





Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München



# **Carbazol- und $\beta$ -Carbolin-Derivate als neuartige Kinase-Inhibitoren**

von  
Benjamin Strödke  
aus  
Bad Friedrichshall  
2008



## Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von §13 Abs. 3 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. Franz Bracher betreut.

## Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 01.04.2008



(Benjamin Strödke)

Dissertation eingereicht am

11.04.08

1. Gutachter:

Prof. Dr. F. Bracher

2. Gutachter:

Prof. Dr. E. Reimann

Mündliche Prüfung am

23.05.08



## Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. Bracher für seine stets großzügige Unterstützung und wohlwollende Förderung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch den Mitgliedern der Prüfungskommission, insbesondere Herrn Prof. Dr. E. Reimann für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Ferner danke ich:

Herrn Dr. H. Lerche, Herrn Dr. L. Allmendinger und Ihrem Team für die Anfertigung der NMR- und Massenspektren, Herrn H. Schulz, Frau G. Käser und Herrn R. Eicher für die Durchführung der elementaranalytischen Untersuchungen und Herrn Dr. M. Mayer für Röntgenstrukturanalysen.

Herrn Dr. L. Meijer, Roscoff, Herrn Dr. S. Knapp, Oxford, Herrn Prof. Dr. M. Jung, Freiburg, und Herrn Prof. Dr. J. Lehmann, Jena, für die Testung meiner Substanzen auf inhibitorische Aktivitäten, Frau M. Stadler für die Durchführung des MTT-Assays und des Agar-Diffusionstests.

Frau T. Höft für die Unterstützung zur Durchführung des 2.Semesters und Herrn Dr. G. Höfner und Frau E. Zoller für die Hilfe bei der Übernahme des 2.Semesters als Oberassistent.

Herrn Dr. J. Krauß für viele wertvollen Diskussionen und Anregungen sowie seinen fachlichen Rat bei einer Tasse Tee.

Allen aktuellen und ehemaligen Kollegen und Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die gute Zusammenarbeit und die vielen schönen Stunden, die ich dank Ihnen während meiner Zeit hier verbringen durfte.

Danken möchte ich dabei Herrn Dr. K. Görler, Herrn C. Mayer, Frau M. Hass und Frau S. Hemmers für die gute Zusammenarbeit und Ihre große Unterstützung bei der Durchführung des 2.Semesters.

Mein besonderer Dank gilt Frau U. Kopp und Frau M. Klimt für ihre stets großzügige Hilfe bei der Organisation, sowie Auf- und Abbau, diverser Feiern.

Des Weiteren möchte ich besonders meinen ehemaligen Laborkollegen Frau Dr. S. Sproll, Frau Dr. G. Guazzelli, Frau Dr. C. Neudert und Herrn Dr. M. Lotter für die Einführung in das praktische Arbeiten und die Zeit im Labor danken.

Besonderer Dank gebührt meinen Laborkollegen Herrn Dr. M. Baltrusch, Herrn Dr. K. Huber und Herrn F. Lirk für Ihre Unterstützung im Labor in guten wie in schlechten Zeiten, Ihren fachlichen Rat und Lebensweisheiten und nicht zuletzt für Ihre Freundschaft.

Herrn F. Ortner und Frau C. Sulzinger danke ich für Ihre Arbeitskraft und der Bereicherung meiner Arbeit mit Ihrem „Schweiß“.

Ferner möchte ich allen Beteiligten der „Teestube“ für Ihre langjährige Freundschaft und Unterstützung, sowie den Mitgliedern des PDM für die Erweiterung meines Horizonts danken.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, meinem Bruder Sebastian und natürlich meiner Freundin Svea für Ihre Unterstützung, Ihr offenes Ohr und Ihre Geduld, die immer für mich da waren, wenn ich Sie gebraucht habe.



*Der Langsamste, der sein Ziel nicht aus den Augen verliert,  
geht immer noch geschwinder als der ohne Ziel umherirrt.  
(Gotthold Ephraim Lessing)*

Für  
meine Familie  
und  
Svea

*Ich habe fertig!  
(Giovanni Trapattoni)*



## Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Das Kinom .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Serin/Threoninkinasen.....</b>	<b>3</b>
1.2.1. BIKE (BMP2 inducible protein kinase) .....	3
1.2.1.1. Physiologische Bedeutung von BIKE.....	3
1.2.1.2. BIKE-Inhibitoren/-Aktivatoren .....	4
1.2.2. Haspin (haploid germ cell specific nuclear protein kinase) .....	4
1.2.2.1. Physiologische Bedeutung von Haspin.....	4
1.2.2.2. Haspin-Inhibitoren.....	6
1.2.3. CDK (cyclin dependent kinase) .....	6
1.2.3.1. Physiologische Bedeutung von CDK's.....	6
1.2.3.2. CDK-Inhibitoren .....	8
1.2.4. CLK1 (cdc2-like kinase).....	11
1.2.4.1. Physiologische Bedeutung von CLK's .....	11
1.2.4.2. CLK-Inhibitoren.....	13
1.2.5. DRAK1 (DAP kinase-related apoptosis-inducing protein kinase 1) .....	13
1.2.5.1. Physiologische Bedeutung von DRAK1 .....	13
1.2.5.2. Modulatoren von DRAK1 .....	14
1.2.6. PIM-Kinasen (proviral integration site murine leukemia virus) .....	15
1.2.6.1. Physiologische Bedeutung von PIM-Kinasen .....	15
1.2.6.2. PIM-Kinase-Inhibitoren .....	16
<b>1.3. Sirtuine.....</b>	<b>19</b>
1.3.1. Physiologische Bedeutung der Sirtuine .....	19
1.3.2. SIRT-Inhibitoren.....	19
<b>2. THEMENSTELLUNG UND SYNTHESEPLANUNG.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1. Themenstellung.....</b>	<b>23</b>
2.1.1. Desaza-Derivate von Annomontin mit Carbazol als Grundkörper .....	24
2.1.2. Desazaderivate von Annomontin mit $\beta$ -Carbolin als Grundgerüst .....	25

2.1.3. Modifikation der Aminogruppe mit unterschiedlichen Ringen .....	25
2.1.4. Synthese von verschiedenen $\beta$ -Carbolin- und Carbazolcarbonsäureamiden .....	26
<b>2.2. Syntheseplanung .....</b>	<b>27</b>
2.2.1. Desaza-Derivate von Annomontin mit Carbazol als Grundkörper .....	27
2.2.1.1. 1-(1-Aminopyrimidin-4-yl)-carbazol .....	27
2.2.1.2. 1-(3-Aminophenyl)-carbazol .....	30
2.2.2. Desazaderivate von Annomontin mit $\beta$ -Carbolin als Grundgerüst .....	30
2.2.2.1. Pyridyl- $\beta$ -carboline .....	30
2.2.2.2. 1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin .....	32
2.2.3. Modifikation der Aminogruppe mit unterschiedlichen Ringen .....	32
2.2.4. Synthese von verschiedenen $\beta$ -Carbolin- und Carbazolcarbonsäureamiden .....	33
<b>3. SYNTHESSEN .....</b>	<b>35</b>
<b>3.1. Desazaderivate von Annomontin .....</b>	<b>35</b>
3.1.1. Carbazol-Analoga von Annomontin .....	35
3.1.1.1. 1-Acetylcarbazol .....	36
3.1.1.1.1. 1-Acetylcarbazol mittels (Photo-)Fries-Umlagerung .....	36
3.1.1.1.2. Synthese von 1-Acetylcarbazol über organometallische Verbindungen	40
3.1.1.2. Synthese von 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-carbazol .....	45
3.1.1.3. Synthese von 1-(3-Aminophenyl)-9 <i>H</i> -carbazol .....	52
3.1.2. Desaza- $\beta$ -carbolin-Analoga von Annomontin .....	54
3.1.2.1. 1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin .....	55
3.1.2.2. Aminopyridyl- $\beta$ -carboline .....	56
3.1.2.2.1. Aminopyridyl- $\beta$ -carboline über die Bischler-Napieralski-Reaktion .....	59
3.1.2.2.1.1. Synthese der Aminopyridincarbonsäuren .....	59
3.1.2.2.1.2. Die Bischler-Napieralski-Synthese.....	60
3.1.2.2.1.3. Verschiedene Methoden für die Amidbildung .....	62
3.1.2.2.1.4. Versuche zum Ringschluss zum Dihydro- $\beta$ -carbolin.....	67
3.1.2.2.2. 2-Aminopyridyl- $\beta$ -carboline über die Pictet-Spengler-Reaktion .....	72
3.1.2.2.2.1. Synthese der Pyridincarbaldеhyde .....	72
3.1.2.2.2.2. Die Pictet-Spengler-Reaktion.....	80

3.1.2.2.3. Versuche zur Synthese von Pyridyl- $\beta$ -carbolinen .....	82
<b>3.2. Carbazol- und <math>\beta</math>-Carbolinderivate mit N-substituierten Aminopyrimidylsubstituenten in 1-Position.....</b>	<b>86</b>
3.2.1. Synthese der Guanidin-Bausteine .....	88
3.2.2. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidylcarbazolen .....	91
3.2.3. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidyl- $\beta$ -carbolinen.....	101
<b>3.3. Carbazol- und <math>\beta</math>-Carbolin-1-carbonsäureamide.....</b>	<b>107</b>
3.3.1. Synthese der Carbazol-1-carbonsäureamide .....	108
3.3.2. Synthese der $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäureamide .....	112
<b>4. BIOLOGISCHE TESTUNG.....</b>	<b>115</b>
<b>4.1. Agar-Diffusionstest.....</b>	<b>115</b>
4.1.1. Testergebnisse .....	116
4.1.2. Diskussion der Testergebnisse.....	118
<b>4.2. MTT-Test.....</b>	<b>120</b>
4.2.1. Testergebnisse .....	121
4.2.2. Diskussion der Testergebnisse.....	124
<b>4.3. Hemmung der Acetyl- und Butyrylcholinesterase.....</b>	<b>125</b>
4.3.1. Testergebnisse .....	126
4.3.2. Diskussion der Testergebnisse.....	126
<b>4.4. Sirtuin-Test.....</b>	<b>127</b>
4.4.1. Testergebnisse .....	127
4.4.2. Diskussion der Testergebnisse.....	128
<b>4.5. CDK-Inhibition (CDK1/Cyclin B-Histon H1 Kinase Assay) ...</b>	<b>129</b>
4.5.1. Testergebnisse .....	129
4.5.2. Diskussion der Testergebnisse.....	130
<b>4.6. SGC Oxford High-Throughput Kinase-Screening.....</b>	<b>131</b>
4.6.1. Testergebnisse .....	134
4.6.2. Diskussion der Testergebnisse.....	137
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>141</b>

<b>5.1. Desazaderivate von Annomontin .....</b>	<b>141</b>
5.1.1. Synthese der Carbazol-Analoga von Annomontin .....	141
5.1.2. Synthese der $\beta$ -Carbolin-Analoga von Annomontin .....	145
<b>5.2. Synthese von Carbazol- und <math>\beta</math>-Carbolinderivaten mit N-substituierten Aminopyrimidylsubstituenten in 1-Position .....</b>	<b>150</b>
5.2.1. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidylcarbazolen .....	150
5.2.2. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidyl- $\beta$ -carbolinen.....	152
<b>5.3. Synthese von Carbazol- und <math>\beta</math>-Carbolincarbonsäureamiden .....</b>	<b>154</b>
5.3.1. Synthese der Carbazolcarbonsäureamide.....	155
5.3.2. Synthese der $\beta$ -Carbolincarbonsäureamide .....	156
<b>5.4. Biologische Testung .....</b>	<b>157</b>
<b>6. EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>	<b>159</b>
<b>6.1. Allgemeine Angaben zu Geräten und Arbeitstechniken .....</b>	<b>159</b>
<b>6.2. Beschreibung der Substanzen .....</b>	<b>161</b>
1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-9 <i>H</i> -carbazol (29).....	161
1-(3-Aminophenyl)-9 <i>H</i> -carbazol (30) .....	163
1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin (33).....	165
1-Acetyl-9 <i>H</i> -carbazol (40).....	167
Pyrido[3,2,1- <i>jk</i> ]-9 <i>H</i> -carbazol-4-on (45).....	169
1-Acetyl-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9 <i>H</i> -carbazol (106) .....	171
1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9 <i>H</i> -carbazol (108)	173
6-Acetylamino-pyridin-2-carbonsäure-[2-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)-ethyl]-amid (130) .....	175
2-Nitro-pyridin-4-carbaldehyd (174) .....	177
6-Nitro-pyridin-2-carbaldehyd (175) .....	178
N,N-Dimethyl-[2-(2-nitro-pyridin-4-yl)-vinyl]-amin (182) .....	179
N,N-Dimethyl-[2-(6-nitro-pyridin-2-yl)-vinyl]-amin (183) .....	180
1-[2-(Phenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9 <i>H</i> -carbazol (226) .....	181
1-[2-(Phenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9 <i>H</i> -carbazol (227) .....	183

1-[2-(3-Trifluormethylphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9-(2-trimethylsilanyl-ethoxy- methyl)-9 <i>H</i> -carbazol (228) .....	185
1-[2-(4-Methoxyphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)- 9 <i>H</i> -carbazol (229) .....	187
1-[2-(3-Trifluormethylphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9 <i>H</i> -carbazol (230) .....	189
1-[2-(4-Methoxyphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9 <i>H</i> -carbazol (231) .....	191
1-(Pyrazolo[1,5- <i>a</i> ]pyrimidin-7-yl)-9-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-9 <i>H</i> -carbazol (232), 1-(Pyrazolo[1,5- <i>a</i> ]pyrimidin-5-yl)-9-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-9 <i>H</i> -car- bazol (233) .....	193
1-(Pyrazolo[1,5- <i>a</i> ]pyrimidin-7-yl)-9 <i>H</i> -carbazol (234), 1-(Pyrazolo[1,5- <i>a</i> ]pyrimidin-5- yl)-9 <i>H</i> -carbazol (235) .....	195
1-(Imidazo[1,2- <i>a</i> ]pyrimidin-5-yl)-9-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-9 <i>H</i> -carbazol (243), 1-(Imidazo[1,2- <i>a</i> ]pyrimidin-7-yl)-9-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-9 <i>H</i> -carba- zol (244) .....	197
1-(Imidazo[1,2- <i>a</i> ]pyrimidin-5-yl)-9 <i>H</i> -carbazol (245), 1-(Imidazo[1,2- <i>a</i> ]pyrimidin-7- yl)-9 <i>H</i> -carbazol (246) .....	199
1-[2-(4-Methyl-piperazin-1-yl)-pyrimidin-4-yl]- $\beta$ -carbolin (253) .....	201
1-[2-(Phenylamino)-pyrimidin-4-yl]- $\beta$ -carbolin (254) .....	203
1-[2-(4-Methoxyphenylamino)-pyrimidin-4-yl]- $\beta$ -carbolin (256) .....	205
1-(Pyrazolo[1,5- <i>a</i> ]pyrimidin-7-yl)- $\beta$ -carbolin (257) .....	207
1-(Imidazo[1,2- <i>a</i> ]pyrimidin-5-yl)-9 <i>H</i> - $\beta$ -carbolin (259), 1-(Imidazo[1,2- <i>a</i> ]pyrimidin-7- yl)-9 <i>H</i> - $\beta$ -carbolin (260) .....	209
9 <i>H</i> -Carbazol-1-carbonsäuremethylamid (261) .....	211
9 <i>H</i> -Carbazol-1-carbonsäuredimethylamid (262) .....	213
9 <i>H</i> -Carbazol-1-carbonsäureamid (263) .....	215
9 <i>H</i> -Carbazol-1-carbonsäurepiperidinamid (264) .....	217
9 <i>H</i> -Carbazol-1-carbonsäuremorpholinamid (265) .....	219
9 <i>H</i> -Carbazol-1-carbonsäure-N-methylpiperazinamid (267) .....	221
$\beta$ -Carbolin-1-carbonsäuremethylamid (268) .....	223
$\beta$ -Carbolin-1-carbonsäuredimethylamid (269) .....	225
$\beta$ -Carbolin-1-carbonsäurepiperidinamid (270) .....	227
<b>6.3. Testmethoden</b> .....	<b>229</b>
6.3.1. Agar-Diffusionstest .....	229
6.3.2. MTT-Test .....	230

6.3.3. Acetyl- und Butyrylcholinesterase-Test.....	231
6.3.4. Sirtuin-Test .....	232
6.3.5. SGC Oxford High-Troughput Kinase-Screening .....	233
<b>7. ANHANG .....</b>	<b>234</b>
<b>7.1. Verzeichnis der Abkürzungen .....</b>	<b>234</b>
<b>7.2. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>238</b>

# 1. Einleitung

## 1.1. Das Kinom

Unter dem Begriff Kinom versteht man die Gesamtheit aller in einer einzelnen Zelle, wie es bei Einzellern der Fall ist, oder einem Organismus exprimierten Kinasen. Der Name lehnt sich an den Begriff Genom, der die Gesamtheit aller Gene eines Organismus oder einer Zelle bezeichnet, und den Begriff Proteom, der alle exprimierten Proteine einer Zelle oder eines Organismus bezeichnet, an.

Als Kinasen bezeichnet man allgemein eine Gruppe von Enzymen, die die Übertragung von Phosphatgruppen auf andere Proteine katalysieren. Als Phosphorylierungsreagenz dient üblicherweise ATP (Adenosintriphosphat), das bei der Übertragung von Phosphat zu ADP (Adenosindiphosphat) umgewandelt wird. Proteinkinasen spielen eine wichtige Rolle in vielen Signaltransduktionswegen und regulieren verschiedene zelluläre Funktionen wie das Fortschreiten des Zellzyklus, Apoptose, Metabolismus, Differenzierung, Morphologie und Migration der Zelle sowie die Sekretion zellulärer Proteine. Störungen in der Regulation dieser Vorgänge sind wichtige Schlüsselfaktoren bei einer Vielzahl von Erkrankungen. Daher stellt die Modulation der Kinaseaktivität, besonders durch niedermolekulare Stoffe, eine attraktive Strategie zur Entwicklung neuer Wirkstoffe dar.

Proteinkinasen gehören zur größten individuellen Familie von Enzymen, den Transferasen. Das humane Kinom, dessen Charakterisierung 2002 abgeschlossen wurde, umfasst insgesamt 518 einzelne Kinasen<sup>1</sup>. Dies entspricht einem Anteil von etwa zwei Prozent aller vom humanen Genom kodierten Proteine. Proteinkinasen können weiter in zwei Hauptfamilien unterteilt werden, nach denen die eine bevorzugt Phosphat auf Serin- oder Threonin-Reste der Zielproteine überträgt, die andere dagegen Tyrosin-Reste phosphoryliert. Nach Hanks und Hunter<sup>2</sup> können die humanen Kinasen in Gruppen, Familien und Unterfamilien klassifiziert werden, wobei die Einteilung primär durch Sequenzvergleich der katalytischen Domäne erfolgte (Abb. 1). Die für diese Arbeit relevanten Proteinkinase-Familien gehören größtenteils zu den Gruppen CMGC (benannt nach den in ihr enthaltenen Familien CDK, MAPK, GSK3 und CLK) und CAMK (Calcium/Calmodulin regulated kinases and structurally related kinase families) und sind in Abb. 1 farbig markiert.

# 1. Einleitung

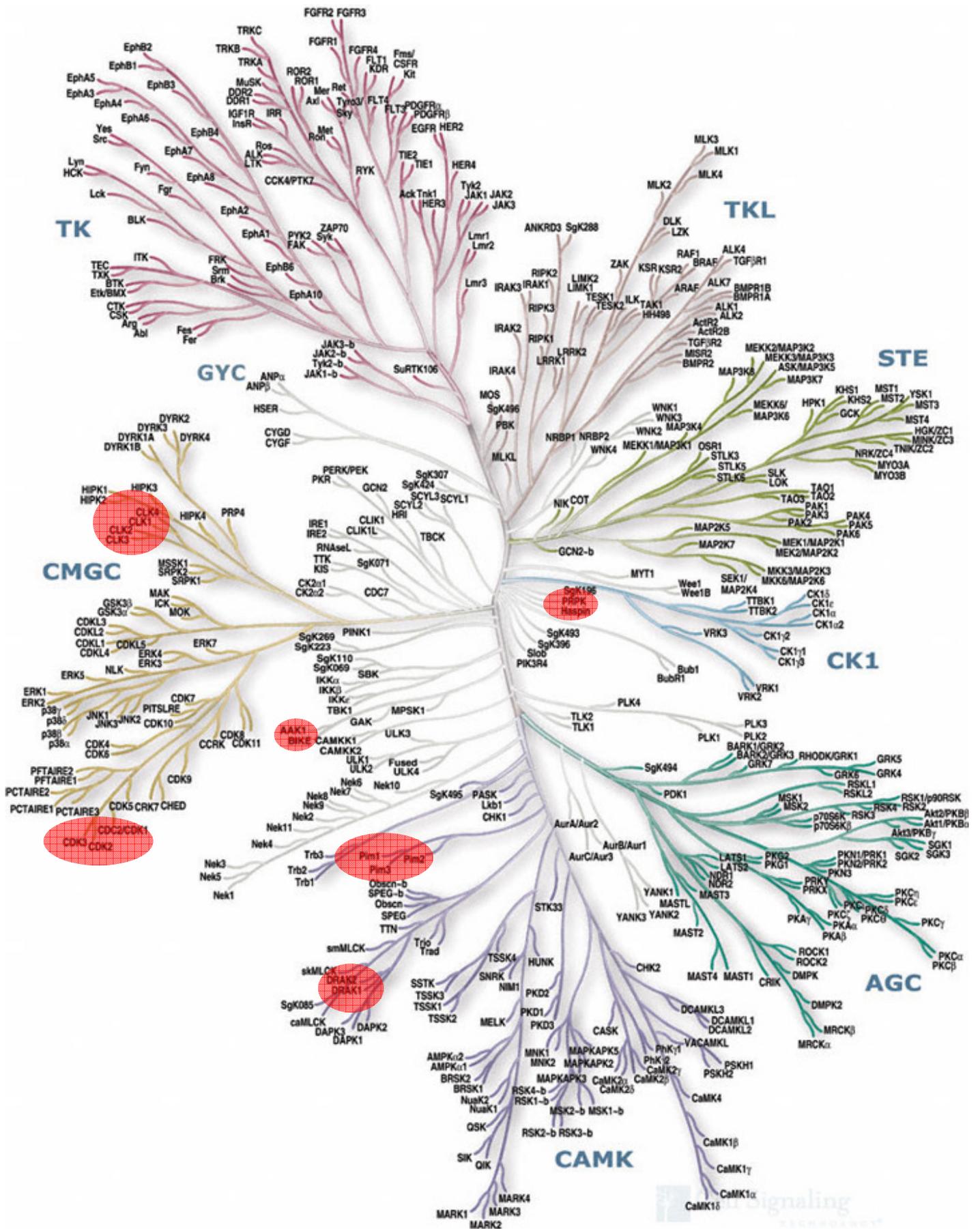


Abb. 1: Gruppen-, Familien- und Unterfamilieneinteilung des Kinoms nach Lit. 1

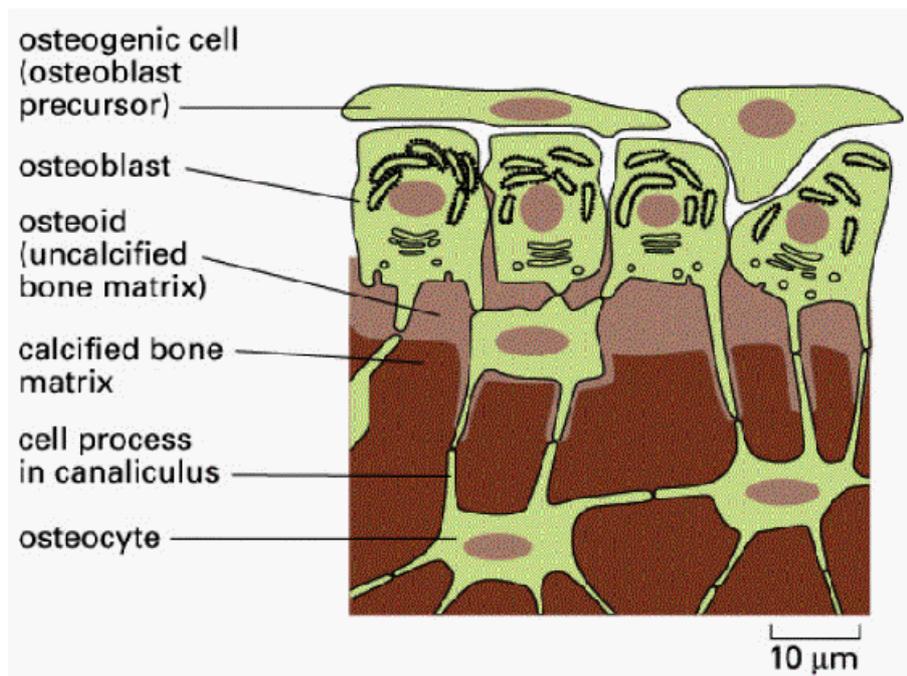
## 1.2. Serin/Threoninkinasen

Diese Arbeit konzentrierte sich größtenteils auf die Synthese von Serin/Threonin-Kinase-Inhibitoren. Da eine Auflistung und Erklärung aller Familien und Unterfamilien den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, werden im Folgenden nur die relevanten Familien BIKE (BMP2K), CDK, CLK, DRAK (STK17A), Haspin (GSG2) und PIM genauer vorgestellt.

### 1.2.1. BIKE (BMP2 inducible protein kinase)

#### 1.2.1.1. Physiologische Bedeutung von BIKE

BIKE gehört zur Gruppe der Serin/Threonin-Kinasen. Die Abkürzung steht hierbei für BMP2 inducible protein kinase und stellt eine Unterfamilie in der Familie der NAK (numb associated kinase) dar. Nach Abb. 1 gibt es eine Reihe von Kinasen, die keiner Gruppe zugeordnet werden können. BIKE ist eine dieser Kinasen. Eine für den Menschen wichtige Kinase dieser Familie ist BMP2K (BMP2 inducible kinase). BMP steht dabei für bone morphogenic protein und gehört zur Gruppe des TGF- $\beta$ -Transduktionssystems (transforming growth factor). Es wird vermutet, dass BMP2K eine wichtige Rolle in der Osteoblastendifferenzierung zukommt.



**Abb. 2:** Osteoblastenentwicklung im Knochen

BMP's werden im Knochenmark produziert und bewirken die Produktion von Cbfa1 (core binding factor alpha1). Dieses führt zur Genaktivierung und der Differenzierung der Osteoblastenvorläuferzellen in Osteoblasten. Osteoblasten sind für den Knochenaufbau zuständig (Abb. 2). Osteoblasten bauen ein sogenanntes Osteoid, ein weiches Gewebe, auf, das durch Calcifizierung gefestigt wird. Sind Osteoblasten vollständig von der harten Knochenmatrix umgeben, nennt man sie Osteozyten. Die Gegenspieler der Osteoblasten sind die Osteoklasten.

Durch Aktivierung oder Inhibierung von BMP's kann damit das Knochenwachstum beeinflusst werden. Viele Krebspatienten leiden im späten Stadium der Erkrankung an Knochenmetastasen, die zu starken Schmerzen führen. Diese Knochenmetastasen wirken auf den Knochen osteoblastisch, also aufbauend, oder osteolytisch, also zerstörend. Durch Beeinflussung dieser Prozesse könnte die Lebensqualität dieser Patienten wesentlich verbessert werden.

### **1.2.1.2. BIKE-Inhibitoren/-Aktivatoren**

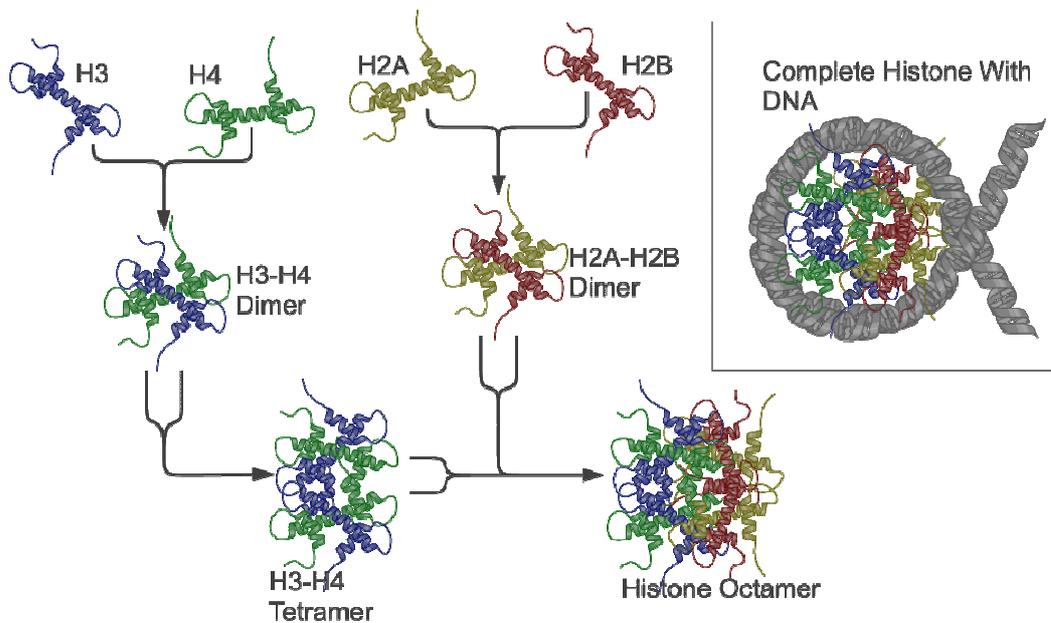
Zurzeit wird auf diesem Gebiet intensiv geforscht. Da für die Behandlung von Knochtumoren sowohl Aktivatoren als auch Inhibitoren des Knochenwachstums Verwendung finden können, werden auch in der Forschung in beiden Richtungen Anstrengungen unternommen. Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind leider noch keine selektiven Inhibitoren oder Aktivatoren für BIKE beschrieben worden.

### **1.2.2. Haspin (haploid germ cell specific nuclear protein kinase)**

#### **1.2.2.1. Physiologische Bedeutung von Haspin**

Haspin (haploid germ cell specific nuclear protein kinase) ist auch unter dem Namen GSG2 (germ cell-specific gene 2) bekannt. Der Name leitet sich daher ab, dass Haspin zuerst nur in Keimzellen von Mäusen in hoher Konzentration und nicht in anderen Zellen gefunden wurde. Heute weiß man, dass Haspin in allen Zellen zu finden ist. Haspin kann, genauso wie BIKE, keiner der großen Gruppen von Kinasen zugeordnet werden.

Weitere Untersuchungen haben ergeben, dass Haspin Threonin<sup>3</sup> am Histon H3 phosphoryliert<sup>3</sup>. Histone sind Bestandteile des Chromatins und für die Komprimierung der DNA in der Zelle erforderlich. Da das Genom von Eukaryonten besonders groß ist, muss es stark, in den sogenannten Chromosomen, verdichtet werden. Die Untereinheiten von Chromosomen bezeichnet man als Nukleosomen, die wiederum aus acht Histonen aufgebaut sind (Abb. 3).



**Abb. 3:** Aufbau eines Nukleosoms aus Histonen

Es sind fünf unterschiedliche Histone bekannt: H1, H2A, H2B, H3, H4. Für das Nukleosom lagern sich zuerst H3 und H4 und H2A und H2B zu jeweils einem Dimer zusammen. Zwei H3/H4-Dimere fusionieren dann zu einem H3/H4-Tetramer, welches dann mit zwei H2A/H2B-Dimeren das Oktamer des Nukleosoms bildet.

Die Phosphorylierung von Thr<sup>3</sup> an H3 durch Haspin hat zur Folge, dass sich die Chromosomen während der Mitose und Meiose korrekt aneinanderlagern können, so dass im Umkehrschluss eine Hemmung von Haspin die Zellteilung verhindert. Eine Hyperphosphorylierung führt paradoxerweise auch zu einer Arretierung der Zellteilung<sup>3</sup>. Also ist die Balance der Haspin-Aktivität für die Zellteilung sehr wichtig. Eine mögliche therapeutische Anwendung von Modulatoren der Haspin-Aktivität stellen Tumore mit einer hohen Teilungsrate dar.

### 1.2.2.2. Haspin-Inhibitoren

Wegen der oben dargestellten Problematik ist die Forschung nach geeigneten Wirkstoffen zur Modulation der Aktivität von Haspin sehr problematisch. Im Jahr 2006 wurden erstmals „Inhibitoren“ von Haspin beschrieben. Als Inhibitoren kamen siRNA und Peptide zum Einsatz, die Haspin hemmten. Die Peptide könnten in phosphorylierter Form dazu genutzt werden, um Antikörper zu produzieren, die gezielt H3-Histone erkennen und inhibieren<sup>4</sup>. Es bleibt abzuwarten, wie sich die Forschung an diesem Gebiet weiterentwickelt. Effektive, niedermolekulare Haspin-Inhibitoren sind bisher aber nicht beschrieben.

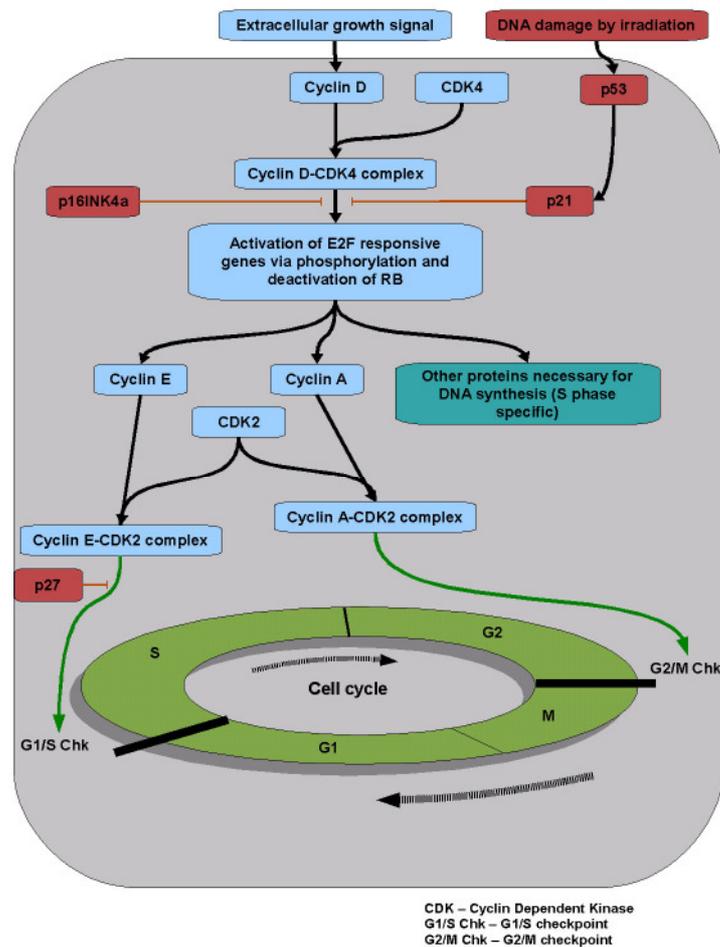
### 1.2.3. CDK (cyclin dependent kinase)

#### 1.2.3.1. Physiologische Bedeutung von CDK's

Cyclin-abhängige Kinasen (CDK) gehören zur Gruppe der heterodimeren Proteinkinasen der Serin/Threonin-Kinasen-Familie und der CMGC-Gruppe. Sie bestehen aus einer regulatorischen und einer katalytischen Untereinheit, dem Cyclin und der Kinase. Sie spielen eine große Rolle in der Kontrolle des Zellzyklus, da sie die Aktivität zahlreicher an der Mitose beteiligter Enzyme regulieren. Für die Entdeckung und Aufklärung der Regulation des Zellzyklus durch Cycline und CDK's erhielten Hartwell, Hunt und Nurse 2001 den Nobelpreis für Medizin<sup>5</sup>. Die Cycline bilden Komplexe mit den Cyclin-abhängigen Kinasen und regulieren dadurch deren Aktivität und somit das Fortschreiten des Zellzyklus<sup>6</sup>. Bis dato wurden elf CDK's identifiziert, von denen sechs (CDK1 bis CDK4 sowie CDK6 und 7) eine unmittelbare und entscheidende Rolle bei der Regulation des Zellzyklus spielen<sup>7</sup>. CDK5 und CDK8 bis CDK11 sind vornehmlich an der Kontrolle der Transkription beteiligt und üben somit indirekt Einfluss auf den Zellzyklus aus. Ihre vollständige Bedeutung ist bisher aber noch nicht vollständig geklärt. Die elf bisher beschriebenen Cycline (A1 und A2, B1 bis B3, D1 bis D3, sowie E1 bis E2 und H) bilden je nach Typ unterschiedlich und wiederum in Abhängigkeit der Phase des Zellzyklus mit den verschiedenen CDK's Komplexe und steuern so viele wichtige Funktionen während der Zellteilung<sup>8</sup>. Mit Hilfe sogenannter „checkpoints“, sowie Restriktionspunkten wird sichergestellt, dass der Zellzyklus nur in einer Richtung und fehlerfrei durch-

## 1. Einleitung

laufen wird. Es ist jedoch falsch zu denken, dass die Cycline und CDK's die einzigen „Kontrolleure“ des komplizierten und vernetzten Zellzyklus sind. Cycline können nicht nur proteolytisch abgebaut werden, sondern sie können selbst von anderen, sogenannten CDK-aktivierenden Kinasen (CAK), durch Phosphorylierung in ihrer Aktivität reguliert werden. Darüber hinaus wird die Replikation unter anderem durch das Tumorsuppressorgen p53 kontrolliert und von der Zelle werden je nach Bedarf eigene CDK-Inhibitoren synthetisiert. Auch durch extrazelluläre Stimuli kann der Zellzyklus reguliert und beeinflusst werden. Einen Einblick in das kompliziert vernetzte Werk der Zellteilung bietet Abb. 4<sup>8, 9</sup>.

