seite 116) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 22 h.

**Ausbeute:**  $m = 28$  mg beige Kristalle ( $n = 0,08$  mmol,  $\eta = 27\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,13$  (Essigester/Methanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 348,2$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 346,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 3,70 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,71 (d, <sup>3</sup> $J = 6,1$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,50 (d, <sup>3</sup> $J = 6,5$  Hz, 1 H, H-3); 6,80 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-6'); 6,98 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-4'); 6,99 (s, 1 H, H-2'); 7,24 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-5'); 7,59 (d, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, 1 H, H-8); 8,02 (d, <sup>3</sup> $J = 6,5$  Hz, 1 H, H-2); 8,03 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,7$  Hz, 1 H, H-7); 8,14 (br, 1 H, NH); 9,11 (d, <sup>4</sup> $J = 1,7$  Hz, 1 H, H-5); 12,50 (s, 1 H, H-9); 12,71 (br, 1 H, COOH)

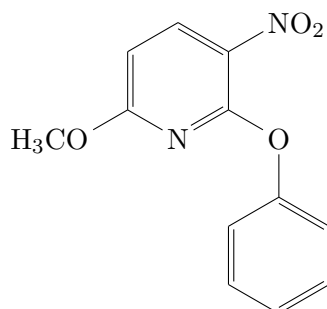
**Schmelzpunkt:**  $\vartheta > 365$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3106 (br,  $\nu$  O-H Carbonsäure); 3044 (m,  $\nu$  C-H arom.); 2956 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 2835 (s,  $\nu$  C-H aliph.); 1687 (s,  $\nu$  C=O Carbonsäure); 1633 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1603 (vs,  $\delta$  N-H); 1583 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1548 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1453 (m,  $\delta$  C-H aliph.); 1374 (m,  $\nu$  C-O Carbonsäure); 1259 (s,  $\nu_{as}$  C-O Ether); 1234 (m,  $\delta$  O-H Carbonsäure); 1047 (m,  $\nu_{sy}$  C-O Ether); 888 (m,  $\delta$  OH-O Carbonsäure Dimer); 772 (m,  $\delta$  C-H arom.); 738 (w,  $r$  CH<sub>2</sub>)

## 6.4 Darstellung von 2-substituierten 1-Aza-9-oxafluorenen

### 6.4.1 Synthese der 2-Methoxy-1-aza-9-oxafluorene

#### 6-Methoxy-3-nitro-2-phenoxy-pyridin 29



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
molare Masse	246,22 g/mol

**Darstellung:** Zu einer Lösung von 4,5 g (48 mmol, 1,0 eq.) Phenol in 150 ml frisch destilliertem Toluol wurden unter Rühren – bei einer Temperatur von 0 °C bis 5 °C – 2,5 g (62 mmol, 1,3 eq.) Natriumhydridsuspension (60 % (m/m) in Paraffinöl) zugegeben. Das Gemisch wurde unter Argon bei Raumtemperatur gerührt, bis nach 1 h die Gasentwicklung abgeschlossen war. 9,0 g (48 mmol, 1,0 eq.) 2-Chlor-6-methoxy-3-nitropyridin wurden zugegeben und das Gemisch 5 h zum Reflux erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden 90 ml Wasser und 90 ml Ether zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase drei mal mit je 60 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit je 60 ml gesättigter Kaliumcarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Das Rohprodukt, eine gelbe ölige, hochviskose Flüssigkeit, bildete über Nacht Kristalle.

**Ausbeute:**  $m = 12,0$  g gelbe Kristalle ( $n = 49$  mmol, *quantitativ*)

**DC:**  $R_f = 0,39$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

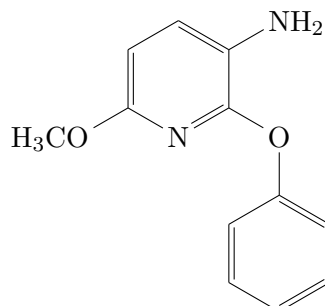
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 247,1$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 3,63 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 6,47 (d, <sup>3</sup>J = 8,8 Hz, 1 H, H-5); 7,17 (d, <sup>3</sup>J = 8,5 Hz, 2 H, H-2' und pos6'); 7,23 (dt, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz, <sup>4</sup>J = 1,2 Hz, 1 H, H-4'); 7,39 (dd, <sup>3</sup>J = 8,5 Hz, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz 2 H, H-3' und H-5'); 8,38 (d, <sup>3</sup>J = 8,8 Hz, 1 H, H-4)

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm) = 3,61 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 6,70 (d, <sup>3</sup>J = 8,8 Hz, 1 H, H-5); 7,24 bis 7,33 (m, 3 H, H-2', H-4' und pos6'); 7,43 (dd, <sup>3</sup>J = 8,6 Hz, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz 2 H, H-3' und H-5'); 8,53 (d, <sup>3</sup>J = 8,8 Hz, 1 H, H-4)

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 54,5 (p, CH<sub>3</sub>); 104,7 (t, C-4'); 121,9 (t, C-2' und C-6'); 125,5 (t, C-5); 129,3 (t, C-3' und C-5'); 137,4 (q, C-1'); 138,8 (t, C-4); 152,6 (q, C-2); 156,2 (q, C-6); 165,0 (q, C-3)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 39$  °C bis 42 °C

**6-Methoxy-2-phenoxy-pyridin-3-amin 31****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
molare Masse	216,24 g/mol
CAS-Nummer	1545522-18-6

**Darstellung:** 12 g (49 mmol, 1,0 eq.) **29** wurden in 150 ml Essigester gelöst, 1,0 g (entsprechend 2% Pd (*n/n*)) Palladium auf Aktivkohle (10% (*m/m*))<sup>43</sup> wurden zugegeben und das Gemisch unter Wasserstoffatmosphäre für 24 h bei Normdruck und Raumtemperatur gerührt. Der Feststoff wurde durch Filtration über Kieselgel abgetrennt und das Lösungsmittel abgezogen. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung zur weiteren Umsetzung verwendet.

**Ausbeute:** *m* = 9,4 g braunes Öl (*n* = 43 mmol,  $\eta$  = 91 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,30 (Cyclohexan/Essigester 70:30 (V/V))

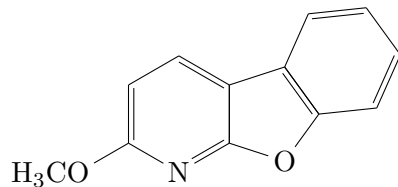
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 217,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 3,58 (br, 2H, NH<sub>2</sub>); 3,64 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 6,37 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, 1H, H-5); 7,10 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, 1H, H-4); 7,12 bis 7,16 (m, 3H, H-2', H-4' und H-6');

7,35 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,3 Hz, 2H, H-3' und H-5')

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 53,5 (s, CH<sub>3</sub>); 104,3 (t, C-5); 120,0 (t, C-2' und C-6'); 123,7 (t, C-4); 128,2 (t, C-4'); 129,2 (t, C-3' und C-5'); 129,6 (q, C-3); 148,2 (q, C-1'); 155,2 (q, C-2); 155,8 (q, C-6)

<sup>43</sup>Sigma-Aldrich

2-Methoxybenzofuro[2,3-*b*]pyridin **33**

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>
molare Masse	199,21 g/mol

**Darstellung:** 5,0 g (23 mmol, 1,0 eq.) **31** wurden in Aceton (*quantum satis*) gelöst und in 400 ml Schwefelsäure (10 % (*m/m*)) unter Rühren eingetropft, was eine feine Suspension bildete. 1,6 g (23 mmol, 1,0 eq.) Natriumnitrit in 50 ml Wasser wurden bei 0 °C langsam zu der Lösung getropft, wobei ein Farbumschlag von gelb nach grünblau erfolgte. Anschließend wurde das Gemisch für 1 h bei 0 °C unter ständiger Kontrolle der Temperatur gerührt. 17,1 g (269 mmol, 11,6 eq.) Kupferpulver wurden zugegeben und bei 55 °C gerührt bis die Gasentwicklung nach 3 h beendet war. Nach dem Abkühlen wurden 100 ml Chloroform zugegeben und das Gemisch durch eine Porzellanfritte filtriert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch drei mal mit je 50 ml Chloroform extrahiert. Das schwarze ölige Rohprodukt wurde auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (90:10 (V/V)) gereinigt.

**Ausbeute:**  $m = 460$  mg gelblich weißer Feststoff ( $n = 2,31$  mmol,  $\eta = 10$  %)

**DC:**  $R_f = 0,54$  (Cyclohexan/Essigester 90:10 (V/V))

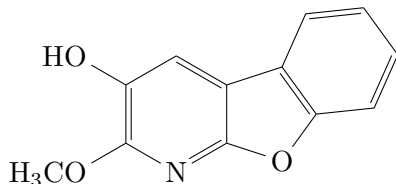
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 200,1$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 4,06 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 6,79 (d, <sup>3</sup> $J = 8,3$  Hz, 1 H, H-3); 7,34 (ddd, <sup>3</sup> $J = 7,6$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,4$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,1$  Hz, 1 H, H-6); 7,41 (ddd, <sup>3</sup> $J = 8,2$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7,4$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-7); 7,64 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,2$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,1$  Hz, 1 H, H-8); 7,82 (dd, <sup>3</sup> $J = 7,6$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-5); 8,12 (d, <sup>3</sup> $J = 8,3$  Hz, 1 H, H-4)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 54,1 (p, CH<sub>3</sub>); 106,5 (t, C-3); 108,9 (q, C-4b); 111,8 (t, C-6); 119,9 (t, C-7); 123,2 (q, C-4a); 123,2 (t, C-8); 126,1 (t, C-5); 132,0 (t, C-4); 153,8 (q, C-9a); 162,0 (q, C-8a); 163,5 (q, C-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 91$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3049 (w,  $\nu$  C–H arom.); 3014 (m,  $\nu$  C–H aliph.); 2949 (m,  $\nu$  C–H arom.); 2905 (w,  $\nu$  C–H arom.); 2842 (w,  $\nu$  C–H arom.); 1597 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1466 (m,  $\nu$  C–C); 1454 (s,  $\delta$  C–H aliph.); 1440 (m,  $\nu$  C–C); 1429 (m,  $\nu$  C–C); 1245 (m,  $\nu_{as}$  C–O Furan); 1184 (m,  $\nu_{as}$  C–O Ether); 1148 (m,  $\nu_{sy}$  C–O Furan); 1035 (m,  $\nu_{sy}$  C–O Ether); 772 (s,  $\delta$  C–H arom.)

**2-Methoxybenzofuro[2,3-*b*]pyridin-3-ol 42****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>
molare Masse	215,21 g/mol

**Darstellung:** 248 mg (1,24 mmol, 1,0 eq.) **33** wurden in 10 ml Chloroform gelöst. 0,921 mg (3,73 mmol, 3 eq.) *m*-CPBA<sup>44</sup> (70 % (*m/m*)) wurden portionsweise zugegeben und das Gemisch unter Argonatmosphäre für 30 h zum Reflux erhitzt. Nach dem Erkalten wurden 25 ml Wasser zugegeben und mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=9 eingestellt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase anschließend drei mal mit je 30 ml Chloroform extrahiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Toluol/Methanol (90:10 (V/V)) gereinigt.

**Ausbeute:** *m* = 11 mg brauner Feststoff (*n* = 0,05 mmol,  $\eta$  = 4 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,60 (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

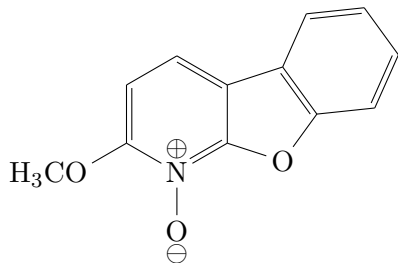
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 216,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 214,3 Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 4,15 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 5,32 (br, 1 H OH); 7,32 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz 1 H, H-6); 7,40 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,4 Hz, 1 H, H-7); 7,55 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,1 Hz, 1 H, H-8); 7,70 (s, 1 H, H-4); 7,79 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1,4 Hz, 1 H, H-5)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta$  = 91 °C bis 95 °C

<sup>44</sup>Sigma-Aldrich

2-Methoxybenzofuro[2,3-*b*]pyridin-1-oxid **36**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>
molare Masse	215,21 g/mol

**Darstellung:** 75 mg (0,37 mmol, 1,0 eq.) **33** wurden in 5 ml Eisessig gelöst. 419 mg (3,70 mmol, 10 eq.) Wasserstoffperoxidlösung (30 % (*m/m*)) wurden zugetropft. Das Gemisch wurde 15 h zum Sieden erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde währenddessen per DC überwacht und die Reaktion beendet, als sich das Verhältnis von Edukt zu Produkt nicht mehr veränderte. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz mit 15 ml Wasser verdünnt und mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=9 eingestellt. Ausgefallenes Edukt wurde abgenutscht und das Filtrat vier mal mit je 30 ml Chloroform extrahiert, getrocknet und eingengt.