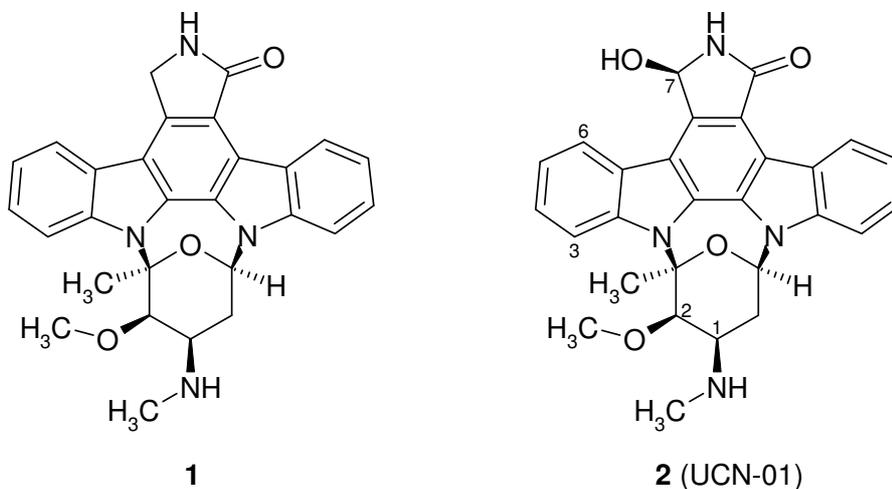


**Abb. 4:** Regulation des Zellzyklus<sup>10</sup>

Auch wenn in den meisten Tumoren keine Mutation in den Genen für die Bildung von CDK zu finden sind, haben Störungen oder Defekte der CDK-regulierenden Faktoren eine entscheidende Bedeutung bei einer Vielzahl von Tumoren. Aus diesem Grund bieten CDK-Inhibitoren einen eleganten und neuen Ansatz für die Tumorbekämpfung.

### 1.2.3.2. CDK-Inhibitoren

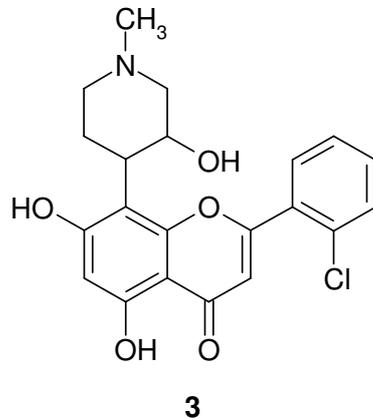
In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl an CDK-Inhibitoren entdeckt, von denen sich einige zur Zeit in der klinischen Studien der Phasen II oder III für die Tumorthherapie befinden. Durch Röntgenkristallstrukturanalysen konnten weitere Erkenntnisse über die Struktur-Wirkungsbeziehungen (SAR) gewonnen werden, die wichtig für die Entwicklung neuerer CDK-Inhibitoren sind. Der Wirkmechanismus der meisten CDK-Inhibitoren beruht auf der Verdrängung von ATP aus der Bindungstasche. Da ATP in verschiedenen Bindungstaschen im Körper umgesetzt wird, muss eine ausreichende Selektivität gewährleistet sein, die durch weitere molekulare Wechselwirkungen der Inhibitoren mit dem Enzym erreicht wird. Da ATP nicht mit allen Aminosäuren der Bindungstasche Wechselwirkungen eingeht, konnten sich die Bindungstaschen im Lauf der Evolution geringfügig verändern, ohne dass die Wirkung beeinflusst wurde. Diese veränderten Aminosäuren sind die nötige Voraussetzung und der Grund, warum es überhaupt erst möglich ist, selektive CDK-Inhibitoren zu entwickeln. Nachfolgend werden nun einige unspezifische und spezifische CDK-Inhibitoren genauer vorgestellt.



**Abb. 5:** Staurosporin und 7-Hydroxystaurosporin

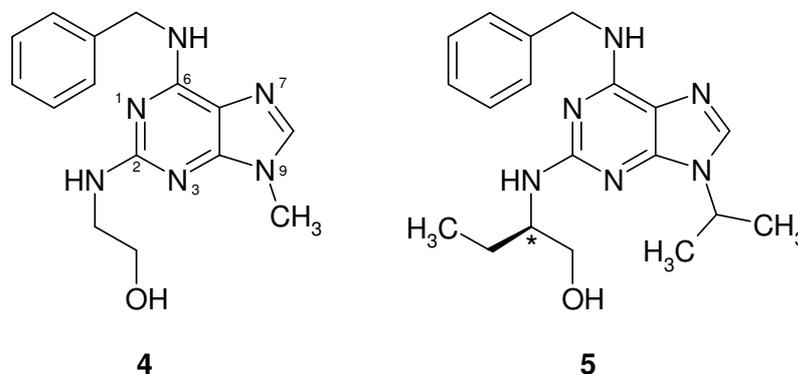
Die beiden Naturstoffe Staurosporin (**1**) und 7-Hydroxystaurosporin (**2**, Abb. 5) wurden aus *Streptomyces staurosporeus* isoliert. Sie sind sehr potente CDK-Inhibitoren, die einen IC<sub>50</sub>-Wert im nanomolaren Bereich aufweisen. Als Strukturmerkmal ist die Bis-Indolstruktur auffällig, die Vorbild für zahlreiche weitere Kinase-Inhibitoren war. Die IC<sub>50</sub>-Werte von **1** sind geringer als die von UCN-01 (**2**), aber dafür ist **2** wesentlich selektiver als **1**, das sehr unspezifisch zahlreiche Kinasen

inhibiert und über eine hohe Zytotoxizität verfügt. 7-Hydroxystaurosporin (**2**) arretiert den Zellzyklus in der G<sub>1</sub>-Phase und führt zur Induktion von Apoptose. Die Substanz befindet sich derzeit in klinischen Studien der Phase I.



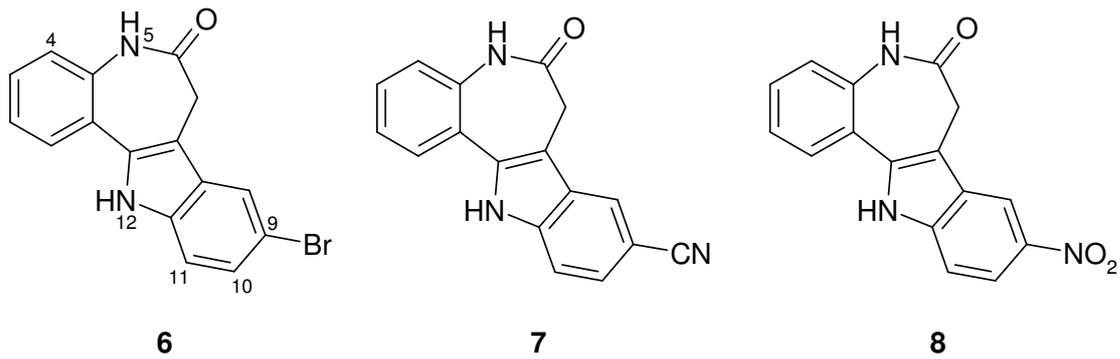
**Abb. 6:** Flavopiridol

Das semisynthetisch gewonnene Flavonoid Flavopiridol (**3**, Abb. 6) ist ein unselektiver Hemmstoff mehrerer CDK's und stoppt den Zellzyklus in der G<sub>1</sub>- bzw. G<sub>2</sub>-Phase. **3** befindet sich momentan in Phase II von klinischen Studien.



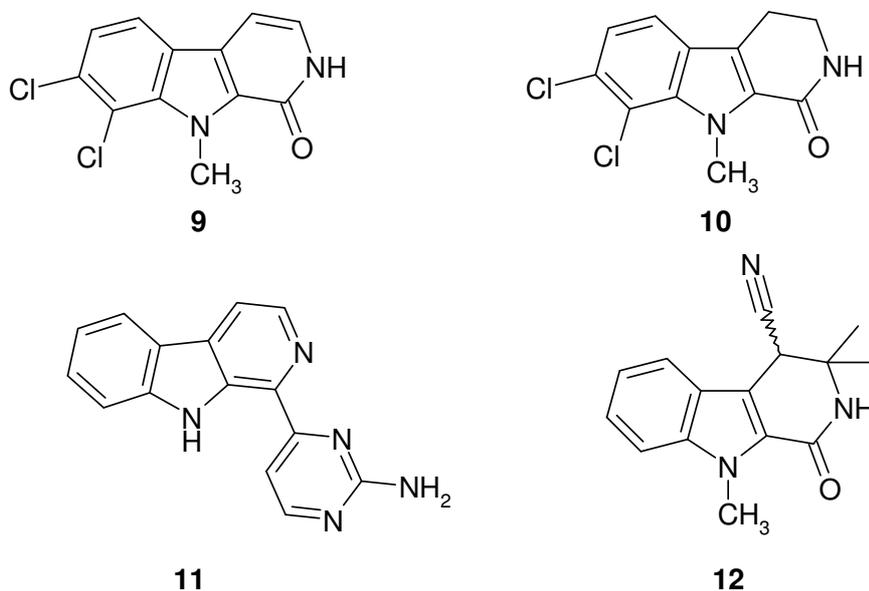
**Abb. 7:** Olomoucine und R-Roscovitin

Olomoucine (**4**) besitzt als Grundkörper einen Purinkörper und zeigt moderate Aktivität und Selektivität als CDK-Inhibitor. Durch Röntgenstrukturanalysen konnten SAR abgeleitet werden, die zur Entwicklung von weiteren Substanzen wie R-Roscovitin (**5**) führten, das eine 10-fache höhere Aktivität im Vergleich zu **4** aufweist (Abb. 7). Die Selektivität scheint durch die Benzylaminogruppe in Position 6, die hydrophobe Wechselwirkungen mit der Bindungstasche ermöglicht, zustande zu kommen. Die Hydroxyethylamino-Seitenkette in Position 2 imitiert den Ribose-Rest von ATP.



**Abb. 8:** Kenpaullon (**6**), 9-Cyanopaullon (**7**), Alsterpaullon (**8**)

Die Substanzklasse der Paullone besteht aus synthetisch hergestellten CDK-Inhibitoren mit Indolobenzazepinon-Grundstruktur (Abb. 8). Die Leitstruktur **6** sowie die Derivate **7** und **8** erhielten ihre Namen im Andenken an Dr. Ken Paull, der am *National Cancer Institute* (NCI) der Vereinigten Staaten unter anderem an der Entwicklung des COMPARE-Algorithmus des *Human Tumor Cell Line Screen* beteiligt war. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnte **6** zufällig als CDK-Inhibitor identifiziert werden. **7** und **8** stellen Weiterentwicklungen dieser Leitstruktur dar, die im Fall des Nitro-Derivats **8** Aktivitäten im nanomolaren Bereich aufweisen. Alsterpaullon (**8**) wird gegenwärtig vom NCI in präklinischen Studien untersucht.



**Abb. 9:** Im AK Bracher synthetisierte  $\beta$ -Carboline mit CDK-Inhibitor-Aktivität

Im Rahmen eines breiten Screenings von Substanzen unseres Arbeitskreises die bei Dr. L. Meijer (Roscoff) konnten etliche  $\beta$ -Carboline als neue potente CDK-Inhibitoren identifiziert werden. Die hier gezeigten Verbindungen **9**, **10**, **11** und **12**

erwiesen sich dabei als sehr gute Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen mit  $IC_{50}$ -Werten bis zu  $1,0 \mu\text{M}$  (Abb. 9). Verbindung **9** konnte neben den beiden anderen eng verwandten Alkaloiden Bauerin A und B aus der Blaualge *Dichotrix baueriana* isoliert werden und wurde als Bauerin C bezeichnet. Nach der in unserem Arbeitskreis entwickelten Totalsynthese von Bauerin C (**9**)<sup>11</sup> wurde bei der Testung auf CDK-Inhibition entdeckt, dass nicht nur das Alkaloid **9** ein guter CDK-Inhibitor ist, sondern auch die direkte Synthesevorstufe **10** sehr gute Aktivität aufweist, die die Aktivität des Naturstoffs sogar noch leicht übertrifft. Hier zeigte sich anhand umfangreicher Modifikationen der Leitstruktur **10**, dass die Methyl-Gruppe am Indol-Stickstoff sowie lipophile Reste an Ring A von essenzieller Bedeutung sind. Alkylreste am Lactam-Stickstoff erwiesen sich indes als stark aktivitätsmindernd.

Bei Verbindung **11** handelt es sich um das Alkaloid Annomontin aus *Annona montana* bzw. *Annona reticulata*, das von Bracher und Hildebrand erstmals totalsynthetisch hergestellt wurde<sup>12</sup>. **11** wurde in unserem Arbeitskreis von Kast vielseitig modifiziert. Die Erkenntnis aus diesen Modifikationen war, dass der Pyrimidinring ebenso wie die freie Aminogruppe und der unsubstituierte Indolstickstoff essentiell für die Aktivität der Verbindung ist. Eine Methylierung des Indol-Stickstoffs und/oder der freien Aminogruppe führte, im Gegensatz zur „Bauerin C-Reihe“, hier zu Einbußen in der Aktivität<sup>13</sup>.

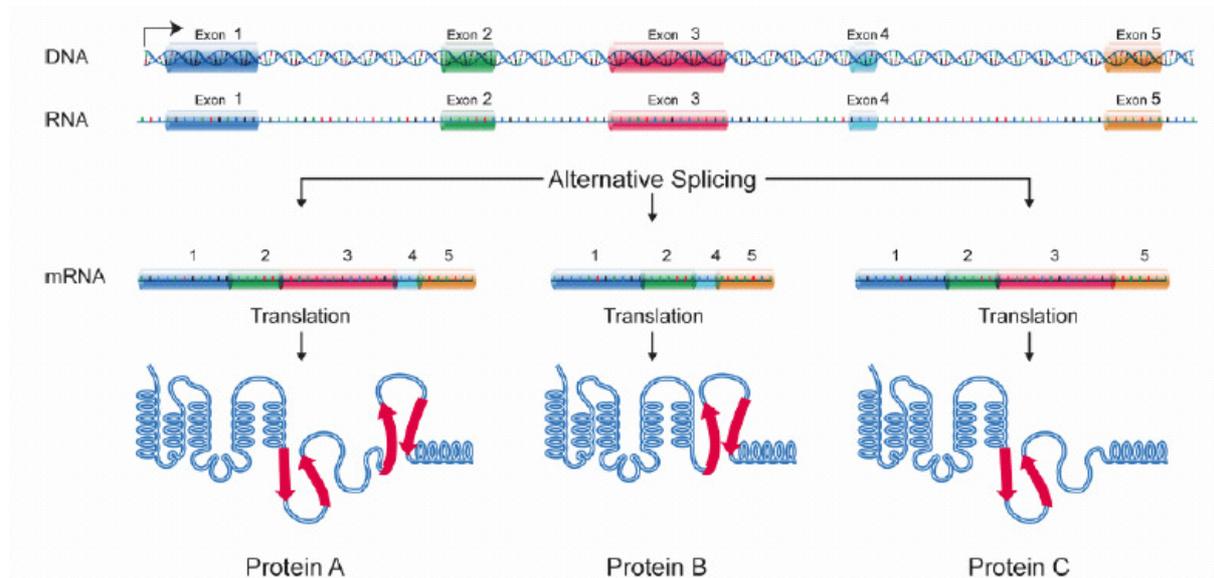
Eher zufällig kam die Entdeckung von **12** bei Modifikationen von **11** als CDK-Inhibitor durch Kast zustande. Die Aktivität von **12** ist der des Naturstoffs **11** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von etwa  $1 \mu\text{M}$  für CDK1 vergleichbar. Wichtige strukturelle Voraussetzungen für die Aktivität sind hierbei die Methyl-Gruppe am Indol-Stickstoff sowie kleine Reste an Position 3<sup>13</sup>.

### 1.2.4. CLK1 (cdc2-like kinase)

#### 1.2.4.1. Physiologische Bedeutung von CLK's

Die CLK's gehören zur Gruppe der CMGC-Kinasen und phosphorylieren nicht nur Serin- oder Threonin-, sondern auch Tyrosin-Reste. Sie werden daher auch als Kinasen mit dualer Spezifität bezeichnet<sup>14</sup>. Ihre Bedeutung ist bis jetzt nicht komplett geklärt, aber es gibt Hinweise in der Literatur, dass diese Kinasen das sogenannte „alternative Spleißen“ (alternative splicing) regulieren (Abb. 10). Das Prinzip

des alternativen Spleißens gilt als Schlüssel zur Evolution, da nach der vollständigen Sequenzierung des humanen Genoms festgestellt wurde, dass nur eine relativ kleine Zahl an Genen für eine Vielzahl verschiedener Proteine kodiert. Es wurde entdeckt, dass 35-60 % aller menschlichen Gene für mindestens zwei Isoformen eines Proteins kodieren, weshalb man nicht mehr davon ausgehen konnte, dass ein Gen nur für ein Protein kodiert. Damit bietet das alternative splicing einen enormen Vorteil, weil dadurch eine Vielzahl an Genen und somit auch an DNA eingespart werden kann, weil die für die Proteine kodierenden Gene bereits komprimiert in der DNA vorliegen. Man könnte das Prinzip mit einer DVD vergleichen, wo durch die multi-layer-technology ein Vielfaches an Daten auf einer CD gespeichert werden kann.

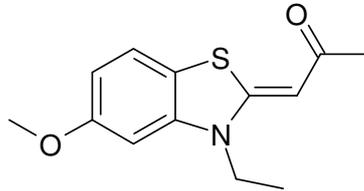


**Abb. 10:** Alternatives Spleißen

Neuere Hypothesen postulieren, dass die CLK's sogenannte SR-Proteine (Serin-Arginin-reiche Proteine) phosphorylieren, die in das Spleißen von Prä-mRNS eingreifen. Obwohl die Datenlage zur Bedeutung der Säugetier-CLK's noch eher dünn ist, werden bereits einige mögliche Indikationen für Inhibitoren dieser Enzyme diskutiert. Dazu zählen unter anderem neuronale und neoplastische Erkrankungen, sowie virale Infektionen. Bei manchen Formen von  $\beta$ -Thalassämie wird beispielsweise die verminderte Hämoglobin-Synthese auf fehlerhaftes Spleißen zurückgeführt. Es gilt darüber hinaus als sicher, dass Mutationen, die das Spleißen beeinflussen, zu Erbkrankheiten führen<sup>14</sup>.

### 1.2.4.2. CLK-Inhibitoren

Zur Zeit ist in der Literatur nur ein einziger spezifischer CLK1-Inhibitor bekannt, das Benzothiazol-Derivat TG003 (**13**, Abb. 11).



**13**

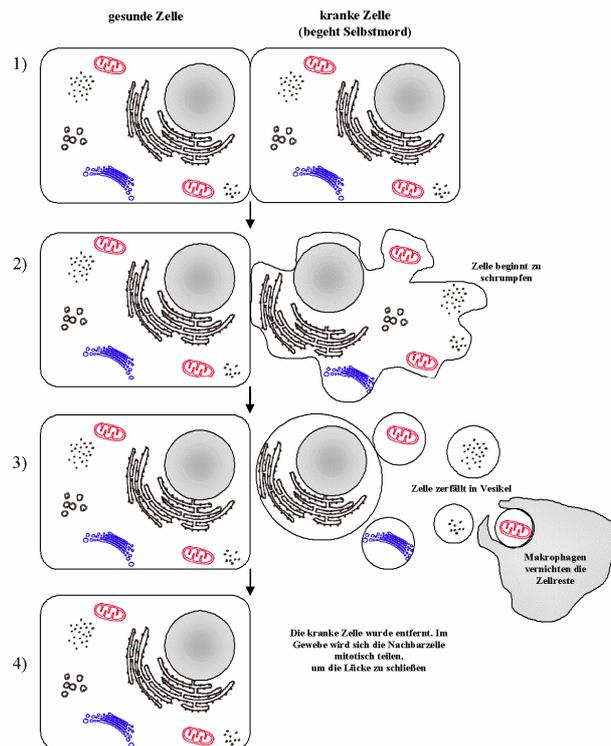
**Abb. 11:** Spezifischer CLK1-Inhibitor TG003 (**13**)

Der  $IC_{50}$ -Wert von **13** an CLK1 beträgt 20 nM. Größere lipophile Reste sowohl am Benzolring als auch am Stickstoff des Thiazol-Rings verringerten die inhibitorische Aktivität an CLK1. Darüber hinaus führt der Austausch der Methoxy-Gruppe gegen Fluor nur zu einem geringen Aktivitätsverlust<sup>15</sup>.

### 1.2.5. DRAK1 (DAP kinase-related apoptosis-inducing protein kinase 1)

#### 1.2.5.1. Physiologische Bedeutung von DRAK1

DRAK1 (DAP kinase-related apoptosis-inducing protein kinase 1), auch als STK17A (serine/threonine kinase 17a) bezeichnet, wird in die Familie der DAP-Kinasen (death-assoiated protein) eingeordnet. Die DAP-Kinasen sind ein Teil der CAMK-Gruppe. Wie der Name DRAK schon vermuten lässt, handelt es sich um eine Serin/Threonin-Kinase, die an der Induktion der Apoptose beteiligt ist. Die Apoptose, auch programmierter Zelltod genannt, kann als „Selbstmord“ der Zelle angesehen werden. Makroskopisch gesehen durchläuft die Zelle dabei mehrere Prozesse. Zuerst schrumpft die Zelle und das Chromatingerüst ballt sich in der Zelle zusammen. Danach bilden sich an der Zellmembran Beulen, sogenannte Bubbles, aus. Die Beulen werden danach abgeschnürt und als Vesikel verpackt von Makrophagen aufgenommen und abgebaut (Abb. 12).



**Abb. 12:** Schematischer Ablauf der Apoptose<sup>10</sup>

Die Apoptose kann extrinsisch über Rezeptoren von außen oder intrinsisch über Botenstoffe von innen ausgelöst werden. Dadurch wird eine sogenannte Caspase-Kaskade initiiert. Die Caspasen aktivieren sekundäre Zielproteine und sind auch selbst aktiv am Abbau der Zelle beteiligt.

Tumore stellen einen Verbund entarteter Zellen dar, die „immun“ gegenüber der Apoptose sind. Diese „Immunität“ beruht auf zwei Prinzipien: entweder sind die proapoptotischen Reize deaktiviert oder die Wachstumsfaktoren der Zelle sind ständig aktiviert, so dass sie sich ständig teilt. Da DRAK1 Apoptose induziert, wurde untersucht, ob in bestimmten Tumorarten die Kinase-Konzentration erniedrigt ist. Tatsächlich konnte beim Non-Hodgkin-Lymphom eine signifikant niedrigere Konzentration an DRAK1 gemessen werden<sup>16</sup>.

## 1.2.5.2. Modulatoren von DRAK1

Bis zum jetzigen Zeitpunkt ist nur wenig über Verbindungen veröffentlicht worden, die DRAK1 beeinflussen. In der Literatur sind bis jetzt nur Antisense-Verbindungen bekannt, die sich gegen die Gensequenz richten, die für DRAK1 codiert<sup>17</sup>. In Experimenten mit diesen Verbindungen konnte gezeigt werden, dass die Inhibition von

DRAK1 zu Krebs bei Tieren führt. Aus diesem Grund werden DRAK1-Inhibitoren nie als Arzneistoffe am Menschen zum Einsatz kommen. Vielmehr sind diese Inhibitoren für die Molekularbiologie interessant, um die Entstehung von Krebs besser verstehen zu können.

### 1.2.6. PIM-Kinasen (proviral integration site murine leukemia virus)

#### 1.2.6.1. Physiologische Bedeutung von PIM-Kinasen

PIM-Kinasen gehören ebenso wie die CDK's zur Familie der Serin/Threonin-Kinasen, gehören aber nicht wie diese in die CMGC-Gruppe, sondern die CAMK-Gruppe. Der Name PIM leitet sich von proviral integration site murine leukemia virus (MuLV) ab, das einem in Mäusen (murine) entdeckten Genabschnitt entspricht. Proviren integrieren sich in der Nachbarschaft dieses Gens, die dadurch ein T-Zell-Lymphom induzieren können<sup>18</sup>. Die Integration dieser Proviren aktiviert ein Gen, das für die PIM1-Kinase kodiert. Bis heute sind drei Subtypen von PIM, nämlich PIM-1, PIM-2 und PIM-3, bekannt, die hauptsächlich im Thymus, den Hoden und den Zellen des hämatopoietischen Systems exprimiert werden. Sie besitzen im Gegensatz zu vielen anderen Kinasen, wie den CDK's, keine regulatorische Domäne und sind im Fall von PIM-2 bereits nach ihrer Expression konstitutiv aktiv. Dies lässt vermuten, dass die Regulation der PIM-Kinasen auf Ebene der Transkription oder Translation, bzw. durch proteolytischen Abbau erfolgt<sup>19</sup>. Die Expression der Kinasen scheint unter anderem über die JAK/STAT-Signalkaskade (Abb. 13) gesteuert zu werden.

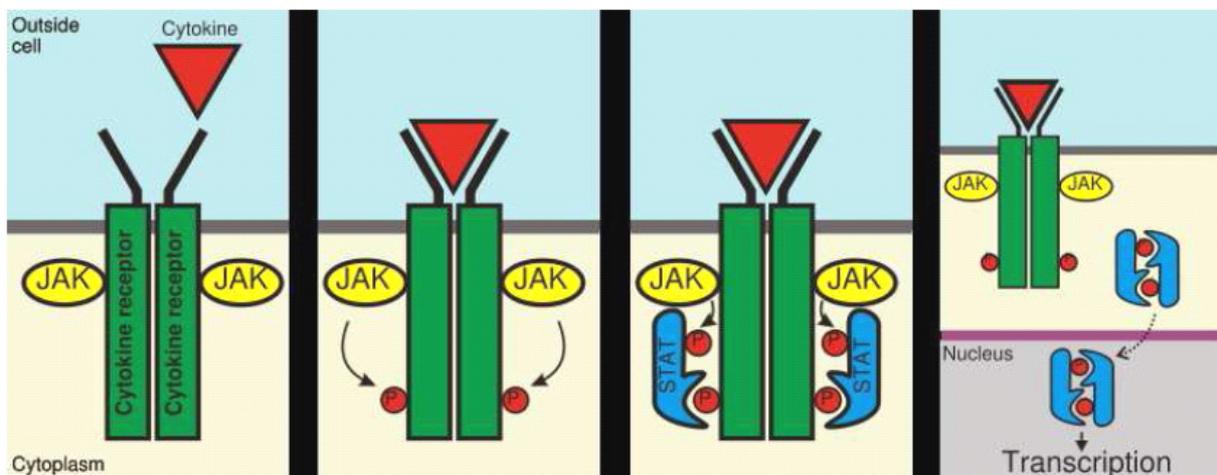


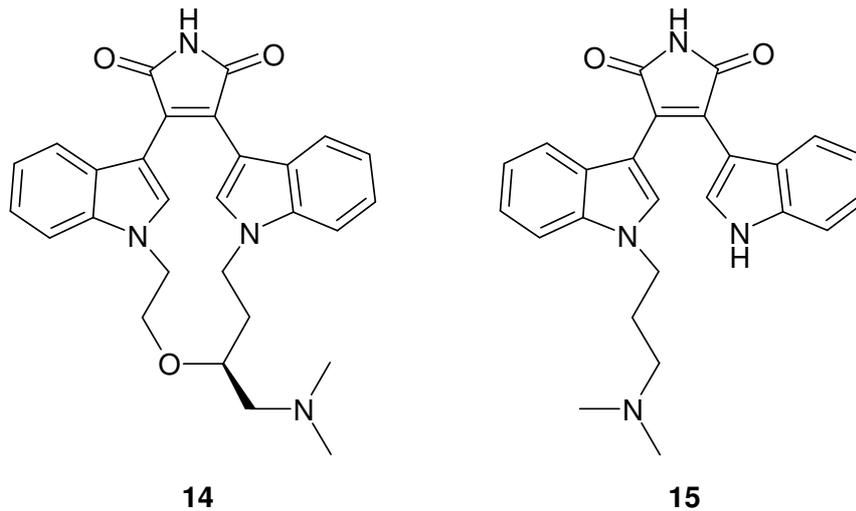
Abb. 13: JAK/STAT-gesteuerte Regulation der Transskription

Durch die Bindung eines Zytokins an den Rezeptor phosphorylieren die intrazellulär assoziierten Januskinasen (JAK) den Rezeptor, wodurch sich STAT-Proteine anlagern. Diese werden auch phosphoryliert, dimerisieren und migrieren in den Zellkern, wo sie die Transkription bestimmter Gene aktivieren.

Es gibt Hinweise darauf, dass PIM-2 das Bindeglied zwischen der Transkription, die durch Wachstumsfaktoren vermittelt wird, und einem neuen Signalweg, der über Kinasen zustande kommt, darstellt, die das eigenständige Überleben der Zelle begünstigt, indem sie z.B. Reize zur Apoptose unterdrückt<sup>20</sup>. Zudem scheint durch PIM2 die durch Rapamycin (Sirolimus) vermittelte Wachstumshemmung in T-Zellen aufgehoben zu werden<sup>20</sup>. Deswegen schreibt man den auch als „survival kinases“ bezeichneten PIM-Kinasen onkogene Eigenschaften zu, zumal man bei vielen Krebsarten, wie Prostatakarzinom, Erythroleukämien und anderen humanen Leukämien eine Überexpression von PIM-1 feststellen konnte<sup>21-23</sup>.

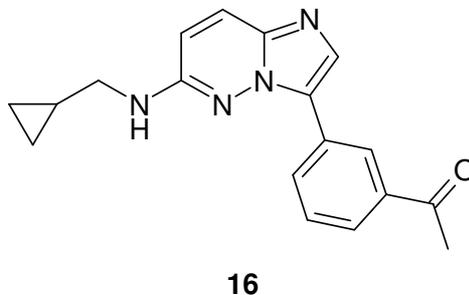
### 1.2.6.2. PIM-Kinase-Inhibitoren

Aus den oben genannten Gründen bieten PIM-Kinase-Inhibitoren einen interessanten Ansatzpunkt zur Therapie von Tumoren und vor allem Leukämien<sup>24, 25</sup>. In der Literatur gibt es Hinweise, dass durch die Inhibition von PIM-1 und PIM-2 Resistenzen gegenüber Tyrosin-Kinase-Inhibitoren, die etwa 70 % aller in der Entwicklung befindlichen Zytostatika darstellen, gesenkt oder sogar beseitigt werden können<sup>26</sup>. Ein interessanter therapeutischer Ansatz sind auch die immunmodulierenden Eigenschaften von PIM-Kinase-Inhibitoren<sup>20</sup>. Alle bekannten PIM-Kinase-Inhibitoren verdrängen ATP aus der Bindungstasche. Diese Inhibitoren weisen als strukturelle Besonderheit die sogenannte „Türangel“-Struktur (hinge region) auf. Dieser Struktur steht als einzige Möglichkeit für eine H-Brückenbindungsbildung der Prolin-Rest 123 zur Verfügung. Im Gegensatz zu anderen Bindungstaschen für ATP weist diejenige von PIM keine weiteren H-Brückendonatoren auf. Dieser Umstand begünstigt die Entwicklung von selektiven PIM-Inhibitoren<sup>27, 28</sup>.



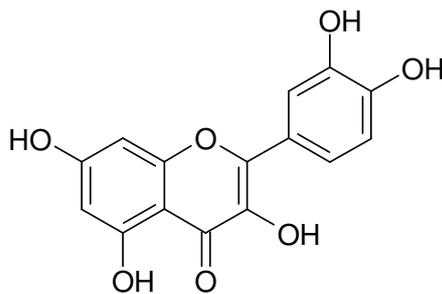
**Abb. 14:** PIM-1-Kinase-Inhibitoren vom Bisindolylmaleinimid-Typ

Wie bereits in Kap. 1.2.3.2. erwähnt, inhibiert Staurosporin (**1**) zahlreiche Kinasen, darunter auch PIM-1 im nanomolaren Bereich. An **1** angelehnt wurden die Bisindolylmaleinimide LY333531 (**14**) und BIM-1 (**15**) entwickelt, die eine ähnliche Aktivität wie **1** aufweisen (Abb. 14)<sup>28</sup>. **14** zeigt auch Aktivität an der Proteinkinase C $\beta$  (PKC $\beta$ ) und befindet sich deswegen zur Zeit in einer Phase III Studie zur Behandlung der linksventrikulären Hypertrophie nach Herzversagen und Diabetesbedingter Retinopathie<sup>29</sup>.



**Abb. 15:** PIM-1-Kinase-Inhibitor mit Imidazo[1,2-*b*]pyridazin-Struktur

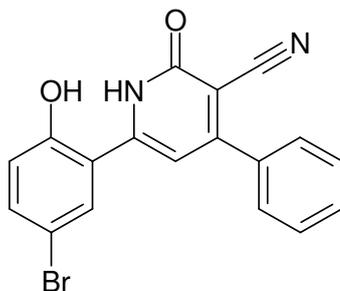
In zahlreichen Tests konnten Purin-ähnliche Imidazo[1,2-*b*]pyridazine wie K00135 (**16**), das einen IC<sub>50</sub>-Wert von 61 nM aufweist, ebenfalls als sehr potente Inhibitoren von PIM-1 identifiziert werden (Abb. 15)<sup>28</sup>.



17

**Abb. 16:** Quercetin

Ferner konnte gezeigt werden, dass einige Flavonoide wie Quercetin (**17**, Abb. 16) sehr gut an Kinasen wie CDK oder PIM-1 binden. Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 43 nM schneidet **17** sogar besser ab als **16**. Dies könnte eine Ursache für die nachgewiesenen antitumoralen Eigenschaften der Flavonoide sein.



18

**Abb. 17:** PIM-1-Inhibitor vom Pyridon-Typ

Im Jahr 2007 wurde eine neue Klasse von PIM-1-Inhibitoren beschrieben. Diese beinhalten als zentrales Strukturelement einen trisubstituierten Pyridon-Ring (Abb. 17). Der halogenierte Phenolring steht koplanar zum Pyridon-Ring, während der unsubstituierte Phenylring senkrecht zu diesem steht. Wird der Brom-Substituent gegen eine Methyl-Gruppe ausgetauscht, geht das mit einem Aktivitätsverlust um den Faktor 7 einher. Die genauen molekularen Interaktionen des Brom-Substituenten konnten noch nicht geklärt werden. Der  $IC_{50}$ -Wert von **18** wird mit 50 nM angegeben<sup>15</sup>.

## 1.3. Sirtuine

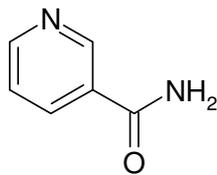
### 1.3.1. Physiologische Bedeutung der Sirtuine

Die sogenannten Sirtuine gehören zur Familie der NAD<sup>+</sup>-abhängigen Histon-Deacetylasen, d.h. sie spalten Acetyl-Gruppen von den Lysin-Resten der Histone und einiger anderer Proteine ab. Ihre Name leitet sich von dem Terminus silent mating type information regulation two ab und bezieht sich auf ein entsprechend Histon-Deacetylasen-kodierendes Gen, das in Hefen entdeckt wurde. Es gibt insgesamt drei

Klassen von Histon-Deacetylasen wobei die Sirtuine, die in sieben Subtypen (*SIRT1-7*) unterteilt werden, zur Klasse III gezählt werden<sup>30</sup>. Durch die Abspaltung von Acetyl-Gruppen beeinflussen sie sowohl die Konformation als auch die Aktivität der Histone. Da die DNA den Histonen aufliegt, bedeutet dies, dass mit Hilfe des Acetylierungsgrades der Histone die Transkription der Gene gesteuert werden kann. Eine Hyperacetylierung der Histone führt in der Regel zu einer Genaktivierung und kann in Differenzierung und Apoptose von Tumorzellen resultieren. Vor diesem Hintergrund wird ein Einfluss der Sirtuine auf die Pathogenese viraler Erkrankungen inklusive HIV<sup>31</sup>, Diabetes mellitus und daraus resultierenden Komplikationen, sowie Morbus Parkinson und Krebs<sup>32-34</sup> diskutiert. In Hefen konnte ein Zusammenhang zwischen der Aktivität von SIRT und der Lebensdauer beobachtet werden<sup>35</sup>.

### 1.3.2. SIRT-Inhibitoren

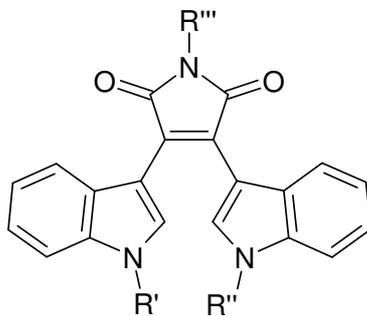
Aufgrund der verschiedenen potenziellen Indikationsgebiete für *SIRT*-Inhibitoren sind bereits eine ganze Reihe von Hemmstoffen beschrieben worden, die erste Rückschlüsse auf Struktur-Wirkungsbeziehungen ermöglichen. Durch die Inhibitoren wird die Abspaltung der Acetyl-Reste von den Histonen unterbunden und die hieraus resultierende Hyperacetylierung führt zu einer Genaktivierung. Aufgrund der Fülle an Substanzen soll hier nur eine Auswahl an Inhibitoren vorgestellt werden.



19

**Abb. 18:** Nicotinamid (19)

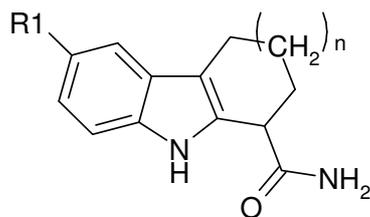
Im Organismus ist Nicotinamid (19, Abb. 18) der natürliche Inhibitor der Sirtuine. Der Wirkmechanismus synthetischer Hemmstoffe beruht auf der kompetitiven Verdrängung von ATP aus der Bindungstasche, was eine Analogie zu den hier schon beschriebenen Kinase-Inhibitoren darstellt.



Substanz-Nr.	R'	R''	R'''	IC <sub>50</sub> SIRT1	IC <sub>50</sub> SIRT2
20	H	H	CH <sub>3</sub>	> 50 μM	33,0 μM
21	H	H		keine Daten	40,0 μM
22		CH <sub>3</sub>	H	3,5 μM	0,8 μM

**Abb. 19:** Sirtuin-Inhibitoren vom Bisindolylmaleinimid-Typ

Vertreter der Bisindolylmaleinimide, die sich von Staurosporin (1) ableiten, erwiesen sich auch bei den Sirtuinen als potente Inhibitoren. Für Verbindung **22** konnten in einem fluorimetrischen Aktivitätstest für SIRT1 und SIRT2 IC<sub>50</sub>-Werte von 3,5 bzw. 0,8 μM ermittelt werden. Allerdings hemmt die Verbindung im Gegensatz zu den Derivaten **20** und **21** auch die Proteinkinase C (PKC) im mikromolaren Bereich (Abb. 19). Bei den am Imid-Stickstoff alkylierten Derivaten konnte bisher keine Hemmung weiterer Kinasen nachgewiesen werden<sup>36</sup>.