**Ausbeute:** *m* = 5 mg braunes Öl (*n* = 0,02 mmol,  $\eta$  = 6 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,13 (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

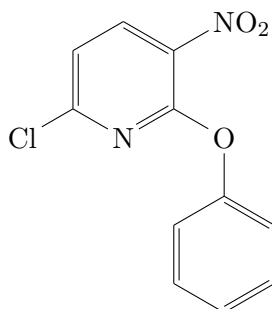
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 216,2 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 4,20 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 6,93 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-3); 7,44 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,3 Hz, 1 H, H-6); 7,54 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,3 Hz, 1 H, H-7); 7,73 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,3 Hz, 1 H, H-8); 7,83 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 1 H, H-4); 7,90 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, 1 H, H-5)



## 6.4.2 Synthese der 2-Chlor-1-aza-9-oxafluorene

## 6-Chlor-3-nitro-2-phenoxy pyridin 30



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
molare Masse	250,64 g/mol
CAS-Nummer	31874-85-8
Schmelzbereich	92 °C bis 93 °C [44]

**Darstellung:** 4,5 g (48 mmol, 1,0 eq.) Phenol wurden in 150 ml frisch destilliertem Toluol gelöst. 2,5 g (62 mmol, 1,3 eq.) Natriumhydridsuspension (60 % (*m/m*) in Paraffinöl) wurden zugegeben, Argonatmosphäre angelegt und das Gemisch bei Raumtemperatur gerührt, bis die Gasentwicklung nach 3 h beendet war. 9,3 g (48 mmol, 1,0 eq.) 2,6-Dichlor-3-nitropyridin wurden zugegeben und für 8 h zum Reflux erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Ansatz mit 120 ml Wasser und 120 ml Ether versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch drei mal mit je 80 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 120 ml gesättigter Kaliumcarbonatlösung und 120 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 12,5$  g weiß bis gelbliche Kristalle ( $n = 50$  mmol, *quantitativ*)

**DC:**  $R_f = 0,27$  (Cyclohexan/Essigester 90:10 (*V/V*))

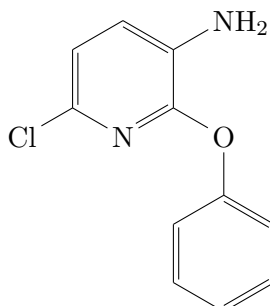
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 251,1$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7,14 (d,  $^3J = 8,3$  Hz, 1 H, H-5); 7,19 (d,  $^3J = 7,5$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,29 (t,  $^3J = 7,5$  Hz, 1 H, H-4'); 7,44 (dd,  $^3J = 7,5$  Hz,  $^3J = 7,5$  Hz, 1 H, H-3' und H-5'); 8,34 (d,  $^3J = 8,3$  Hz, 1 H, H-4)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 118,6 (t, C-4'); 121,4 (t, C-2' und C-6'); 126,0 (t, C-5); 129,7 (t, C-3' und C-5'); 137,1 (q, C-1'); 137,7 (t, C-4); 152,2 (q, C-2); 153,0 (q, C-6); 155,2 (q, C-3)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 83$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3104 (w,  $\nu$  C-H); 3081 (w,  $\nu$  C-H); 2922 (s,  $\nu$  C-H); 2853 (m,  $\nu$  C-H); 1580 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1565 (vs,  $\nu_{as}$  NO<sub>2</sub>); 1522 (s,  $\nu$  C-C); 1487 (s,  $\nu$  C-C); 1457 (m,  $\nu$  C-C); 1392 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1337 (s,  $\nu_{sy}$  NO<sub>2</sub>); 1266 (s,  $\nu_{as}$  C-O Ether); 1160 (s,  $\nu_{sy}$  C-O Ether); 1070 (m,  $\nu$  C-Cl); 772 (s,  $\delta$  C-H)

**6-Chlor-2-phenoxy-pyridin-3-amin 32****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>2</sub> O
molare Masse	220,66 g/mol
CAS-Nummer	31874-86-9
Schmelzbereich	166 °C bis 168 °C [44]

**Darstellung:** 12,5 g (50 mmol, 1,0 eq.) **30** wurden in 200 ml Essigester gelöst und 1,1 g (entsprechend 2 % Pd (*n/n*)) Palladium auf Aktivkohle (10 % (*m/m*))<sup>45</sup> im Gemisch suspendiert. Der Ansatz wurde 21 h unter Wasserstoffatmosphäre bei Normdruck und Raumtemperatur gerührt. Der Feststoff wurde durch Filtration über Kieselgel abgetrennt und das Lösungsmittel im Vacuum abgezogen. Der so erhaltene braune Feststoff wurde aus Aceton umkristallisiert.

**Ausbeute:** *m* = 5,9 g weiße Kristalle (*n* = 27 mmol,  $\eta$  = 54 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,38 (Cyclohexan/Essigester 70:30 (*V/V*))

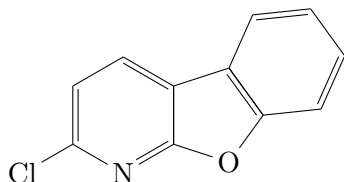
**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 221,3 Da [M+H]<sup>+</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 3,92 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>); 6,87 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,0 Hz, 1 H, H-5); 7,00 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,0 Hz, 1 H, H-4); 7,10 bis 7,22 (m, 3 H, H-2', H-4' und H-6'); 7,37 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,3 Hz, 2 H, H-3' und H-5')

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 119,2 (t, C-4'); 120,3 (t, C-2' und C-6'); 120,7 (t, C-3' und C-5'); 124,4 (t, C-4); 124,6 (t, C-5); 129,5 (q, C-3); 130,8 (q, C-1'); 149,9 (q, C-2); 153,7 (q, C-6)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta$  = 166 °C

<sup>45</sup>Sigma-Aldrich

2-Chlorbenzofuro[2,3-*b*]pyridin 34

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> ClNO
molare Masse	203,63 g/mol
CAS-Nummer	31874-87-0
Schmelzbereich	155 °C bis 156 °C [86] 155 °C bis 157 °C [44]

**Darstellung:** 5,9 g (27 mmol, 1,0 eq.) **32** wurden in 10 ml Aceton gelöst und langsam unter Rühren in 21 Schwefelsäure (10 % (*m/m*)) eingetropft, um eine feine Suspension zu erhalten. 1,9 g (28 mmol, 1,0 eq.) Natriumnitrit in 40 ml Wasser wurden bei 0 °C langsam zugetropft und der Ansatz weitere 60 min bei konstanter Temperatur gerührt. 20,5 g (324 mmol, 12 eq.) Kupferpulver wurde zugegeben und der Ansatz auf 55 °C temperiert bis die Gasentwicklung nach 40 min beendet war. 50 ml Chloroform wurden zugegeben und der enthaltene Feststoff abgenutscht. Die Phasen des Filtrates wurden getrennt und die Wasserphase vier mal mit je 25 ml Chloroform extrahiert. Das erhaltene Rohprodukt, ein braunes Öl, wurde auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (90:10 (*V/V*)) getrennt und aus Ethanol umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 990$  mg gelbliche Kristalle ( $n = 4,86$  mmol,  $\eta = 18\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,62$  (Cyclohexan/Essigester 70:30 (*V/V*))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 204,3$  Da  $[M+H]^+$

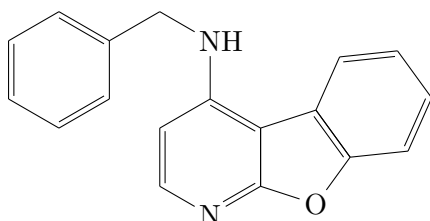
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 7,37 (d,  $^3J = 8,0$  Hz, 1 H, H-3); 7,41 (ddd,  $^3J = 7,7$  Hz,  $^3J = 7,4$  Hz,  $^4J = 0,9$  Hz, 1 H, H-6); 7,54 (ddd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^3J = 7,4$  Hz,  $^4J = 1,3$  Hz, 1 H, H-7); 7,64 (dd,  $^3J = 8,4$  Hz,  $^4J = 0,9$  Hz, 1 H, H-8); 7,92 (dd,  $^3J = 7,7$  Hz,  $^4J = 1,3$  Hz, 1 H, H-5); 8,20 (d,  $^3J = 8,0$  Hz, 1 H, H-4)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 112,3 (t, C-3); 115,6 (q, C-4b); 119,4 (t, C-6); 121,2 (t, C-7); 122,0 (q, C-4a); 123,8 (t, C-8); 128,5 (t, C-5); 131,5 (t, C-4); 156,3 (q, C-9a); 164,5 (q, C-8a); 180,0 (q, C-2)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 155$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3075 (w,  $\nu$  C-H); 2955 (m,  $\nu$  C-H); 2923 (s,  $\nu$  C-H); 2852 (m,  $\nu$  C-H); 1575 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1491 (m,  $\nu$  C-C); 1479 (m,  $\nu$  C-C); 1423 (s,  $\nu$  C-C); 1257 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1178 (s,  $\nu_{sy}$  C-O Furan); 1106 (m,  $\nu$  C-Cl); 772 (s,  $\delta$  C-H)

## 6.4.3 Transformation der 2-Chlorfunktion zum primären Amin

***N*-Benzylbenzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 40**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O
molare Masse	274,32 g/mol
CAS-Nummer	1259926-17-4
Schmelzbereich	197 °C bis 200 °C [43]

**Darstellung:** 500 mg (2,46 mmol, 1,0 eq.) **6** wurden nach AAV 2 (6.1, Seite 114) mit 3,9 g (36,8 mmol, 15 eq.) frisch destilliertem Benzylamin<sup>46</sup> umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 35 h bei 130 °C. Das Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert, was **40** in hoher Reinheit lieferte.

**Ausbeute:**  $m = 343$  mg feine, schneeweiße Kristalle ( $n = 1,25$  mmol,  $\eta = 63\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,20$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 275,3$  Da [M+H]<sup>+</sup>

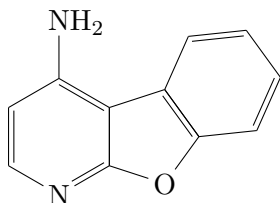
**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 273,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 196$  °C

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 4,64 (d,  $^3J_{\text{CH}_2/\text{NH}} = 6,2$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>); 6,47 (d,  $^3J_{3/2} = 5,9$  Hz, 1 H, H-3); 7,22 (dd,  $^3J = 7,4$  Hz,  $^3J = 7,4$  Hz, 1 H, H-4'); 7,31 (dd,  $^3J = 7,7$  Hz,  $^3J = 7,4$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,36 bis 7,51 (m, 5 H, NH, H-6, H-7, H-2' und H-6'); 7,64 (d,  $^3J = 8,3$  Hz, 1 H, H-8); 7,91 (d,  $^3J = 5,9$  Hz, 1 H, H-2); 8,44 (d,  $^3J = 7,7$  Hz, 1 H, H-5)

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3325 (s,  $\nu$  N-H); 3054 (w,  $\nu$  C-H arom.); 3033 (w,  $\nu$  C-H arom.); 1599 (vs,  $\delta$  N-H); 1578 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1496 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1481 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1463 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1452 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1190 (m,  $\nu_{as}$  C-O Furan); 1127 (s,  $\nu_{sy}$  C-O Furan); 801 (m,  $\delta$  C-H arom.); 743 (s,  $r$  CH<sub>2</sub>)

<sup>46</sup>Fluka

**Benzofuro[2,3-*b*]pyridin-4-amin 41**

Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O
molare Masse	184,20 g/mol

**Darstellung:** 330 mg (1,20 mmol) **40** wurden in 3 ml konzentrierter Schwefelsäure suspendiert und 1 h auf 80 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz in 10 ml Eiswasser gegossen und mit Ammoniaklösung (30 % (*m/m*)) auf pH=9 gebracht, anschließend drei mal mit je 20 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei Unterdruck entfernt.

**Ausbeute:** *m* = 16 mg weißgrauer, wachsartiger Feststoff (*n* = 0,06 mmol,  $\eta$  = 7 %)

**DC:** *R<sub>f</sub>* = 0,19 (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-positiv):** *m/z* = 185,4 Da [M+H]<sup>+</sup>

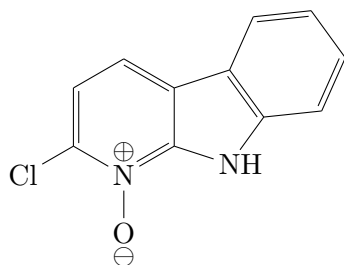
**MS (ESI-negativ):** *m/z* = 183,5 Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 6,56 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-3); 6,83 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 7,33 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, 1 H, H-7); 7,40 (dd, <sup>3</sup>*J* = 8,0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, 1 H, H-6); 7,59 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,0 Hz, 1 H, H-5); 7,87 (d, <sup>3</sup>*J* = 5,7 Hz, 1 H, H-2); 8,26 (d, <sup>3</sup>*J* = 7,6 Hz, 1 H, H-8)

## 6.5 Darstellung von 2-substituierten $\alpha$ -Carbolinen

### 6.5.1 Synthese des 2,4-Dichlor- $\alpha$ -carbolins

#### 2-Chlor-9H-pyrido[2,3-b]indol-1-oxid 45



#### Eigenschaften

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> ClN <sub>2</sub> O
molare Masse	218,64 g/mol
CAS-Nummer	30151-86-1

**Darstellung:** 2,2 g (11 mmol, 1,0 eq.) **25** wurden in 20 ml Essigsäure (98 % (*m/m*)) suspendiert und 5,5 g (57 mmol, 5,2 eq.) Wasserstoffperoxidlösung (35 % (*m/m*)) eingetropft. Das Gemisch wurde für 15 h zum Reflux erhitzt, der Reaktionsverlauf per DC verfolgt. Nachdem das Edukt komplett umgesetzt war, wurde das Lösungsmittel im Vakuum teilweise entfernt, der verbleibende Rest mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung auf pH=8 eingestellt, 30 min gerührt und durch einen BÜCHNERtrichter filtriert. Das so erhaltene Produkt wurde über Nacht im Exsikkator getrocknet und konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt verwendet werden.