Substanz-Nr.	R1	n	IC <sub>50</sub> SIRT1	IC <sub>50</sub> SIRT2	IC <sub>50</sub> SIRT3
<b>23</b>	Cl	1	0,098 µM	19,6 µM	48,7 µM
<b>24</b>	CH <sub>3</sub>	1	0,205 µM	11,5 µM	>100 µM
<b>25</b>	H	1	1,47 µM	24,8 µM	>100 µM
<b>26</b>	Cl	2	0,124 µM	2,77 µM	>100 µM
<b>(S)-26</b>	Cl	2	0,063 µM	-	-
<b>(R)-26</b>	Cl	2	23,0 µM	-	-

**Abb. 20:** Sirtuin-Inhibitoren vom Tetrahydrocarbazolcarbonsäureamid-Typ

Bei einem groß angelegten Screening wurde festgestellt, dass die Tetrahydrocarbazolcarbonsäureamide selektive SIRT1-Inhibitoren darstellen. Die IC<sub>50</sub>-Werte aus dem fluorimetrischen Assay sind in Abb. 20 dargestellt. Dabei sind strenge Anforderungen bei den SAR zu beachten. Eine wesentliche Voraussetzung ist das primäre Amid, da die N-Ethyl-, N,N-Diethyl-derivate sowie die freie Carbonsäure und der Ethylester keine nennenswerte Aktivität zeigten. Auch die Position des Amids spielt eine große Rolle. Verschiebt man das Amid von der 1-Position auf die 2-Position, resultiert das in einem enormen Verlust in der Aktivität. In Position 6 wurden neben Wasserstoff **25** nur kleine Reste wie Chlor **23** oder Methyl **24** gut toleriert, während größere Gruppen wie ein Morpholin-Rest keine Aktivität zeigten. Methylierungen in 9- oder 1-Position wurde nicht toleriert. Eine komplette Hydrierung von Ring C führte zu einem kompletten Aktivitätsverlust. Veränderungen in der Ringgröße (n=0 und n=2) hatten unterschiedliche Effekte. Während eine Ringverkleinerung zu einem Wirkverlust führte, war die Substanz **26** mit einer Ringvergrößerung äquipotent zu den Tetrahydrocarbazolen. Tetrahydro-β-carboline zeigten nur sehr geringe Aktivität gegen SIRT. Ebenso wurde festgestellt, dass die verschiedenen Enantiomere von **26** sich stark in ihrer Aktivität unterscheiden. Das (S)-Derivat **(S)-26** war über 600-mal aktiver als das (R)-Derivat **(R)-26**<sup>37</sup>.

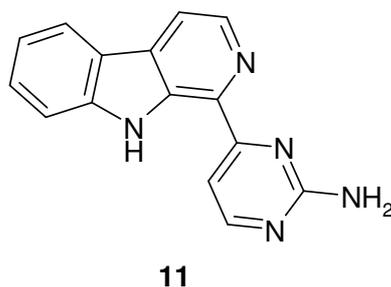
Neben Inhibitoren werden auch SIRT-Aktivatoren wie Resveratrol, ein Polyphenol, das aus roten Trauben isoliert wurde, als neue Wirkstoffe diskutiert, weil mit ihrer

Hilft die energetische Homöostase der Zelle, die mit steigendem Lebensalter immer mehr aus dem Gleichgewicht gerät, über stabilisierende Effekte auf die Mitochondrien möglicherweise aufrecht erhalten werden könnte. Mitochondriale Degeneration wird heutzutage als eine der Ursachen für altersbedingte Krankheiten wie Morbus Alzheimer oder Krebs in Betracht gezogen<sup>38</sup>.

## 2. Themenstellung und Syntheseplanung

### 2.1. Themenstellung

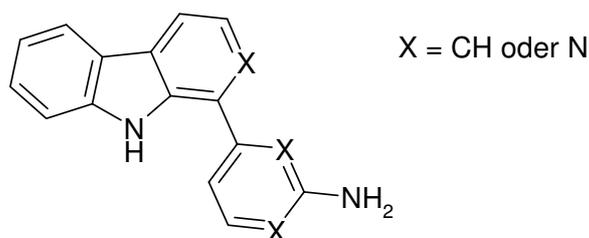
Das von Hildebrand<sup>12</sup> unter Anleitung von Bracher synthetisierte Annomontin (**11**) erwies sich als guter Inhibitor des CDK1-Cyclin B-Komplexes (Abb. 21). Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei Annomontin um einen aus *Annona montana* (Annonaceae) isolierten Naturstoff.



**Abb. 21:** Struktur von Annomontin

Kast<sup>13</sup> führte mehrere Modifikationen am Annomontin durch, indem er  $\beta$ -Carboline mit unterschiedlichen Heteroaromaten am C1-Kohlenstoffatom generierte. Bei diesen Verbindungen zeigte sich, dass Alkylreste an der Aminogruppe und andere Heteroaromaten als Reste in der 1-Position zu Einbußen bei der CDK-Aktivität führten. Daraus wurde gefolgert, dass die Wasserstoffatome der Aminogruppe als H-Brückendonatoren essentiell für die Wirkung in der Bindungstasche sind.

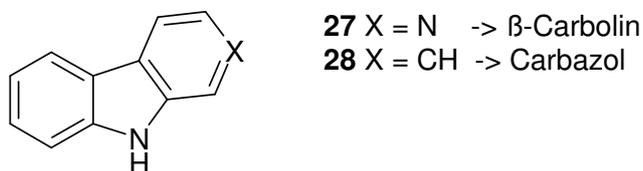
Ziel dieser Arbeit war es nun, aufbauend auf diesen Erkenntnissen herauszufinden, inwieweit die restlichen im Molekül verbliebenen Stickstoffatome als mögliche H-Brückenakzeptoren für die Aktivität eine Rolle spielen, um daraus weitere Schlüsse auf Struktur-Wirkungsbeziehungen ziehen zu können (Abb. 22).



**Abb. 22:** Mögliche Modifikationsstellen ausgehend von Annomontin

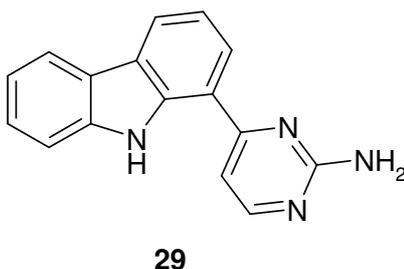
### 2.1.1. Desaza-Derivate von Annomontin mit Carbazol als Grundkörper

Tauscht man den  $sp^2$ -hybridisierten Stickstoff im  $\beta$ -Carbolin-Grundgerüst (**27**) gegen ein Kohlenstoffatom aus, erhält man das Carbazol-Grundgerüst (**28**, Abb. 23).



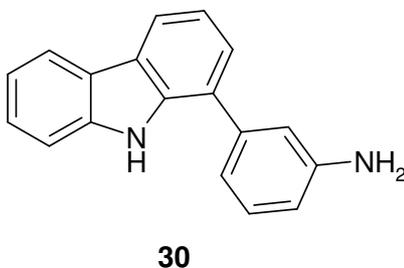
**Abb. 23:** Carbazol- und  $\beta$ -Carbolin-Grundgerüst

Ziel war es, als erstes dieses Stickstoffatom gegen Kohlenstoff auszutauschen, um damit das 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-carbazol (**29**) zu erhalten (Abb. 24). Ausgehend von 1-Acetylcabazol sollte die Synthese analog zu der von Hildebrand<sup>12</sup> durchgeführten Synthese des Annomontins erfolgen.



**Abb. 24:** 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-carbazol

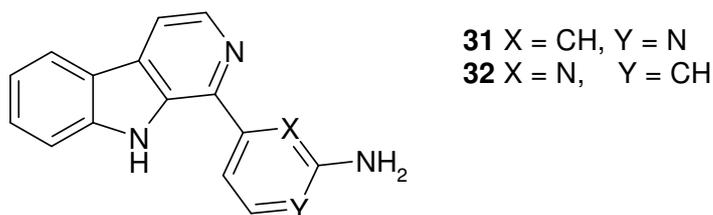
Ferner sollten alle  $sp^2$ -hybridisierten Stickstoffatome des Annomontin-Grundkörpers durch Kohlenstoffatome ersetzt werden, um herauszufinden, ob die Stickstoffatome überhaupt eine Rolle für die Aktivität spielten. Das dabei zu erhaltene Produkt ist das Anilincarbazol **30** (Abb. 25).



**Abb. 25:** Anilincarbazol

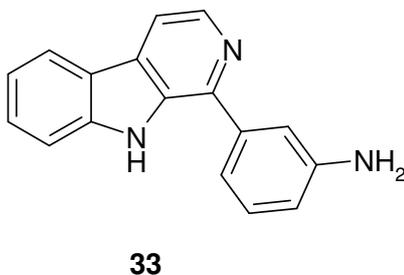
### 2.1.2. Desazaderivate von Annomontin mit $\beta$ -Carbolin als Grundgerüst

Durch den Austausch eines Pyrimidin-Stickstoffatoms gegen ein Kohlenstoffatom gelangt man zum Pyridin. Wendet man dies beim Annomontin an und tauscht beim 2-Aminopyrimidinrest ein Stickstoff- gegen ein Kohlenstoffatom aus, sind zwei unterschiedliche Aminopyridinreste am  $\beta$ -Carbolin Grundgerüst denkbar, um die Aminogruppe in derselben Position wie im Annomontin zu belassen (Abb. 26). Dabei handelt es sich um den 2-Aminopyridin-4-yl- (**31**) und 2-Aminopyridin-6-ylrest (**32**).



**Abb. 26:** Aminopyridinderivate

Ähnlich wie in der Carbazol-Reihe sollten auch hier beide  $sp^2$ -hybridisierten Stickstoffe des Pyrimidins durch Kohlenstoff ersetzt werden, um die Rolle des Pyrimidinrestes für die Aktivität besser verstehen zu können (Abb. 27), was die Synthese eines Anilino- $\beta$ -carbolins (**33**) bedeutete.

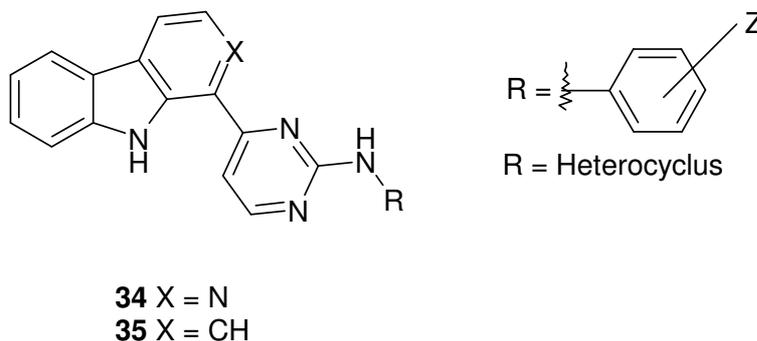


**Abb. 27:** Anilino- $\beta$ -carboline

### 2.1.3. Modifikation der Aminogruppe mit unterschiedlichen Ringen

Kast<sup>13</sup> modifizierte die Aminogruppe des Aminopyrimidinrings mit verschiedenen Alkylresten. Es sollte nun versucht werden, ob durch die Modifikation der Aminogruppe mit (substituierten) Phenylresten und Heterocyclen, eine neue Wechselwirkung mit hydrophoben Bereichen der Kinase geschaffen werden könnte (Abb. 28). Dies sollte sowohl in der  $\beta$ -Carboline- als auch in der Carbazol-Reihe

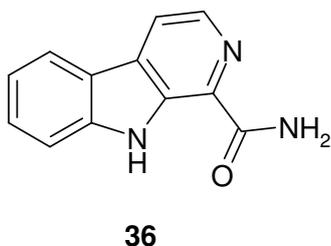
durchgeführt werden, um die  $\beta$ -Carbolin- (**34**) und Carbazol-Derivate (**35**) besser vergleichen zu können.



**Abb. 28:** Aminopyrimidin substituiert mit verschiedenen Aromaten

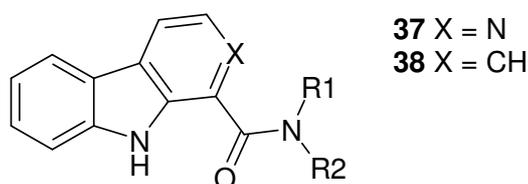
#### 2.1.4. Synthese von verschiedenen $\beta$ -Carbolin- und Carbazolcarbonsäureamiden

Eine Verbindung von Kast<sup>13</sup>, das primäre  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamid **36** (Abb. 29), zeigte mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,9  $\mu$ M vergleichsweise genauso gute inhibitorische Aktivität gegenüber dem CDK1-Cyclin B-Komplex wie Annomontin. Dieses  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamid sollte nun mit verschiedenen N-Alkylresten modifiziert werden, um auf mögliche Struktur-Wirkungs-Beziehungen schließen zu können.



**Abb. 29:**  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamid

Das ganze sollte nicht nur mit den  $\beta$ -Carbolinen (**37**), sondern auch mit den Carbazolen (**38**) erfolgen, um zwischen den beiden Grundkörpern einen Vergleich ziehen zu können (Abb. 30).



**Abb. 30:** Grundstruktur der Carbonsäureamide

## 2.2. Syntheseplanung

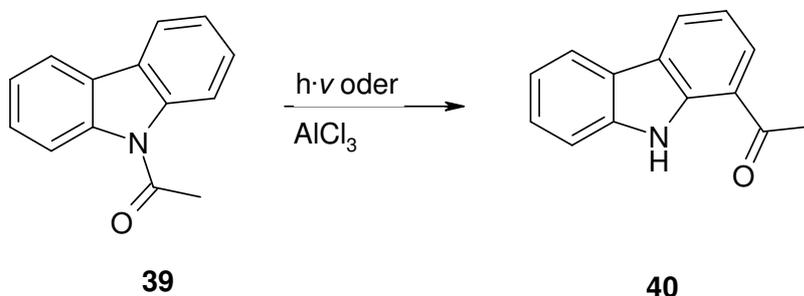
Die Diversität der Themenstellung brachte es mit sich, dass unterschiedliche Synthesestrategien zur Anwendung kommen mussten. Trotz allem sollten die Endprodukte, soweit möglich, auf derselben Syntheseroute hergestellt werden. Dabei sollten als Edukte und Reagenzien möglichst kommerziell erhältliche Verbindungen verwendet werden.

### 2.2.1. Desaza-Derivate von Annomontin mit Carbazol als Grundkörper

#### 2.2.1.1. 1-(1-Aminopyrimidin-4-yl)-carbazol

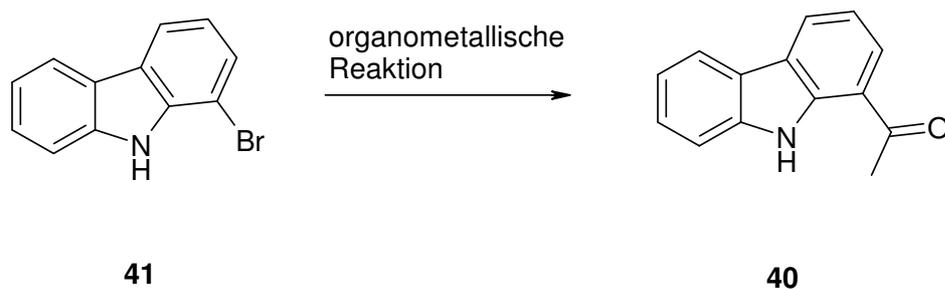
Die Synthese sollte analog zu der Synthese von Annomontin (**11**) nach Hildebrand erfolgen<sup>12</sup>. Dazu wurde 1-Acetylcabazol (**40**) benötigt. Dieses könnte auf verschiedene Art und Weisen hergestellt werden.

Die erste wäre über eine Photo-Fries-<sup>39</sup> oder Fries-Umlagerung<sup>40</sup> von N-Acetylcabazol (**39**, Abb. 31).



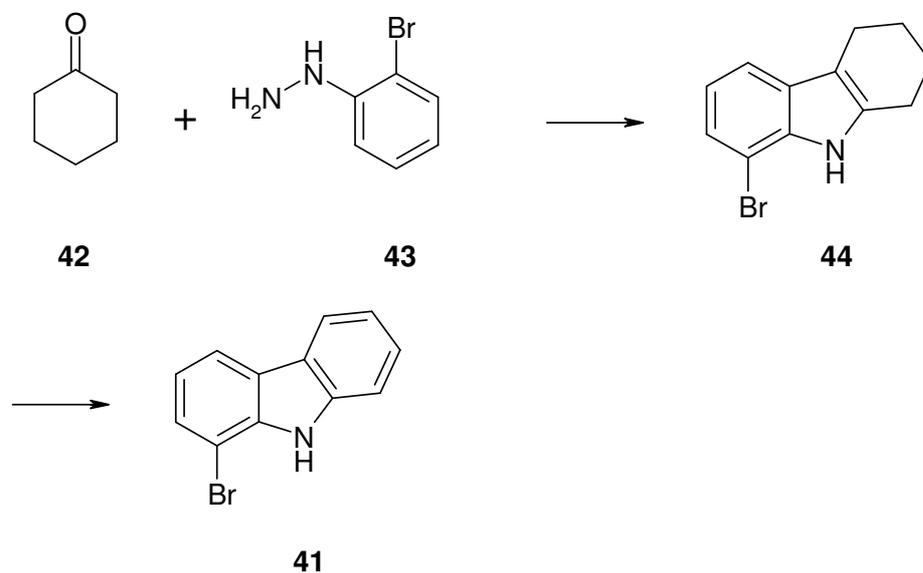
**Abb. 31:** Acetylcabazol über (Photo-)Fries-Umlagerung

Wenn diese Methode nicht zum Erfolg führen sollte, bliebe noch eine Palladium-katalysierte Reaktion nach Stille<sup>41</sup> zur Auswahl, um aus 1-Bromcabazol (**41**) 1-Acetylcabazol (**40**) herzustellen (Abb. 32).



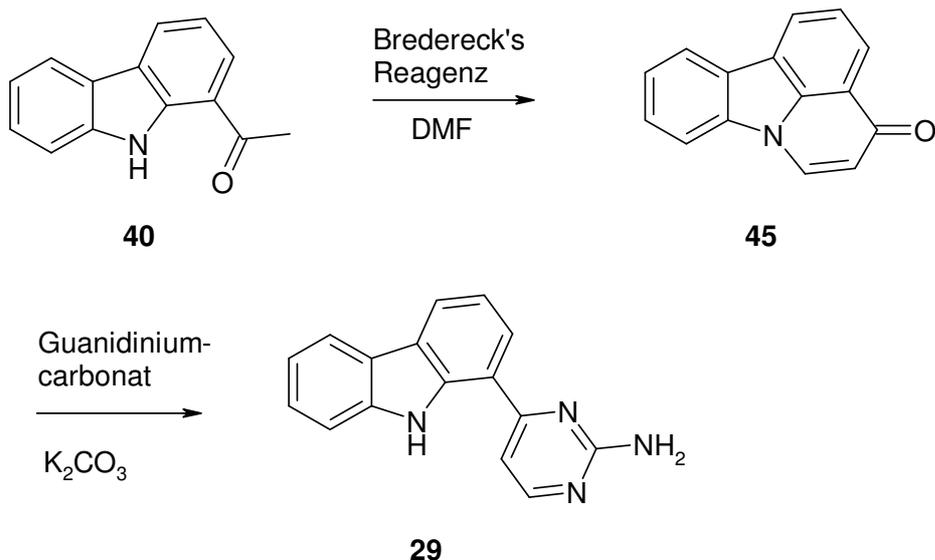
**Abb. 32:** Acetylcarbazol über Stille

1-Bromcarbazol sollte in einer Fischer-Indol-Synthese<sup>42</sup> aus Cyclohexanon und 2-Bromphenylhydrazin und anschließender Dehydrierung<sup>43</sup> leicht herzustellen sein (Abb. 33).



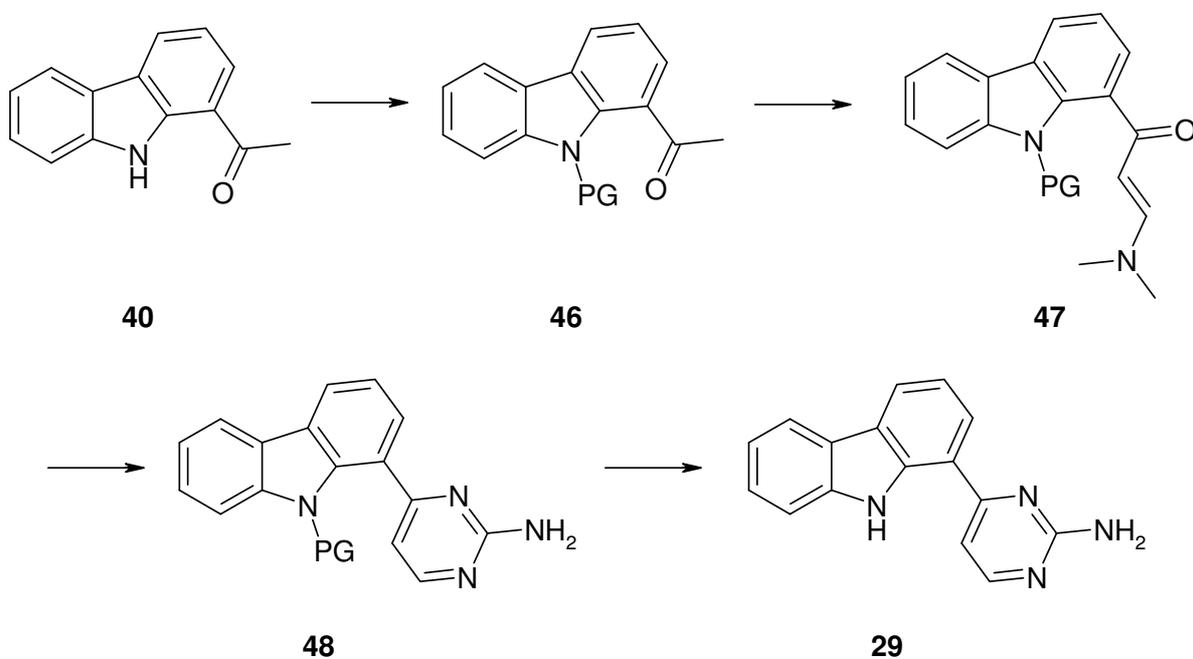
**Abb. 33:** Synthese von 1-Bromcarbazol

Nach der Synthese von 1-Acetylcarbazol sollte die Synthese von **29** durch Reaktion mit Brederick's Reagenz unter Ausbildung eines Tetrazyklus (**45**) und anschließende Ringtransformation mit Guanidiniumcarbonat in Anlehnung an Arbeiten von Puzik<sup>44</sup> erfolgen (Abb. 34).



**Abb. 34:** Syntheschema 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-carbazol

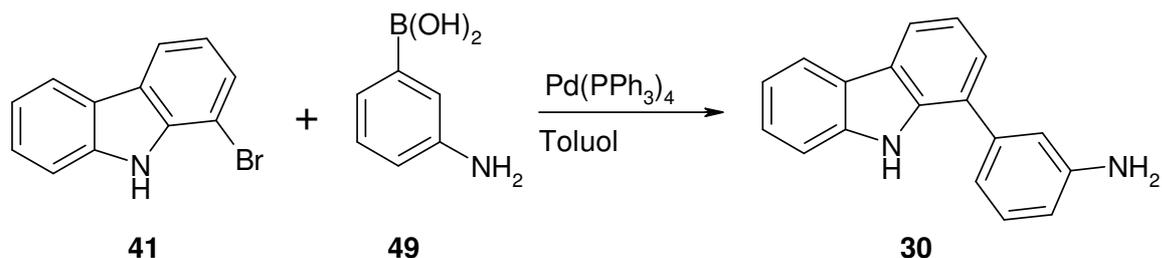
Für den Fall, dass die Synthese auf der Stufe von **45** stehen bleiben würde, wäre eine Schutzgruppe für den Indolstickstoff von **40** nötig. Dieses geschützte Acetylcarbazol (**46**) sollte mit Brederick's Reagenz zu einem Enaminoketon **47** und weiter mit Guanidin zum Aminopyrimidin **48** umgesetzt werden. Zum Schluss müsste noch die Schutzgruppe von **48** abgespalten werden (Abb. 35).



**Abb. 35:** Geplante Synthese von **29** mit Schutzgruppe

## 2.2.1.2. 1-(3-Aminophenyl)-carbazol

Die Synthese dieser Verbindung **30** sollte angelehnt an eine Synthese von Hildebrand<sup>12</sup> mittels einer Suzuki-Kupplung erfolgen. 1-Bromcarbazol (**41**) stand aus der Synthese von **29** bereits zur Verfügung und sollte mit 3-Aminophenylboronsäure (**49**) und einer Palladium-katalysierten Kreuzkupplung zum gewünschten Produkt umgesetzt werden (Abb. 36).

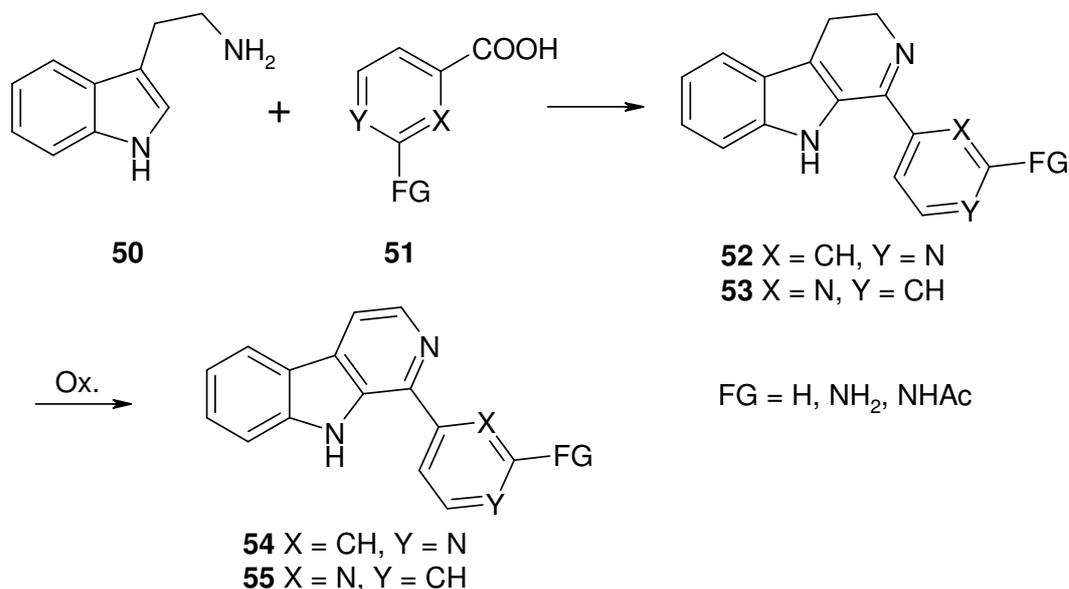


**Abb. 36:** Synthese von 1-(3-Aminophenyl)-carbazol

2.2.2. Desazaderivate von Annomontin mit  $\beta$ -Carboline als Grundgerüst2.2.2.1. Pyridyl- $\beta$ -carboline

Da sich **31** und **32** in ihrer Struktur sehr gleichen, lag es nahe auch die Synthese über dieselben Wege zu versuchen.

Eine Möglichkeit, um  $\beta$ -Carboline herzustellen, ist die Anwendung der Bischler-Napieralski-Reaktion<sup>45, 46</sup> (Abb. 37).

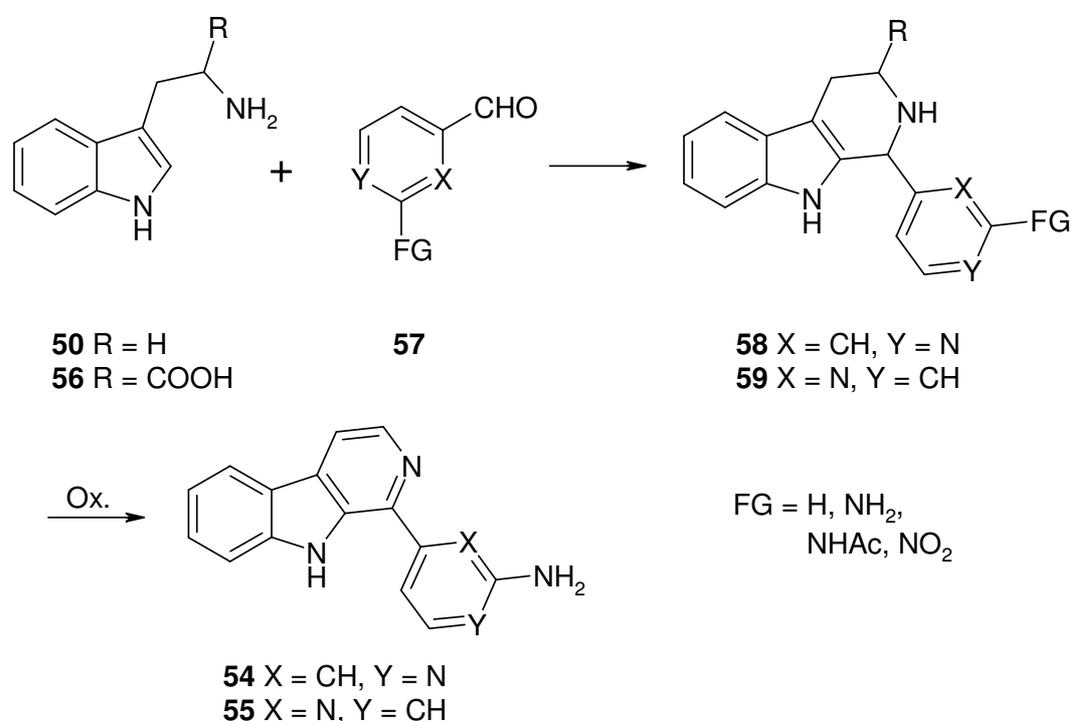


**Abb. 37:** Synthese über Bischler-Napieralski-Reaktion

Dazu sollte ein entsprechend substituiertes Pyridincarbonsäure-Derivat (**51**) mit Tryptamin (**50**) zu einem Dihydro- $\beta$ -carbolin (**52**, **53**) umgesetzt werden. Es sollte bei der Pyridincarbonsäure (**51**) mit der funktionellen Gruppe FG möglich sein, entweder die Aminogruppe von einer vorher eingeführten Schutzgruppe zu befreien, die Aminogruppe aus einer anderen stickstoffhaltigen funktionellen Gruppe zu generieren oder die Aminogruppe später erst einzuführen.

Danach müssten nur noch die entstandenen Dihydro- $\beta$ -carboline (**52**, **53**) zu den  $\beta$ -Carbolinen (**54**, **55**) oxidiert werden.

Die zweite Möglichkeit, um  $\beta$ -Carboline zu generieren, ist der Weg über die Pictet-Spengler-Reaktion<sup>47</sup> (Abb. 38).



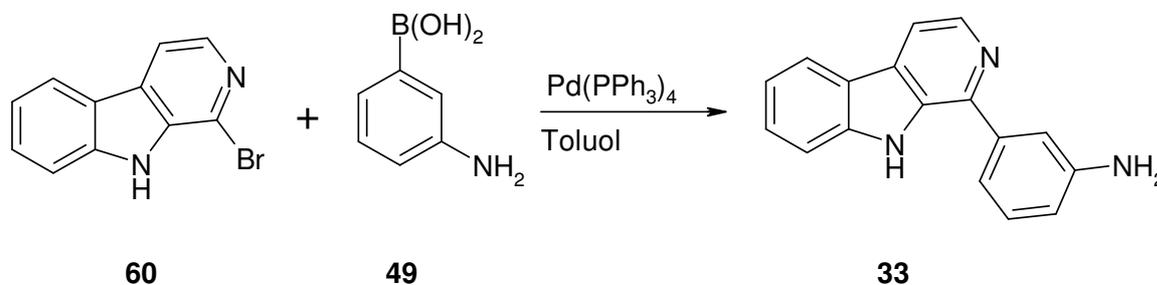
**Abb. 38:** Synthese über Pictet-Spengler-Reaktion

Hier wird ein entsprechend substituiertes Pyridincarbalddehyd-Derivat (**57**) mit Tryptamin (**50**) oder Tryptophan (**56**) zu einem Tetrahydro- $\beta$ -carbolin (**58**, **59**) umgesetzt. Die Anforderungen an den Pyridincarbalddehyd sind dabei dieselben wie für die Pyridincarbonsäure.

Zum Abschluss müssten wieder die Tetrahydro- $\beta$ -carboline (**58**, **59**) zu den jeweiligen  $\beta$ -Carbolinen (**54**, **55**) oxidiert werden.

### 2.2.2.2. 1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin

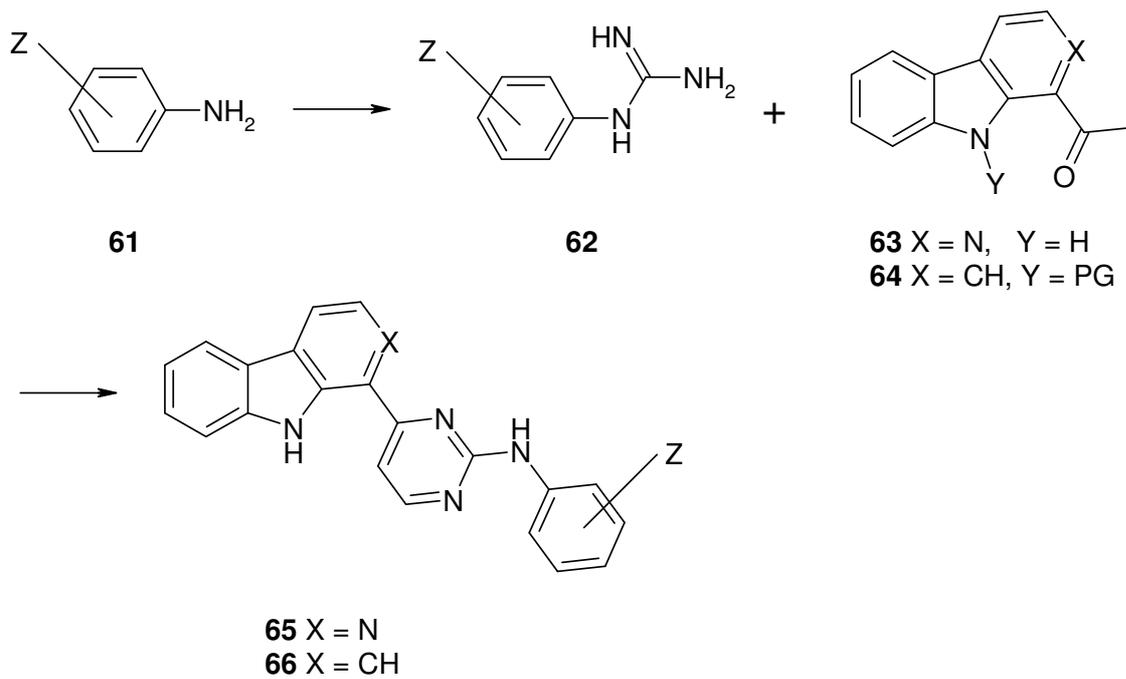
Die Synthese von **33** sollte ausgehend von 1-Brom- $\beta$ -carbolin (**60**) mit 3-Aminophenylboronsäure (**49**) analog zur Synthese von **30** in Kap. 2.2.1.2. erfolgen (Abb. 39).



**Abb. 39:** Synthese von 1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin

### 2.2.3. Modifikation der Aminogruppe mit unterschiedlichen Ringen

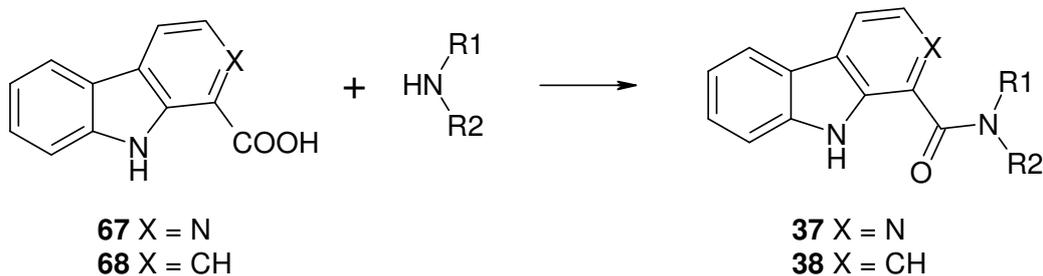
Die Hauptaufgabe bei diesen Verbindungen ist die Herstellung der Guanidine (**62**) aus den entsprechenden Aminen (**61**). Nach der Reaktion von dem geeigneten 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**63**) bzw. Acetylcarbazol (**64**) mit Brederick's Reagenz zu dem entsprechenden Canthin-4-on bzw. Enaminoketon, sollten diese mit den zuvor hergestellten Guanidinen zu den entsprechenden Produkten (**65**, **66**) umgesetzt werden (Abb. 40). Möglicherweise sollte es erforderlich sein, den Indolstickstoff mit einer Schutzgruppe zu versehen.



**Abb. 40:** Synthese der Arylpyrimidine

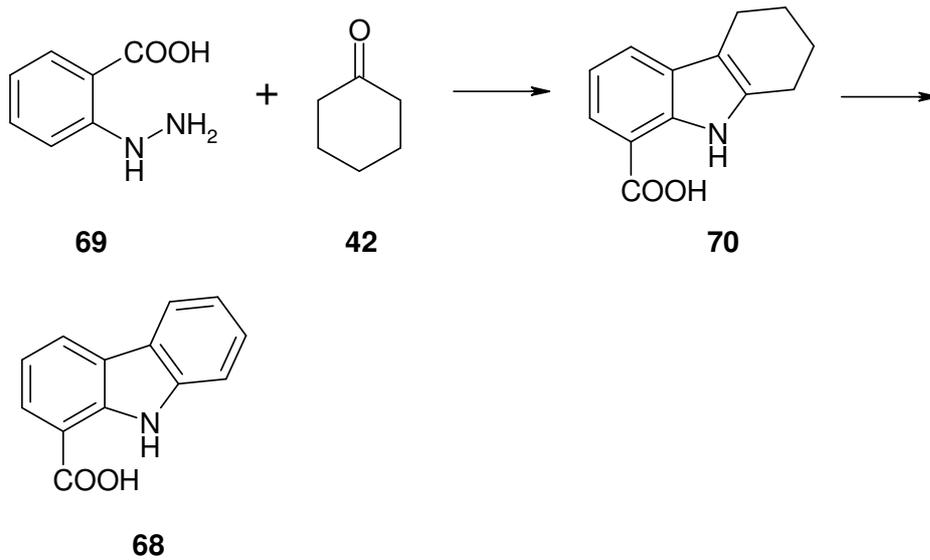
#### 2.2.4. Synthese von verschiedenen $\beta$ -Carbolin- und Carbazolcarbonsäureamiden

Für die Synthese der Amide sollte von den jeweiligen Carbonsäuren am Carbazol bzw.  $\beta$ -Carbolin ausgegangen werden. Diese Carbonsäuren sollten dann mit geeigneten Reagenzien wie DCC, CDI, etc. zu den entsprechenden Amiden umgesetzt werden (Abb. 41).



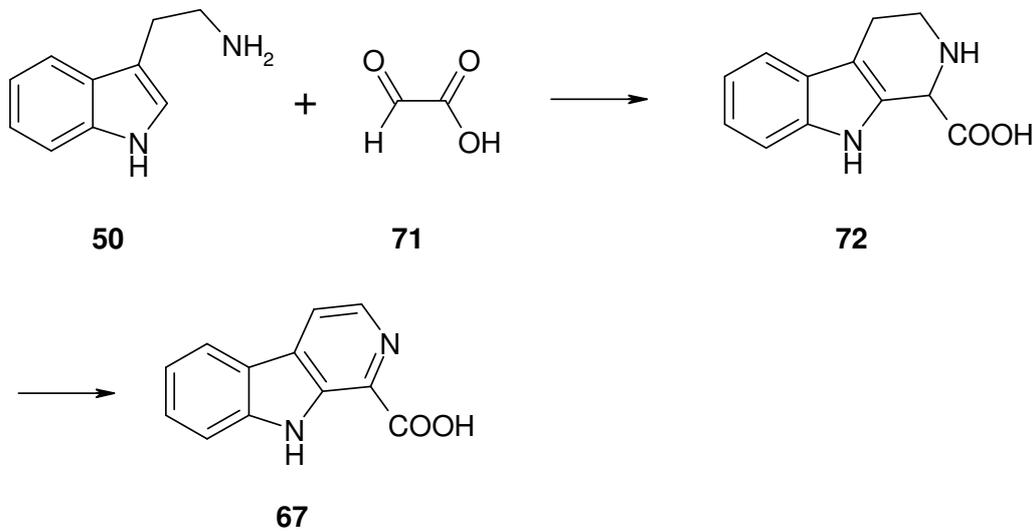
**Abb. 41:** Synthese der Carbazol- und  $\beta$ -Carbolinsäureamide

Die Synthese der Carbonsäuren sollte über bereits bekannte Reaktionswege erfolgen. Das war im Fall der Carbazol-1-carbonsäure (68) die Fischer-Indol-Synthese mit Cyclohexanon (42) und 2-Hydrazinobenzoesäure (69) und anschließende Oxidation (Abb. 42).



**Abb. 42:** Synthese der Carbazol-1-carbonsäure

$\beta$ -Carboline-1-carbonsäure (**67**) sollte mit Hilfe einer Pictet-Spengler-Reaktion aus Tryptamin (**50**) und Glyoxalsäure (**71**) zum Tetrahydro- $\beta$ -carboline-Derivat **72** und anschließende Oxidation hergestellt werden (Abb. 43).



**Abb. 43:** Synthese der  $\beta$ -Carboline-1-carbonsäure

### 3. Synthesen

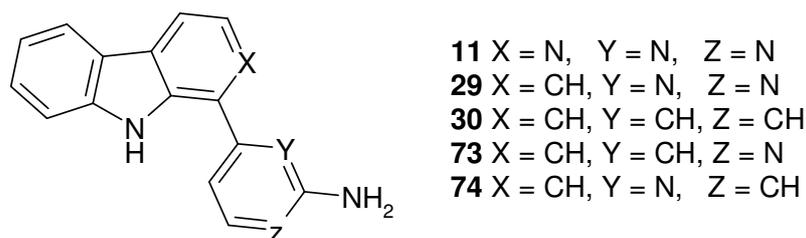
Das Synthesekapitel gliedert sich in drei Abschnitte: Der erste Abschnitt befasst sich mit Desazaderivaten des Annomontins (**11**), das dort nur im Ringsystem strukturell verändert wird. Im zweiten Abschnitt werden Substanzen behandelt, die als Grundgerüst entweder  $\beta$ -Carbolin oder Carbazol besitzen und in 1-Position unterschiedlich substituierte Aromaten und Heteroaromaten aufweisen. Diese Substituenten haben gemeinsam, dass sie eine Aminogruppe tragen. Diese Gruppe kann mit weiteren Resten substituiert sein oder nicht. Der letzte Abschnitt beschäftigt sich mit verschiedenen  $\beta$ -Carbolin- und Carbazol-1-carbonsäureamiden.

#### 3.1. Desazaderivate von Annomontin

Dieses Kapitel kann in zwei große Teile untergliedert werden: Im ersten Teil werden Strukturen untersucht, die sich im Grundgerüst vom Carbazol ableiten und als Substituenten in der 1-Position einen Aminopyrimidin- und einen Anilinrest tragen. Im zweiten Teil werden jene Strukturen vorgestellt, die ein  $\beta$ -Carbolin-Grundgerüst besitzen und an der 1-Position mit zwei unterschiedlichen Aminopyridinresten und einem Anilinrest substituiert sind. Die Grundstruktur, von der sich diese Substanzen ableiten, bleibt hierbei immer das Annomontin.

##### 3.1.1. Carbazol-Analoga von Annomontin

Im diesem Abschnitt wird die Synthese von Desaza-Derivaten von Annomontin (**11**) erläutert, die den Kohlenstoff im  $\beta$ -CarbolinGrundgerüst tragen. Das hieraus resultierende Grundgerüst ist das Carbazol.

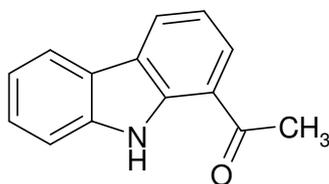


**Abb. 44:** Annomontin und dessen Desaza-Derivate mit Carbazol-Grundkörper

Daraus ergeben sich vier mögliche Derivate, je nachdem welche und wie viele Stickstoffe im Aminopyrimidinring ausgetauscht werden (Abb. 44): 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)- (**29**), 1-(3-Aminophenyl)- (**30**), 1-(2-Aminopyridin-4-yl)- (**73**) und 1-(2-Aminopyridin-6-yl)-9*H*-carbazol (**74**)

#### 3.1.1.1. 1-Acetylcarbazol

Angelehnt an die Synthese von Annomontin wurde als Ausgangsstoff für die Synthese des Carbazol-Derivates **29** 1-Acetylcarbazol (**40**, Abb. 45) benötigt. Verschiedene Methoden wurden ausprobiert, um 1-Acetylcarbazol zu erhalten.



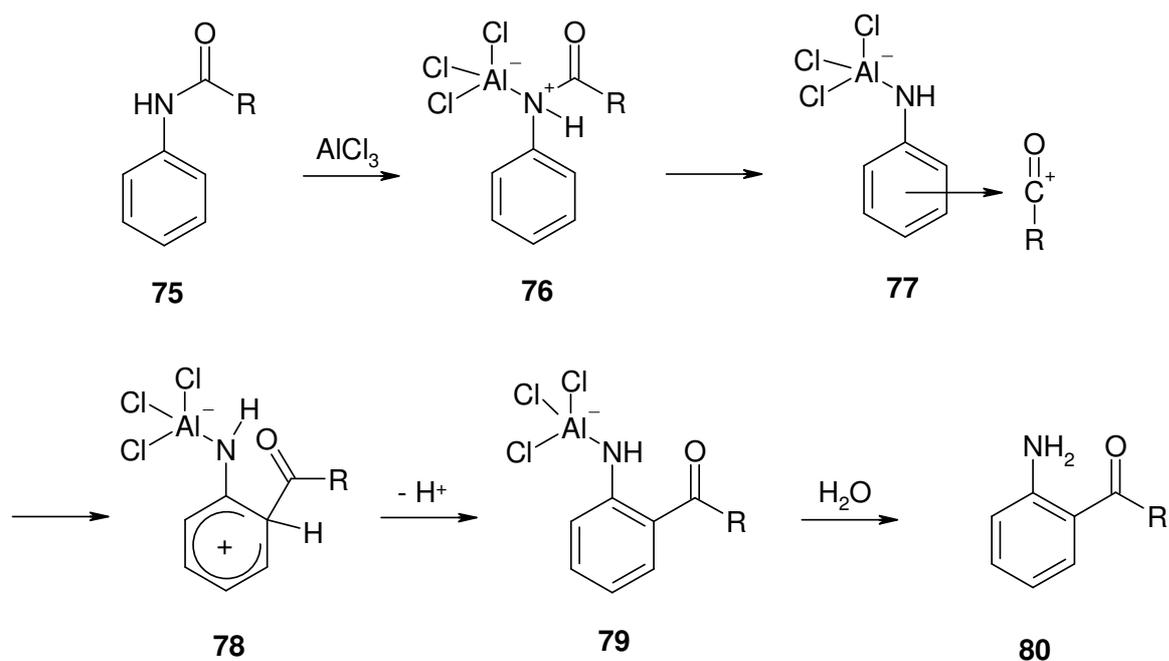
**40**

**Abb. 45:** 1-Acetylcarbazol

##### 3.1.1.1.1. 1-Acetylcarbazol mittels (Photo-)Fries-Umlagerung

Bereits 1908 entdeckte Fries<sup>40</sup>, dass bei der Erwärmung von Phenylestern und Phenylamiden mit Lewis-Säuren eine Umlagerung zu ortho- und para-Acylphenolen bzw. -anilinen stattfindet. Die nach ihm benannte Fries-Umlagerung stellt die wichtigste Methode zur Herstellung von Hydroxyarylketonen und Aminoarylketonen dar.

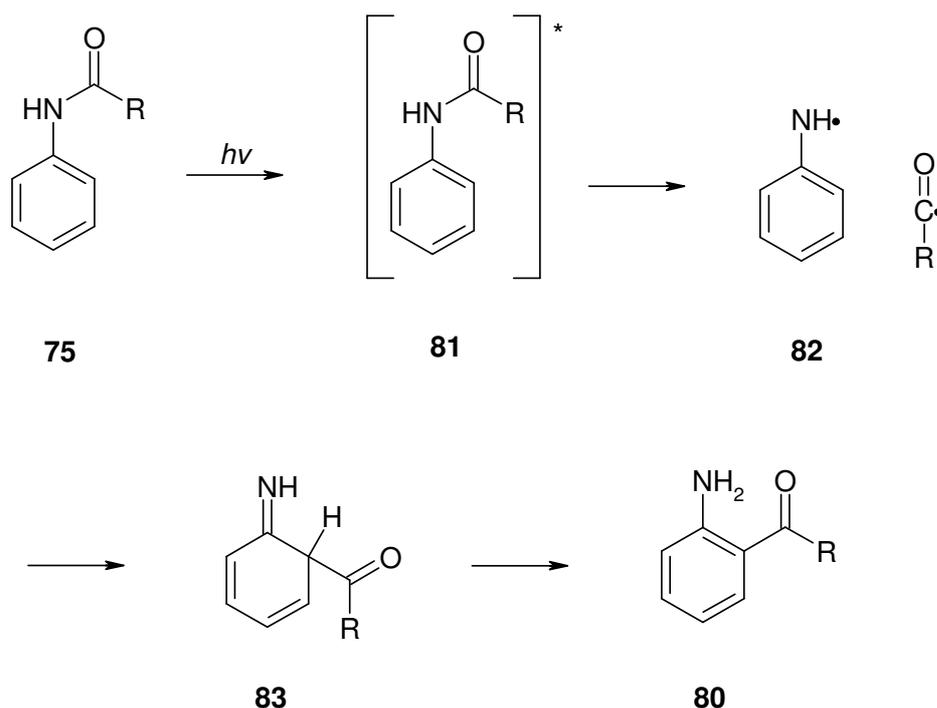
Der Mechanismus der Fries-Umlagerung ist noch nicht vollständig geklärt, aber Indizien sprechen dafür, dass inter- und intramolekulare Mechanismen durchlaufen werden<sup>39</sup>. Bei der Reaktion spielen viele Faktoren wie die Temperatur, das Lösungsmittel oder die Menge und Art der Lewis-Säure eine Rolle. Im Allgemeinen wird ein Äquivalent Lewis-Säure für die Reaktion verwendet.



**Abb. 46:** Mechanismus der Fries-Umlagerung

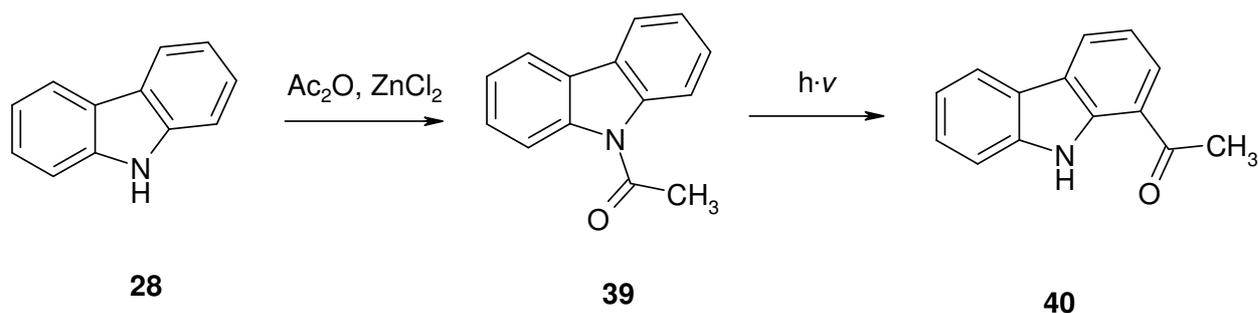
Der postulierte Mechanismus der Fries-Umlagerung ist ähnlich dem der Friedel-Crafts-Acylierung und soll am Beispiel des Phenylamids (Abb. 46) kurz erläutert werden. Zuerst lagert sich die Lewis-Säure, hier Aluminiumchlorid, an das Amid (75) an und bildet einen Aluminat-Komplex (76). Danach wird der Acyl-Rest als Acyl-Kation abgespalten (77) und lagert sich in einer elektrophilen aromatischen Substitution (78) wieder an den Aromaten an, so dass ein Aminoarylketon-Aluminatkomplex entsteht (79). Durch Hydrolyse wird der Aluminat-Komplex gespalten und das Aminoarylketon (80) erhalten. Die Bildung des para-Derivats und der Acylphenole erfolgt in analoger Weise.

1967 wurde von Bellus<sup>39</sup> die Fries-Umlagerung in dem Sinne modifiziert, dass er die Reaktion auf photochemischem Wege erreichte, die sogenannte Photo-Fries-Umlagerung. Die Reaktionen wurden sowohl mit Acylphenolen als auch mit Acylanilinen durchgeführt und laufen nach einem Diradikalmechanismus ab (Abb. 47). Durch Bestrahlung gelangt das Phenylamid (75) in einen angeregten Zustand (81) und zerfällt unter Bindungsbruch in das Radikalpaar (82), das schließlich zum Semiiminochinon (83) reagiert. Dieses Semiiminochinon (83) tautomerisiert zum o-Acylanilin (80). Die Bildung der p-Acylaniline und der Acylphenole erfolgt analog.



**Abb. 47:** Mechanismus der Photo-Fries-Umlagerung

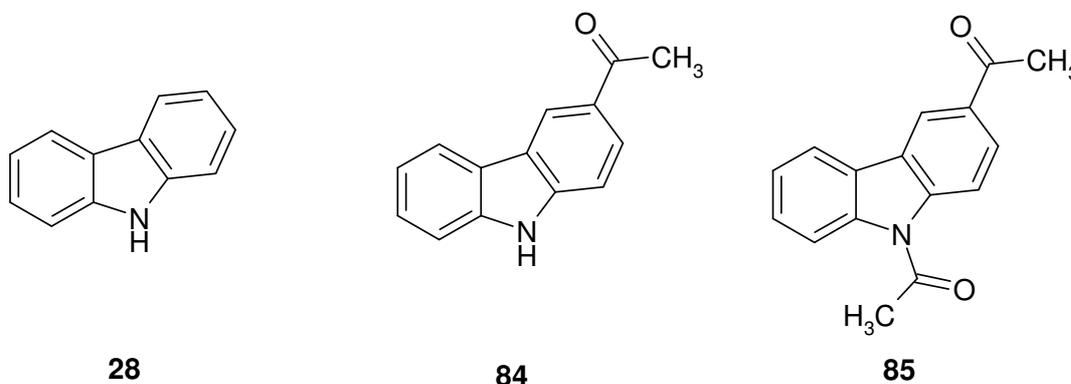
Mehrfach wird in der Literatur von Reaktionen von N-Acetylcarbazol (**39**) zu 1-Acetylcarbazol (**40**) mittels Photo-Fries-Umlagerung berichtet<sup>48, 49</sup>. Da dies eine einfache Methode zur Herstellung von 1-Acetylcarbazol (**40**) darstellte und die Ausbeuten auch akzeptabel waren, versuchten wir zuerst auf diesem Wege 1-Acetylcarbazol (**40**) herzustellen.



**Abb. 48:** Synthesestrategie für 1-Acetylcarbazol (**40**)

Als erstes wurde Carbazol (**28**) mit Acetanhydrid und Zink-(II)-chlorid als Lewisäure zu N-Acetylcarbazol (**39**) umgesetzt. Danach folgte die Bestrahlung unter Stickstoffbegasung über 8 Stunden in Cyclohexan<sup>49</sup> (Abb. 48). Dabei traten mehrere Probleme auf: Das erste Problem bestand darin, dass die Glasgeräte größtenteils nicht aus Quarzglas bestanden, so dass ein Teil des UV-Lichts durch das Glas absorbiert wurde. Das zweite Problem hängt mit dem Lösungsmittel zusammen. Da

Cyclohexan sehr unpolar ist, ließ sich die Probe nur unter Zuhilfenahme des Ultraschallbades lösen. Während der Reaktion fiel ein großer Teil des Edukts wieder aus, so dass die Belichtungseffektivität verringert wurde. Cyclohexan wurde als Lösungsmittel verwendet, weil in der Literatur Einbußen in der Ausbeute bei der Verwendung von polareren Lösungsmitteln berichtet wurden<sup>49</sup>.



**Abb. 49:** Produkte der Photo-Fries-Umlagerung

Bei der Auswertung der Versuche in Cyclohexan stellte sich heraus, dass der Großteil des rückgewonnenen Materials aus Edukt bestand. Als Produkte konnten Carbazol (**28**), 3-Acetylcabazole (**84**) und N,3-Diacetylcabazole (**85**) identifiziert werden (Abb. 49). Das gewünschte 1-Acetylcabazole (**40**) konnte nicht isoliert werden.

Bei einer Variante des Versuchs, der in Methanol unter Zusatz von Iod durchgeführt wurde<sup>50</sup>, konnte ebenfalls kein 1-Acetylcabazole (**40**) gefunden werden. Nach Lit.<sup>50</sup> konnten je nach verwendeter Wellenlänge unterschiedliche Hauptprodukte isoliert werden. Bei kürzerer Wellenlänge (254 nm) entstand bevorzugt 3-Acetylcabazole (**84**), während bei längerer Wellenlänge (366 nm) bevorzugt 1-Acetylcabazole (**40**) isoliert wurde. Des Weiteren wurde postuliert, dass bei dem Mechanismus, der der Photo-Fries-Umlagerung zugrunde liegt, das freie Elektronenpaar des Stickstoffs im Übergangszustand essenziell für die Reaktion ist. Da dies beim Carbazol zu einem erheblichen Verlust an Resonanzenergie führt, resultiert daraus, dass bei der Photoreaktion Reaktionswege, die zu den alternativen Produkten **40**, **28** und **84** führen, in größerem Maße begünstigt werden als das vorher der Fall war.

Da bei den Versuchen keine Einstellung der Wellenlängen möglich war, kann damit die alleinige Entstehung von 3-Acetylcabazole als einziges Umlagerungsprodukt erklärt werden.

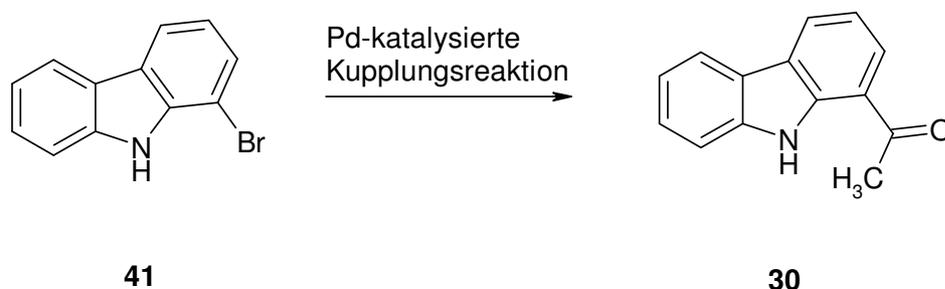
Weil die Photo-Fries-Umlagerung nicht zum gewünschten Produkt führte, wurde noch die Fries-Umlagerung zur Synthese von 1-Acetylcarbazol getestet<sup>51</sup>. Hierbei wurde N-Acetylcarbazol (**39**) in Nitrobenzol mit Aluminiumchlorid erhitzt<sup>52</sup>. Als Produkte konnten hierbei neben dem Edukt (**39**) nur Carbazol (**28**) und 3-Acetylcarbazol (**84**) isoliert werden.

Nachdem weder die Photo-Fries- noch die klassische Fries-Umlagerung zum gewünschten Produkt führten, wurde die Strategie zur Synthese 1-Acetylcarbazol (**40**) geändert.

### 3.1.1.1.2. Synthese von 1-Acetylcarbazol über organometallische Verbindungen

Die nächste Grundstufe, die für die Synthese von 1-Acetylcarbazol benötigt wurde, war das 1-Bromcarbazol (**41**). Dieses sollte dann durch eine Pd-katalysierte Kupplungsreaktion zum 1-Acetylcarbazol umgesetzt werden (Abb. 50).

Der erste Schritt in der Synthese von 1-Bromcarbazol (**41**) war die Synthese von 8-Brom-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol (**44**) aus 2-Bromphenylhydrazin (**43**) und Cyclohexanon (**42**) mittels einer Fischer-Indol-Synthese<sup>53</sup>.

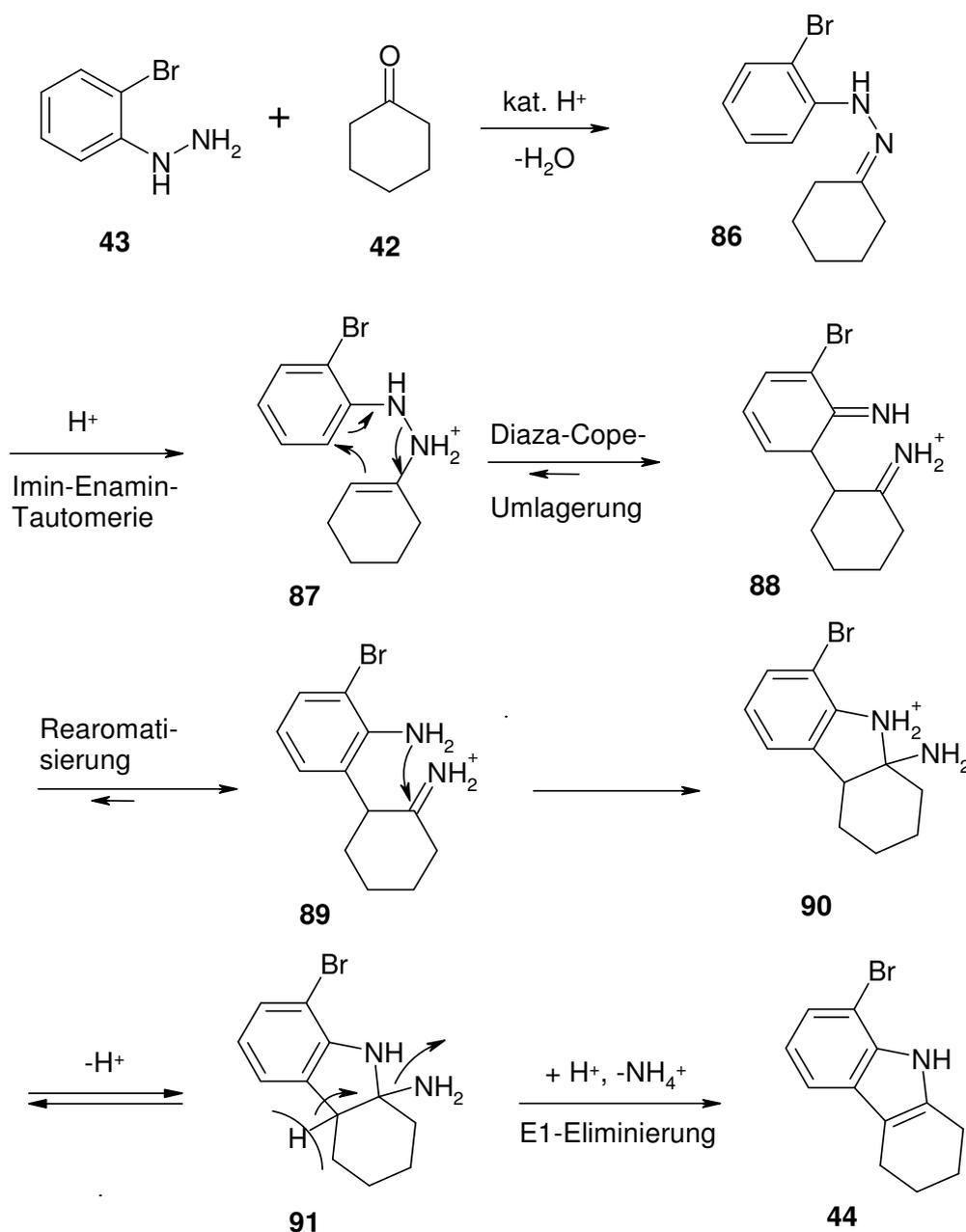


**Abb. 50:** Alternative zur Acetylcarbazol-Synthese

Die Fischer-Indol-Synthese<sup>54</sup> ist die bekannteste und meist eingesetzte Methode, um Indole herzustellen, sie kann aber auch für die Synthese anderer Heterocyclen wie Tetrahydrocarbazol<sup>42</sup> verwendet werden.

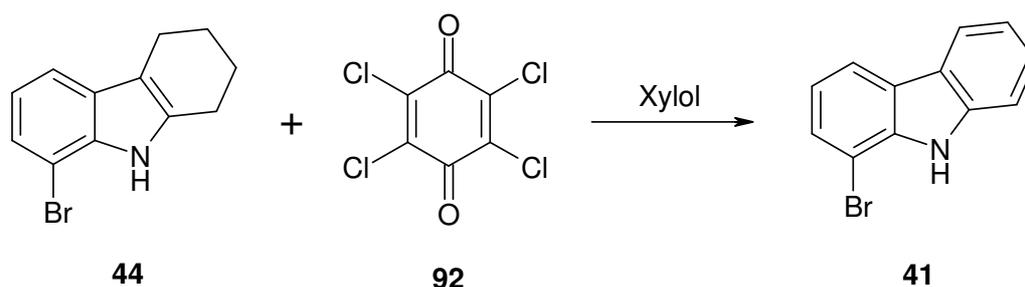
Als Edukte dienen im Allgemeinen Phenylhydrazine und Ketone. Hier im Speziellen wurde 2-Bromphenylhydrazin (**43**) mit Cyclohexanon (**42**) umgesetzt. Dabei findet zuerst unter Säurekatalyse eine Kondensation zum Hydrazon (**86**) statt. Dieses Hydrazon (**86**) tautomerisiert danach zum Enamin (**87**). Das Enamin (**87**) lagert sich dann in einer Diaza-Cope-Umlagerung um. Dabei entsteht ein Diiminderivat

(**88**) und die Aromatizität des Phenylringes geht kurzzeitig verloren. Deswegen rearomatisiert der Phenylring im nächsten Schritt in einer erneuten Imin-Enamin-Tautomerie wieder zum Aromaten (**89**). Unter dem Einfluss von Säure greift das nun entstandene Anilinderivat (**89**) das noch verbliebene Imin an und bildet den „Pyrrolin“-Ring (**90**) des späteren Indols. Nach Abspaltung eines Protons wird die ungeladene Spezies (**91**) in einer E1-Eliminierung unter Abspaltung von Ammoniak zum Indol, genauer gesagt dem 8-Brom-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol (**44**) umgesetzt (Abb. 51). Die Ausbeute bei dieser Reaktion lag bei 80%.



**Abb. 51:** Mechanismus der Fischer-Indol-Synthese

Dieses Tetrahydrocarbazol musste dann nur noch zum 1-Bromcarbazol (**41**) dehydriert werden. Eine der gängigen Methoden ist die Dehydrierung mit p-Chloranil (2,3,5,6-Tetrachlorbenzochinon) (**92**) in Xylol<sup>43</sup> (Abb. 52). Dieses gelang in Ausbeuten von bis zu 70 %. Eine weitere Möglichkeit zur Dehydrierung stellt die Verwendung von DDQ (2,3-Dichlor-5,6-dicyanobenzochinon) dar. Als Begleitprodukt entsteht dabei das jeweilige Hydrochinon. Da die Reaktion in akzeptablen Ausbeuten mit p-Chloranil funktionierte, wurde auf eine Dehydrierung mittels DDQ verzichtet.



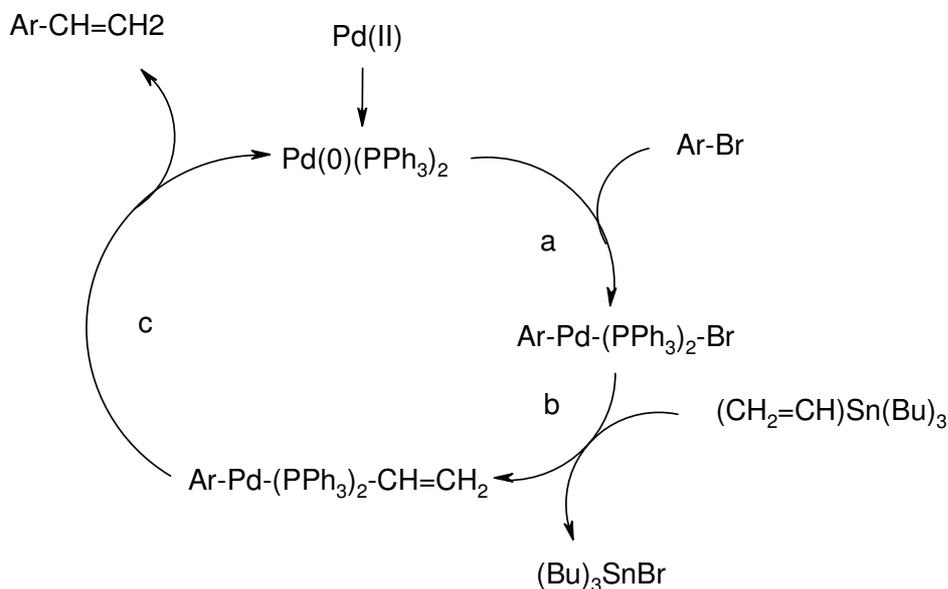
**Abb. 52:** Dehydrierung mit Chloranil

Da nun 1-Bromcarbazol (**41**) zur Verfügung stand, konnte die Synthese von 1-Acetylcabazol (**40**) wieder in Angriff genommen werden. Als erstes wurde eine Kupplung nach Stille<sup>41</sup> mit Tributylethoxyvinylstannan (**93**) und Bis(triphenylphosphin)palladium-(II)-chlorid als Katalysator durchgeführt, weil Hildebrand<sup>12</sup> schon bei der Synthese von 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin gute Erfahrungen mit dieser Reaktion gesammelt hatte.

Die Stille-Kupplung ist eine sehr elegante Methode, um neue C-C-Verknüpfungen zu generieren. Obwohl erst 1978<sup>41</sup> entwickelt, ist sie heute wegen der großen Vielfalt an Umsetzungsmöglichkeiten in der präparativen Chemie eine häufig benutzte Synthese. Bei der Stille-Kupplung werden Organozinnverbindungen Palladium-katalysiert mit C-Elektrophilen umgesetzt. Als Elektrophile werden hierfür Säurechloride, Allyl-, Vinyl-, Benzyl-, Arylhalogenide, vor allem Bromide und Iodide, und Triflate eingesetzt. Bei den Stannanen reicht die Palette von der Übertragung von Alkyl-, Vinyl-, Allyl-, Aryl-, Benzyl- und Alkylgruppen bis hin zu einfachen Hydriden. Da Alkylgruppen allgemein sehr langsam übertragen werden, wird im Allgemeinen der vierte Substituent übertragen.

Der Mechanismus der Stille-Kupplung soll am Beispiel eines Arylbromids und eines Tributylvinylstannans beispielhaft beschrieben werden. Der Mechanismus lässt sich in Form eines katalytischen Zyklus beschreiben. Der Palladium-Katalysator

kann sowohl als Pd(II)-Verbindung als auch in Form von Pd(0) eingesetzt werden. Werden als Katalysatoren Pd(II)-Verbindungen eingesetzt, müssen diese erst durch einen Überschuss an Stannan zu Pd(0) reduziert werden.

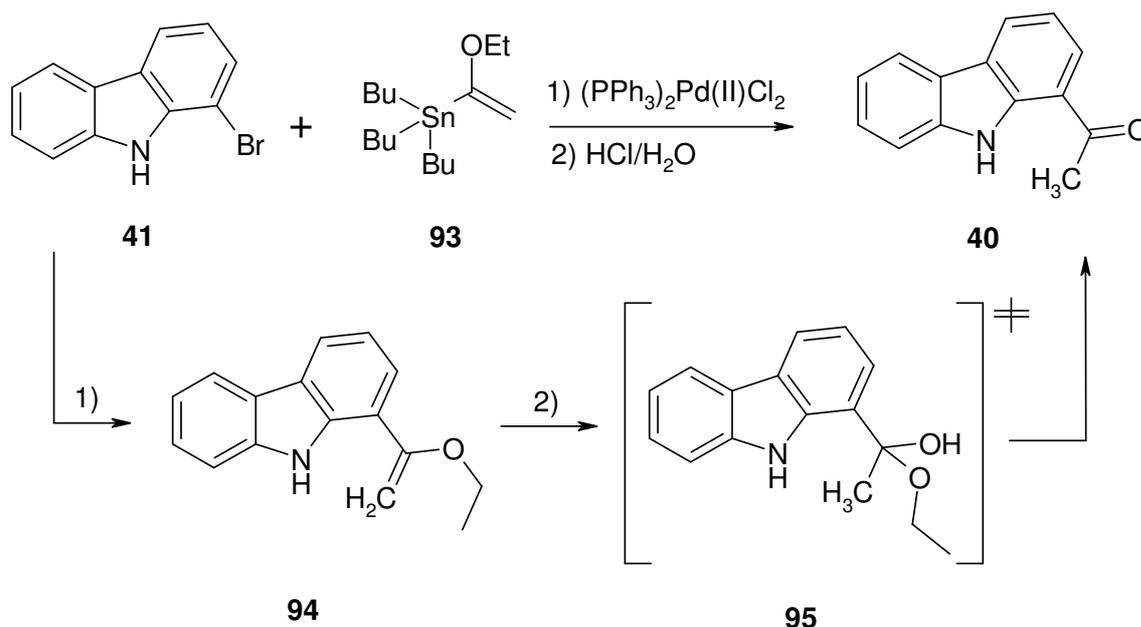


**Abb. 53:** Mechanismus der Stille-Kupplung

Im ersten Schritt setzt sich das Arylbromid in einer oxidativen Addition mit dem Palladium(0) zu einem Palladium(II)komplex um (a). Danach erfolgt in einer Transmetallierung die Umsetzung des Palladiumkomplexes mit dem Stannan (b). Dabei entstehen das Bromtrialkylstannan und ein Arylpalladiumvinylkomplex. Im letzten Schritt entsteht bei einer reductiven Eliminierung das gewünschte Arylvinyl-Produkt und der Katalysator wird zur Palladium(0)-Spezies regeneriert (c) (Abb. 53).

Wenn man Carbonylgruppen mit der Stille-Kupplung einführen will, bedient man sich der von den Carbonylgruppen abgeleiteten Enolether. Die aus der Kupplung resultierenden Enolether lassen sich durch Säuren leicht zu den Ketonen hydrolysieren. Deshalb wurde für die Einführung der Acetylgruppe 1-Ethoxyvinyltributylstannan verwendet.

Durch anschließende saure Hydrolyse des Enolethers (**94**) erhält man das Halb-acetal (**95**), das unter Abspaltung von Ethanol zum dazugehörigen Keton reagiert (Abb. 54).



**Abb. 54:** Synthese von 1-Acetylcarbazol mittels Stille-Kupplung

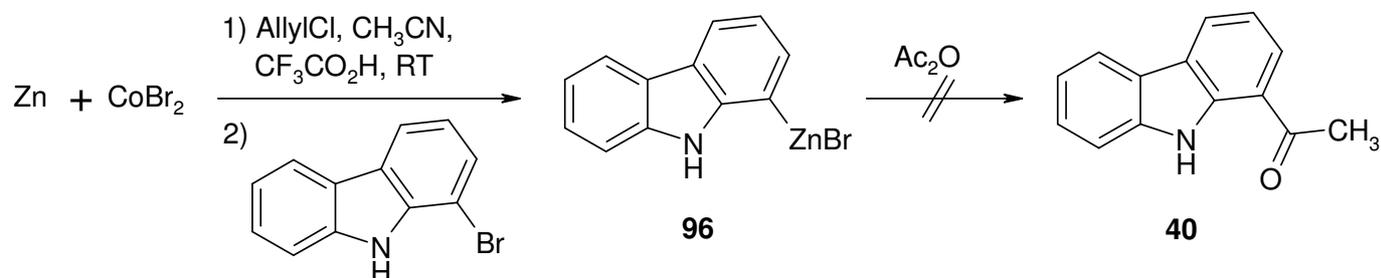
Nachdem die Synthese des Ketons über die Stille-Kopplung in guten Ausbeuten von 60% erfolgreich war, wurde wegen der teuren Stannan-Komponente über eine alternative und billigere Synthese nachgedacht.