**Ausbeute:**  $m = 1,4$  g rotbrauner Feststoff ( $n = 6$  mmol,  $\eta = 55$  %)

**DC:**  $R_f = 0,21$  (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

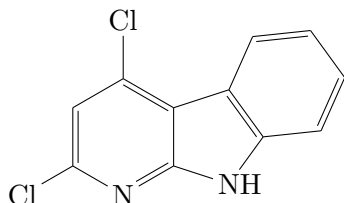
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 219,6$  Da [M+H]<sup>+</sup>

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 217,4$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,30 (dd, <sup>3</sup>J = 8,3 Hz, <sup>3</sup>J = 7,1 Hz, 1 H, H-6); 7,49 (dd, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, <sup>3</sup>J = 7,1 Hz, 1 H, H-7); 7,52 (d, <sup>3</sup>J = 8,1 Hz 1 H H-3); 7,57 (d, <sup>3</sup>J = 8,0 Hz, 1 H, H-8); 8,16 (d, <sup>3</sup>J = 8,3 Hz, 1 H, H-5); 8,20 (dd, <sup>3</sup>J = 8,1 Hz, 1 H, H-4)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 276$  °C (unter Zersetzung, Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 224$  °C)

**IR (ATR) =  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>)** 3061 (s,  $\nu$  N-H); 3027 (s,  $\nu$  C-H); 2940 (s,  $\nu$  C-H); 1597 (s,  $\nu$  C-C); 1579 (m,  $\nu$  C-C); 1319 (s,  $\nu$  N-H); 1012 (w,  $\nu$  C-Cl); 747 (m,  $\delta$  C-H)

**2,4-Dichlor-9H-pyrido[2,3-b]indol 44****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
molare Masse	237,08 g/mol
CAS-Nummer	25208-09-7
Schmelzpunkt	>220 °C [87]

**Darstellung:** 1,0 g (5 mmol, 1,0 eq.) **45** wurden in 5 ml frisch destilliertem DMF gelöst. Unter Kühlung auf dem Eisbad und Argonatmosphäre wurden 1,0 ml (1,7 g, 11 mmol, 2,2 eq.) Phosphoroxychlorid eingetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und die Mischung bei Raumtemperatur für 18 h gerührt. Zur Entstörung von überschüssigem Phosphoroxychlorid, wurde das Gemisch auf 0 °C abgekühlt. 50 ml Eiswasser wurden vorsichtig zugegeben. Mit Kaliumhydroxidlösung (10 % (m/m)) wurde pH=12 eingestellt, die entstandene Suspension 2 h gerührt, abgenutscht und der erhaltene Filtrerrückstand im Exsikkator getrocknet. Das Rohprodukt wurde in THF gelöst, an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (80:20 (V/V)) gereinigt. Der so erhaltene gelbliche Feststoff wurde in heißem Cyclohexan gewaschen.

**Ausbeute:**  $m = 0,4$  g oranger Feststoff ( $n = 2$  mmol,  $\eta = 40$  %)

**DC:**  $R_f = 0,71$  (Toluol/Methanol 90:10 (V/V))

**DC:**  $R_f = 0,41$  (Cyclohexan/Essigester 80:20 (V/V))

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 235,7$  Da [M-H]<sup>-</sup>

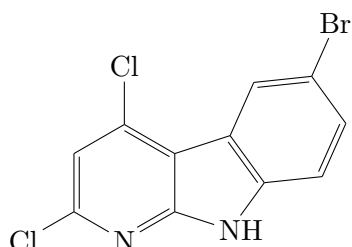
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,32 (dd,  $^3J = 8,1$  Hz,  $^3J = 6,2$  Hz, 1 H, H-6); 7,45 (s, 1 H H-3); 7,54 bis 7,59 (m, 2 H, H-7 und H-8); 8,29 (d,  $^3J = 7,9$  Hz, 1 H, H-5); 12,04 (s, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 268$  °C (Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 187$  °C)

**IR (ATR) =  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>)** 3141 (s,  $\nu$  N-H); 3092 (s,  $\nu$  C-H); 2053 (s,  $\nu$  C-H); 1598 (s,  $\nu$  C-C); 1565 (s,  $\nu$  C=N Pyridin); 1314 (s,  $\nu$  NH); 1021 (m,  $\nu$  C-Cl); 777 (m,  $\delta$  C-H)

6.5.2 Synthese des 6-Brom-2,4-dichlor- $\alpha$ -carbolins

## 6-Brom-2,4-dichlor-9H-pyrido[2,3-b]indol 46



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>5</sub> BrCl <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
molare Masse	315,98 g/mol

**Darstellung:** 400 mg (1,69 mmol, 1,0 eq.) **44** wurden in 25 ml Eisessig suspendiert. Es wurde 0,1 ml (0,31 g, 2,0 mmol, 1,2 eq.) elementares Brom zugetropft und der Ansatz für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Entstörung überschüssigen Broms wurde Natriumhydrogensulfidlösung bis zur Entfärbung zugetropft. Der Ansatz wurde gekühlt und mit konzentrierter Ammoniaklösung auf pH=9 eingestellt, 30 min gerührt und durch einen BÜCHNERtrichter filtriert, mit Wasser gewaschen und der erhaltene Filtrückstand im Exsikkator getrocknet. Zur endgültigen Reinigung wurde mit heißem Aceton gewaschen.

**Ausbeute:**  $m = 319$  mg beiger Feststoff ( $n = 1,01$  mmol,  $\eta = 60\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,47$  (Cyclohexan/Essigester 75:25 (V/V))

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 315,3$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,50 (s, 1 H H-3); 7,53 (d,  $^3J = 8,7$  Hz, 1 H, H-8); 7,68 (dd,  $^3J = 8,7$  Hz,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-7); 8,37 (d,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-5); 12,53 (br, 1 H, H-9)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 278$  °C (unter Zersetzung, Modifikationsänderung bei  $\vartheta = 248$  °C)

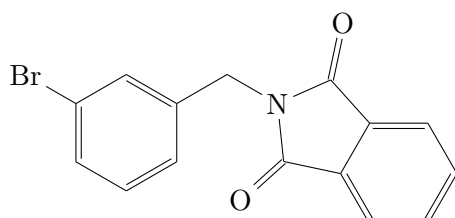
**IR (ATR) =  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>)** 3139 (s,  $\nu$  N-H); 3063 (m,  $\nu$  C-H); 2053 (s,  $\nu$  C-H); 1598 (m,  $\nu$  C-C); 1562 (vs,  $\nu$  C=N Pyridin); 1313 (s,  $\nu$  NH); 1014 (w,  $\nu$  C-Cl); 992 (m,  $\nu$  C-Br); 796 (m,  $\delta$  C-H)



## 6.6 Darstellung von Benzylaminen als 4-Substituenten

### 6.6.1 Synthese von 3-Brombenzylamin

#### 2-(3-Brombenzyl)isoindolin-1,3-dion **49**



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> BrNO <sub>2</sub>
molare Masse	316,15 g/mol
CAS-Nummer	183735-18-4
Schmelzbereich	138 °C bis 139 °C [88]

**Darstellung:** Eine Lösung von 10,0 g (40 mmol, 1,0 eq.) 3-Brombenzylbromid<sup>47</sup> **47** und 7,7 g (52 mmol, 1,3 eq.) Phthalimid in 74 ml frisch destilliertem DMF wurden unter Rühren mit 7,2 g (52 mmol, 1,3 eq.) Kaliumcarbonat versetzt und für 7 d unter Argonatmosphäre und Lichtausschluss bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Gemisch in 150 ml Wasser gegossen, für 15 min gerührt, der ausgefallene Feststoff durch einen BÜCHNERtrichter abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über Nacht im Exsikkator getrocknet. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt verwendet.

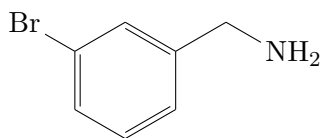
**Ausbeute:**  $m = 10,4$  g weißer Feststoff ( $n = 33$  mmol,  $\eta = 82\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,61$  (Cyclohexan/Essigester 60:40 (V/V))

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-**d**<sub>6</sub>):  $\delta$  (ppm) = 4,76 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,23 bis 7,30 (m, 1 H, H-5'); 7,38 (d, <sup>3</sup> $J = 7,8$  Hz, 1 H, H-6'); 7,53 (d, <sup>3</sup> $J = 7,5$  Hz, 1 H, H-4'); 7,58 (s, 1 H, H-2'); 7,80 bis 7,93 (m, 4 H, H-4, H-5, H-6 und H-7)

**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 109$  °C bis 113 °C

<sup>47</sup>Acros Organics

**(3-Bromphenyl)methanamin 51**

<b>Eigenschaften</b>	
Summenformel	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> BrN
molare Masse	186,05 g/mol
CAS-Nummer	10269-01-9

**Darstellung:** 10,4 g (33 mmol, 1,0 eq.) **49** wurden in 500 ml Ethanol suspendiert. Unter Rühren wurden 22,1 g (138 mmol, 4,2 eq.) wässrige Hydrazin-Lösung (20 % (*m/m*)) getropft. Anschließend wurde das Gemisch unter Argon und Reflux für 20 h zum gelinden Sieden erhitzt. Dabei bildete sich eine klare Lösung. Nach Ende der Reaktion fiel, beim Abkühlen, erneut ein weißer Feststoff aus. Das Lösungsmittel wurde im Unterdruck soweit wie möglich entfernt, der breiige Rückstand in 500 ml Wasser resuspendiert, mit Essigsäure angesäuert, 15 min gerührt und abgenutscht. Das Filtrat wurde mit Natriumhydroxid-Pellets auf pH=12 eingestellt und anschließend drei mal mit je 200 ml Ether extrahiert.

**Ausbeute:**  $m = 2,8$  g gelbe, hochviskose Flüssigkeit ( $n = 15$  mmol,  $\eta = 46$  %)

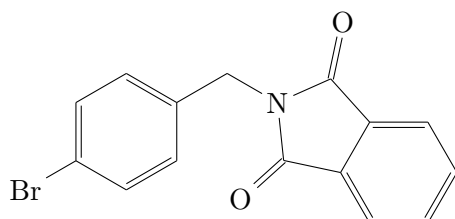
**DC:**  $R_f = 0,13$  (Essigester)

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 185,9$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 1,91 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 3,69 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,23 (dd,  $^3J = 7,7$  Hz,  $^3J = 7,7$  Hz, 1 H, H-5); 7,29 (d,  $^3J = 7,7$  Hz, 1 H, H-6); 7,36 (d,  $^3J = 7,7$  Hz, 1 H, H-4); 7,54 (s, 1 H, H-2)

## 6.6.2 Synthese von 4-Brombenzylamin

## 2-(4-Brombenzyl)isoindolin-1,3-dion 50



## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> BrNO <sub>2</sub>
molare Masse	316,15 g/mol
CAS-Nummer	153171-22-3
Schmelzpunkt	128 °C [89]

**Darstellung:** Eine Lösung von 5,5 g (22 mmol, 1,0 eq.) 4-Brombenzylbromid <sup>48</sup> **48** und 4,2 g (28 mmol, 1,3 eq.) Phthalimid in 40 ml frisch destilliertem DMF wurden unter Rühren mit 3,9 g (28 mmol, 1,3 eq.) Kaliumcarbonat versetzt und für 6 d unter Argonatmosphäre und Lichtausschluss bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Gemisch in 80 ml Wasser gegossen, für 15 min gerührt, der ausgefallene Feststoff über einen BÜCHNERtrichter abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über Nacht im Exsikkator getrocknet, und ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt umgesetzt.

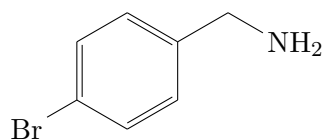
**Ausbeute:**  $m = 4,8$  g weißer Feststoff ( $n = 15$  mmol,  $\eta = 69\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,61$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 4,73 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,26 (d, <sup>3</sup> $J = 8,4$  Hz, 2 H, H-3' und H-5'); 7,50 (d, <sup>3</sup> $J = 8,4$  Hz, 2 H, H-2' und H-6'); 7,80 bis 7,91 (m, 4 H, H-4, H-5, H-6 und H-7)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 112$  °C

<sup>48</sup>Acros Organics

**(4-Bromphenyl)methanamin 52**

<b>Eigenschaften</b>	
Summenformel	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> BrN
molare Masse	186,05 g/mol
CAS-Nummer	3959-07-7

**Darstellung:** 4,8 g (15 mmol, 1,0 eq.) **50** wurden in 200 ml Ethanol suspendiert. Unter Rühren wurden 10,2 g (64 mmol, 4,2 eq.) wässrige Hydrazin-Lösung (20 % (*m/m*)) getropft. Anschließend wurde das Gemisch unter Argon und Reflux für 20 h zum gelinden Sieden erhitzt. Dabei bildete sich eine klare Lösung. Nach Ende der Reaktion fiel, beim Abkühlen, erneut ein weißer Feststoff aus. Das Lösungsmittel wurde im Unterdruck soweit wie möglich entfernt, der breiige Rückstand in 100 ml Wasser resuspendiert, mit Essigsäure angesäuert, 15 min gerührt und abgenutscht. Das Filtrat wurde mit Natriumhydroxid-Pellets auf pH=12 eingestellt und anschließend drei mal mit je 100 ml Ether extrahiert.