Als mögliche Variante erwies sich die Umsetzung von Säurechloriden mit Organozinkverbindungen. Von Bertrand<sup>55</sup> und Blaise<sup>56</sup> Ende des 19. Jahrhunderts/ Anfang des 20. Jahrhunderts entwickelt, eignet sich diese Methode, wenn sich sensible funktionelle Gruppen wie Cyano-, Keto- oder Estergruppen im Molekül befinden. Für eine erfolgreiche Reaktion ist vorher oft eine entsprechende Aktivierung nötig. Dies kann wie beim Zink nach Rieke<sup>57</sup> dadurch erfolgen, dass Zink-(II)-halogenide durch Naphthalin und Lithium zu einem aktiveren Zink reduziert werden. Eine andere Möglichkeit stellt die Methode nach Knoche<sup>58</sup> dar. Hier wird die Organozinkspezies bei niedrigen Temperaturen durch einen Metall-Halogen-Austausch zwischen einem Arylbromid und Isopropylmagnesiumchlorid, in dem eine Grignard-Verbindung generiert wird, und einer anschließenden Transmetallierung mit Zink-(II)-halogeniden dargestellt. Eine weitere Variante wurde von Gosmini<sup>59</sup> entwickelt. Hier bedient man sich Cobalt-(II)-bromid als Katalysator, um die Organozinkspezies herstellen zu können.

Die so hergestellten Organozink-Verbindungen können dann mit Säurechloriden oder -anhydriden umgesetzt werden. Da Säurechloride sich durch eine besonders hohe Reaktivität auszeichnen und somit die Gefahr bestand, dass bei der Verwendung von Acetylchlorid der Stickstoff acetyliert wird, sollte die Reaktion mit Acetan-

hydrid durchgeführt werden. Eine von Gosmini weiterentwickelte Methode<sup>60</sup>, die die Reaktion in einer Eintopfmethode mit elementarem Zink, Cobalt-(II)-bromid als Katalysator, Allylchlorid, Trifluoressigsäure zum Aktivieren des Zinks und Acetanhydrid durchführte, erfüllte diese Voraussetzung und wurde deswegen durchgeführt (Abb. 55). Es war mir dabei bewusst, dass die NH-Gruppe des Carbazols durch ihre NH-Acidität theoretisch mit der Organozink-Spezies **96** reagieren könnte. Dieses Risiko wurde dabei in Kauf genommen. Zudem hatte Gosmini erfolgreiche Versuche mit cyanosubstituierten Aromaten, die bei der Reaktion nicht mit der Organozink-Spezies reagierten, durchgeführt, die für die milden Bedingungen und wenig Nebenreaktionen sprachen.

Eine DC-Kontrolle des Ansatzes ergab, dass keine Umsetzung erfolgt war. Eine mögliche Erklärung für diesen Umstand könnte sein, dass das elementare Zink durch die vorher ablaufende Oxidation zur Zn-(II)-Spezies das Bromcarbazol deprotoniert und damit die Reaktivität von Bromcarbazol für die Reaktion herabgesetzt wird. Eine mögliche Abhilfe für diese theoretische Nebenreaktion, wäre die Verwendung von Schutzgruppen für den Stickstoff. Eine ausführlichere Beschreibung zu den Schutzgruppen findet sich in Kapitel 3.1.1.2. Weitere Versuche zur Synthese von 1-Acetylcabazol wurden nicht unternommen.

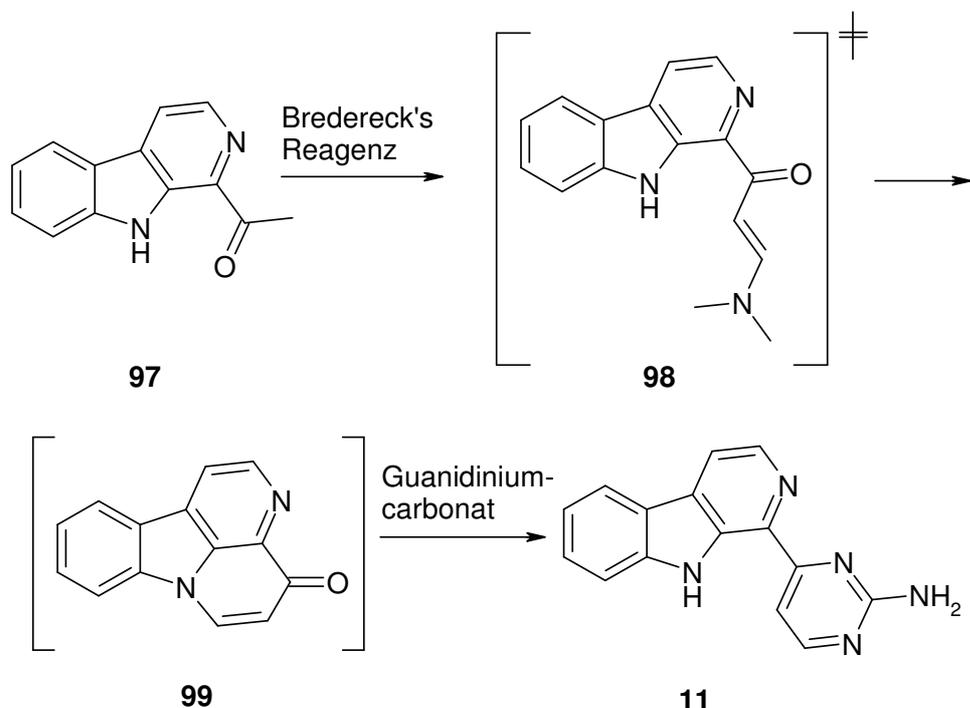


**Abb. 55:** Versuch zur Synthese von 1-Acetylcabazol (**40**) mit einer Organozinkreaktion

### 3.1.1.2. Synthese von 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-cabazol

Nach der erfolgreichen Synthese von 1-Acetylcabazol wurden keine weiteren Probleme in der Synthese erwartet. Bei der Synthese von Annomontin wurde 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) in einer Eintopfreaktion mit Bredereck's Reagenz (Bis(dimethylamino)-tert-butoxymethan) und Guanidiniumcarbonat umgesetzt. Für den ersten Schritt wurde von Hildebrand<sup>12</sup> ein Enaminoketon (**98**) postuliert, das mit

Guanidiniumcarbonat zum Aminopyrimidinring cyclisiert. Durch weitere Untersuchungen in unserem Arbeitskreis konnte von Puzik<sup>44</sup> jedoch gezeigt werden, dass das Enaminoketon intramolekular zum Canthin-4-on (**99**) reagiert, das dann durch Guanidiniumcarbonat unter Ringtransformation nucleophil angegriffen wird, um den Aminopyrimidinring (**11**) aufzubauen (Abb. 56).



**Abb. 56:** Syntheseroute zu Annomontin (**11**)

Eine analoge Syntheseroute sollte ausgehend von 1-Acetylcarbazol für das Aminopyrimidylcarbazolderivat verwendet werden. Nach der Aufarbeitung und Aufreinigung kamen allerdings bei der Aufklärung der Struktur Fragen auf. Im <sup>13</sup>C-NMR konnte ein quartäres C-Atom nicht lokalisiert werden. Außerdem wurde mittels MS festgestellt, dass statt der erwarteten Masse von 260 (EI) bzw. 261 (CI) ein Spektrum mit den Massen von 219 (EI) bzw. 220 (CI) erhalten wurde. Dieser Umstand konnte nur mit der Tatsache erklärt werden, dass nicht das gewünschte Produkt **29** entstanden war, sondern die Reaktion auf der Stufe des Tetracyclus **45** stehen geblieben war, das allerdings mit einer Ausbeute von fast 90% (Abb. 57).

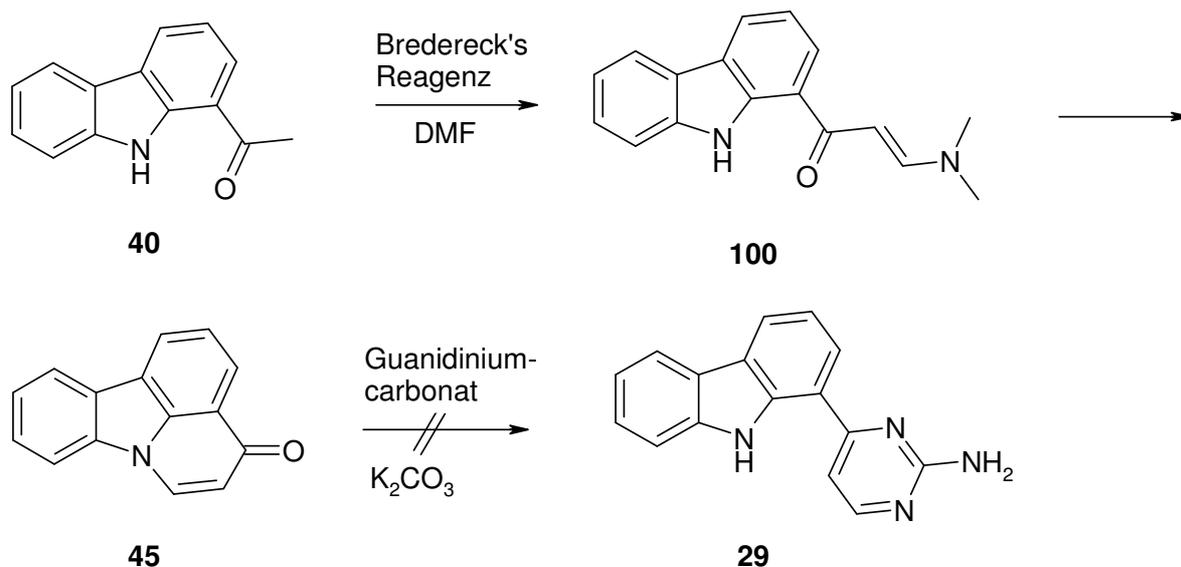


Abb. 57: Zwischenprodukt bei der Synthese von 29

Der Tetracyclus **45** wurde bereits von Rapoport und Bowman<sup>61</sup> ausgehend von 3-Carbazol-9-yl-propionsäure (**103**) synthetisiert. **103** wurde mit Hilfe von wasserfreier Fluorwasserstoffsäure in einer Friedel-Crafts-artigen Reaktion zum 5,6-Dihydro-pyrido[3,2,1-jk]-9H-carbazol-4-on cyclisiert (**104**). **104** wurde danach mit Pd/C zum Pyrido[3,2,1-jk]-9H-carbazol-4-on (**45**) dehydriert. Als Ausgangsstoff diente das 3-(Carbazol-9-yl)-propionitril (**102**), das in einer alkalischen Hydrolyse zu **103** umgesetzt wurde. Um **102** zu erhalten, wurde Carbazol mit Acrylnitril (**101**) unter Katalyse von Benzyltrimethylammoniumhydroxid versetzt und mit Wasserdampf erhitzt<sup>62</sup> (Abb. 58).

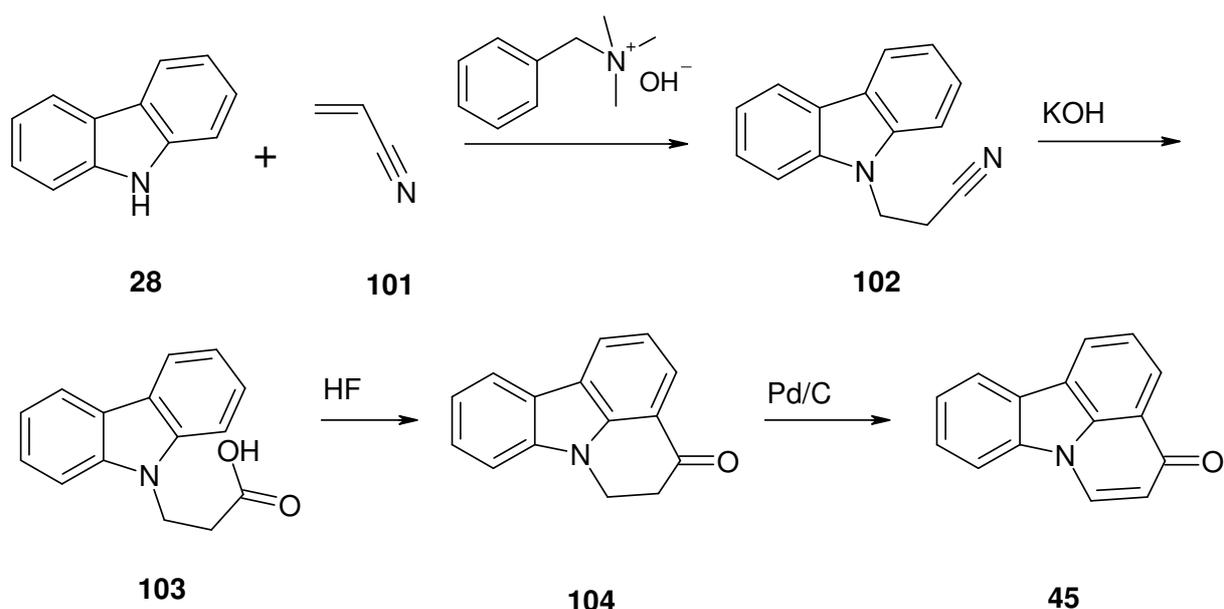


Abb. 58: Synthese von Pyrido[3,2,1-jk]-9H-carbazol-4-on (**45**)

Es wurden mehrere Versuche unternommen, aus dem Tetracyclus **45** das gewünschte Aminopyrimidin **29** herzustellen. Eine Überlegung war, dass die Nucleophilie von Guanidin mit Kaliumcarbonat als Base zu gering wäre, um den Ring zu öffnen. Deswegen wurde anstatt Kaliumcarbonat eine stärkere Base, in diesem Fall Calciumhydrid, als Base gewählt. Allerdings zeigte dies nicht den erhofften Effekt. Danach wurde überlegt, ob mit mehr Energie die Ringöffnung gelingen könnte. Deshalb wurde der Tetracyclus **45** in der Mikrowelle in einem Fall in DMF mit Guanidiniumcarbonat erhitzt. Des Weiteren wurde in der Mikrowelle versucht, die Komponenten aufgezogen auf basischem Aluminiumoxid zur Reaktion zu bewegen. Auf der DC ließ sich aber nur Edukt nach der Reaktion entdecken. Als letztes wurde **11** mit Guanidiniumchlorid und Kaliumcarbonat versetzt und im Trockenschrank bis zur Schmelze erhitzt. Auch dieser Ansatz zeigte nicht die erhoffte Umsetzung. Offensichtlich ist das Carbazol-Analogon **45** sehr stabil und zeigt eine deutlich geringere Tendenz zur Ringtransformation mit Guanidin als das Canthin-4-on **99**.

Als Abhilfe bot sich an, die intermediäre Cyclisierung des Enaminketons zum Tetracyclus **45** zu unterbinden, um dann aus dem reaktiven Enaminketon den Aminopyrimidin-Ring aufzubauen.

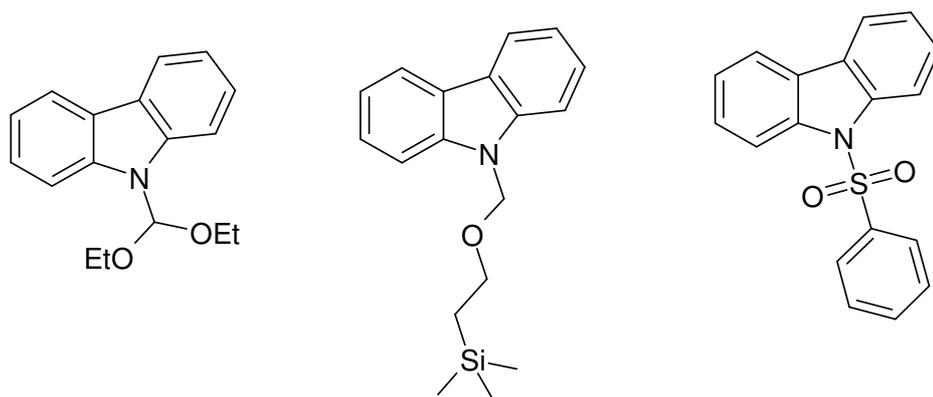
Dieses Ziel sollte sich durch Einführung einer Schutzgruppe am Carbazol-Stickstoff erreichen lassen.

Die Schutzgruppenchemie ist ein sehr weites Feld und füllt mittlerweile schon mehrere Bücher. Deswegen sollen exemplarisch nur drei mögliche Schutzgruppen für Carbazol diskutiert werden:

1. Diethoxymethyl-Schutzgruppe (DEM): Diese Schutzgruppe wurde von P. Gmeiner entwickelt und ist dafür geeignet, Amide, Lactame und Indole zu schützen<sup>63, 64</sup>. Erhitzt man ein Indol-Derivat mit Triethylformiat, entsteht ein N-Diethoxymethylindol. Die DEM-Gruppe ist stabil gegen starke Basen und kann durch Hydrolyse mit HCl und anschließende Behandlung mit NaOH effizient wieder entfernt werden. Nachteil dieser Methode sind die schwankenden Ausbeuten (46-82%)<sup>64</sup> bei der Schutzgruppeneinführung.
2. N,O-Acetal-Schutzgruppen: Durch die relative Hydrolyseempfindlichkeit von N,O-Acetalen werden diese nur selten als Schutzgruppen für einfache Ami-

de verwendet. Wesentlich häufiger werden N,O-Acetale wie Benzyloxymethyl- (BOM), Methoxymethyl- (MOM) und 2-Trimethylsilylethoxymethyl-Schutzgruppen (SEM) für Indol-, Imidazol- und Pyrrolderivate verwendet<sup>65</sup>. Ein wesentlicher Vorteil der SEM-Schutzgruppe ist die Tatsache, dass sie sich selektiv und effektiv durch Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) entfernen lässt.

3. N-Sulfonyl-Schutzgruppen: Sulfonamide stellen eine der stabilsten Schutzgruppen für Stickstoffatome dar. Ihre Vorteile liegen in der geringeren Empfindlichkeit gegenüber Nucleophilen und der oft hohen Kristallisationsneigung. Je nachdem welcher Art das Amin ist, lässt sich die Schutzgruppe mehr oder weniger leicht wieder abspalten. Bei wenig bis gar nicht basischen Aminen wie Indolen, Pyrrolen und Imidazolen ist die Abspaltung durch eine einfache alkalische Hydrolyse möglich<sup>66</sup>.



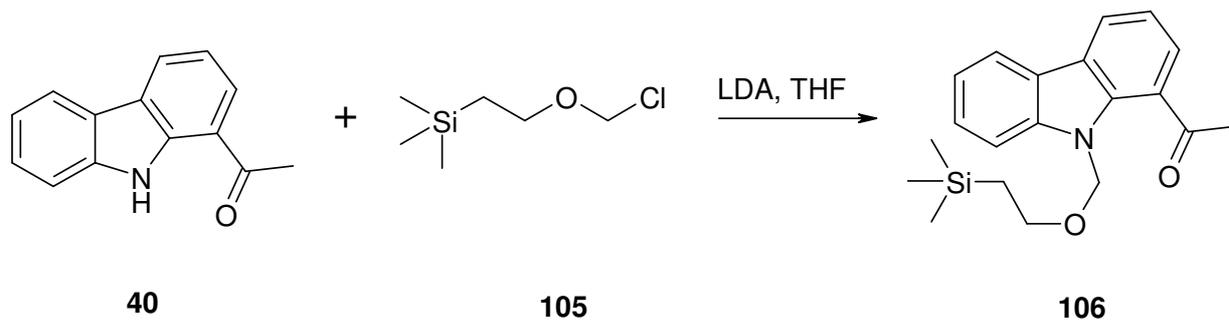
1. DEM-Schutzgruppe

2. SEM-Schutzgruppe

3. N-Sulfonyl-Schutzgruppe

**Abb. 59:** Formelschema zu den Schutzgruppen am Beispiel von Carbazol

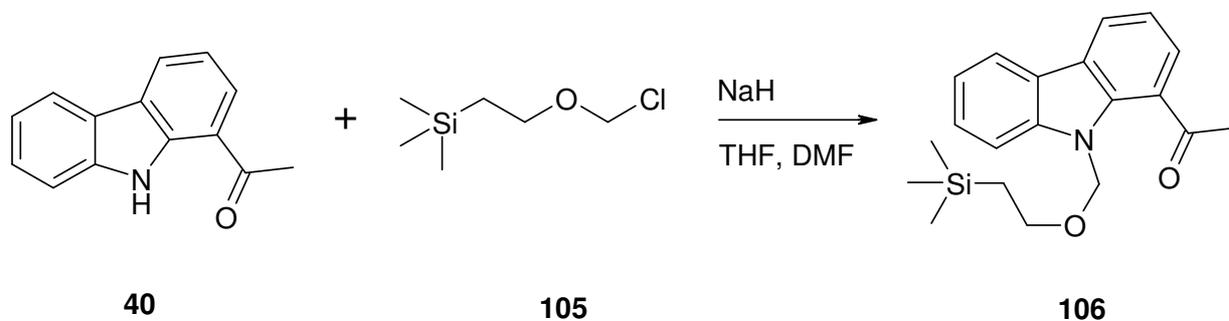
Kast<sup>13</sup> hatte im Bereich der  $\beta$ -Carboline schon Versuche mit Schutzgruppen durchgeführt. Er hatte dabei festgestellt, dass die Einführung der DEM-Schutzgruppe bei  $\beta$ -Carbolen nicht möglich ist. Die nächste für Kast nützliche Gruppe, waren die N,O-Acetale. In dieser Gruppe entschied er sich für die SEM-Schutzgruppe. Diese konnte er erfolgreich mit Hilfe von LDA und SEM-Chlorid (**105**) in THF einführen<sup>13</sup>. Da sich  $\beta$ -Carboline und Carbazole strukturell sehr ähnlich sind und in unserem Arbeitskreis auch schon Probleme bei der Verwendung von N-Sulfonyl-Schutzgruppen auftraten, wurde beschlossen als Schutzgruppe SEM zu verwenden.

**Abb. 60:** Synthese von **106**

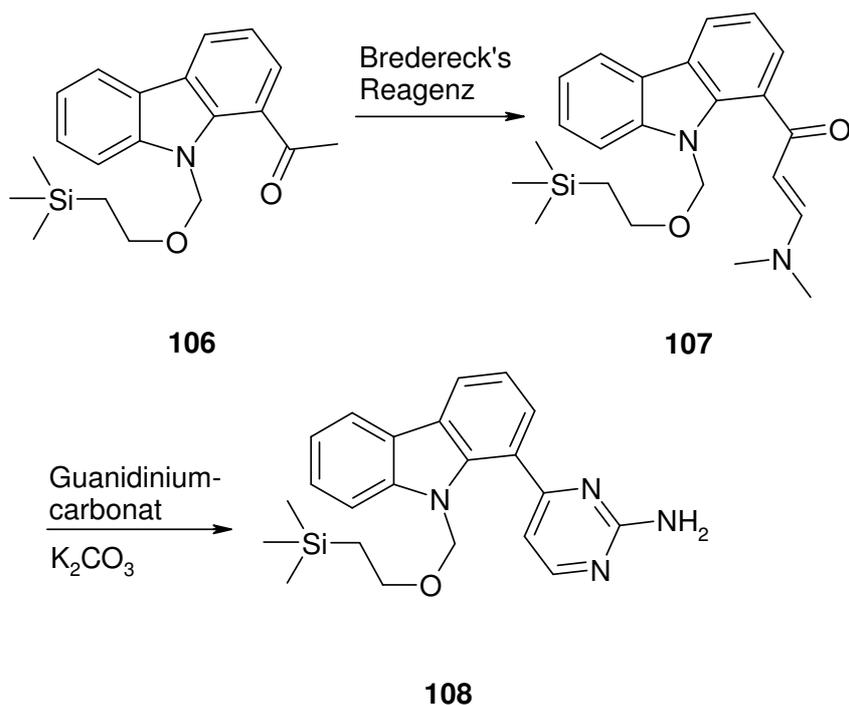
Bei der Umsetzung von **40** nach der Methode von Kast wurde das erwünschte SEM-1-Acetylcarbazol (**106**) erhalten (Abb. 60), aber in geringen Ausbeuten von 15%, so dass nach einer besseren Methode für die Umsetzung zu **106** gesucht wurde.

In einer leicht abgewandelten Reaktion wurde anstatt LDA Natriumhydrid als Base verwendet und anstatt reinem THF wurde eine 1:1-Mischung von THF und DMF verwendet (Abb. 61)<sup>67</sup>.

Die Ausbeuten bei der neuen Methode waren mit 56% wesentlich besser als bei der Reaktion nach Kast, so dass für die weiteren Synthesen diese Methode verwendet wurde.

**Abb. 61:** Synthese von **106** mit NaH als Base

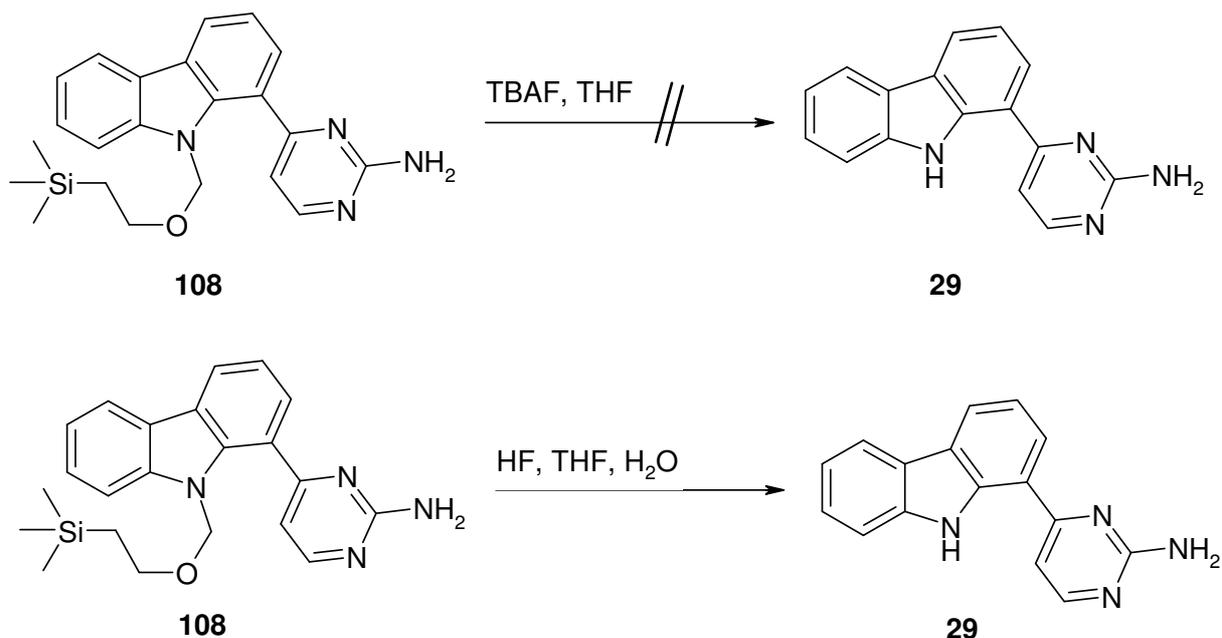
Nach der erfolgreichen Einführung der Schutzgruppe wurde nun erneut versucht, den Aminopyrimidinring aufzubauen. Dies gelang auch mit Ausbeuten von über 80% sehr gut (Abb. 62).



**Abb. 62:** Synthese von **108**

Abschließend folgte nun noch die Abspaltung der Schutzgruppe. Dazu wurde **108** in THF mit einer 1 molaren Lösung von TBAF in THF versetzt und zum Rückfluss erhitzt. Nach der Aufarbeitung konnte aber nur Edukt isoliert werden (Abb. 63).

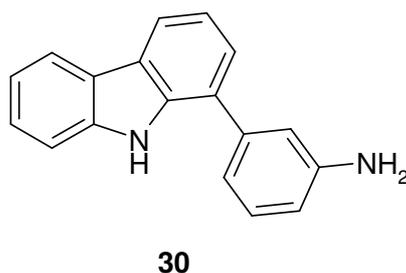
Da die Abspaltung mit TBAF nicht funktioniert hatte, wurde auf eine schon von Berns benutzte Methode zur Abspaltung zurückgegriffen<sup>68</sup>. Berns hatte die Schutzgruppe in THF mit 40 %-iger HF-Lösung in Wasser bei Raumtemperatur gespalten (Abb. 63). Der Endpunkt der Abspaltung wurde durch Entnahme von DC-Proben ermittelt. Als auf der DC kein Edukt mehr zu erkennen war, wurde der Ansatz aufgearbeitet und das erwünschte 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-9*H*-carbazol **29** in 60%-iger Ausbeute erhalten.



**Abb. 63:** Abspaltung der SEM-Schutzgruppe

### 3.1.1.3. Synthese von 1-(3-Aminophenyl)-9H-carbazol

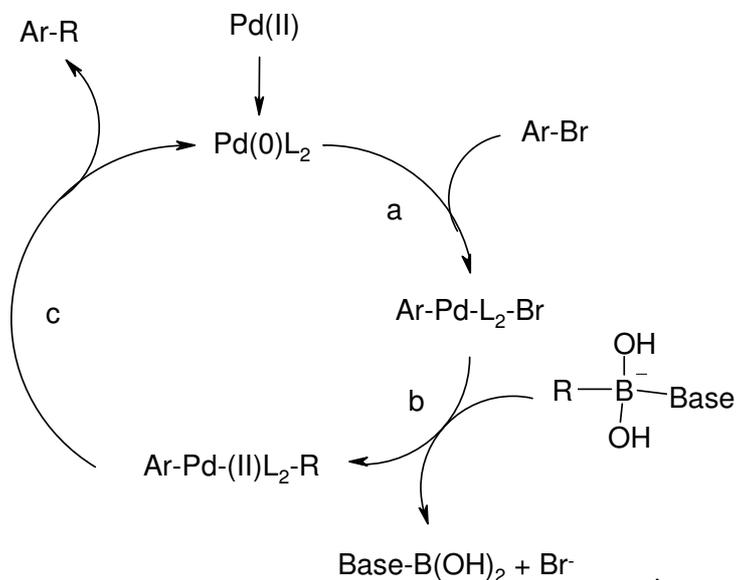
Um die Bedeutung der Stickstoffatome im Annomontin erklären zu können, wurde überlegt, zusätzlich die beiden Stickstoffatome aus dem Pyrimidinring zu entfernen. Dadurch könnte überprüft werden, ob die Stickstoffatome im Molekül als H-Brückenakzeptoren überhaupt von Nöten sind. Die daraus resultierende Zielverbindung ist 1-(3-Aminophenyl)-9H-carbazol (**30**).



**Abb. 64:** 1-(3-Aminophenyl)-9H-carbazol (**30**)

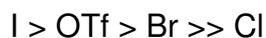
Da 1-Bromcarbazol (**41**) zur Verfügung stand, bot sich für die Synthese von **30** (Abb. 64) eine Pd-katalysierte Kupplung an. Hildebrand<sup>12</sup> stand während seiner Arbeiten zu 1-Aryl- $\beta$ -carbolinen vor einem ähnlichen Problem und entschied sich damals erfolgreich für die Suzuki-Kupplung. Diese wurde von mir auch zur Synthese von **30** herangezogen.

Bei der Suzuki-Reaktion handelt es sich um eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung von Organobor-Verbindungen. Dabei werden Organobor-Verbindungen, meist Boronsäuren, mit Aryl-, Alkenyl- oder Alkynylhalogeniden versetzt<sup>69</sup>. Der Mechanismus der Suzuki-Reaktion ähnelt dem der Stille-Kupplung, der in einem katalytischen Zyklus beschrieben werden kann<sup>70</sup> (Abb. 65).



**Abb. 65:** Mechanismus der Suzuki-Reaktion

Als Erstes findet eine oxidative Addition der Organohalogenverbindung an den Palladium(0)-Komplex statt (a). Dabei bildet sich eine Palladium(II)-Spezies aus. Dieser Schritt ist meist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Kupplung. Die Geschwindigkeit fällt innerhalb der Halogenide (und Triflate) in folgender Reihenfolge ab.

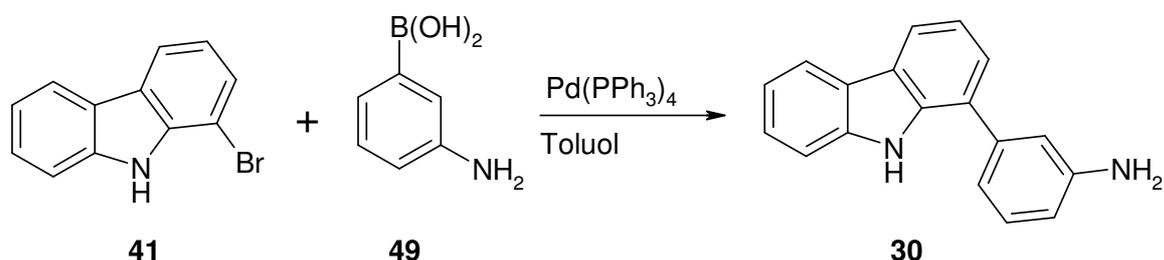


Als zweiter Schritt folgt eine Transmetallierung, in der der Rest R der Organoborverbindung auf das Palladium übertragen wird, das jetzt bereits beide zu verknüpfenden Reste R und Ar trägt (b). Bei dieser Reaktion ist wichtig, dass das Boratom durch die Base in einen tetravalenten Zustand versetzt wird (Aktivierung). Deswegen läuft die Suzuki-Reaktion, im Gegensatz zur Heck- und Stille-Kupplung, die unter neutralen Reaktionsbedingungen ablaufen, nur unter basischen Bedingungen ab. Im letzten Schritt wird durch eine reductive Eliminierung das gewünschte

Kupplungsprodukt unter Rückgewinnung des Katalysators zum Palladium(0)-Komplex gewonnen (c).

Die Reaktion von Aryl- oder Heteroarylboronsäuren mit Aryl- und Heteroarylhalogeniden unter Suzuki-Bedingungen ist eine einfache Möglichkeit um Biaryle zu gewinnen.

Für die Synthese von **30** wurde **41** mit kommerziell erhältlicher 3-Aminophenylboronsäure (**49**), Kaliumcarbonat und Tetrakis(triphenyl-phosphin)-palladium(0) versetzt und in Toluol zum Rückfluss erhitzt (Abb. 66). Dadurch konnte **30** in Ausbeuten von über 30% synthetisiert werden.

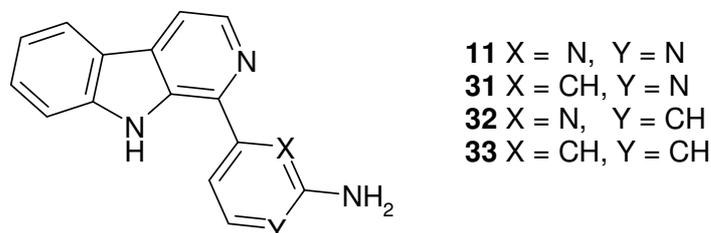


**Abb. 66:** Synthese von 1-(3-Aminophenyl)-carbazol

Weitere Desaza-Derivate mit Carbazol als Grundkörper wurden nicht hergestellt, so dass nun die Herstellung der Desaza-Derivate mit  $\beta$ -Carbolin als Grundkörper die nächste Aufgabe darstellte.

### 3.1.2. Desaza- $\beta$ -carbolin-Analoga von Annomontin

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit den Desazaderivaten des Annomontins, deren Grundkörper das  $\beta$ -Carbolin ist.



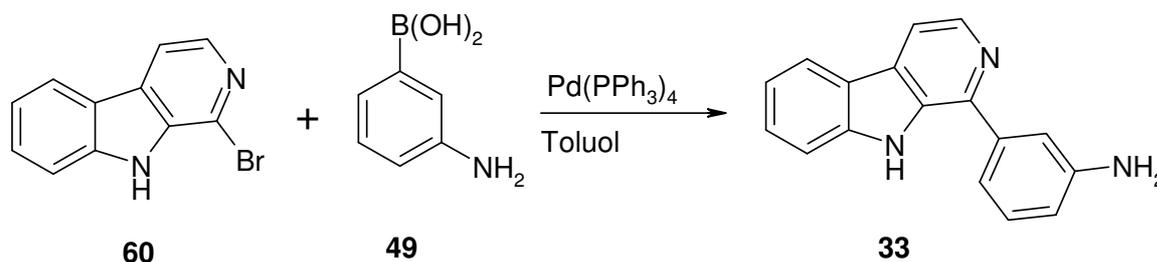
**Abb. 67:** Annomontin (**11**) und dessen Desaza-Derivate mit  $\beta$ -Carbolin-Grundkörper

Um zu Desazaderivaten zu kommen, müssen einzelne Stickstoffatome im Aminopyrimidinring gegen Kohlenstoff ausgetauscht werden. Dabei sind drei unterschied-

liche Derivate möglich: 1-(2-Aminopyridin-4-yl)- (**31**), 1-(2-Aminopyridin-6-yl)- (**32**) und 1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin (**33**, Abb. 67).

### 3.1.2.1. 1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin

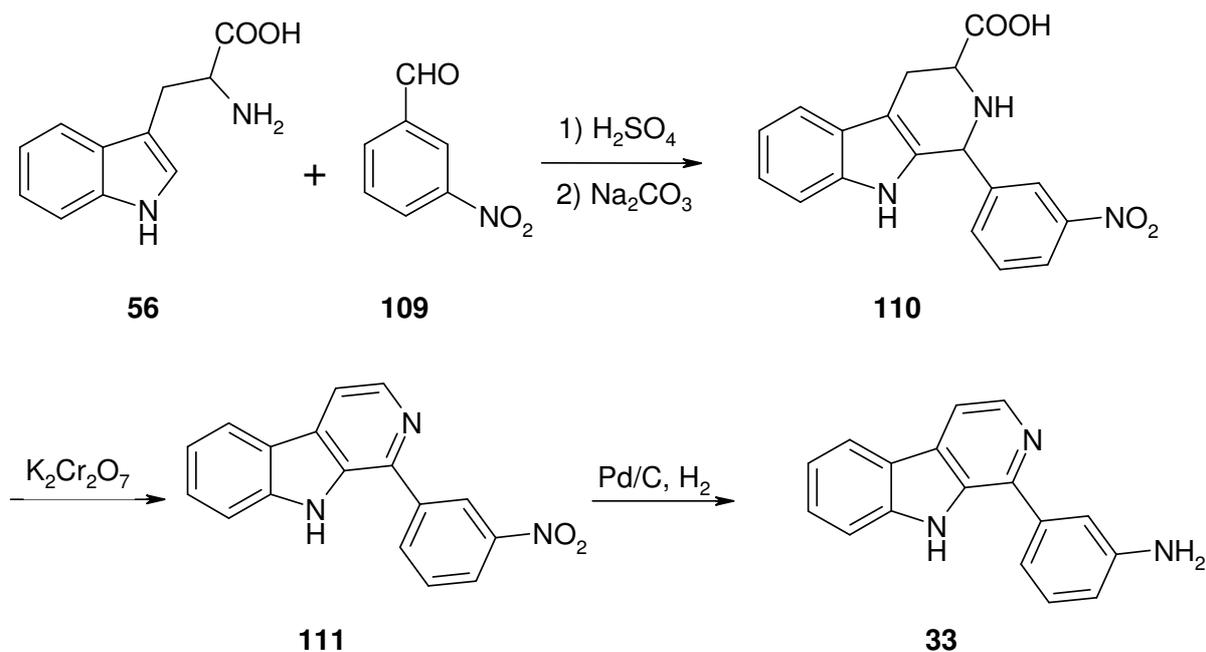
Für die Synthese von **33** wurde in analoger Weise vorgegangen wie bei Verbindung **30**. Da 1-Brom- $\beta$ -carbolin (**60**) zur Verfügung stand, wurde die Synthese über eine Suzuki-Kupplung geplant und erfolgreich mit einer Ausbeute von 40 % durchgeführt (Abb. 68).