**Ausbeute:**  $m = 1,6$  g gelbe, hochviskose Flüssigkeit ( $n = 9$  mmol,  $\eta = 60$  %)

**DC:**  $R_f = 0,05$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (*V/V*))

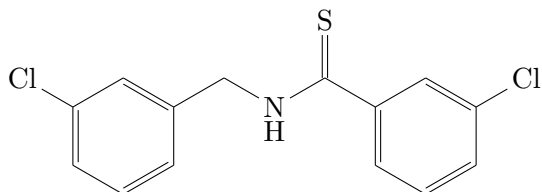
**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 188,1$  Da  $[M+H]^+$

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 1,81 (br, 2 H, NH<sub>2</sub>); 3,66 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,27 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 2 H, H-2 und H-6); 7,45 (d, <sup>3</sup>*J* = 8,5 Hz, 2 H, H-3 und H-5)

## 6.7 Darstellung von substituierten Benzothiamiden

### 6.7.1 Synthese der Benzothiamide

#### 3-Chlor-*N*-(3-chlorbenzyl)benzothioamid 54a



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NS
molare Masse	296,21 g/mol
Elementaranteil	C 56,8 %
	H 3,7 %
	Cl 23,9 %
	N 4,7 %
	S 10,8 %

**Darstellung:** **21** wurde in 1,5 g (11 mmol, 15 eq.) 3-Chlorbenzylamin<sup>49</sup> nach AAV 10 (6.1, Seite 116) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 20 h.

**Ausbeute:**  $m = 193$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,65$  mmol,  $\eta = 12\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,44$  (Cyclohexan/Essigester 75:25 (V/V))

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 294,3$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-**d**6):  $\delta$  (ppm) = 4,49 (d,  $^3J = 5,3$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,28 bis 7,50 (m, 5 H, H-5, H-2', H-4', H-5' und H-6'); 7,52 bis 7,60 (m, 1 H, H-4); 7,74 (ddd,  $^3J = 7,8$  Hz,  $^4J = 1,5$  Hz,  $^4J = 1,5$  Hz, 1 H, H-6); 7,77 bis 7,82 (m, 1 H, H-2); 10,87 (s, 1 H, NH)

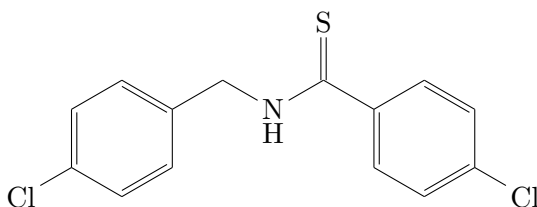
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-**d**6):  $\delta$  (ppm) = 49,1 (s, CH<sub>2</sub>); 126,6 (t, C-4'); 126,9 (t, C-6'); 127,4 (t, C-5'); 127,6 (t, C-5); 128,0 (t, C-2'); 130,5 (t, C-6); 130,7 (t, C-4); 131,0 (t, C-2); 133,2 (q, C-3'); 133,4 (q, C-3); 140,0 (q, C-1'); 143,0 (q, C-1); 196,5 (q, C=S)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 83$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3176 (br,  $\nu$  N-H); 3053 (w,  $\nu$  C-H arom.); 3005 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2915 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 2861 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1480 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1467 (s,  $\nu$  C-C arom.); 1443 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1433 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1416 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1374 (s,  $\nu$  N-H); 1318 (vs,  $\nu$  C=S); 1075 (s,  $\nu$  C-Cl); 709 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 65,3 (C); 3,8 (H); 23,1 (Cl); 4,6 (N); 10,3 (S)

<sup>49</sup>Acros Organics

4-Chlor-*N*-(4-chlorbenzyl)benzothioamid 54b

## Eigenschaften

Summenformel	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NS
molare Masse	296,21 g/mol
Elementaranteil	C 56,8 %
	H 3,7 %
	Cl 23,9 %
	N 4,7 %
	S 10,8 %

**Darstellung:** **21** wurde in 1,5 g (11 mmol, 15 eq.) 4-Chlorbenzylamin<sup>50</sup> suspendiert nach AAV 10 (6.1, Seite 116) umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reaktionszeit betrug 15 h. Das Produkt wurde zur endgültigen Aufreinigung aus Cyclohexan umkristallisiert.

**Ausbeute:**  $m = 185$  mg gelbe Kristalle ( $n = 0,62$  mmol,  $\eta = 11$  %)

**DC:**  $R_f = 0,45$  (Cyclohexan/Essigester 75:25 (V/V))

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 294,2$  Da [M-H]<sup>-</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 4,92 (d,  $^3J = 5,7$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,33 bis 7,43 (m, 4 H, H-2', H-3', H-5' und H-6'); 7,49 (d,  $^3J = 8,4$  Hz, 2 H, H-3 und H-5); 7,79 (d,  $^3J = 8,4$  Hz, 2 H, H-2 und H-6); 10,81 (t,  $^3J = 5,7$  Hz, 1 H, NH)

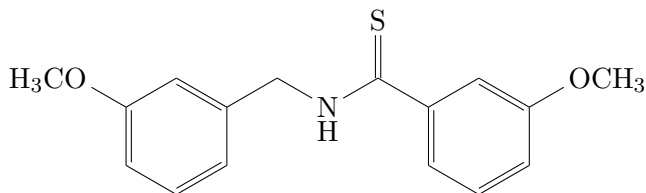
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 48,9 (s, CH<sub>2</sub>); 128,5 (t, C-2' und C-6'); 128,8 (t, C-3' und C-5'); 129,6 (t, C-3 und C-5); 130,0 (t, C-2 und C-6); 132,2 (q, C-1'); 136,1 (q, C-4'); 136,7 (q, C-4); 140,0 (q, C-1); 196,8 (q, C=S)

**Schmelzpunkt:**  $\vartheta = 87$  °C

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3216 (br,  $\nu$  N-H); 3085 (w,  $\nu$  C-H arom.); 3042 (w,  $\nu$  C-H arom.); 2927 (w,  $\nu$  C-H aliph.); 1485 (vs,  $\nu$  C-C arom.); 1430 (m,  $\nu$  C-C arom.); 1400 (s,  $\delta$  C-H aliph.); 1372 (s,  $\nu$  N-H); 1328 (s,  $\nu$  C=S); 1090 (s,  $\nu$  C-Cl); 738 (m,  $r$  CH<sub>2</sub>)

**EA:**  $\omega$  (%) = 56,2 (C); 3,8 (H); 24,4 (Cl); 4,7 (N); 10,4 (S)

<sup>50</sup> Acros Organics

**3-Methoxy-N-(3-methoxybenzyl)benzothioamid 54c****Eigenschaften**

Summenformel	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub> S
molare Masse	287,38 g/mol

**Darstellung:** **21** wurde in 1,5 g (11 mmol, 15 eq.) 3-Methoxybenzylamin<sup>51</sup> nach AAV 10 (6.1) umgesetzt und aufgereinigt. Die Reaktionszeit betrug 20 h.

**Ausbeute:**  $m = 215$  mg gelbes Öl ( $n = 0,75$  mmol,  $\eta = 14\%$ )

**DC:**  $R_f = 0,57$  (Cyclohexan/Essigester 50:50 (V/V))

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 285,3$  Da  $[M-H]^-$

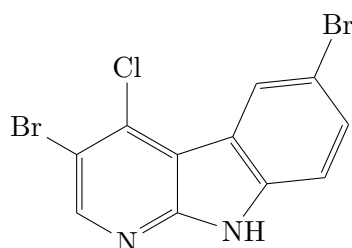
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 3,73 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 3,80 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,94 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,79 bis 6,87 (m, 1 H, H-4'); 6,90 bis 6,95 (m, 2 H, H-2' und H-5'); 7,07 (ddd, <sup>3</sup> $J = 7,6$  Hz, <sup>4</sup> $J = 2,6$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1,5$  Hz, 1 H, H-6'); 7,26 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,2$  Hz, <sup>3</sup> $J = 8,2$  Hz, 2 H, H-5); 7,30 bis 7,39 (m, 3 H, H-2, H-4 und H-6); 10,69 (s, 1 H, NH)

<sup>51</sup>Sigma-Aldrich

## 6.8 Darstellung von mehrfach halogeniertem $\alpha$ -Carbolin

### 6.8.1 Synthese von 3,6-Dibrom-4-chlor- $\alpha$ -carbolin

#### 3,6-Dibrom-4-chlor-9H-pyrido[2,3-b]indol 56



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>11</sub> H <sub>5</sub> Br <sub>2</sub> ClN <sub>2</sub>
molare Masse	360,43 g/mol

**Darstellung:** 5,1 g (25 mmol, 1,0 eq.) **17** wurden in 150 ml Eisessig gelöst. Unter Rühren wurden 3,2 ml (10,1 g, 63 mmol, 2,5 eq.) elementares Brom eingetropft, woraufhin ein voluminöser Niederschlag ausfiel, welcher sich allmählich wieder löste. Nach Rühren für 6 d bei Raumtemperatur, wurde noch einmal die gleiche Menge Brom zugetropft und der Ansatz weitere 2 d gerührt. Zur Entstörung wurde wässrige Natriumhydrogensulfidlösung (37 % (m/m)) bis zur vollständigen Entfärbung eingetropft, der Ansatz auf dem Eisbad gekühlt und mit konzentrierter Ammoniaklösung auf pH=10 eingestellt. Es wurde je drei mal mit je 200 ml Chloroform und drei mal mit je 200 ml Essigester extrahiert. Das gewonnene Rohprodukt wurde in THF gelöst, an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Essigester (75:25 (V/V)) gereinigt.

**Ausbeute:**  $m = 50$  mg weiße Kristalle ( $n = 0,14$  mmol,  $\eta = 0,5$  %)

**DC:**  $R_f = 0,53$  (Cyclohexan/Essigester 70:30 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 361,3$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 359,5$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7,54 (d,  $^3J = 8,7$  Hz, 1 H, H-8); 7,70 (dd,  $^3J = 8,7$  Hz,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-7); 8,43 (d,  $^4J = 2,0$  Hz, 1 H, H-5); 8,66 (s, 1 H, H-2); 12,53 (s, 1 H, H-9)

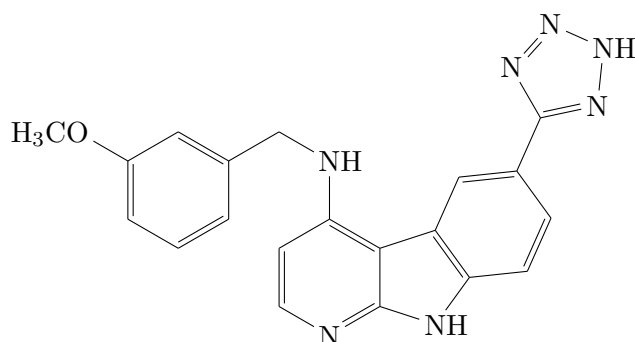
**Schmelzbereich:**  $\vartheta = 300$  °C bis 304 °C



## 6.9 Weitere Variation an der 6-Position des $\alpha$ -Carbolins

### 6.9.1 Synthese von 6-Tetrazo- $\alpha$ -carbolin

#### *N*-(3-Methoxybenzyl)-6-(2*H*-tetrazo-5-yl)-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-4-amin **57**



Eigenschaften	
Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> N <sub>7</sub> O
molare Masse	371,40 g/mol

**Darstellung:** Es wurde zunächst eine Lösung von 130 mg (2,00 mmol, 11 eq.) Natriumazid und 21 mg (0,09 mmol, 0,5 eq.) Zinkbromid in 0,5 ml Wasser hergestellt. Diese wurde dann zu einer Lösung von 60 mg (0,18 mmol, 1 eq.) **23c** in 2 ml NMP getropft. Das Gemisch wurde unter Argonatmosphäre für 36 h auf 190 °C erwärmt. Nachdem das Edukt vollständig umgesetzt war, wurde der Reaktionsansatz mit 10 ml Wasser verdünnt, mit Salzsäure angesäuert und drei mal mit je 20 ml Essigester extrahiert. Das erhaltene braune Öl wurde mit 2 ml Wasser versetzt, was zur Präzipitation von **57** führte. Die Suspension wurde 30 min gerührt, abgenutscht und der Rückstand über Phosphorpentoxid im Vakuum getrocknet.

**Ausbeute:**  $m = 3$  mg brauner Feststoff ( $n = 0,01$  mmol,  $\eta = 4$  %)

**DC:**  $R_f = 0,55$  (Essigester/Methanol 90:10 (V/V))

**MS (ESI-positiv):**  $m/z = 372,5$  Da  $[M+H]^+$

**MS (ESI-negativ):**  $m/z = 370,6$  Da  $[M-H]^-$

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, **DMSO-d<sub>6</sub>**):  $\delta$  (ppm) = 3,71 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,77 (d, <sup>3</sup> $J = 6,4$  Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,60 (d, <sup>3</sup> $J = 6,6$  Hz, 1 H, H-3); 6,82 (d, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, 1 H, H-6'); 6,94 bis 7,05 (m, 2 H, H-2' und H-4'); 7,25 (dd, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, <sup>3</sup> $J = 8,0$  Hz, 1 H, H-H-5'); 7,75 (d, <sup>3</sup> $J = 8,5$  Hz, 1 H, H-8); 8,01 bis 8,10 (m, 2 H, H-2 und H-7); 8,34 (br, 1 H, NH); 9,32 (d, <sup>4</sup> $J = 1,3$  Hz, 1 H, H-5); 12,57 (br, 1 H, H-9)

## 7 *In vitro* Testung am Targetprotein

### 7.1 Charakterisierung der 1-Aza-9-oxafluorene

Proteinkinase		ATP		Peptidsubstrat	
Bezeichnung	<i>c</i> (ng/50µl)	<i>c</i> (nM)*	<i>c</i> (µM)	Bezeichnung	<i>c</i> (µg/50µl)
EGFR wt	20	4,4	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125
IGF-1R	10	2,6	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125

Tabelle 7.1: Versuchsparameter der im Assay getesteten Proteinkinasen. \*Maximale molare Enzymkonzentration, vorausgesetzt die Enzymzubereitung enthält zu 100 % aktive Proteinkinase.

Verb.	L.	EGFR wt				IGF-1R			
		1.Messung		2.Messung		1.Messung		2.Messung	
		IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg	IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg	IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg	IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg
<b>8a</b>	*	4,49E-5	-2,85	2,06E-4	-0,57	3,81E-5	-1,72	4,78E-5	-1,66
<b>8c</b>	*	8,76E-6	-1,06	8,27E-6	-1,16	1,54E-5	-0,92	2,08E-5	-0,71
<b>8d</b>	*	9,51E-6	-1,61	1,06E-5	-1,04	3,07E-5	-0,36	9,06E-6	-1,40
<b>8e</b>	*	1,68E-5	-0,78	1,73E-5	-0,65	3,28E-5	-0,48	6,87E-6	-1,05
<b>8f</b>	*	2,06E-5	-0,70	4,25E-5	-0,47	1,22E-4	-0,51	2,46E-5	-0,85
<b>8g</b>	*	4,08E-5	-0,96	2,78E-5	-0,83	3,32E-5	-1,43	2,99E-5	-3,48
<b>8h</b>	*	2,59E-5	-1,45	2,55E-5	-1,28	2,23E-5	-1,31	2,48E-5	-1,62
<b>8i</b>	*	8,16E-6	-0,93	1,49E-5	-0,57	1,50E-5	-1,02	1,82E-5	-0,78
<b>8k</b>	*	2,37E-5	-1,68	2,39E-5	-0,98	3,16E-5	-1,33	2,45E-4	-0,44
<b>8l</b>	*	3,10E-5	-10,20	2,23E-2	-0,24	3,71E-5	-2,48	3,57E-5	-3,32
<b>9a</b>	*	8,91E-6	-0,72	1,47E-5	-1,02	6,90E-5	-0,50	5,51E-5	-0,51
<b>9d</b>	*	2,35E-1	-0,12	2,12E-1	-0,25	3,40E-2	-0,23	4,66E-2	-0,19
<b>9c</b>	*	9,83E-7	-0,53	4,82E-6	-0,78	7,77E-3	-0,27	6,44E-4	-0,53
<b>9e</b>	*	5,34E-6	-1,22	4,65E-6	-0,84	3,43E-5	-1,24	2,96E-5	-2,37
<b>9f</b>	*	4,89E-4	-0,53	3,19E-4	-0,69	4,52E-3	-0,37	2,83E-3	-0,93
<b>9g</b>	*	2,16E-6	-1,11	2,20E-6	-1,11	3,99E-6	-0,93	3,50E-6	-1,26
<b>9h</b>	*	3,06E13	-0,05	1,67E2	-0,26	4,75E2	-0,14	1,75E-20	0,10
<b>9l</b>	*	1,13E-4	-1,46	1,09E-4	-1,10	5,58E-4	-0,50	1,68E-3	-0,35

Tabelle 7.2: Gemessene IC<sub>50</sub>-Werte und Kurvenanstiege der ersten Testreihe. IC<sub>50</sub>-Werte außerhalb des vermessenen Konzentrationsbereiches und Kurvenanstiege größer als -0,4 sind ausgegraut. Ein Sternchen in der 2. Spalte zeigt, dass es während des Assays bei hohen Substanzkonzentrationen zu Löslichkeitsniederschlägen kam. Die zugehörigen Ausreißer in den Aktivitätsmessungen wurden von Berechnung der IC<sub>50</sub>-Kurven ausgeschlossen.

7.2 Charakterisierung der  $\alpha$ -Carboline

Proteinkinase			ATP	Peptidsubstrat	
Bezeichnung	$c$ (ng/50 $\mu$ l)	$c$ (nM)*	$c$ ( $\mu$ M)	Bezeichnung	$c$ ( $\mu$ g/50 $\mu$ l)
EGFR wt	10	2,2	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125
IGF-1R	10	2,6	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125

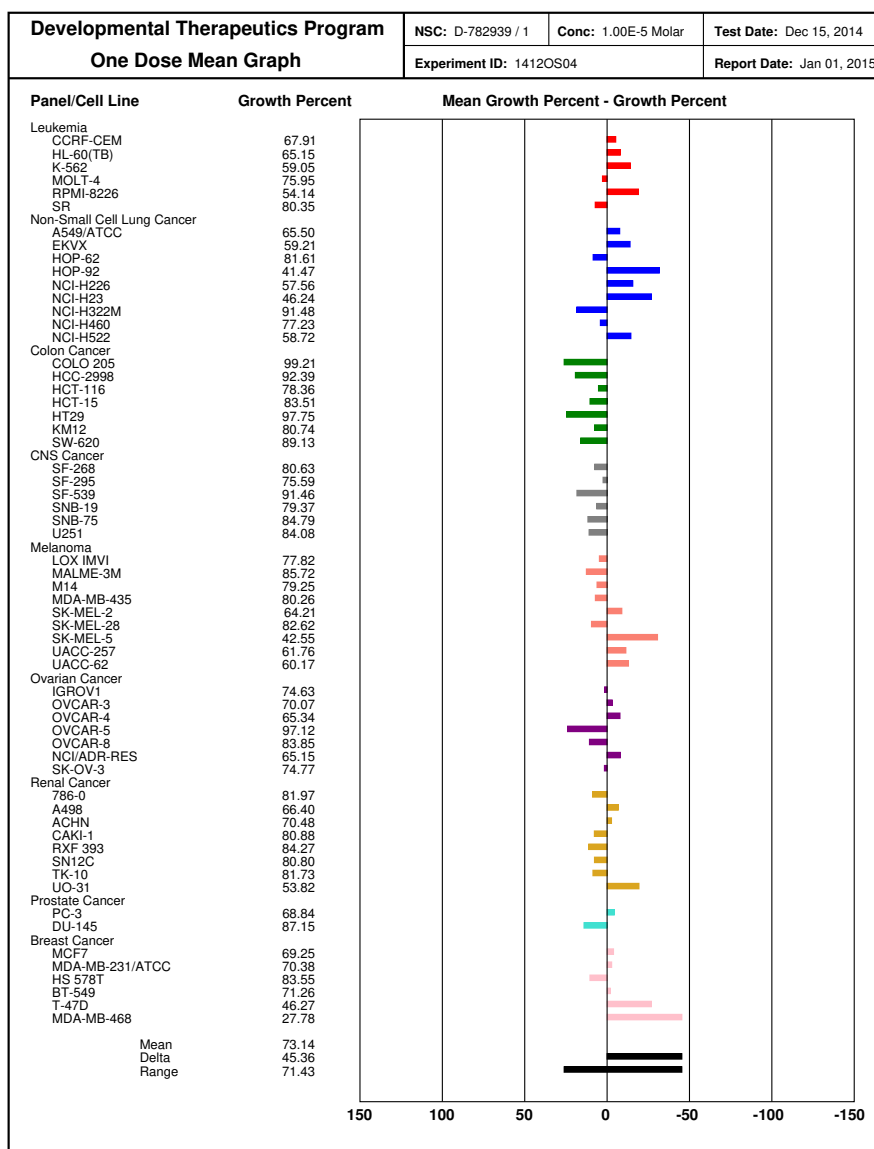
Tabelle 7.3: Versuchsparameter der im Assay getesteten Proteinkinasen. \*Maximale molare Enzymkonzentration, vorausgesetzt die Enzymzubereitung enthält zu 100 % aktive Proteinkinase.

Verb.	L.	EGFR wt				IGF-1R			
		1.Messung		2.Messung		1.Messung		2.Messung	
		IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg	IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg	IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg	IC <sub>50</sub> (M)	Anstieg
19a		2,59E-6	-0,67	3,19E-6	-0,64	4,38E-6	-1,62	4,65E-6	-1,29
19b	*	1,87E-6	-0,74	9,62E-7	-0,96	2,55E-6	-0,82	1,84E-6	-0,93
19c	*	1,34E-6	-1,00	7,31E-7	-0,77	2,14E-6	-1,30	1,72E-6	-1,22
19d	*	4,55E-6	-0,73	3,84E-6	-0,54	5,31E-6	-0,90	7,14E-6	-0,86
20a	*	4,13E-6	-0,63	3,58E-6	-0,66	1,05E-4	-0,82	7,68E-5	-0,74
20b	*	1,57E-6	-0,89	1,11E-6	-0,62	1,30E-5	-0,98	1,63E-5	-0,80
20c	*	1,82E-6	-0,74	1,65E-6	-0,63	1,27E-5	-0,95	1,40E-5	-1,16
20d	*	4,12E-6	-0,88	3,94E-6	-0,60	2,52E-5	-1,15	2,42E-5	-1,06
22b	*	1,37E-6	-1,00	1,17E-6	-0,84	3,72E-6	-1,06	3,73E-6	-0,92
22c	*	3,36E-6	-0,42	3,04E-6	-0,39	2,23E-5	-2,09	1,89E-5	-1,85
22d	*	4,97E-6	-1,31	6,25E-6	-1,28	4,99E-6	-0,84	7,29E-6	-1,19
22e	*	7,60E-6	-0,22	1,44E-6	-0,50	1,86E-2	-0,23	2,41E-5	-0,95
22f	*	1,73E1	-0,10	2,18E-5	-0,56	1,62E-5	-0,67	1,57E-5	-1,13
22g	*	4,10E-6	-0,24	4,52E-6	-0,31	5,75E-5	-1,35	7,91E-5	-2,14
22h	*	1,96E-5	-1,27	9,47E-6	-1,45	1,57E-5	-1,27	1,54E-5	-0,80
22i	*	4,13E-6	-1,04	2,84E-6	-0,88	4,77E-6	-1,47	4,91E-6	-1,04
23a	*	1,02E-6	-0,81	5,96E-7	-0,60	2,50E-6	-5,00	2,25E-6	-4,61
23c	*	1,05E-6	-0,68	7,45E-7	-0,59	1,90E-6	-1,96	2,10E-6	-2,54
23d	*	2,21E-6	-2,01	1,76E-6	-1,19	1,86E-6	-2,55	1,88E-6	-1,87
23e	*	2,68E-4	-0,22	1,57E-4	-0,19	3,48E-6	-1,80	1,94E-6	-2,82
24a		1,84E-6	-0,90	1,61E-6	-0,65	2,09E-5	-1,80	2,51E-5	-1,57
24c		1,99E-6	-0,96	1,50E-6	-0,76	1,59E-5	-3,06	1,70E-5	-3,05

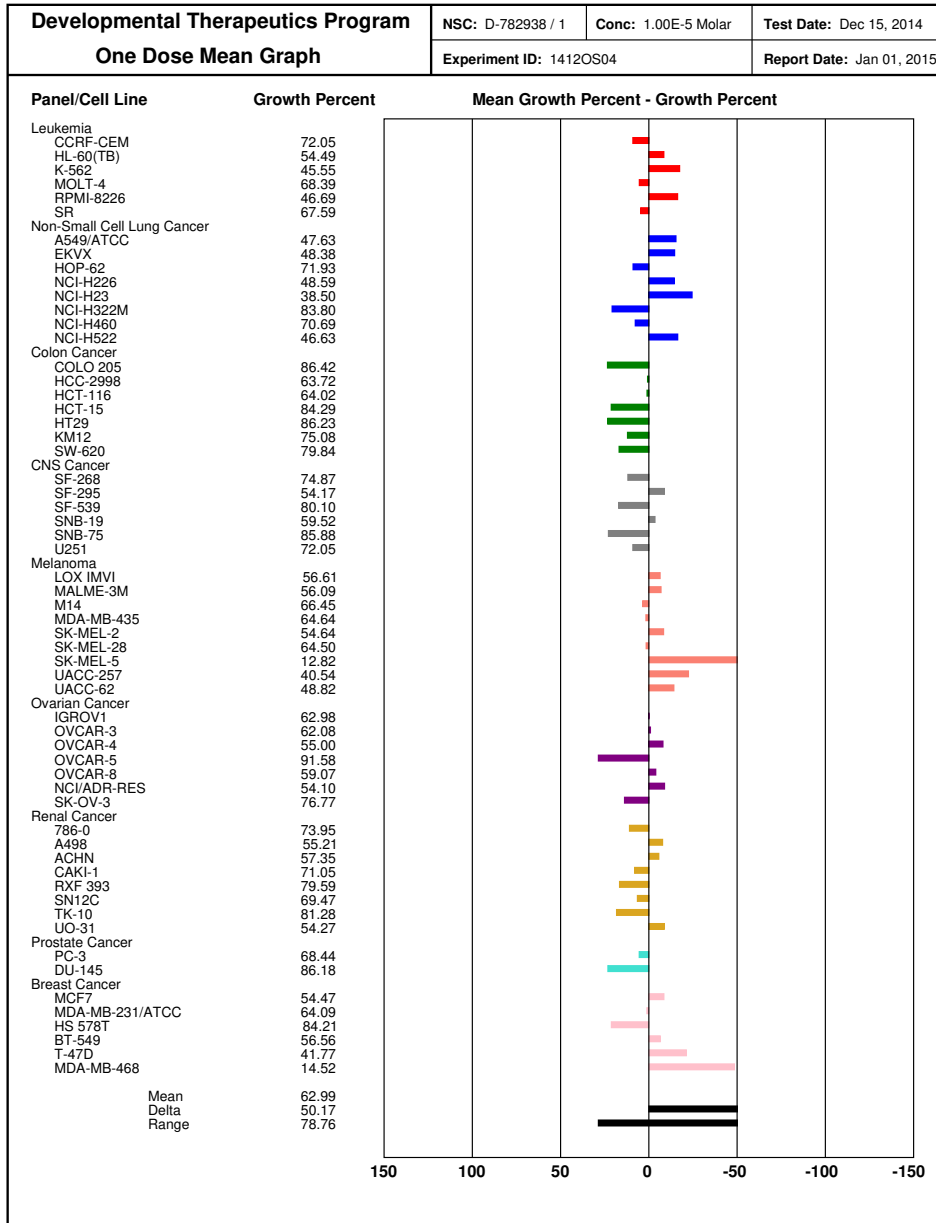
Tabelle 7.4: Gemessene IC<sub>50</sub>-Werte und Kurvenanstiege der zweiten Testreihe. IC<sub>50</sub>-Werte außerhalb des vermessenen Konzentrationsbereiches und Kurvenanstiege größer als -0,4 sind ausgegraut. Ein Sternchen in der 2. Spalte zeigt, dass es während des Assays bei hohen Substanzkonzentrationen zu Löslichkeitsniederschlägen kam. Die zugehörigen Ausreißer in den Aktivitätsmessungen wurden von Berechnung der IC<sub>50</sub>-Kurven ausgeschlossen.