**Abb. 68:** Synthese über Suzuki-Kupplung

Natürlich wäre die Synthese prinzipiell auch über eine Bischler-Napieralski- oder Pictet-Spengler-Synthese möglich gewesen, diese Methoden wurden hier aber nicht angewendet. Die beiden Reaktionen werden in Kap. 3.1.2.2.1. und Kap. 3.1.2.2.2. noch ausführlich erläutert.

Tatsächlich ist die Synthese von **33** über eine Pictet-Spengler-Reaktion bereits beschrieben<sup>71</sup>. Da eine Aminogruppe die Pictet-Spengler-Reaktion aufgrund Polymerbildung stören würde, wurde die Reaktion nicht mit 3-Aminobenzaldehyd sondern mit 3-Nitrobenzaldehyd (**109**) und Tryptophan (**56**) durchgeführt. Das entstandene Tetrahydro- $\beta$ -carbolin (**110**) wurde mit Dichromat zum  $\beta$ -Carbolin (**111**) oxidiert und die Nitrogruppe anschließend mit Pd/Kohle und Wasserstoff zu **33** reduziert (Abb. 69).



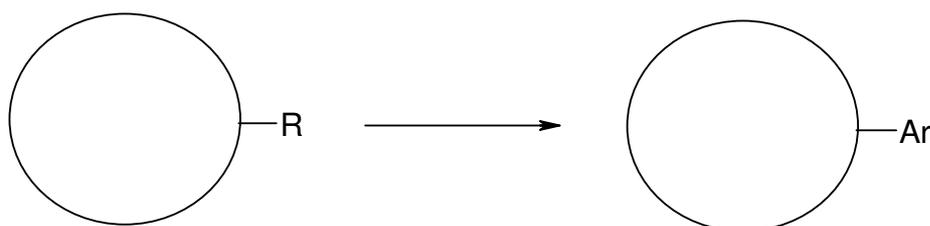
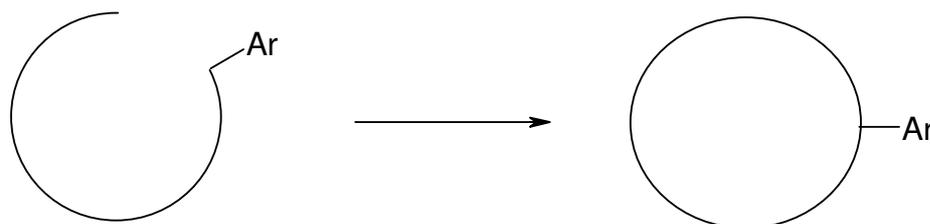
**Abb. 69:** Syntheschema für 1-(3-Aminophenyl)-β-carboline nach Lit.<sup>71</sup>

### 3.1.2.2. Aminopyridyl-β-carboline

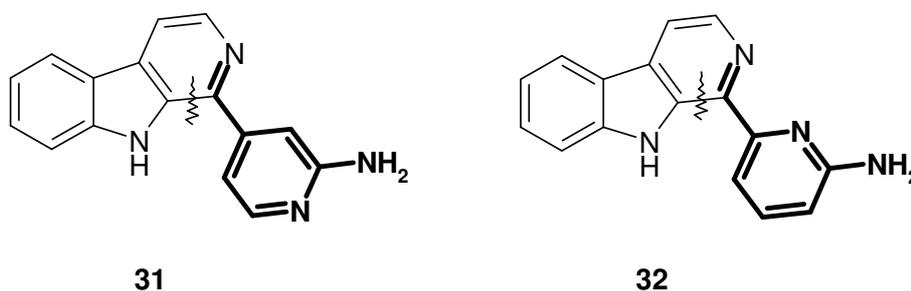
Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Reste und der analogen Synthesestrategie werden die Pyridyl-β-carboline in einem und nicht in zwei getrennten Kapiteln besprochen.

Allgemein gibt es zwei Möglichkeiten, um aromatische Substituenten eines Grundkörpers zu variieren.

Die erste Möglichkeit besteht darin, aus leicht am Grundkörper zu generierenden funktionellen Gruppen, wie Acetylresten, Halogenen, etc. den Aromaten komplett neu aufzubauen oder den Aromaten mit Hilfe von Übergangsmetallen, z.B. in einer Stille- oder Suzuki-Kupplung (s. Kap. 3.1.1.1.2., Kap. 3.1.1.3.), mit dem Grundkörper zu verbinden. Wenn die erste Möglichkeit nicht durchführbar ist, muss man dazu übergehen, dass man den Grundkörper zusammen mit dem gewünschten aromatischen Substituenten aufbaut (Abb. 70).

**1. Möglichkeit****2. Möglichkeit****Abb. 70:** Prinzipielle Möglichkeiten zur Einführung aromatischer Substituenten

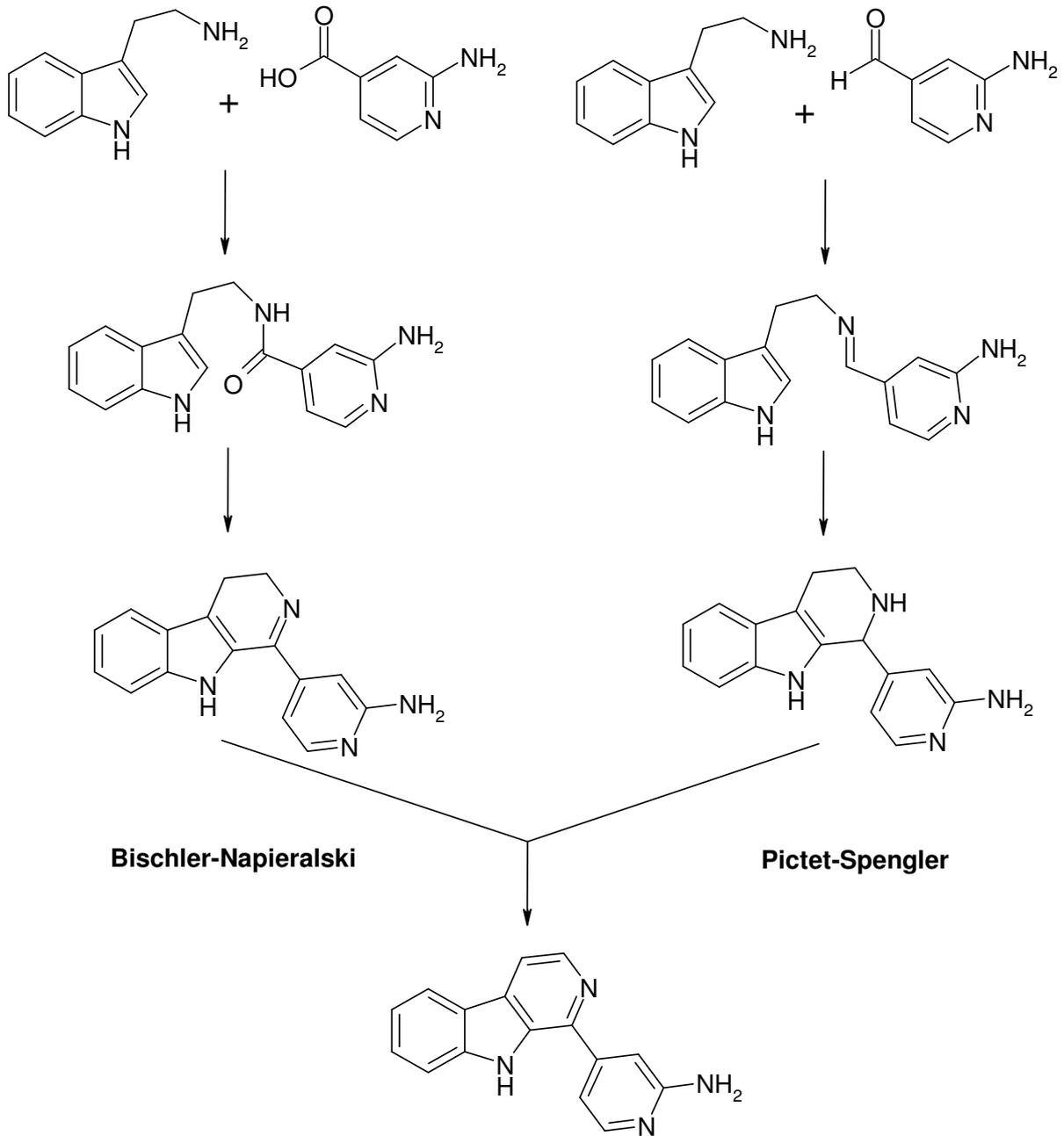
Da der Aufbau von Pyridinen nicht so leicht möglich ist, vor allem wenn besondere Substitutionsmuster verlangt sind und damit einhergehend sowohl die Synthese am Grundkörper als auch die Kupplung für die Synthese nicht in Frage kam, wurde beschlossen, den Grundkörper mit dem fertigen Pyridylrest aufzubauen. In Abb. 71 sind die beiden Zielverbindungen 1-(2-Aminopyridin-4-yl)- $\beta$ -carbolin (**31**) und 1-(2-Aminopyridin-6-yl)- $\beta$ -carbolin (**32**) dargestellt. Fett hervorgehoben sind die Aminopyridin-Reste, die mit dem  $\beta$ -Carbolin-Grundkörper aufgebaut werden sollten, und der geplante Schnitt bei der Ringsynthese.

**Abb. 71:** Angestrebte Zielverbindungen

Für derartige Synthesen sind in der Literatur zwei gängige Namensreaktionen zu finden, die Bischler-Napieralski- und die Pictet-Spengler-Reaktion.

Auf den genauen Mechanismus der beiden Reaktionen wird im Verlauf von Kap. 3.1.2.2.1. und Kap. 3.1.2.2.2. noch eingegangen. In Abb. 72 kann das Syn-

theseschema für die beiden Reaktionen am Beispiel von 1-(2-Aminopyridin-4-yl)- $\beta$ -carbolin verfolgt werden.



**Abb. 72:** Schema der Bischler-Napieralski- und Pictet-Spengler-Reaktion

#### 3.1.2.2.1. Aminopyridyl- $\beta$ -carboline über die Bischler-Napieralski-Reaktion

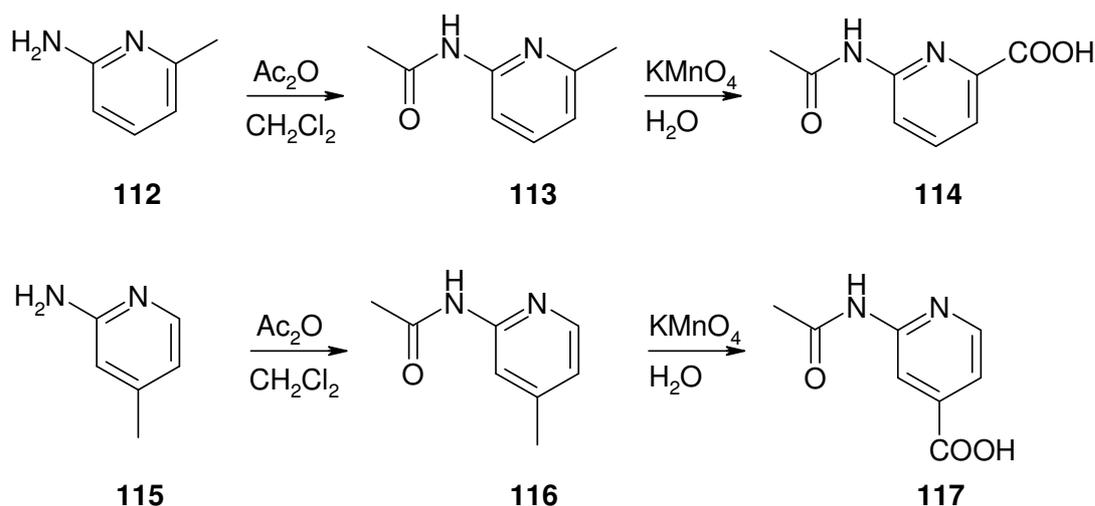
Wie aus dem obigen Syntheschema ersichtlich ist, wird für die Bischler-Napieralski-Synthese im ersten Schritt eine Carbonsäure mit einem Amin zu einem Amid umgesetzt. Als Amin sollte Tryptamin dienen, die Carbonsäuren mussten erst synthetisiert werden. Als Edukte hierfür dienten 2-Amino-4-picolin bzw. 2-Amino-6-picolin. Als erstes wird die Synthese der beiden Carbonsäuren vorgestellt, danach folgen Erläuterungen über die Bischler-Napieralski-Synthese, bevor auf die Versuche zum Ringschluss mittels dieser Methode näher eingegangen wird.

##### 3.1.2.2.1.1. Synthese der Aminopyridincarbonsäuren

Als Edukte für diese Synthesen sollten, wie schon erwähnt, 2-Amino-4-picolin bzw. 2-Amino-6-picolin (**112**) dienen. Diese Ausgangsstoffe haben den Vorteil, dass sie die Aminogruppe an der vorgesehenen Stelle aufweisen. Um eine erfolgreiche Synthese des  $\beta$ -Carbolins zu gewährleisten, musste die Aminogruppe vor der weiteren Synthese geschützt werden, um eine Polymerisierung der Aminopyridincarbonsäuren zu verhindern. Außerdem sind primäre aromatische Amine oxidationsempfindlich, Amide hingegen nicht.

Die wohl einfachste Schutzgruppe für Amine ist die Acetylgruppe. Diese konnte ganz einfach durch Reaktion von **112** und **115** mit Acetanhydrid zu **113** und **116** eingeführt werden (Abb. 73)<sup>72</sup>. Die Ausbeuten waren hierbei nahezu quantitativ.

Um die Methylgruppen der Pyridine zu den Carbonsäuren **114** und **117** zu oxidieren, gab es mehrere Möglichkeiten. Im Prinzip eignen sich alle starken Oxidationsmittel, wie  $K_2Cr_2O_7$  oder  $KMnO_4$ , für die Oxidation. Die häufige Verwendung von  $KMnO_4$  liegt darin begründet, dass  $KMnO_4$  in neutraler und basischer Lösung zu Braunstein reagiert, das als Feststoff nach Ende der Reaktion leicht abfiltriert werden kann. Außerdem ist die Acetamidogruppe gegenüber dem Oxidationsmittel inert (Abb. 73)<sup>72</sup>.

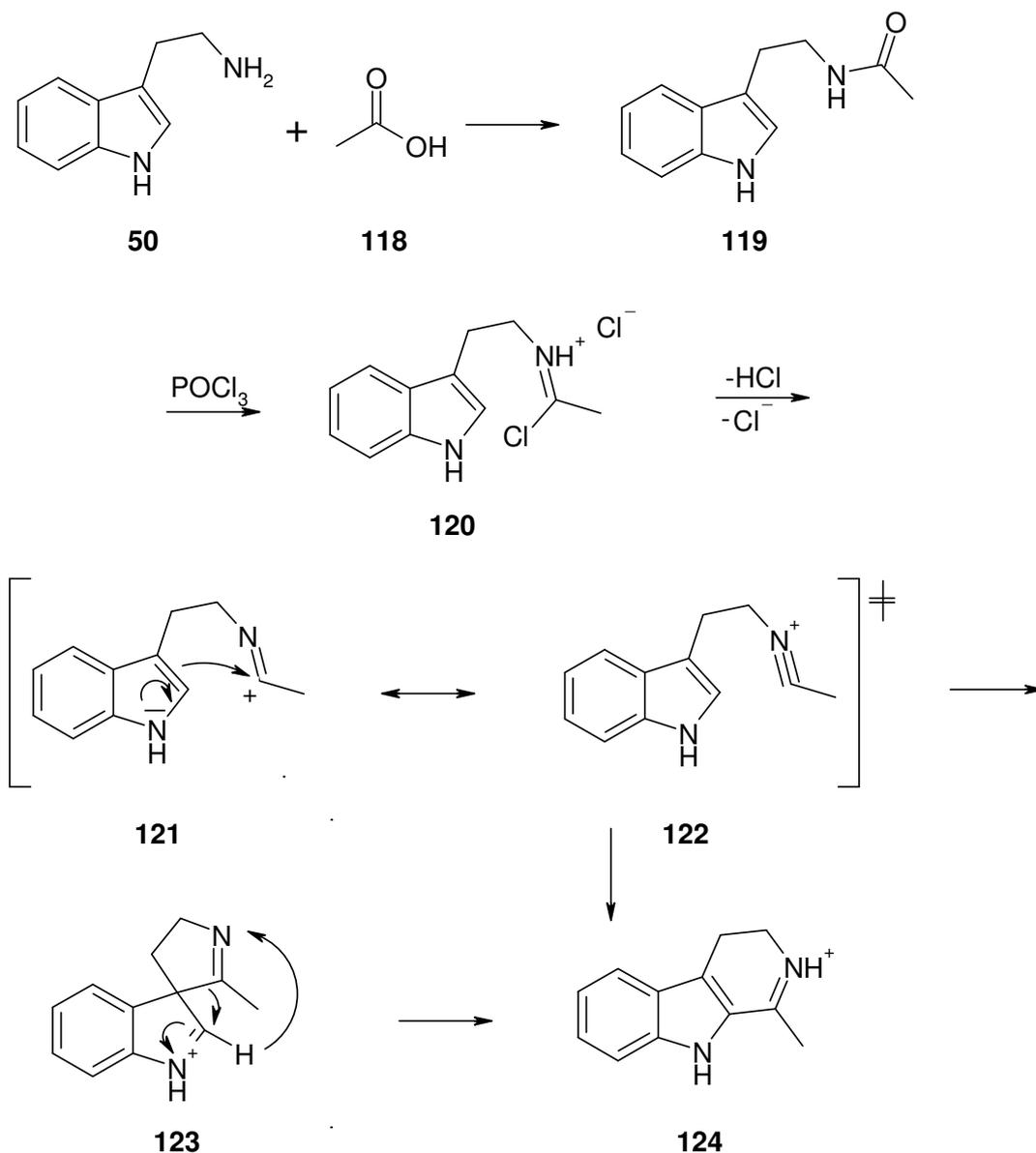


**Abb. 73:** Syntheseroute für Acetamidopyridincarbonsäuren

Die Synthese der beiden analogen Carbonsäuren war so ohne Schwierigkeiten möglich. Problematisch bei der Aufarbeitung war die Tatsache, dass die Produkte mit der Carbonsäure und dem Pyridinring amphoter reagieren. Deswegen war der pH-Wert bei der Aufarbeitung sehr wichtig. Um den isoelektrischen Punkt der Pyridincarbonsäuren **114** und **117** ungefähr abschätzen zu können, orientierte ich mich an den isoelektrischen Punkten der unsubstituierten Pyridincarbonsäuren und den in der Literatur beschriebenen Arbeitsvorschriften<sup>72</sup>. Bei einem pH-Wert von 4,5 konnten so Ausbeuten um die 40% für beide Carbonsäuren erhalten werden. Als nächster Schritt folgte nun die Amidbildung aus den Pyridincarbonsäuren und Tryptamin.

### 3.1.2.2.1.2. Die Bischler-Napieralski-Synthese

Bischler und Napieralski entdeckten bereits 1893 eine effektive Methode für die Synthese von 3,4-Dihydroisochinolin<sup>73</sup>. Später wurde diese Methode auch für die Synthese von 3,4-Dihydro- $\beta$ -carbolinen verwendet<sup>45, 46</sup>. Der Mechanismus dieser Reaktion ist detailliert untersucht worden und soll hier am Beispiel der Synthese eines 3,4-Dihydro- $\beta$ -carbolins aus Tryptamin (**50**) und Essigsäure (**118**) genauer erklärt werden.

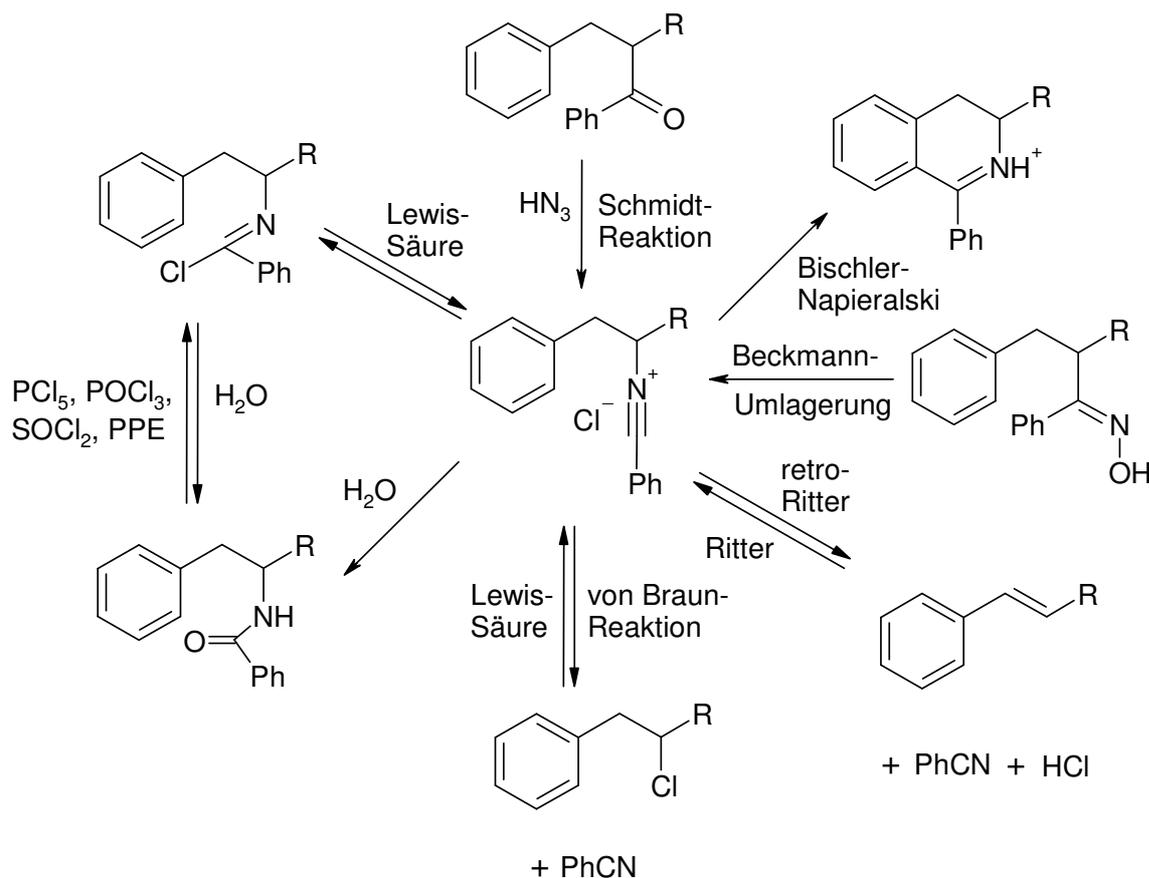


**Abb. 74:** Mechanismus der Bischler-Napieralski-Synthese

**50** wird mit **118** in das N-Acyltryptamin (**119**) überführt (Abb. 74). Durch Reaktion mit Phosphorylchlorid wird das Amid in das Imidoylchlorid-Hydrochlorid (**120**) überführt. Bei der Reaktion bildet sich ein E/Z-Gemisch aus, das bei längerem Stehen in Lösung (30h) komplett zum stabileren Anti-Derivat isomerisiert<sup>74</sup>. Durch Elimination von Chlorid entsteht das Carbeniumion **121**, das mit dem Nitriliumsalz **122** in Mesomerie steht<sup>75</sup>. Aus dem gebildeten Carbeniumion könnte nun direkt die Bildung des  $\beta$ -Carbolins (**124**) erfolgen. Aber da die bevorzugte Position für einen elektrophilen Angriff beim Indol die 3-Position ist, wurde bei der Synthese von  $\beta$ -Carbolinen schon bald von Blau et al. ein spirocyclisches Intermediat (**123**) postuliert<sup>76</sup>, dessen Existenz durch weitere Untersuchungen von Jackson<sup>77</sup> und Frost<sup>78</sup>

erhärtert wurde. Zum Abschluss findet in einer Wagner-Meerwein-artigen Umlagerung der Ringschluss zum Dihydro- $\beta$ -carbolin statt.

Das intermediär auftretende Nitriliumsalz wird in der Literatur als Zwischenstufe für mehrere Namensreaktionen in Verbindung gebracht<sup>79</sup>. Neben der Bischler-Napieralski-Synthese werden die Schmidt-, die Beckmann-, die Ritter- und die von Braun-Reaktion mit dem Nitriliumsalz als Intermediat in der jeweiligen Synthese postuliert (Abb. 75).



**Abb. 75:** Reaktionen mit Nitriliumsalzen als Zwischenstufe

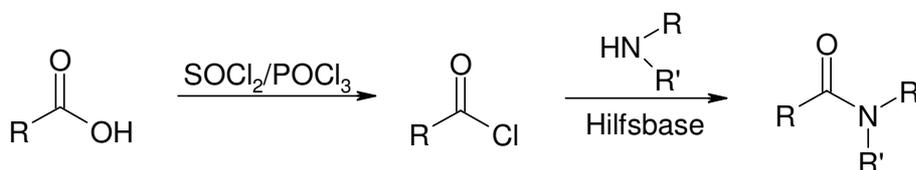
### 3.1.2.2.1.3. Verschiedene Methoden für die Amidbildung

Um den Ringschluss mittels der Bischler-Napieralski-Methode durchführen zu können, mussten zuerst die Amide aus Tryptamin und den in Kap 3.1.2.2.1.1. beschriebenen Carbonsäuren hergestellt werden.

Ergänzend muss noch erwähnt werden, dass zwar beide Carbonsäuren hergestellt worden sind, aber für die Amidbildung hauptsächlich die 6-Acetamidopyridin-2-carbonsäure (**114**) verwendet wurde. Das liegt darin begründet, dass zuerst die Syn-

theseroute mit **114** erfolgreich abgeschlossen werden sollte, bevor diese Route auf die 2-Acetamido-4-carbonsäure (**117**) angewendet werden sollte. Wenn eine Methode auch für **117** angewendet wurde, wird dies explizit erwähnt, ansonsten ist immer eine Amidbildung mit **114** gemeint.

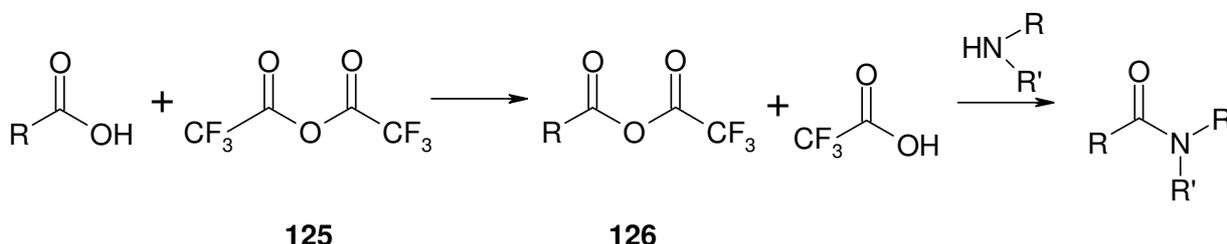
Allgemein gibt es verschiedene Methoden, um Amide zu synthetisieren. Carbonsäuren und Amine können nicht direkt zu Amiden umgesetzt werden, weil die Säure das Amin protonieren würde und beide damit zu unreaktiv für die Reaktion wären. Deswegen muss man den Umweg über ein aktiviertes Carbonsäure-Derivat, z.B. Säurechlorid, gehen. Versetzt man eine Carbonsäure unter Rückfluss mit Thionylchlorid oder Phosphorylchlorid, kann das Säurechlorid gewonnen werden. Wird dieses Säurechlorid mit einem Amin und einer Hilfsbase versetzt, bildet sich das gewünschte Amid (Abb. 76).



**Abb. 76:** Amidbildung über das Säurechlorid

Einen Nachteil dieser Synthese stellt die nicht unerhebliche thermische Belastung dar. Gerade Indole sind unter sauren Bedingungen relativ labil. Deswegen wurde schon früh nach schonenderen Methoden zur Amidbildung gesucht.

Eine elegante und schonende Methode zur Aktivierung von Carbonsäuren ist die Reaktion mit Trifluoressigsäureanhydrid (**125**). Dabei entsteht ein gemischtes Anhydrid (**126**), welches nach Zugabe desamins das Amid ergibt (Abb. 77).

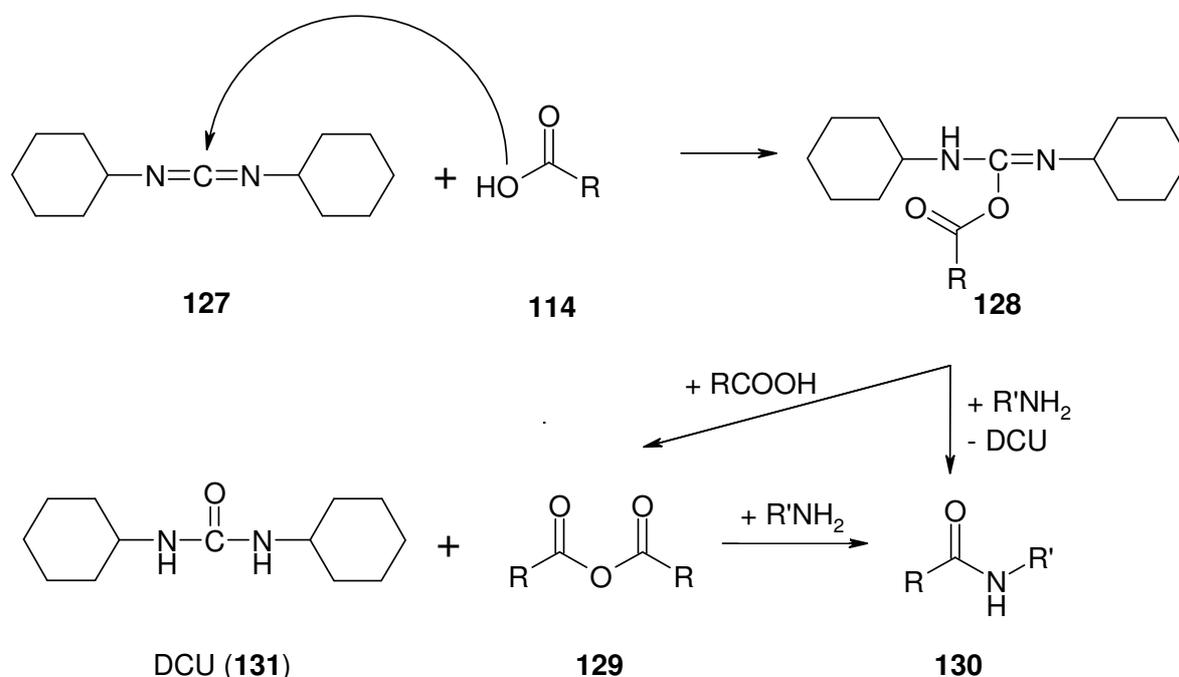


**Abb. 77:** Schema der Amidbildung mit Trifluoressigsäureanhydrid

Nach der Aufarbeitung der Reaktion von Tryptamin **50** mit der Carbonsäure (**114**) konnte mittels MS nicht der gewünschte Massenpeak entdeckt werden. Die registrierten Massen deuteten vielmehr darauf hin, dass auch das Tryptamin von Trifluoressigsäureanhydrid ein- bis mehrfach acyliert wurde. Eine weitere Aufklärung der

Struktur erfolgte nicht, weil die Produkte für die Syntheseroute nicht von Interesse waren.

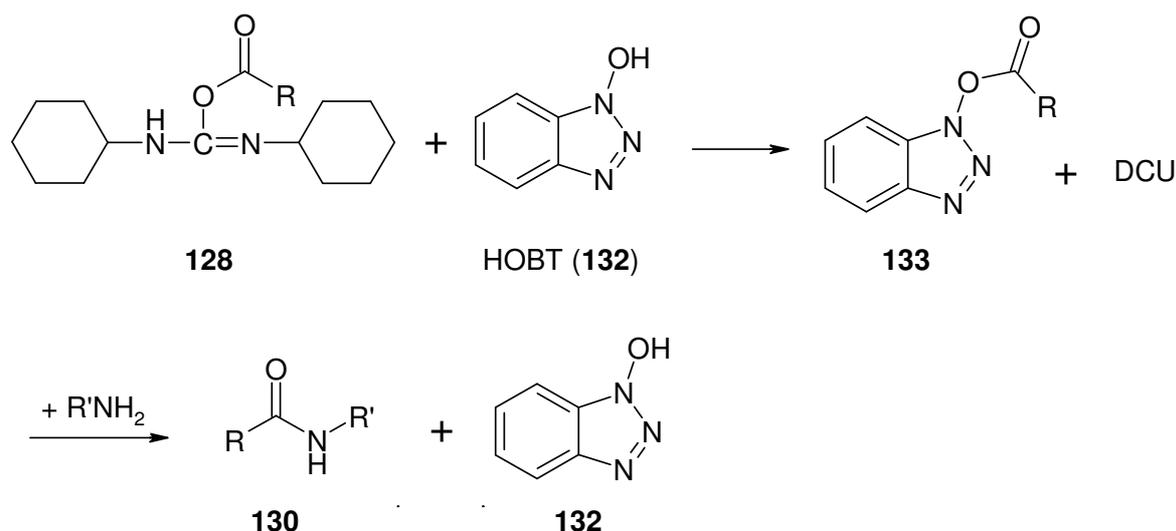
Das wohl wichtigste Aktivierungsreagenz zur Synthese von Amiden ist Dicyclohexylcarbodiimid (DCC, **127**)<sup>80</sup>. Als Lösungsmittel dienen hierbei meistens THF oder DMF. Der Mechanismus der Reaktion ist gut untersucht und dieses Reagenz findet breite Anwendung in der Peptidsynthese (Abb. 78)<sup>81</sup>. Zuerst greift die Carbonsäure (**114**) nucleophil unter Ausbildung eines O-Acylisoharnstoffs (**128**) am DCC an. **128** kann nun auf zwei verschiedene Arten weiterreagieren: Entweder es reagiert mit dem Amin direkt zum Amid (**130**) oder es reagiert mit einem zweiten Äquivalent Carbonsäure zum Säureanhydrid (**129**), welches dann mit dem Amin zu **130** reagieren kann. Bei beiden Wegen entsteht der in den verwendeten Lösungsmitteln praktisch unlösliche Dicyclohexylharnstoff (DCU, **131**) als Nebenprodukt.



**Abb. 78:** Mechanismus der Amidbildung mit DCC

Ein Problem bei der Verwendung von DCC stellt die Bildung von N-Acylharnstoffen als Nebenprodukte und die Racemisierung von chiralen Carbonsäuren dar. Diese beiden Reaktionen lassen sich durch Zugabe eines weiteren Kupplungsreagenzes wie 1-Hydroxybenzotriazol (HOBT, **132**) zurückdrängen. Einen positiven Nebeneffekt dieser Zugabe stellt eine meist erhöhte Ausbeute dar.

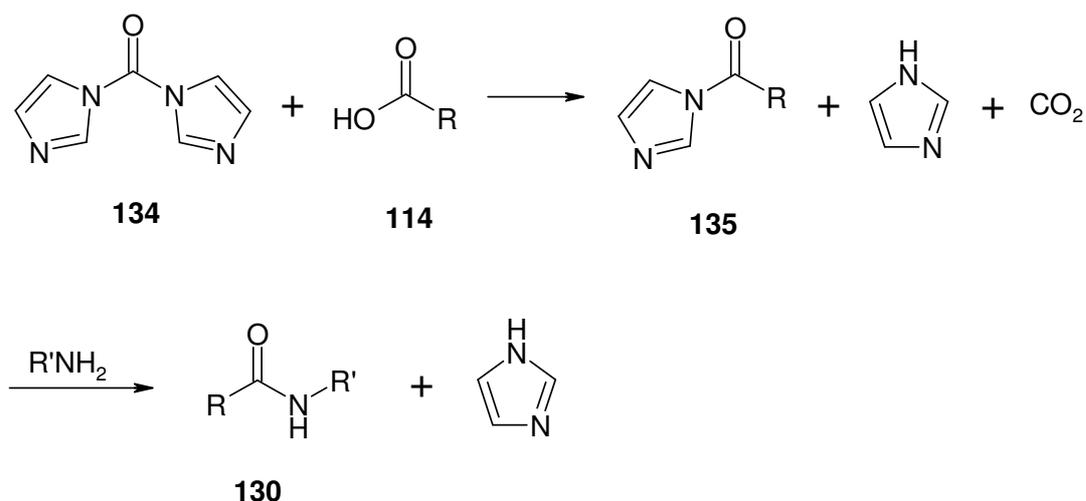
Bei dieser modifizierten Reaktion bildet HOBT mit Hilfe von DCC einen Hydroxybenzotriazolester (**133**) unter Ausbildung von DCU. Dieser aktivierte Ester reagiert dann mit dem Amin zum Amid (**130**) und regeneriertem HOBT (Abb. 79)<sup>82</sup>.



**Abb. 79:** Mechanismus der Amidbildung mit HOBT

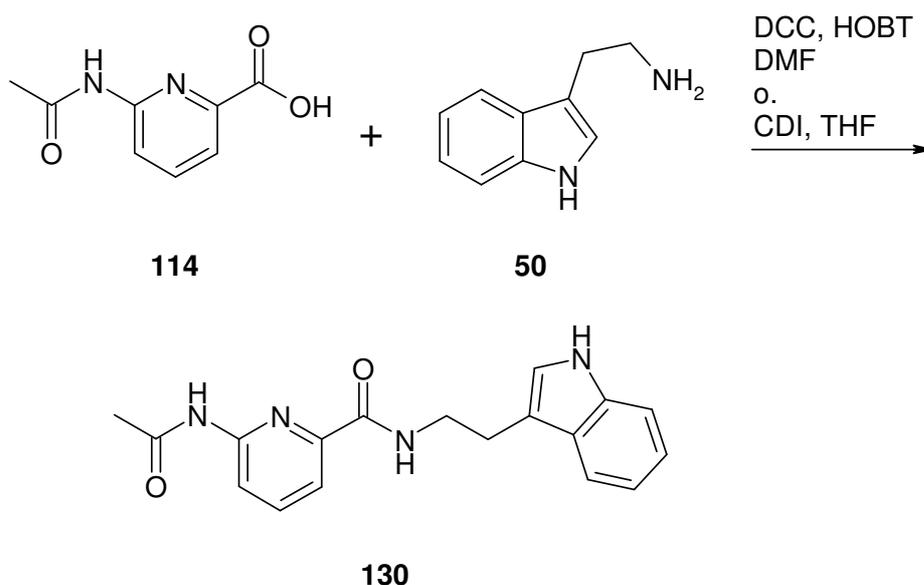
Zuerst wurde versucht, aus 6-Acetamidopyridin-2-carbonsäure (**114**) und Tryptamin (**50**) das Amid (**130**) nur mit DCC in DMF herzustellen. Nach Aufarbeitung konnten hier nur Edukte isoliert werden. Danach wurde der Versuch mit DCC unter Zugabe von HOBT in DMF wiederholt. Hier konnte das gewünschte Amid **130** isoliert werden. Die Ausbeuten waren mit ca. 30 % nicht gerade berauschend und auch die Verwendung von DMF als Lösungsmittel stellte nicht das Optimum dar. Deswegen wurde versucht, das Amid auf anderem Weg in einem geeigneteren Lösungsmittel herzustellen. Eine Methode, die sich hier anbot, war die Reaktion mit Carbonyldiimidazol (CDI, **134**) als Aktivator der Carbonsäure in THF.

CDI (**134**) bildet dabei mit der Carbonsäure ein Acylimidazol (**135**), das von der Reaktivität vergleichbar mit Säurechloriden ist. Dabei wird Imidazol und Kohlendioxid frei. Das entstandene Acylimidazol kann dann unter Abspaltung von Imidazol mit anderen Nucleophilen, wie Aminen, reagieren (Abb. 80)<sup>83</sup>.



**Abb. 80:** Mechanismus der Amidbildung mit CDI

Die Amidbildung mit CDI in THF verlief ebenso erfolgreich wie die mit DCC und HOBT (Abb. 81). Die Ausbeuten lagen in derselben Größenordnung wie bei den Versuchen mit DCC und HOBT.



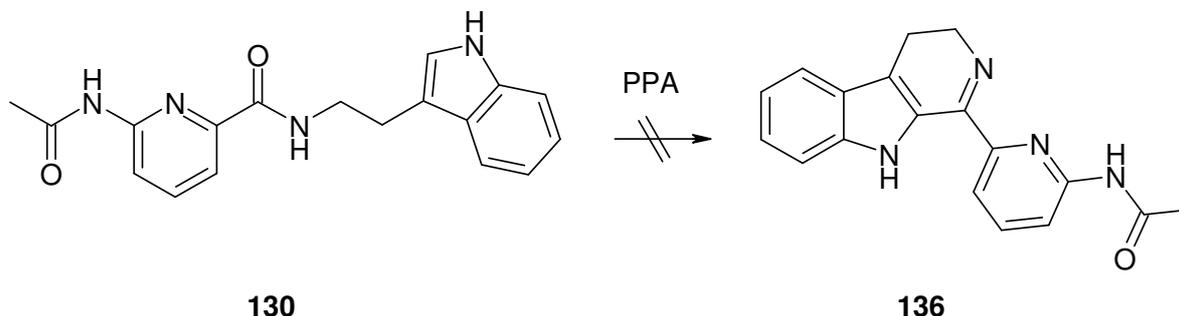
**Abb. 81:** Amidbildung mit DCC/HOBT und CDI

Da nun das Amid **130** vorlag und auch die anderen Amide auf diesem Weg hergestellt worden waren, konnte dazu übergegangen werden den Dihydro- $\beta$ -carbolinring aufzubauen.

### 3.1.2.2.1.4. Versuche zum Ringschluss zum Dihydro- $\beta$ -carbolin

Die üblichen Reagenzien, die zum Ringschluss bei der Bischler-Napieralski-Synthese führen, sind  $\text{POCl}_3$ ,  $\text{PCl}_5$ , etc.. Diese bilden aus dem Amid ein Imidoylchlorid, das unter Eliminierung von Chlorid zum Carbeniumion reagiert, das den Ringschluss vollführt (Kap. 3.1.2.2.1.2.). Der Ansatz wurde mit  $\text{P}_2\text{O}_5$  und  $\text{POCl}_3$  versetzt und in der Mikrowelle erhitzt. Nach Aufarbeitung konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. Da keine Reaktion stattgefunden hatte, wurde der Ringschluss auf andere Art und Weise versucht.

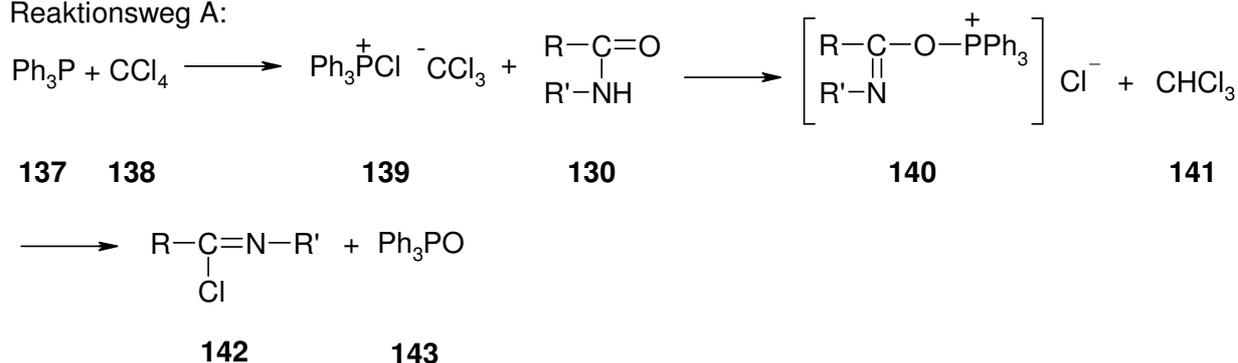
Ein erfolgreicher Ringschluss ist auch mittels Polyphosphorsäure (PPA) veröffentlicht worden<sup>84</sup>. Hier wird kein Imidhalogenid generiert, sondern PPA dient hier als Dehydratisierungsmittel. Dabei entsteht neben dem gewünschten Dihydro- $\beta$ -carbolin **136** auch Phosphorsäure. Der Ringschluss mit PPA verlief ebenfalls negativ (Abb. 82). Es konnte kein definiertes Produkt isoliert werden. Die Rückgewinnung von Edukt war aber auch nicht möglich.



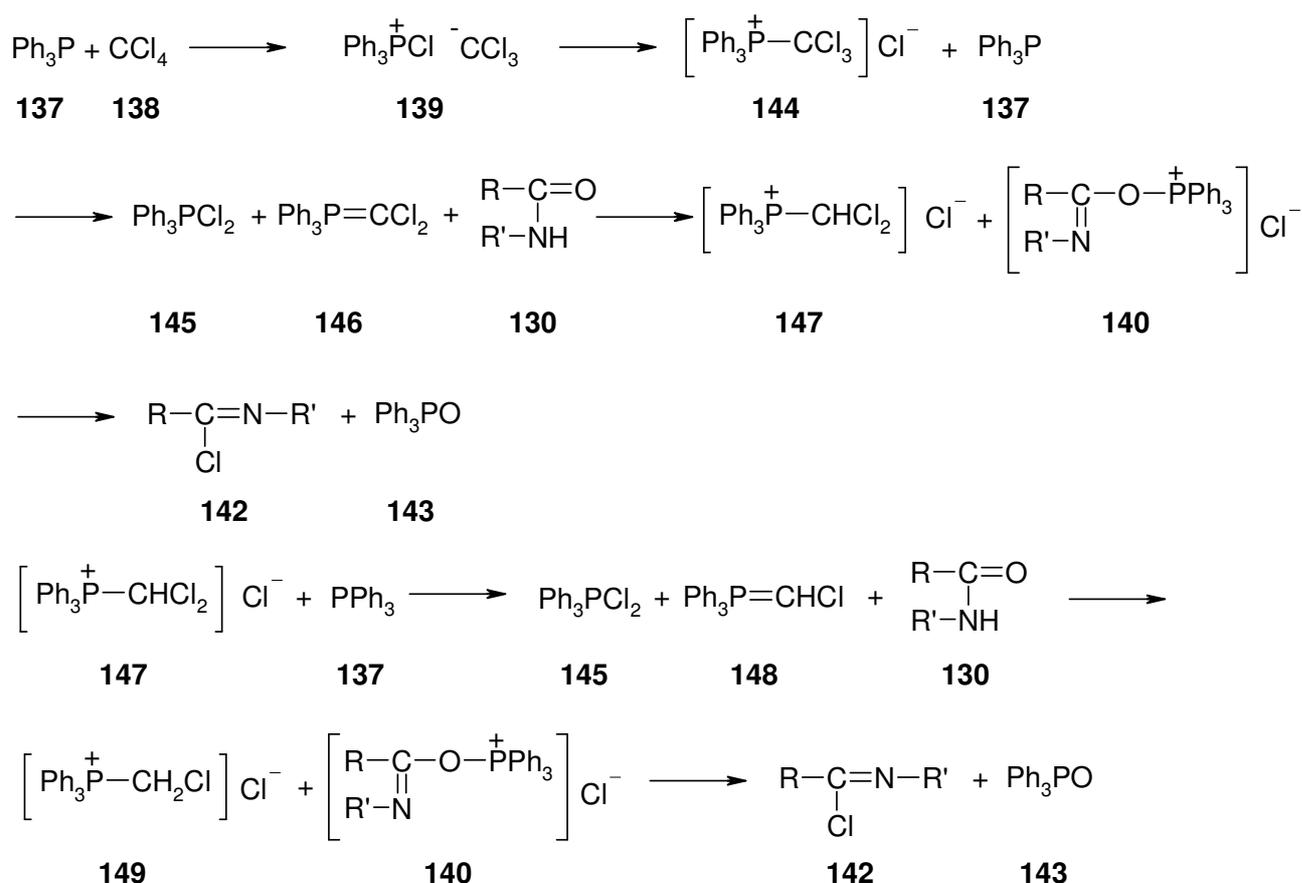
**Abb. 82:** Versuch des Ringschlusses mit PPA

Nachdem die gängigen Cyclisierungsreagenzien nicht den erhofften Ringschluss zur Folge hatten, wurde in der Literatur<sup>85</sup> eine Methode entdeckt, die durch Zusatz von Tetrachlorkohlenstoff und Triphenylphosphin in situ das Imidoylchlorid generiert und dann zum Ringschluss führen sollte. Das Besondere dabei ist, dass unter den genannten Bedingungen auch die Bildung des Amids aus der Säure und dem Amin möglich ist<sup>86</sup>. Somit sollte diese Methode in einer Eintopfmethode aus dem Amin und der Carbonsäure direkt zum  $\beta$ -Carbolin führen. Abb. 83 zeigt den Mechanismus der Imidoylchlorid-Bildung. Die Bildung des Amids erfolgt analog unter Bildung des Carbonsäurechlorids.

Reaktionsweg A:



Reaktionsweg B:

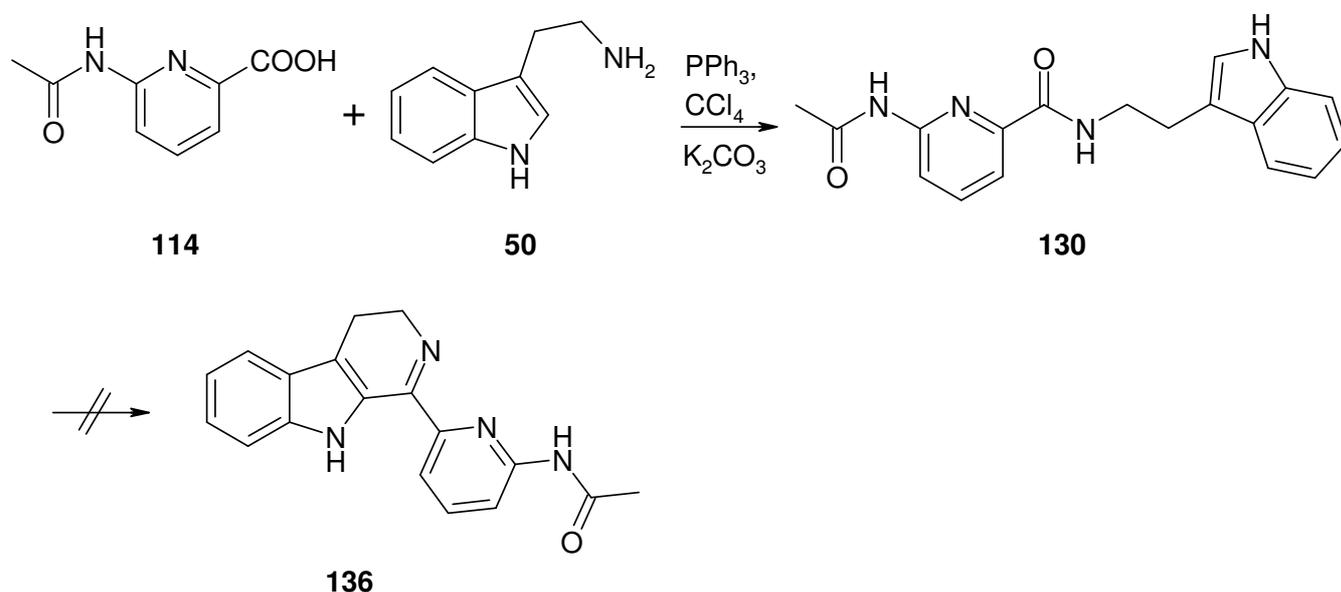

**Abb. 83:** Mechanismus der Imidoylchlorid-Bildung

Die Bildung des Imidoylchlorids kann auf zwei verschiedenen Wegen erfolgen: In Variante A reagiert Triphenylphosphin (**137**) mit Tetrachlorkohlenstoff (**138**) zu einem Chlortriphenylphosphonium-Kation und einem Trichlormethan-Carbanion (**139**). **139** greift elektrophil am Sauerstoff des Amids (**130**) an und es entsteht neben Chloroform (**141**) ein Alkoxytriphenylphosphoniumchlorid-Salz (**140**), das weiter zum Imidoylchlorid (**142**) und Triphenylphosphinoxid (**143**) reagiert.

Variante B läuft bis **139** genauso ab wie in Variante A. Allerdings reagiert **139** dann nicht mit dem Amid, sondern wandelt sich in das Trichlormethylphosphoniumchlorid-

rid-Salz (**144**) um. Dieses reagiert dann mit einem zweiten Äquivalent **137** zu Triphenylphosphindichlorid (**145**) und Triphenylphosphindichlormethylenylid (**146**). **145** reagiert mit **130** zum Alkoxytriphenylphosphoniumchlorid-Salz und das freiwerdende Proton wird von **146** aufgenommen, das damit zum Dichlormethylphosphoniumchlorid (**147**) wird. Hier könnte die Reaktion aufhören, aber **147** kann in einem analogen Reaktionsablauf, diesmal mit einem Triphenylphosphinchlormethylenylid (**148**) als Zwischenstufe, noch ein Imidoylchlorid unter Bildung eines Chlormethylphosphoniumsalzes (**149**) erzeugen<sup>87</sup>.

Nach der Aufarbeitung des Ansatzes konnte ein Produkt isoliert werden. Anhand der MS-Spektren wurde festgestellt, dass es sich dabei nicht um das cyclisierte  $\beta$ -Carbolin **136** handelte sondern um das Amid **130**. Die Ausbeute für das Amid lag dabei bei fast 70%. Da große Hoffnungen in diesen Versuch gesetzt worden waren, wurde dieser Versuch mehrfach wiederholt, immer mit dem gleichen Ergebnis. Zudem wurde der Versuch auch mit 2-Acetamidopyridin-4-carbonsäure durchgeführt. Bei diesem Ansatz konnte kein definiertes Produkt identifiziert werden (Abb. 84).

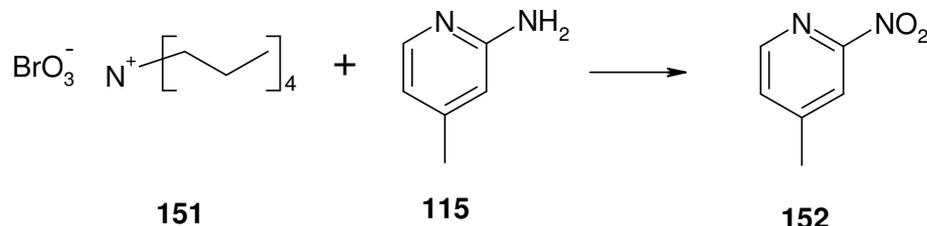
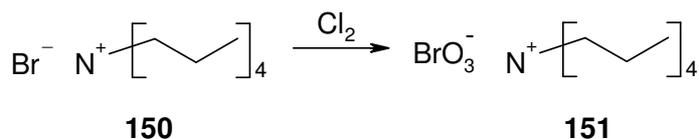


**Abb. 84:** Reaktion mit Triphenylphosphin und Tetrachlorkohlenstoff

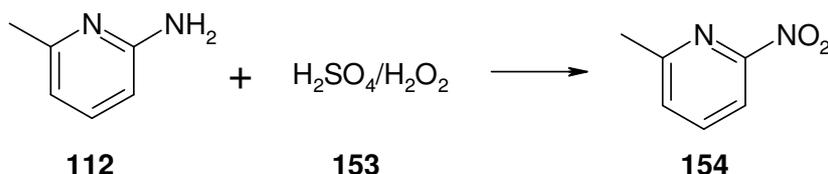
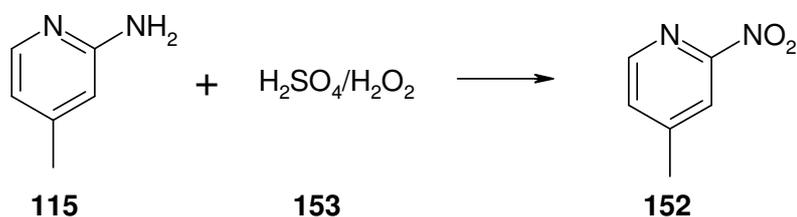
Nachdem auch diese Cyclisierung nicht funktioniert hatte, wurde überlegt, ob die Acetamido-Gruppe aufgrund des leichten +M-Effekts vielleicht die Ausbildung des Imidoylchlorids oder den elektrophilen Angriff des Carbeniumions negativ beeinflussen könnte. Andererseits war auch nicht ganz auszuschließen, dass die Acetamido-Gruppe unter den Bedingungen nicht doch eine Reaktion mit dem Phosphorylchlorid eingehen würde. Deswegen wurde der Versuch mit Pyridin-2-

carbonsäure wiederholt. Auch diesmal wurde wieder nur das Amid erhalten. Nun sollte noch untersucht werden, ob ein –M-Substituent die Cyclisierung vielleicht ermöglichen würde. Als solcher Substituent bot sich die Nitrogruppe an, zumal sich diese Gruppe abschließend problemlos zur Aminogruppe reduzieren lassen sollte. Die Nitroverbindungen sollten einfach aus den Aminopicolinen zu gewinnen sein. In der Literatur fanden sich zwei Methoden, die zum gewünschten Produkt führen sollten (Abb. 85). Die erste war die Reaktion mit Tetrapropylammoniumbromat (**151**)<sup>88</sup>. Tetrapropylammoniumbromat wurde durch Einwirken von Chlorgas auf Tetrapropylammoniumbromid (**150**) gewonnen. Die Oxidation von **115** mit **151** zu **152** gelang auch, aber es waren auch noch Nebenprodukte auf der DC zu erkennen. Die zweite Methode zur Oxidation der Amino- zur Nitrogruppe (**152**) erfolgte mittels Caro'scher Säure (**153**)<sup>89</sup> bei max. 20°C. Diese Reaktion lieferte **152** mit einer Ausbeute von bis zu 60%. Bei dieser Reaktion war besonders auf die Temperatur zu achten, weil ein Überschreiten der maximalen Temperatur zu Einbußen bei der Ausbeute führte. Die zweite Methode bot den Vorteil, dass sie keine Nebenprodukte lieferte und das oxidierende Agens nicht erst synthetisiert werden musste. Für die Oxidation von **112** zu **154** wurden Ausbeuten von bis zu 30% erhalten.

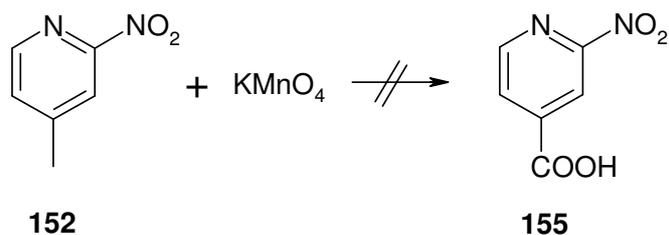
## Methode 1



## Methode 2

**Abb. 85:** Oxidation der Amino- zur Nitrogruppe

Die anschließende Oxidation von **152** mit  $\text{KMnO}_4$  verlief negativ, so dass nach einer anderen Methode für die Oxidation der Methylgruppe zur Carbonsäure **155** gesucht werden musste (Abb. 86). Es wurde allerdings keine weitere Methode ausprobiert, weil sich im Verlauf der Literaturrecherche herausstellte, dass die Bischler-Napieralski-Reaktion allgemein mit Heterocyclen nicht gut funktioniert<sup>90</sup>. Es wurde dabei postuliert, dass sich unter den Bedingungen mit Phosphorylchlorid etc. Addukte mit den Heterocyclen bilden, die das Molekül inaktivieren und damit den Ringschluss verhindern.

**Abb. 86:** Versuch der Oxidation von Nitropicolin

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde beschlossen, die Ringschlussversuche mittels der Bischler-Napieralski-Reaktion zu beenden und zu versuchen, das  $\beta$ -Carboline mit Hilfe der Pictet-Spengler-Reaktion aufzubauen.

#### 3.1.2.2.2. 2-Aminopyridyl- $\beta$ -carboline über die Pictet-Spengler-Reaktion

Wie in Kap. 3.1.2.2. schon beschrieben, reagiert bei der Pictet-Spengler-Reaktion ein Amid mit einem Aldehyd. Als Amin-Komponente sollte Tryptophan oder Tryptamin dienen. Der Aldehyd musste wie in Kap. 3.1.2.2.1. erst synthetisiert werden. Als Edukte dienten hier wieder 2-Amino-6- bzw. -4-picolin. Zuerst wird die Synthese des Aldehyds behandelt, danach folgen Erläuterungen zur Pictet-Spengler-Reaktion, ehe zum Schluss die Versuche zum Ringschluss erörtert werden.

##### 3.1.2.2.2.1. Synthese der Pyridincarbaldеhyde

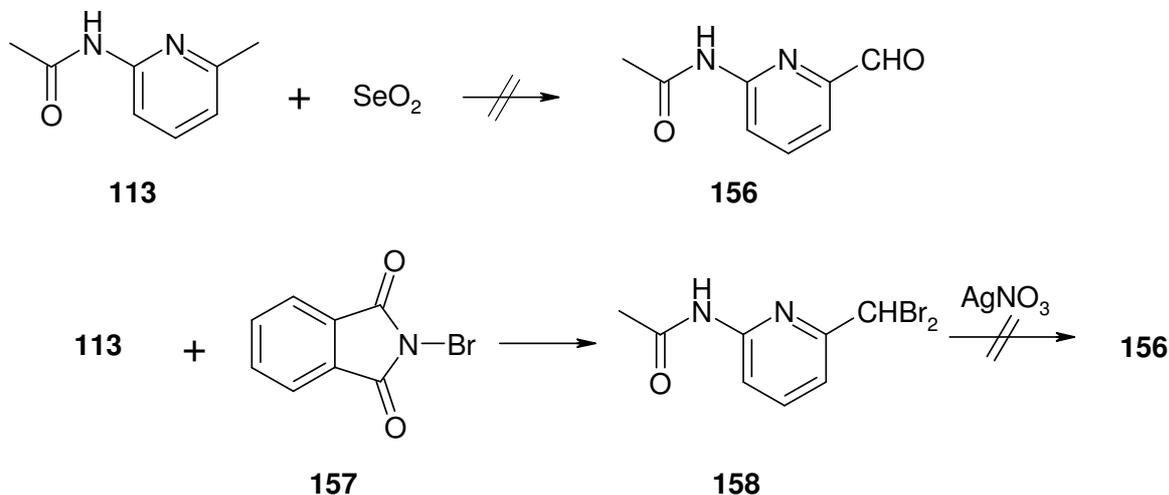
Wie bei der Pyridincarbonsäure gilt hier natürlich auch, dass die Aminogruppe geschützt werden muss, weil sonst eine Polymerisation der Aminopyridincarbaldеhyde stattfinden könnte. Deswegen wurde auf die schon bei der Synthese der Carbonsäuren verwendete Acetamido-Gruppe zurückgegriffen.

Es sind zahlreiche Reaktionen beschrieben, wie Aldehyde hergestellt werden können. Von diesen Methoden wurden mehrere ausprobiert, größtenteils mit negativem Ergebnis.

Eine gängige Methode zur Oxidation einer Methylgruppe am Aromaten zum Aldehyd ist die Verwendung von Selendioxid (Abb. 87). Als Edukt wurde **113** verwendet. Bei der DC-Kontrolle dieses Versuchs in Sulpholan lief das Produkt höher als das Edukt. Da der Aldehyd **156** wegen seiner Carbonylgruppe einen niedrigeren  $R_f$ -Wert aufweisen sollte als das Picolin, wurde der Ansatz verworfen.

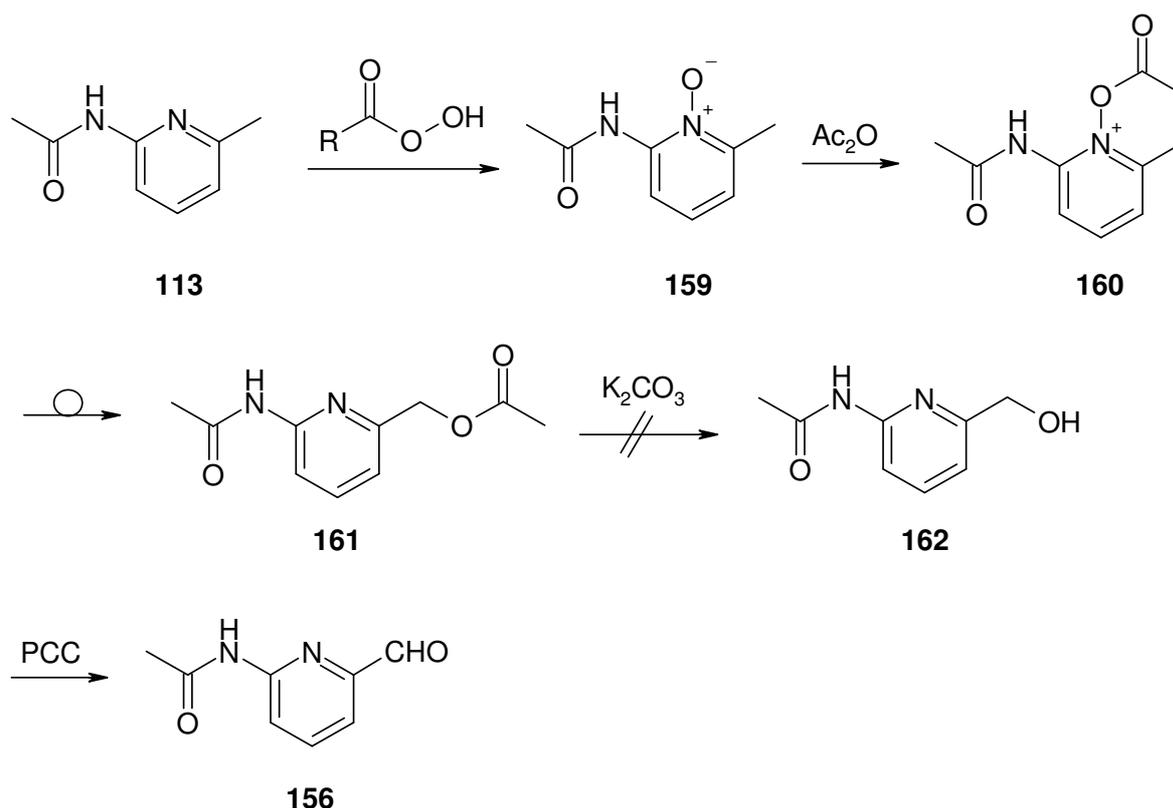
Eine andere Möglichkeit bestand in der Verwendung von N-Bromsuccinimid (NBS, **157**). NBS ist in der Lage allylische und benzyliche Positionen zu bromieren. Dies ist bei Carbocyclen und auch bei Heteroaromaten möglich. Dabei kann eine meistens nicht gewollte doppelte Bromierung dieser Position erfolgen<sup>91</sup>. Diese doppelte Bromierung sollte aber bei der folgenden Reaktion ausgenutzt werden. Mit Hilfe von NBS sollte die Methylgruppe des Picolins **113** zweifach bromiert werden. Da-

nach sollte mit Hilfe von Silbernitrat unter Anlagerung von Wasser das Dibrompicolin **158** zu schwerlöslichem Silberbromid reagieren. Das sich dabei bildende Hydrat reagiert dann weiter zum Aldehyd<sup>92</sup> (Abb. 87). Nach der Aufarbeitung konnte kein definiertes Produkt und vor allem kein Aldehyd isoliert werden.



**Abb. 87:** Versuche zur Synthese des Aldehyds **156**

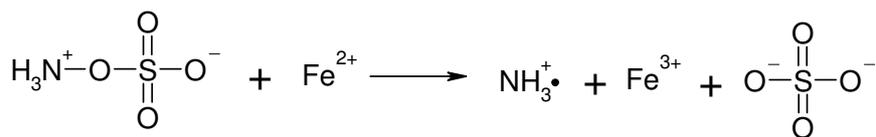
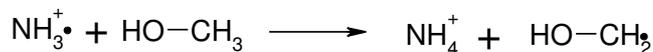
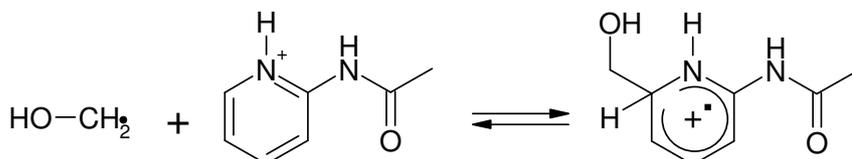
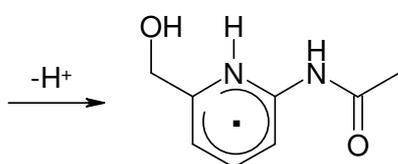
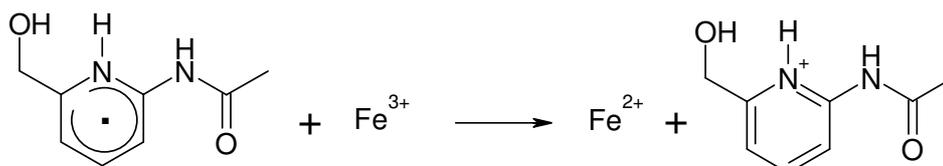
Eine weitere gängige Methode zur Synthese von Pyridincarbaldehyden verläuft über die Bildung des Pyridin-N-Oxids **159** mit Persäuren. Dieses N-Oxid reagiert mit Acetanhydrid zum N-Acetyloxid **160** als Intermediat. Die Acetylgruppe von **160** wandert in einer Boekelheide-Umlagerung zur Methylgruppe des Picolins. Es bildet sich dabei ein Acetoxymethylpyridin **161**. Dieses kann dann leicht mit schwachen Basen, wie Kaliumcarbonat, zum Hydroxymethylpyridin **162** gespalten werden, das dann mit Oxidationsmitteln oxidiert werden kann (Abb. 88). Dabei ist Vorsicht geboten, weil Aldehyde leicht zu Carbonsäuren weiterreagieren. Ein hierfür häufig verwendetes Oxidationsmittel ist Pyridiniumchlorochromat (PCC).



**Abb. 88:** Aldehydbildung über das N-Oxid

Als Persäuren für die Synthese des N-Oxids werden üblicherweise Peressigsäure oder *m*-Chlorperbenzoesäure (MCPBA) verwendet. Natürlich kommen auch andere Persäuren in Betracht, spielen aber weniger eine Rolle. Der Versuch zur Herstellung des N-Oxids mittels Peressigsäure lieferte kein Produkt. Es konnte nur Edukt isoliert werden. Wurde der Versuch dagegen mit MCPBA durchgeführt, erhielt man das N-Oxid **159** in einer Ausbeute von über 80%. Dieses wurde dann mit Acetanhydrid erfolgreich zu **161** umgesetzt. Die Ausbeute lag hierbei bei 46%. Der nächste Schritt, die Esterspaltung mit Kaliumcarbonat zum Hydroxymethylpyridin **162** bei 40°C, sollte keine Probleme darstellen. Allerdings hatte auch nach 14 Tagen bei 40°C noch keine Reaktion stattgefunden. Da es unter basischeren Bedingungen leicht zur Spaltung der Acetamidogruppe kam und es damit in der späteren Reaktion zu Problemen kommen könnte, wurde nach einem neuen Weg gesucht, um das Hydroxymethylpyridin herzustellen.

Um die Gefahr der Amid-Spaltung zu umgehen, wurde versucht nach einer Methode von Minisci<sup>93</sup> das Hydroxymethylpyridin direkt aus dem 2-Acetamidopyridin (**166**) zu synthetisieren. Diese Reaktion beruht auf einem radikalischen Mechanismus (Abb. 89). Dazu wurde zuerst 2-Aminopyridin mit Acetanhydrid acetyliert und dann weiter umgesetzt.

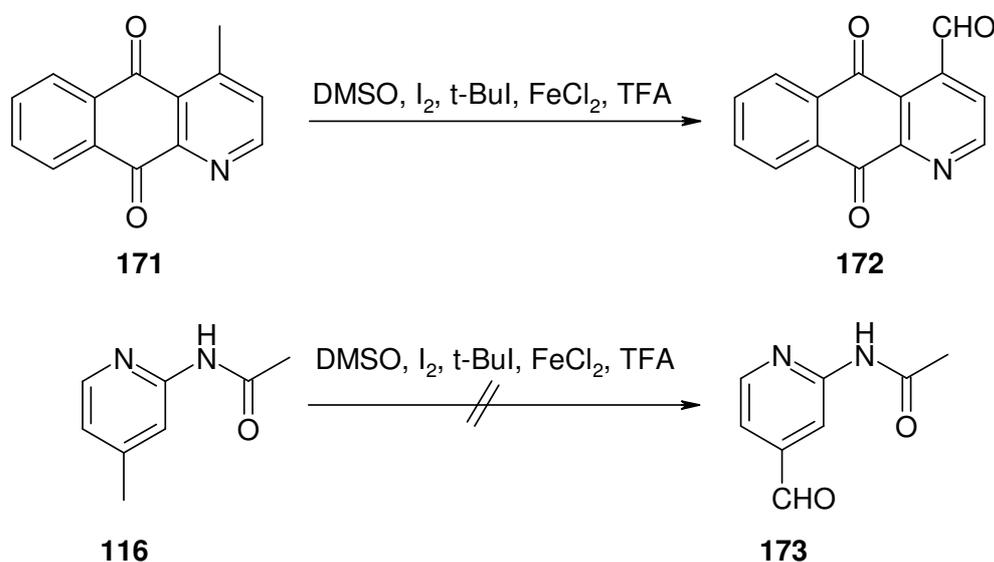
**163****164****164****165****165****166****167****168****168****169****165****170****164****Abb. 89:** Mechanismus der Hydroxymethylierung

Zum Radikalstart dienen Hydroxylamin-O-sulfonsäure (HOSA, **163**) und Eisen-(II)-Salze. Dabei entsteht neben Eisen-(III)-Ionen und Sulfat auch ein Ammoniumradikal (**164**). Dieses Radikal **164** reagiert mit Methanol zu einem Ammonium-Ion und einem Methanol-Radikal (**165**), das sich an den protonierten Pyridinring **166** addiert und das Pyridinium-Radikal-Kation **167** bildet. Durch Abspaltung eines Protons entsteht das Pyridin-Radikal **168**, das durch Reaktion mit Eisen-(III)-Ionen zum hydroxymethylierten Pyridin **169** reagiert. Das Methanol-Radikal (**165**) kann mit entstandenen Eisen-(III)-Ionen zu Formaldehyd (**170**), Protonen und Eisen-(II)-

Ionen reagieren. Der Abbruch der Radikal-Reaktion erfolgt durch Reaktion von **164** und Eisen-(II)-Ionen zu Ammoniak und Eisen-(III)-Ionen.

Die DC-Kontrolle führte zu der Erkenntnis, dass in der Lösung keine Reaktion stattgefunden hatte. Es ist gut möglich, dass die freien Elektronenpaare der Acetamido-Gruppe die Reaktion negativ beeinflusst haben. Eine genauere Untersuchung darüber wurde aber nicht vorgenommen.

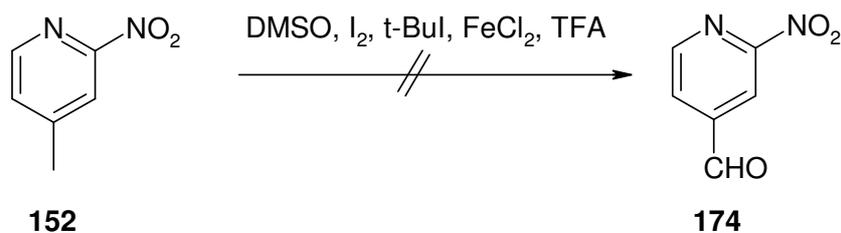
In unserem Arbeitskreis hatte Dombeck<sup>94</sup> mit einer Variante einer Reaktion nach Minisci aus einer CH-aciden Methylgruppe an Cleistopholin (**171**) Cleistopholinaldehyd (**172**) hergestellt. Als Reagenzien kamen hier DMSO, Iod, *tert*-Butyliodid, Eisen-(II)-chlorid und Trifluoressigsäure zum Einsatz (Abb. 90).



**Abb. 90:** Amidbildung nach Dombeck

Ein analoger Versuch wurde mit **116** als Edukt zur Synthese von **173** durchgeführt. Es konnte allerdings keine Reaktion festgestellt werden (Abb. 90).