# 8 *In vitro* Testung am Zellmodell

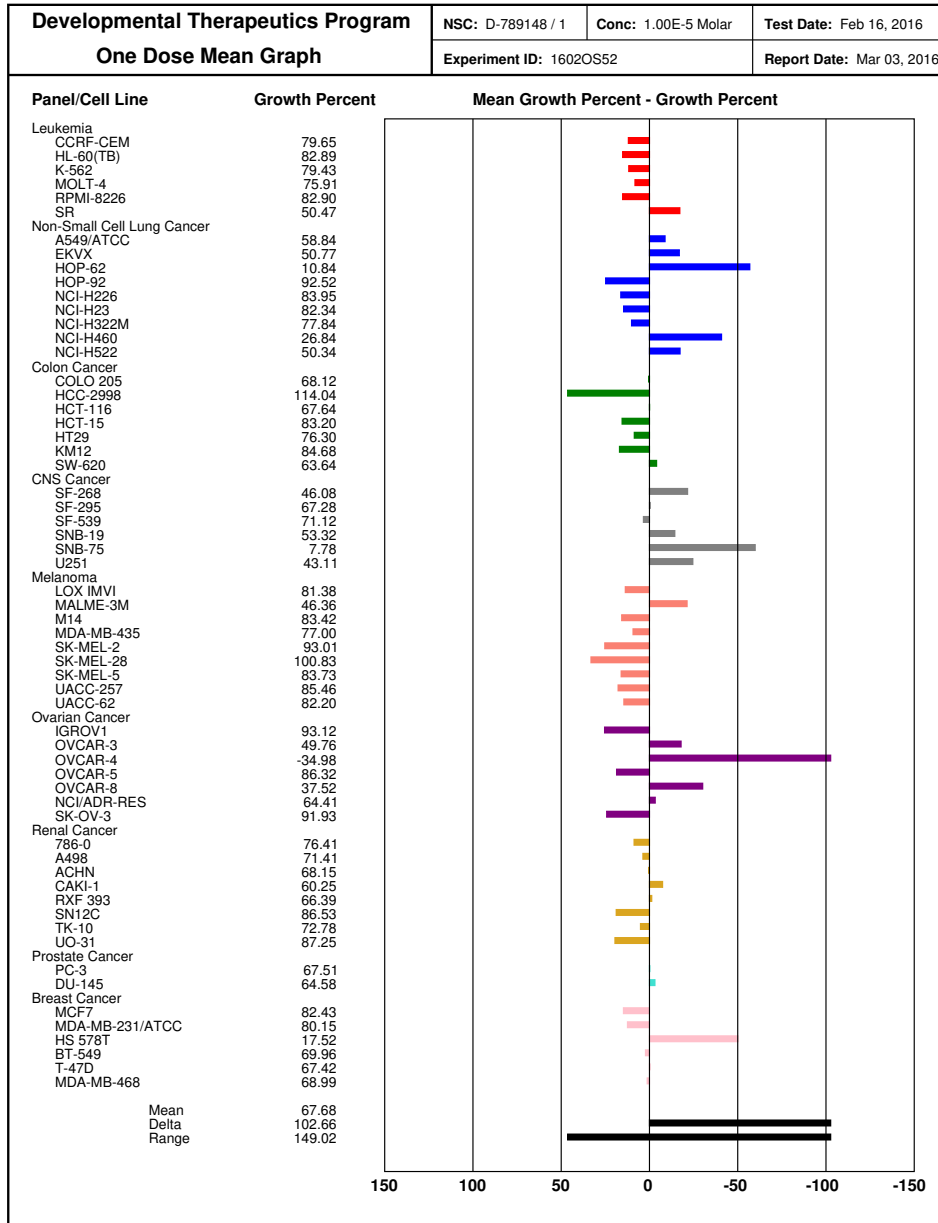
## 8.1 Ergebnisse von 9c



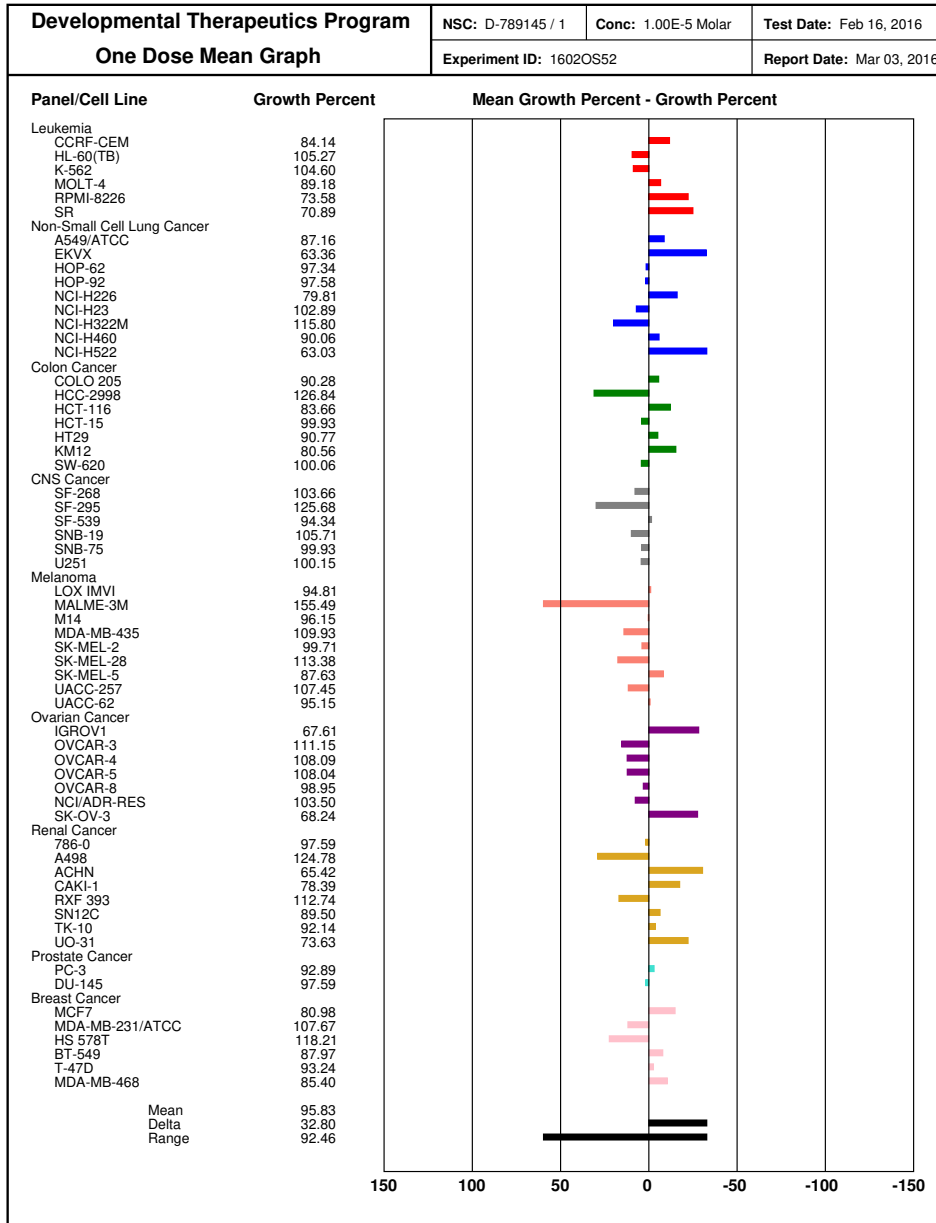
## 8.2 Ergebnisse von 9g



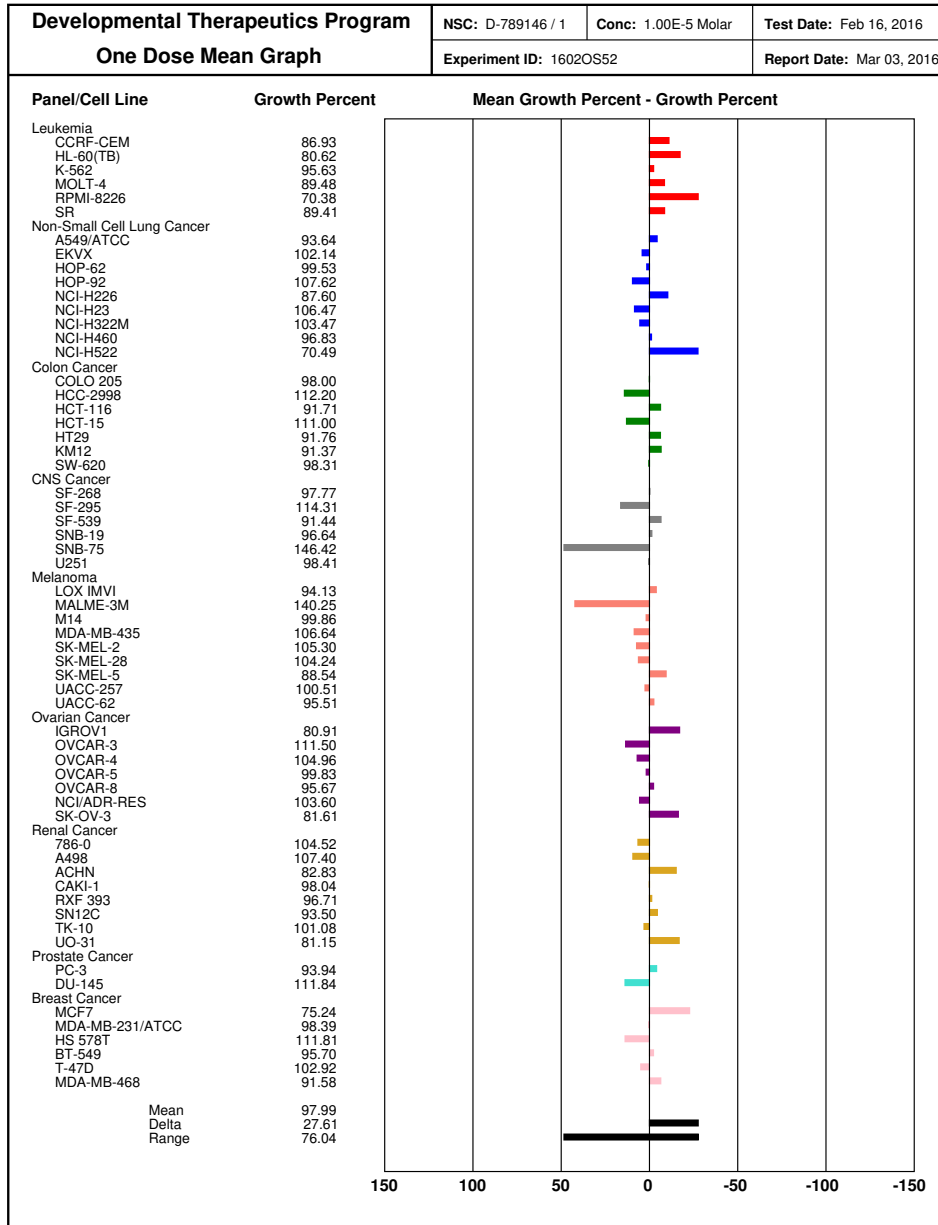
### 8.3 Ergebnisse von 19c



## 8.4 Ergebnisse von 23a

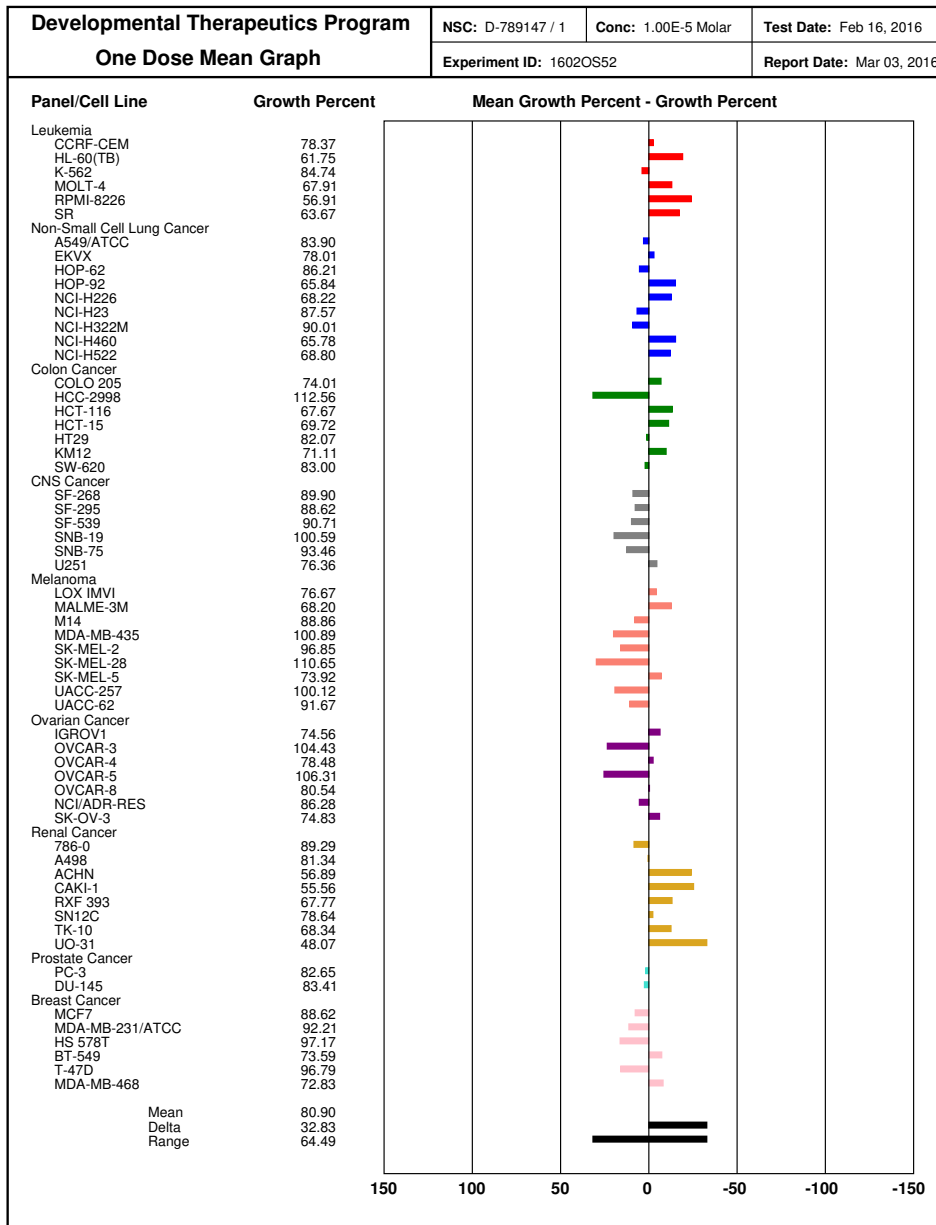


## 8.5 Ergebnisse von 23c





## 8.6 Ergebnisse von 23d





# Literaturverzeichnis

- [1] Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Dtl. e.V. *Krebs in Deutschland 2011/2012*. Berlin, 2015.
- [2] Peter Vaupel, Hans-Georg Schaible und Ernst Mutschler. *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*. 7. Auflage. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2015.
- [3] Bundesministerium für Gesundheit. *Früherkennung von Krebs*. 2016.
- [4] Ernst Mutschler u. a. *Mutschler Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2008.
- [5] Ulrich Jaehde. *Klinische Pharmazie. Grundlagen und Anwendung*. 3. Auflage. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2010.
- [6] Herbert Renz-Polster, Hrsg. *Basislehrbuch Innere Medizin. kompakt, greifbar, verständlich*. 4. Auflage. München ; Jena: Elsevier, Urban & Fischer, 2008.
- [7] Karl-Anton Kreuzer und Jörg Beyer, Hrsg. *Hämatologie und Onkologie. fallorientierte Darstellung - rationale Diagnostik und Therapie*. Stuttgart ; New York: Georg Thieme Verlag, 2016.
- [8] Beverly A Teicher. *Cancer drug resistance*. Springer Science & Business Media, 2007.
- [9] J Hatina u. a. „Tumorstammzellen-ein neues Konzept in der Tumorbiologie“. In: *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift* 132.31/32 (2007), S. 1629–1632.
- [10] Brian P Rubin und Anette Duensing. „Mechanisms of resistance to small molecule kinase inhibition in the treatment of solid tumors“. In: *Laboratory investigation* 86.10 (2006), S. 981–986.
- [11] D Li u. a. „BIBW2992, an irreversible EGFR/HER2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models“. In: *Oncogene* 27.34 (2008), S. 4702–4711.
- [12] Y Yarden. „The EGFR family and its ligands in human cancer: signalling mechanisms and therapeutic opportunities“. In: *European journal of cancer* 37 (2001), S. 3–8.
- [13] Nicola Normanno u. a. „Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer“. In: *Gene* 366.1 (2006), S. 2–16.

- [14] Thomas PJ Garrett u. a. „Crystal structure of the first three domains of the type-1 insulin-like growth factor receptor“. In: *Nature* 394.6691 (1998), S. 395–399.
- [15] Fortunato Bianconi u. a. „Computational model of EGFR and IGF1R pathways in lung cancer: a systems biology approach for translational oncology“. In: *Biotechnology advances* 30.1 (2012), S. 142–153.
- [16] Anna Vulpetti und Roberta Bosotti. „Sequence and structural analysis of kinase ATP pocket residues“. In: *Il farmaco* 59.10 (2004), S. 759–765.
- [17] Cai-Hong Yun u. a. „Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity“. In: *Cancer cell* 11.3 (2007), S. 217–227.
- [18] H. M. Berman u. a. *The Protein Data Bank*. 2000. URL: [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) (besucht am 17.08.2016).
- [19] Floriana Morgillo u. a. „Heterodimerization of insulin-like growth factor receptor/epidermal growth factor receptor and induction of survivin expression counteract the antitumor action of erlotinib“. In: *Cancer research* 66.20 (2006), S. 10100–10111.
- [20] Johann Riedemann u. a. „The EGF receptor interacts with the type 1 IGF receptor and regulates its stability“. In: *Biochemical and biophysical research communications* 355.3 (2007), S. 707–714.
- [21] Stefan Lohse u. a. „An anti-EGFR IgA that displays improved pharmacokinetics and myeloid effector cell engagement in vivo“. In: *Cancer research* 76.2 (2016), S. 403–417.
- [22] Jean-Pierre Delord u. a. „Open-label, multicentre expansion cohort to evaluate imgatuzumab in pre-treated patients with KRAS-mutant advanced colorectal carcinoma“. In: *European Journal of Cancer* 50.3 (2014), S. 496–505.
- [23] Corey J Langer u. a. „Randomized, phase III trial of first-line figitumumab in combination with paclitaxel and carboplatin versus paclitaxel and carboplatin alone in patients with advanced non-small-cell lung cancer“. In: *Journal of Clinical Oncology* (2014), JCO–2013.
- [24] Suresh S. Ramalingam u. a. „Randomized Phase II Study of Erlotinib in Combination With Placebo or R1507, a Monoclonal Antibody to Insulin-Like Growth Factor-1 Receptor, for Advanced-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer“. In: *Journal of Clinical Oncology* 29.34 (2011), S. 4574–4580.

- 
- [25] Alberto S Pappo u. a. „R1507, a monoclonal antibody to the insulin-like growth factor 1 receptor, in patients with recurrent or refractory Ewing sarcoma family of tumors: results of a phase II Sarcoma Alliance for Research through Collaboration study“. In: *Journal of Clinical Oncology* 29.34 (2011), S. 4541–4547.
- [26] Rebecca Croasdale u. a. „Development of tetravalent IgG1 dual targeting IGF-1R–EGFR antibodies with potent tumor inhibition“. In: *Archives of biochemistry and biophysics* 526.2 (2012), S. 206–218.
- [27] Juergen M Schanzer u. a. „XGFR\*, a novel affinity-matured bispecific antibody targeting IGF-1R and EGFR with combined signaling inhibition and enhanced immune activation for the treatment of pancreatic cancer“. In: *mAbs*. Taylor & Francis. 2016, S. 1–17.
- [28] Stuart L Emanuel u. a. „A fibronectin scaffold approach to bispecific inhibitors of epidermal growth factor receptor and insulin-like growth factor-I receptor“. In: *MAbs*. Bd. 3. 1. Taylor & Francis. 2011, S. 38–48.
- [29] Nele Van Der Steen u. a. „New developments in the management of non-small-cell lung cancer, focus on rociletinib: what went wrong?“ In: *OncoTargets and therapy* 9 (2016), S. 6065.
- [30] Sarah L Greig. „Osimertinib: First Global Approval“. In: *Drugs* 76.2 (2016), S. 263–273.
- [31] Xiao Xu. „Parallel phase 1 clinical trials in the US and in China: accelerating the test of avitinib in lung cancer as a novel inhibitor selectively targeting mutated EGFR and overcoming T790M-induced resistance“. In: *Chinese journal of cancer* 34.3 (2015), S. 1.
- [32] Carlos García-Echeverría u. a. „In vivo antitumor activity of NVP-AEW541—a novel, potent, and selective inhibitor of the IGF-IR kinase“. In: *Cancer cell* 5.3 (2004), S. 231–239.
- [33] Nikolaos Ioannou u. a. „Treatment with a combination of the ErbB (HER) family blocker afatinib and the IGF-IR inhibitor, NVP-AEW541 induces synergistic growth inhibition of human pancreatic cancer cells“. In: *BMC cancer* 13.1 (2013), S. 1.
- [34] Mark J Mulvihill u. a. „Discovery of OSI-906: a selective and orally efficacious dual inhibitor of the IGF-1 receptor and insulin receptor“. In: *Future medicinal chemistry* 1.6 (2009), S. 1153–1171.
- [35] Natasha B Leighl u. a. „Phase 2 Study of Erlotinib in Combination With Linsitinib (OSI-906) or Placebo in Chemotherapy-Naive Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer and Activating Epidermal Growth Factor Receptor Mutations“. In: *Clinical Lung Cancer* (2016).

- [36] U.S. National Library of Medicine. *ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health*. 2014. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02546544?term=Linsitinib&rank=1> (besucht am 10.11.2016).
- [37] Joan M Carboni u. a. „BMS-754807, a small molecule inhibitor of insulin-like growth factor-1R/IR“. In: *Molecular cancer therapeutics* 8.12 (2009), S. 3341–3349.
- [38] Mark J Axelrod u. a. „Synergistic apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma cells by co-inhibition of insulin-like growth factor-1 receptor signaling and compensatory signaling pathways“. In: *Head & neck* 37.12 (2015), S. 1722–1732.
- [39] Robert D Hubbard u. a. „Development of multitargeted inhibitors of both the insulin-like growth factor receptor (IGF-IR) and members of the epidermal growth factor family of receptor tyrosine kinases“. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 19.6 (2009), S. 1718–1721.
- [40] Steve D Fidanze u. a. „Imidazo [2, 1-b] thiazoles: multitargeted inhibitors of both the insulin-like growth factor receptor and members of the epidermal growth factor family of receptor tyrosine kinases“. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 20.8 (2010), S. 2452–2455.
- [41] Martin Krug. „Entwicklung, Synthese und biologische Evaluation neuartiger selektiver Proteinkinaseinhibitoren“. Dissertation. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2009.
- [42] Martin Krug u. a. „Discovery and selectivity-profiling of 4-benzylamino 1-aza-9-oxafluorene derivatives as lead structures for IGF-1R inhibitors“. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 20.23 (2010), S. 6915–6919.
- [43] Martin Krug u. a. „Discovery of 4-Benzylamino-Substituted  $\alpha$ -Carbolines as a Novel Class of Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors“. In: *ChemMedChem* 6.1 (2011), S. 63–72.
- [44] John Derek Cocker und Ian Gregory Gordon. „1-Aza-9-oxafluorenes“. Patent DE2022024(A1). 1970.
- [45] Robert Pschorr. „Neue synthese des phenanthrens und seiner derivate“. In: *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 29.1 (1896), S. 496–501.
- [46] Heinz G. O. Becker und Rainer Beckert. *Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum*. 23. Auflage. Wiley-VCH, 2009.
- [47] Daniel Vorländer und Felix Meyer. „Aromatische Diazoniumsalze und ammoniakalische Kupferoxydullösung“. In: *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 320.1 (1902), S. 122–144.

- [48] Moses Gomberg und Werner E. Bachmann. „The synthesis of biaryl compounds by means of the diazo reaction“. In: *Journal of the American Chemical Society* 46.10 (1924), S. 2339–2343.
- [49] Fritz Ullmann. „Ueber eine neue bildungsweise von diphenylaminderivaten“. In: *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 36.2 (1903), S. 2382–2384.
- [50] Traugott Sandmeyer. „Ueber die Ersetzung der Amidgruppe durch Chlor in den aromatischen Substanzen“. In: *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 17.2 (1884), S. 1633–1635.
- [51] Heinrich Zollinger. *Diazo Chemistry I. Aromatic and Heteroaromatic Compounds*. Wiley-VCH, 1994.
- [52] Thomas Laue und Andreas Plagens. *Namen- und Schlagwort-Reaktionen der Organischen Chemie*. 5. Auflage. Teubner Verlag, 2006.
- [53] National Center for Biotechnology Information. *PubChem*. 2016. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (besucht am 18.01.2016).
- [54] Reinhard Brückner. *Reaktionsmechanismen. Organische Reaktionen, Stereochemie, Moderne Synthesemethoden*. 2. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, 2009.
- [55] Wanda Peczynska-Czoch u. a. „Synthesis and structure-activity relationship of methyl-substituted indolo [2, 3-b] quinolines: novel cytotoxic, DNA topoisomerase II inhibitors“. In: *Journal of medicinal chemistry* 37.21 (1994), S. 3503–3510.
- [56] Andrew D Wadsworth, Briar J Naysmith und Margaret A Brimble. „A review of the synthesis of  $\alpha$ -carbolines“. In: *European journal of medicinal chemistry* 97 (2015), S. 816–829.
- [57] Zerong Wang. *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents, 3 Volume Set*. Wiley-Interscience, 2009. ISBN: 0471704504.
- [58] Kazem Ahmed Mahmoud. „Development of Novel Protein Kinase Inhibitors as Potential Therapeutics for Breast Cancer“. Dissertation. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2013.
- [59] Charles E Mortimer und Ulrich Müller. *Chemie: Das Basiswissen der Chemie. Mit Übungsaufgaben und Lösungen*. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, 2003.
- [60] Autorenkollektiv. *Europäisches Arzneibuch 8. Ausgabe*. 1. Auflage. Deutscher Apotheker Verlag, 2014.
- [61] Łukasz J Weseliński, Ryan Luebke und Mohamed Eddaoudi. „A Convenient Preparation of 9H-Carbazole-3, 6-dicarbonitrile and 9H-Carbazole-3, 6-dicarboxylic Acid“. In: *Synthesis* 46.05 (2014), S. 596–599.

- [62] Hanhui Xu und Christian Wolf. „Efficient copper-catalyzed coupling of aryl chlorides, bromides and iodides with aqueous ammonia“. In: *Chemical Communications* 21 (2009), S. 3035–3037.
- [63] Xiaodong Wang u. a. „Polycyclic pyrazines as potassium ion channel modulators“. Patent. US Patent 7,642,354. Jan. 2010.
- [64] Harry Raymond Ing und Richard Helmuth Fred Manske. „CCCXII.—A modification of the Gabriel synthesis of amines“. In: *Journal of the Chemical Society (Resumed)* 129 (1926), S. 2348–2351.
- [65] Ji-Wei Wu u. a. „Benzoic Acid-Catalyzed Transamidation Reactions of Carboxamides, Phthalimide, Ureas and Thioamide with Amines“. In: *Advanced Synthesis & Catalysis* 356.11-12 (2014), S. 2429–2436.
- [66] Hong-Zheng Li u. a. „A multipathway coupled domino strategy: I 2-mediated oxidative thionation for direct synthesis of thiobenzamides from miscellaneous substrates“. In: *Tetrahedron Letters* 56.43 (2015), S. 5843–5846.
- [67] Prakash B Palde und Timothy F Jamison. „Safe and Efficient Tetrazole Synthesis in a Continuous-Flow Microreactor“. In: *Angewandte Chemie International Edition* 50.15 (2011), S. 3525–3528.
- [68] Volkmar Tell u. a. „Multitargeted drug development: Discovery and profiling of dihydroxy substituted 1-aza-9-oxafluorenes as lead compounds targeting Alzheimer disease relevant kinases“. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 22.22 (2012), S. 6914–6918.
- [69] National Cancer Institute. *Molecular Target Data*. 2015. URL: <https://wiki.nci.nih.gov/display/NCIDTPdata/Molecular+Target+Data> (besucht am 05.09.2016).
- [70] H. Ibelgaufts. *COPE Cytokines and Cells Online Pathfinder Encyclopedia*. 2013. URL: <http://archive.is/20130210155435/http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?key=A431> (besucht am 12.09.2016).
- [71] Eun Sung Park u. a. „Integrative analysis of proteomic signatures, mutations, and drug responsiveness in the NCI 60 cancer cell line set“. In: *Molecular cancer therapeutics* 9.2 (2010), S. 257–267.
- [72] Deborah K Armstrong u. a. „Epidermal growth factor-mediated apoptosis of MDA-MB-468 human breast cancer cells“. In: *Cancer Research* 54.20 (1994), S. 5280–5283.
- [73] Laura Sepp-Lorenzino, Neal Rosen und David E Lebowitz. „Insulin and insulin-like growth factor signaling are defective in the MDA MB-468 human breast cancer cell line“. In: *Cell Growth and Differentiation-Publication American Association for Cancer Research* 5.10 (1994), S. 1077–1084.



- [74] Sartorius Basic Elektronische Analysen- und Präzisionswaagen. Göttingen.
- [75] SCALTEC SBA/SBC Aufstellungs- und Betriebsanleitung. Göttingen, 2001.
- [76] Excellence Analytical Balances XS Models – Part 1. Greifensee Schweiz, 2012.
- [77] Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. *NMR-Spektrometer*. 2016. URL: [http://www.chemie.uni-halle.de/bereiche\\_der\\_chemie/organische\\_chemie/nmr/forschung/](http://www.chemie.uni-halle.de/bereiche_der_chemie/organische_chemie/nmr/forschung/) (besucht am 21.11.2016).
- [78] American Chemical Society. *SciFinder*<sup>®</sup>. 2016. URL: <https://scifinder.cas.org> (besucht am 18.01.2016).
- [79] John L Buchanan u. a. „Discovery of 2, 4-bis-arylamino-1, 3-pyrimidines as insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) inhibitors“. In: *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 21.8 (2011), S. 2394–2399.
- [80] ProQuinase GmbH. *ProQuinase*. 2002. URL: <http://www.proquinase.com> (besucht am 20.07.2016).
- [81] *EGF-R wt epidermal growth factor receptor*. Certificate of Analysis. Freiburg, 2012.
- [82] *IGF1-R insulin-like growth factor 1 receptor*. Certificate of Analysis. Freiburg, 2012.
- [83] Ji-Hu Zhang, Thomas DY Chung und Kevin R Oldenburg. „A simple statistical parameter for use in evaluation and validation of high throughput screening assays“. In: *Journal of biomolecular screening* 4.2 (1999), S. 67–73.
- [84] Philip W Iversen u. a. „A comparison of assay performance measures in screening assays: signal window, Z'factor, and assay variability ratio“. In: *Journal of biomolecular screening* 11.3 (2006), S. 247–252.
- [85] National Cancer Institute. *DTP Developmental Therapeutics Program*. 2015. URL: [https://dtp.cancer.gov/discovery\\_development/nci-60/methodology.htm](https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm) (besucht am 12.09.2016).
- [86] Michaël Parmentier, Philippe Gros und Yves Fort. „Pyridino-directed lithiation of anisylpyridines: new access to functional pyridylphenols“. In: *Tetrahedron* 61.13 (2005), S. 3261–3269.
- [87] Cédric Schneider u. a. „Synthesis of 2-, 3-, and 4-Substituted Pyrido [2, 3-b] indoles by C–N, C–O, and C–C (sp) Bond Formation“. In: *European Journal of Organic Chemistry* 2010.34 (2010), S. 6665–6677.
- [88] Charles William Shoppee. „88. Symmetrical triad prototropic systems. Part VIII. The analogy between symmetrical triad systems and aromatic side-chain reactivity, and the effect of m-substitution on mobility and equilibrium in the  $\alpha$   $\gamma$ -diphenylmethylenazomethine system“. In: *Journal of the Chemical Society (Resumed)* (1932), S. 696–711.

- [89] Charles William Shoppee. „CLXIII.—Symmetrical triad prototropic systems. Part VII. The analogy between symmetrical triad systems and aromatic side-chain reactivity, and the effect of p-substitution on mobility and equilibrium in the  $\alpha\gamma$ -diphenylmethylenazomethine system“. In: *Journal of the Chemical Society (Resumed)* (1931), S. 1225–1240.

# Angaben zu Person und Bildungsgang

## Persönliche Daten

Cornelius Hempel  
Huttenstr. 12  
04249 Leipzig  
\* 27. September 1988, Zittau  
männlich, deutsch, verheiratet

## Werdegang

1995–1999	Pestalozzi-Grundschule Großschönau
1999–2007	Oberland-Gymnasium Seifhennersdorf allgemeine Hochschulreife
2007–2008	Wehrersatzdienst
2008–2012	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Studium der Pharmazie, Staatsexamen
11. 2012–04. 2013	Institut für Pharmazie, MLU Halle-Wittenberg Pharmaziepraktikum
05. 2013–10. 2013	Bernstein-Apotheke, Greifswald Pharmaziepraktikum
11. 2013	pharmazeutische Prüfung, Note: gut (1,90)
seit 11. 2013	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Promotion im Fachbereich pharmazeutische Chemie
01. 2014	Approbation als Apotheker
seit 07. 2015	Burg-Apotheke, Halle a. d. Saale

# Publikationsliste

## Papers

A. Hilgeroth, C. Baumert, C. Coburger, M. Seifert, S. Krawczyk, C. Hempel, F. Neubauer, M. Krug, J. Molnár, H. Lage: „Novel structurally varied *N*-alkyl-1,4-dihydropyridines as ABCB1 inhibitors: structure-activity relationships, biological activity and first bioanalytical evaluation“. In: *Medicinal Chemistry* 9.4 (2013), S. 487–493.

C. Hempel, A. Najjar, F. Totzke, C. Schächtele, W. Sippl, C. Ritter, A. Hilgeroth: „Discovery of dually acting small-molecule inhibitors of cancer-resistance relevant receptor tyrosine kinases EGFR and IGF-1R“. In: *MedChemComm* 7.11 (2016), S. 2159–2166.

C. Hempel, F. Totzke, C. Schächtele, A. Najjar, W. Sippl, C. Ritter, A. Hilgeroth: „Discovery of novel dual inhibitors of receptor tyrosine kinases EGFR and IGF-1R“. In: *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 32.1 (2017), S. 271–276.

## Poster

A. Hilgeroth, V. Tell, K. A. Mahmoud, I. Hilbrich, K. Wichapong, M. Holzer, C. Hempel, C. Schächtele, F. Totzke, W. Sippl: „Novel inhibitors of AD relevant kinases: structure-activity relationships and first in vitro activity data“. In: *Alzheimer's and Parkinson's Diseases: Mechanisms, Clinical Strategies, and Promising Treatments of Neurodegenerative Diseases* Bd. 11. Suppl.1 (2013). Hrsg. von 11th International Conference AD/PD.

# Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, gemäß § 5 der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften – der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die, den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Weiterhin erkläre ich, dass ich bisher keine vergeblichen Promotionsversuche unternommen habe. Diese Dissertationsschrift wurde ausschließlich der Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegt. Sie wurde an keiner anderen Einrichtung weder im In- noch Ausland zur Erlangung des Doktorgrades eingereicht.

Cornelius Hempel

Leipzig, 3. Februar 2017

# Stellungnahme zur Qualität der massenspektrometrischen Daten und der Elementaranalysen

Im Rahmen der Verteidigung der vorliegenden Dissertation am 15. Juni 2017 wurden seitens der Promotionskommission vor allem die Qualität der massenspektrometrischen Daten und Elementaranalysen bemängelt. Eine Stellungnahme dazu wurde gefordert. Dieser Forderung soll hiermit nachgekommen werden.

## Massenspektrometrie

Massenspektrometrische Messungen wurden durchgeführt, um nach der Synthese einen Hinweis auf die Entstehung des gewünschten Produktes zu erhalten. Die gemessenen Werte sind auf 0,1 Da genau angegeben.

Die Genauigkeit der verwendeten Methode ist nicht ausreichend, um die Elementarzusammensetzung der Verbindungen zu bestätigen. Dafür ist ein Massenspektrometer mit einer Massengenauigkeit von 1 ppm nötig.

Der hier aufgeführte Wert wurde beispielhaft für die Verbindung **9c** (Summenformel:  $C_{18}H_{14}BrN_3O$ ) mit dem Online-Tool<sup>1</sup> des *Institute of chemical sciences and engineering* errechnet. Ein isotopenreines Molekül der Beispielverbindung hat ein Molekulargewicht von 367,0320 u. Da sich im Massenspektrum charakteristische Isotopenpeaks zeigen, können einige Struktureinschränkungen gemacht werden: Das gesuchte Molekül enthalte genau ein Bromatom sowie keine weiteren Heteroatome außer Sauerstoff und Stickstoff. Unter diesen Voraussetzungen ließe sich die erwartete Summenformel der Beispielverbindung massenspektrometrisch bestätigen (siehe Tabelle 1).

## Elementaranalyse

Um die Reinheit der hergestellten Testverbindungen zu prüfen, wurden Elementaranalysen durchgeführt. In einigen Fällen musste diese Prüfung entfallen, da nicht genügend

---

<sup>1</sup>[http://www.chemcalc.org/mf\\_finder](http://www.chemcalc.org/mf_finder)

Summenformel	Molekulargewicht (u)	Massenabweichung (ppm)
$C_{18}H_{14}BrN_3O$	367,0320	0,0
$C_4H_{16}BrN_8O_7$	367.0325	1,4
$C_{16}H_{12}BrN_6$	367.0307	3,6
$C_{20}H_{16}BrO_2$	367.0334	3,7
$C_6H_{18}BrN_5O_8$	367.0339	5,1

Tabelle 1: Summenformeln mit den dazugehörigen monoisotopischen Massen und deren Abweichung zur Beispielverbindung in *parts per million*.

Substanz zur Verfügung stand. Einige der angegebenen Werte der Elementaranalyse weichen zu stark von den theoretisch berechneten Werten ab. Von reinen Substanzen kann ausgegangen werden, wenn der experimentell bestimmte Massenanteil an Kohlenstoff um nicht mehr als 0,5 % vom berechneten Wert abweicht. Bei allen Stoffen, die eine größere Abweichung zeigen oder für die keine Elementaranalyse durchgeführt wurde, muss davon ausgegangen werden, dass sie verunreinigt sind. Alle darauf aufbauenden Untersuchungen sollten dahingehend kritisch bewertet werden. Eine Reinigung der Verbindungen könnte z. B. chromatographisch erreicht werden.