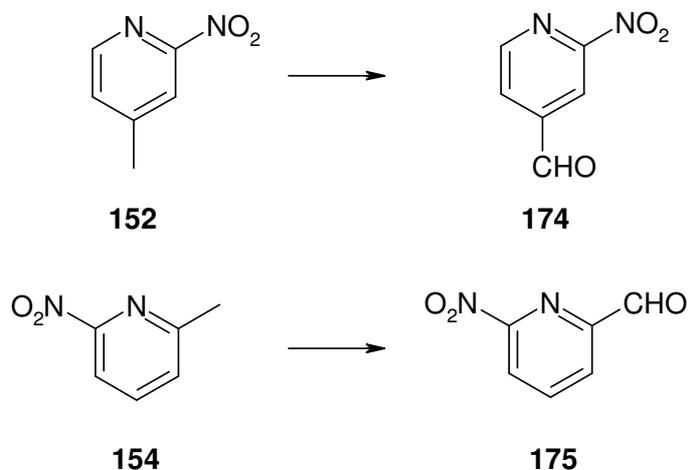
Es ist denkbar, dass durch den leichten +M-Effekt der Acetamido-Gruppe die Acidität der Methylgruppe zu stark abgeschwächt wurde, um eine Reaktion zu ermöglichen. Daher wurde überlegt, den Versuch mit einem -M-Substituenten zu wiederholen, um die Acidität der Methylgruppe sogar noch zu erhöhen. Die Nitroverbindung **152** erfüllte diese Voraussetzung und war außerdem bereits synthetisiert worden. Dieser Versuch lieferte nicht den erwünschten Aldehyd **174** und war damit ebenso erfolglos wie mit **116** (Abb. 91).



**Abb. 91:** Versuch zur Synthese des Aldehyds nach Dombeck mit Nitropicolin

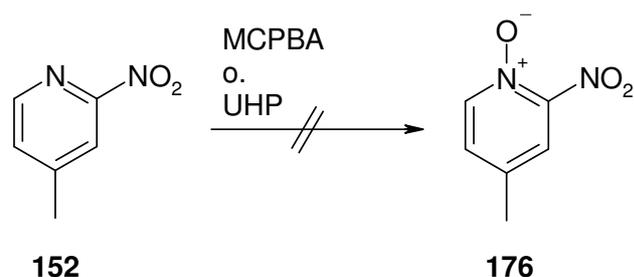
Damit konnte schon mal die Aussage getroffen werden, dass der +M- und der -M-Effekt der Substituenten wohl nicht so entscheidend für die Reaktion gewesen waren. Es ist aber denkbar, dass möglicherweise die freien Elektronenpaare bei den Verbindungen **116** und **152** eine Rolle spielten und sie die Reaktion negativ beeinflussten.

Da die bisherigen Versuche, Pyridinaldehyde herzustellen, nicht den erhofften Erfolg erbracht hatten, wurde dazu übergegangen, aus den Nitropicolinen **152** und **154** die Aldehyde **174** und **175** herzustellen, da diese bei fast allen Milieus chemisch inert sind (Abb. 92).



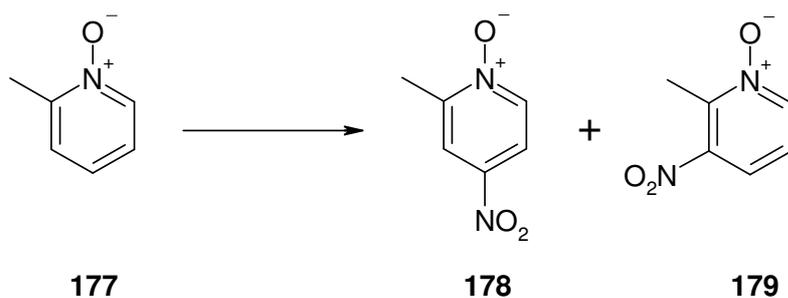
**Abb. 92:** Synthese der Nitropyridinaldehyde **174** und **175**

Nach der erfolglosen Oxidation der Methylgruppe nach Dombeck wurde erneut die Syntheseroute über das N-Oxid ins Auge gefasst. Deswegen wurde **152** mit MCPBA in THF versetzt. Dieser Ansatz lieferte jedoch nur Edukt und nicht das erwünschte N-Oxid (**176**). Der Versuch wurde mit demselben Ergebnis mit einem Harnstoff-Wasserstoffperoxid-Addukt (UHP) wiederholt (Abb. 93).



**Abb. 93:** Versuche zur Synthese des N-Oxids

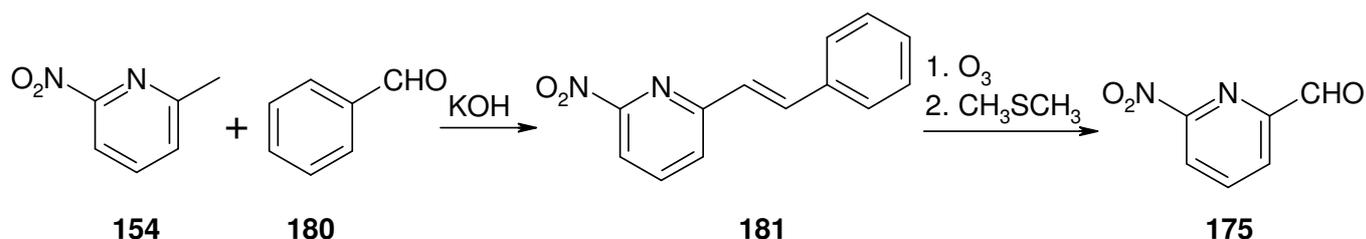
Die Vermutung liegt nahe, dass die Synthese des N-Oxids nicht funktioniert, weil in der Literatur<sup>95</sup> die Synthese von Nitropyridincarbaldehyden ausgehend vom Picolin-N-Oxid (**177**) durchgeführt wird (Abb. 94). Dieses N-Oxid wird dann nitriert und die Reaktion analog zu Abb. 88 durchgeführt. Das Problem bei dieser Variante ist, dass man bei der Nitrierung mehrere Produkte (**178**, **179**) erhält, die getrennt werden müssen und teilweise gar nicht von Interesse für die weitere Synthese sind.



**Abb. 94:** Nitrierung von Picolin-N-Oxid

Da diese Methode mehrere Produkte liefert und nicht garantiert war, dass die benötigten Nitro-N-Oxide erhalten werden würden, wurde die Synthese der Nitroaldehyde über das N-Oxid verworfen.

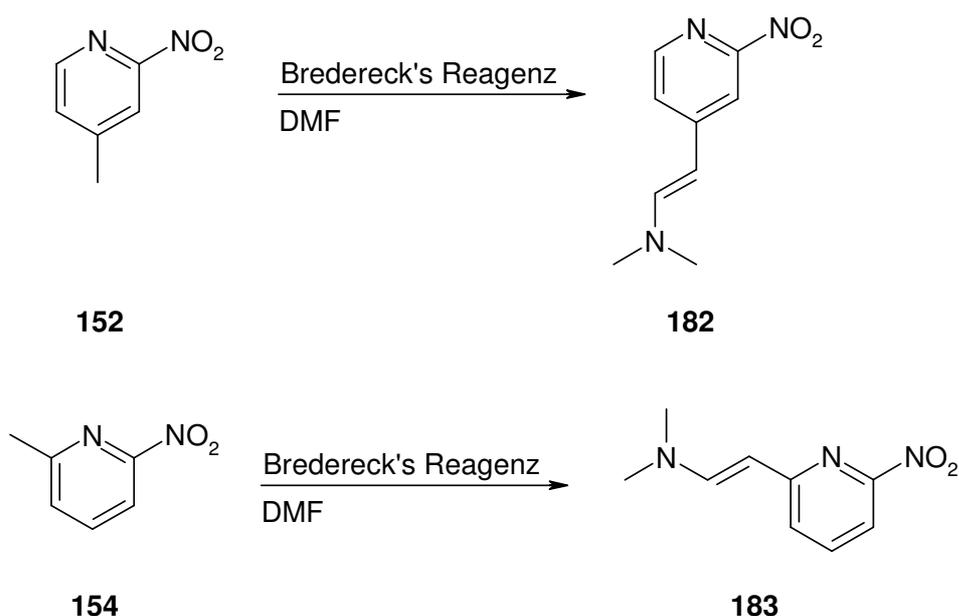
Da die Methylgruppe durch die Nitrogruppe sehr CH-acid sein sollte, wurde überlegt, ob man diesen Umstand nicht zur Synthese von den Aldehyden nutzen könnte. Eine Idee dabei war, das Nitropicolin **154** mit Benzaldehyd (**180**) zum Styrylpyridin **181** zu kondensieren<sup>96</sup> und dieses per Ozonolyse zum Aldehyd **175** zu spalten (Abb. 95).



**Abb. 95:** Aldehyd per Ozonolyse

Da die Ozonolyse sehr präzise Reaktionsbedingungen benötigt und auch vom Gefahrenpotential nicht unbedenklich ist, sollte zuerst eine andere Methode ausprobiert werden.

Eine sehr aussichtsreiche Methode war die Bildung des Enamins mit Hilfe von Brederck's Reagenz<sup>97</sup>, das schon bei der Synthese von Annomontin (**11**) und dessen Analogon mit Carbazol (**29**) zum Einsatz gekommen war (Abb. 96). Die entstandenen Enamine **182** und **183** sollten dann mit Natriummetaperiodat in einer Malaprade-artigen Reaktion zu den Aldehyden reagieren<sup>98</sup>.

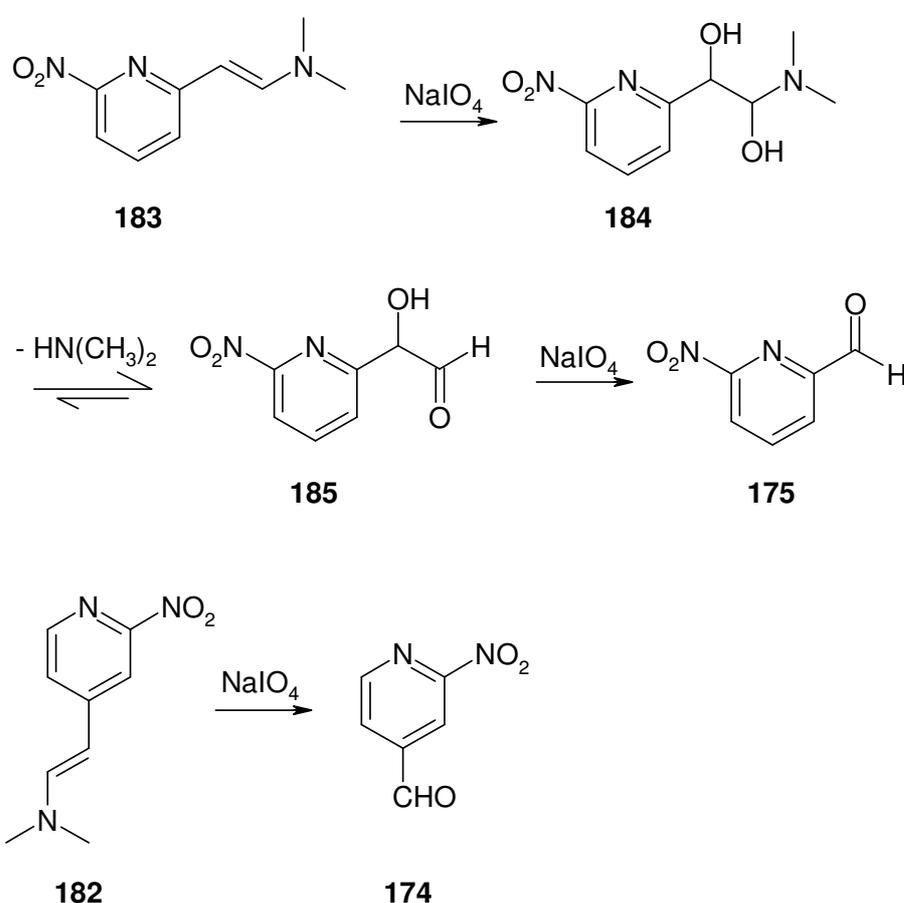


**Abb. 96:** Synthese von Enaminopyridinen mit Brederck's Reagenz

Schon zu Beginn, wenn Brederck's Reagenz zugetropft wird, kann man eine rötliche Verfärbung erkennen, die sich beim Erhitzen noch vertieft. Nach dem Aufarbeiten konnten die Enamine in Ausbeuten von über 70% für **182** und von fast 50% für **183** isoliert werden.

Danach folgte die Umsetzung mit Natriummetaperiodat in einer 1:1-Mischung von THF und Wasser. Man kann sich die Reaktion so erklären (Abb. 97), dass im ers-

ten Schritt vom Periodat die Doppelbindung zum Diol **184** umgesetzt wird. Das dabei entstehende Halbaminal reagiert unter Abspaltung von Dimethylamin zum  $\alpha$ -Hydroxyaldehyd **185**. Dieser  $\alpha$ -Hydroxyaldehyd **185** reagiert mit einem zweiten Äquivalent Periodat in einer Malaprade-Reaktion zu Formiat und dem 6-Nitropyridin-2-carbaldehyd (**175**). Die Ausbeuten lagen hier bei knapp 30%. Die Reaktion zum 2-Nitropyridin-4-carbaldehyd (**174**) erfolgte analog. Die Ausbeute für die analoge Verbindung lag bei fast 60%. Es scheint so, dass die Synthese der 6-Nitro-2-picolin-Derivate allgemein schlechter funktioniert als die der 2-Nitro-4-picolin-Derivate. Ob das mit sterischen Gründen zusammenhängt oder andere Gründe hat, konnte nicht geklärt werden.



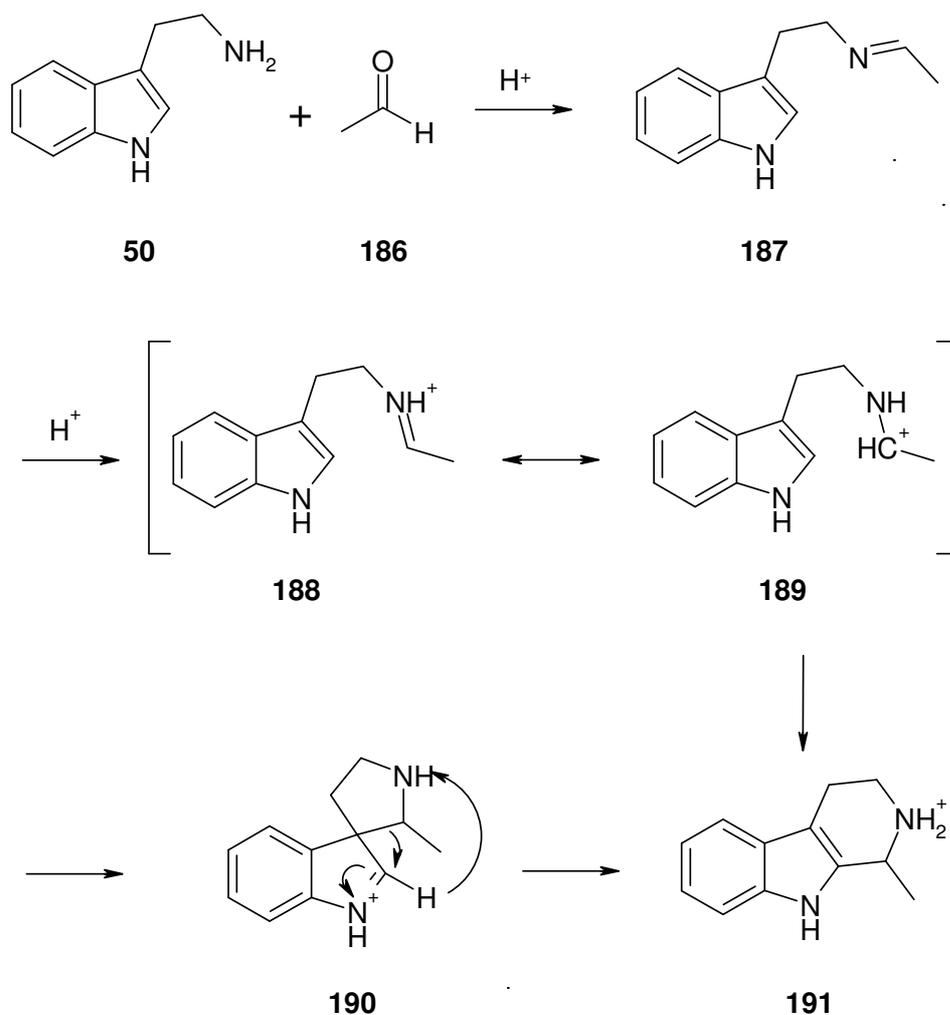
**Abb. 97:** Synthese der Pyridincarbaldehyde mit Periodat

### 3.1.2.2.2. Die Pictet-Spengler-Reaktion

Bereits 1911 entdeckten Pictet und Spengler eine effektive Methode zur Synthese von 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin<sup>99</sup>. Schon 1928 wurde über die erste Reaktion zur Synthese von 1,2,3,4-Tetrahydro- $\beta$ -carbolin berichtet<sup>47</sup>. Die Reaktion wird

unter sauren Bedingungen durchgeführt, weil bei pH-Werten  $> 7$  die Ausbeuten durch Luftoxidation geringer werden<sup>100</sup>. Außerdem sind Reaktionen in aprotischen Lösungsmitteln bekannt<sup>101</sup>.

Der Mechanismus der Pictet-Spengler-Reaktion soll am Beispiel der Synthese von 1,2,3,4-Tetrahydroharman aus Tryptamin und Acetaldehyd beispielhaft erklärt werden (Abb. 98).



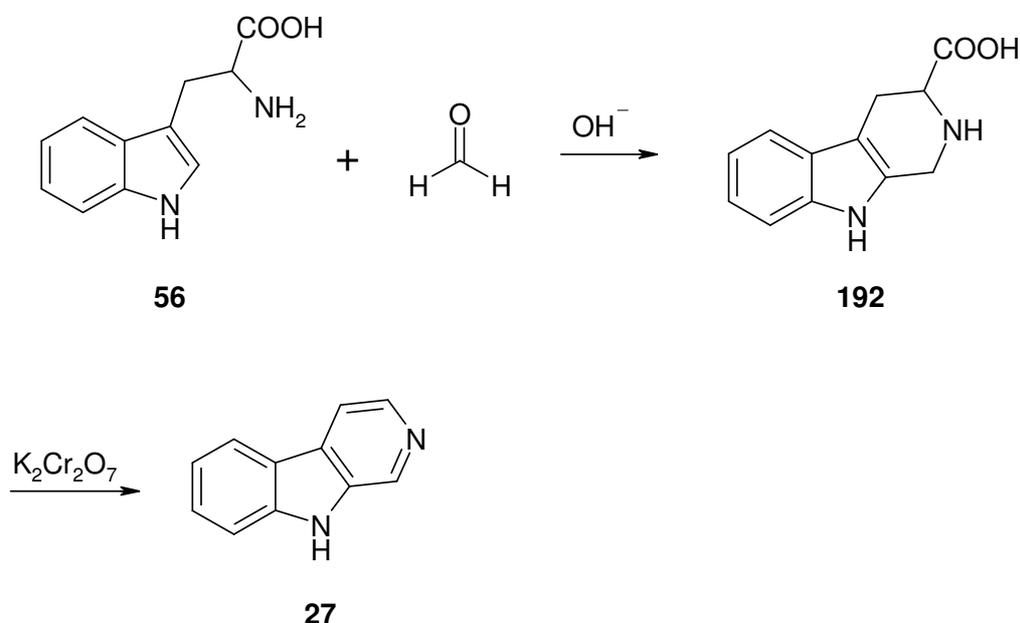
**Abb. 98:** Mechanismus der Pictet-Spengler-Reaktion

Als erstes kondensiert Acetaldehyd (186) mit Tryptamin (50) unter Säurekatalyse zum Imin 187. Unter Aufnahme eines Protons entsteht das reaktive Iminiumion 188, das mit dem Carbenium-Ion 189 in Mesomerie steht. Dieses Carbenium-Ion kann nun auf zwei verschiedene Arten mit dem Tryptamin reagieren. Es kann direkt elektrophil an der 2-Position angreifen und unter Abspaltung des Protons zum Tetrahydro- $\beta$ -carbolin reagieren. Da aber die 3-Position im Indol für elektrophile Substitutionen bevorzugt ist, wurde schon 1948 von Woodward das Spiroindolenin-

Intermediat **190** postuliert<sup>102</sup>. Jackson und Smith lieferten mit ihren Untersuchungen weitere Beweise für diesen Mechanismus<sup>103, 104</sup>. **190** reagiert zum Schluss in einer Wagner-Meerwein-artigen Reaktion zum 1,2,3,4-Tetrahydro- $\beta$ -carbolin **191**.

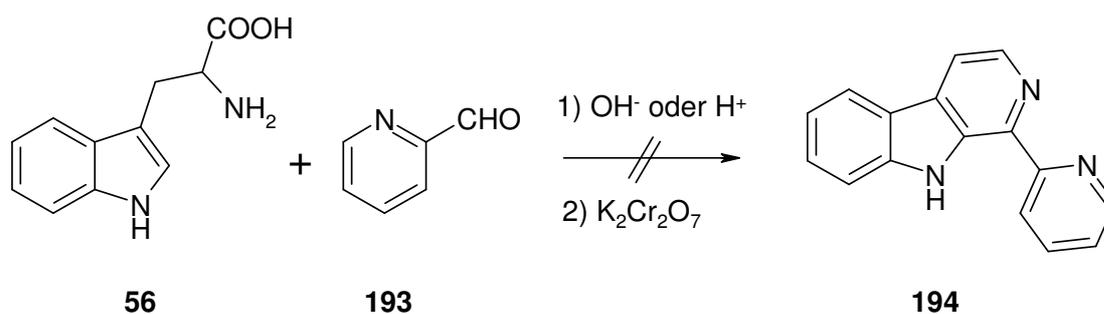
### 3.1.2.2.3. Versuche zur Synthese von Pyridyl- $\beta$ -carbolinen

Die Pictet-Spengler-Reaktion ist unserem Arbeitskreis für die Synthese von Norharman (**27**) angewendet worden. Dabei wird Tryptophan (**56**) mit Formaldehyd in alkalischer Lösung 48 h bei 37°C gerührt. Nach Ansäuern mit Essigsäure erfolgt die Umsetzung des Tetrahydro- $\beta$ -carbolins **192** zum  $\beta$ -Carbolin direkt durch Oxidation mit Kaliumdichromat (Abb. 99).



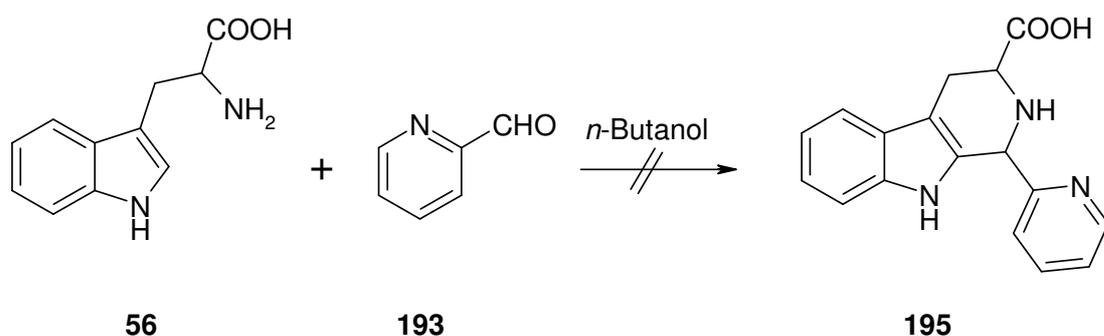
**Abb. 99:** Synthese von Norharman

Analog dieser Synthese wurde beispielhaft mit Pyridin-2-carbaldehyd (**193**) und **56** versucht, 1-(2-Pyridyl)- $\beta$ -carbolin (**194**) herzustellen. Nach der folgenden Aufarbeitung konnte kein Produkt isoliert werden (Abb. 100). Da die Bildung des intermediär auftretenden Imins sowohl säure- als auch basenkatalysiert ablaufen kann, wurde der Versuch unter Säurekatalyse wiederholt, wieder mit demselben Ergebnis.



**Abb. 100:** Versuch zur Synthese von Pyridyl-β-carboline

In der Literatur<sup>105</sup> wurde von einer Synthese berichtet, die mit Tryptamin und Pyridinaldehyd ohne Säuren- oder Basenzugabe in *n*-Butanol zum Pyridyltetrahydro-β-carboline **195** führte. Die Durchführung des Versuchs mit Tryptophan und Pyridin-2-carbaldehyd lieferte eine schwarze Masse, die auf der DC einen Fleckenteppich verursachte (Abb. 101). Daraufhin wurde der Ansatz verworfen.



**Abb. 101:** Versuch zur Synthese von Pyridyl-β-carboline in Butanol

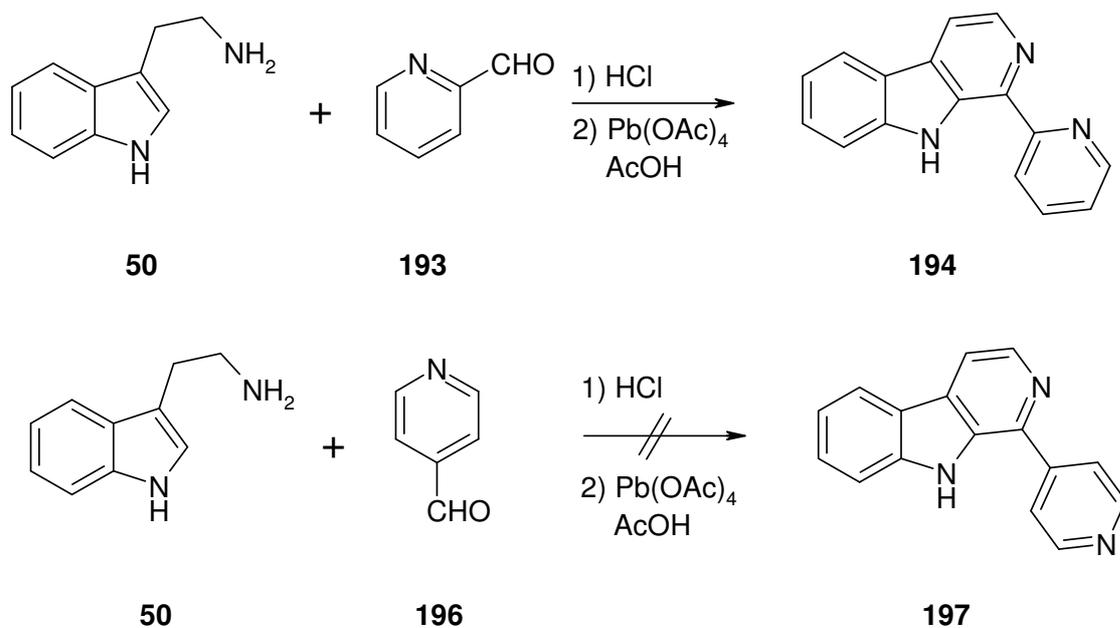
Um bei der Aufarbeitung den Umgang mit amphiprotischen Substanzen, in Form der Carbonsäure und des Pyridins, zu vermeiden, wurde dazu übergegangen, Tryptamin (**50**) anstelle von Tryptophan (**56**) zu verwenden.

Bei der Durchführung der Versuche mit Pyridin-2-carbaldehyd (**193**) und Pyridin-4-carbaldehyd (**196**) wurden gummiartige, gelbe Rückstände erhalten, die sehr schlecht in den gängigen Lösungsmitteln löslich waren und damit auch die Aufarbeitung erschwerten.

Um die Aufarbeitung zu erleichtern wurde beschlossen, den gummiartigen Rückstand sofort zu den entsprechenden β-Carbolinen umzusetzen. Für die Dehydrierung von Tetrahydro-β-carbolinen ist eine breite Palette an Reagenzien bekannt. Die in Kap. 3.1.1.1.2. bereits besprochenen Dehydrierungsmittel Chloranil und DDQ können natürlich auch hier zum Einsatz kommen. Auch sind Dehydrierungen mit Oxidationsmitteln wie Kaliumdichromat, Kaliumpermanganat und Blei-(IV)-

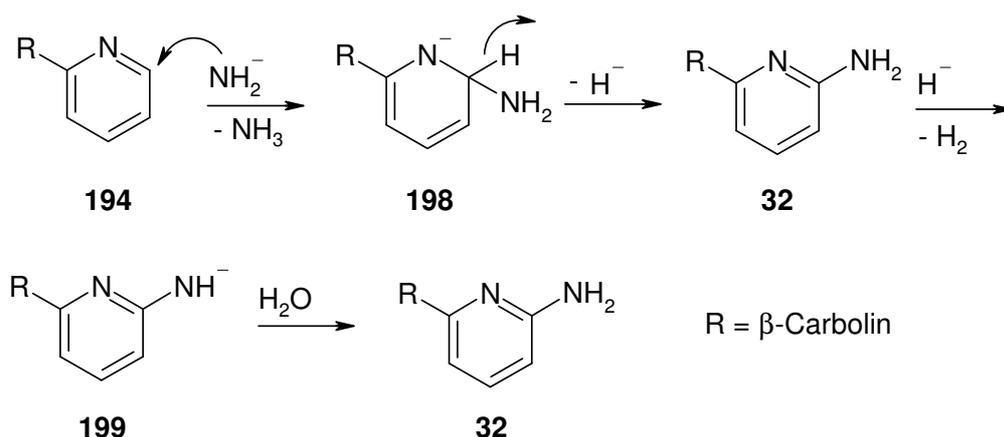
acetat bekannt, die auch bei der Oxidation von Tetrahydro- $\beta$ -carbolinen ausgehend von Tryptophan eingesetzt werden. Ferner sind Dehydrierungen mittels Pd/C oder mit Schwefel in Xylol bekannt<sup>106</sup>. Eine sehr milde Methode mit sehr guten Ausbeuten ist die Oxidation mit Blei-(IV)-acetat<sup>107</sup>.

Die Versuche wurden mit Pyridin-2-carbaldehyd (**193**) und Pyridin-4-carbaldehyd (**196**) durchgeführt. Dabei wurde die Reaktionszeit von sechs Stunden bis zu zwei Tagen variiert. Bei allen Versuchen konnte nur einmal ein  $\beta$ -Carbolin, nämlich das 1-(2-Pyridyl)- $\beta$ -carbolin (**194**), in einer Ausbeute von unter 5 % isoliert werden. 1-(4-Pyridyl)- $\beta$ -carbolin (**197**) konnte nicht isoliert werden (Abb. 102). Welche weiteren Faktoren außer der Reaktionszeit die Bildung der  $\beta$ -Carboline beeinflussten, wurde nicht untersucht. Eine Aussage, ob ein Versuch funktioniert hatte, konnte schon mittels der DC-Probe erfolgen, weil das gewünschte  $\beta$ -Carbolin, wie die meisten  $\beta$ -Carboline, auf der DC sowohl bei 254 als auch bei 366 nm fluoreszierte.



**Abb. 102:** Synthese von Pyridyl- $\beta$ -carbolinen aus Tryptamin

Da nun **194** zur Verfügung stand, sollte es mit Hilfe der Tschitschibabin-Reaktion möglich sein, das gewünschte Endprodukt **32** zu erhalten.



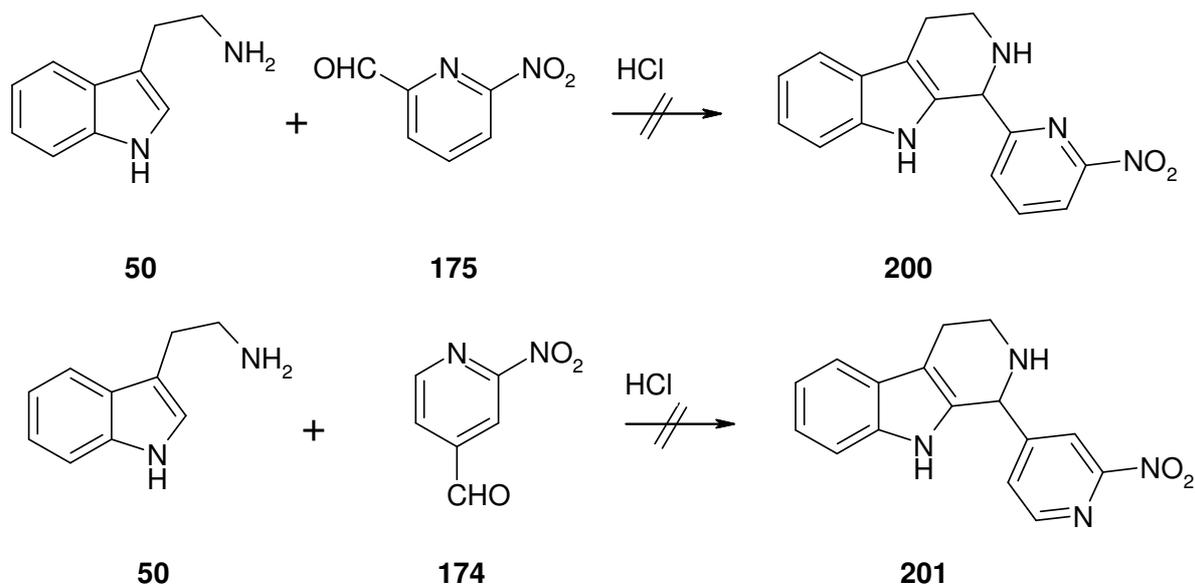
**Abb. 103:** Mechanismus der Tschitschibabin-Reaktion

Die Tschitschibabin-Reaktion ist dazu geeignet 2-Aminopyridine und 4-Aminopyridine herzustellen. Der Mechanismus der Tschitschibabin-Reaktion entspricht einem Additions-Eliminations-Mechanismus und läuft wie folgt ab (Abb. 103). Zuerst wird **194** von einem Äquivalent Amid nucleophil in 2- oder 4-Position angegriffen. Das entstandene Anion (**198**) kann die negative Ladung über den Ring stabilisieren und ein Hydrid-Ion abspalten. Dabei entsteht intermediär bereits das gewünschte Amin **32**. **32** wird nun von dem abgespaltenen Hydrid angegriffen und bildet erneut ein Amid aus (**199**). Bei Hydrolyse entsteht dann letztendlich das gewünschte Amin **32**.

Nach der Aufarbeitung konnte auf der DC nur Edukt erkannt werden. Deswegen wurde der Ansatz verworfen.

Zum Schluss wurde noch versucht, mit Hilfe der Nitropyridinaldehyd die gewünschten Tetrahydro- $\beta$ -carboline herzustellen. Da die Nitrogruppen einen  $-M$ -Effekt besitzen und deswegen die positive Partialladung am Kohlenstoff des Aldehyds erhöhen, sollte die Bereitschaft für einen elektrophilen Angriff erhöht sein.

Nach der Aufarbeitung konnte kein Produkt identifiziert werden. Weder die Massenspektren noch die NMR-Daten ergaben Hinweise darauf, dass die gewünschten Tetrahydro- $\beta$ -carboline **200** und **201** entstanden waren (Abb. 104). Was die Gründe für die Fehlschläge waren, konnte nicht ermittelt werden.



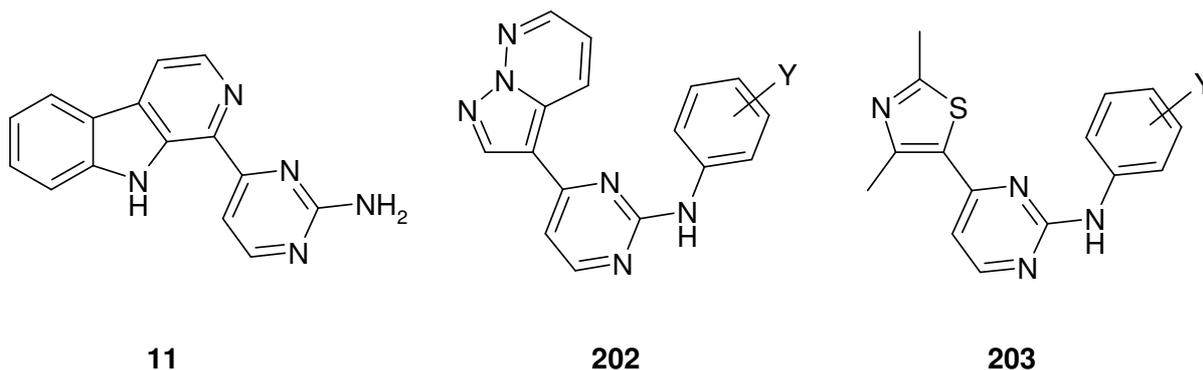
**Abb. 104:** Syntheseversuche mit Nitropyridinaldehyden

Da alle diese Wege nicht zum gewünschten Ziel geführt hatten, wurde beschlossen, die Versuche an dieser Stelle einzustellen. Es wäre noch zu untersuchen, ob die Synthese mit der Verwendung anderer Schutzgruppen erfolgreicher wäre. Aus Zeitgründen konnte das in dieser Arbeit aber nicht mehr durchgeführt werden.

### 3.2. Carbazol- und $\beta$ -Carbolinderivate mit N-substituierten Aminopyrimidylsubstituenten in 1-Position

In der Natur sind Strukturen mit einer 2-Aminopyrimidin-Partialstruktur weit verbreitet. Kast hatte bei seinen Verbindungen schon gezeigt, dass Methylierungen der primären Aminogruppe des Annomontins (**11**) zu Einbußen bei der inhibitorischen CDK-Aktivität führen. Kast hat keine weiteren Untersuchungen in diese Richtung mit größeren Substituenten unternommen.

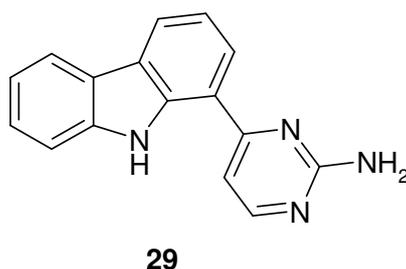
In der Literatur tauchten nun Verbindungen mit 2-Aminopyrimidin-Partialstruktur (**202**, **203**) auf, die entfernt Ähnlichkeit mit Annomontin aufweisen und an der Aminogruppe unterschiedlich substituierte Aromaten als Reste tragen (Abb. 105)<sup>108, 109</sup>.



**Abb. 105:** Verbindungen mit Aminopyrimidin-Partialstruktur

Diese Verbindungen **202** und **203** wiesen, ebenso wie **11**, CDK-inhibitorische Aktivität auf. Des Weiteren war interessant, dass die Inhibitor-Aktivität durch elektronenziehende Substituenten am Arylaminorest noch weiter gesteigert wurde. Daher stellte sich die Frage, ob ähnliche Substituenten am Annomontin ebenso dazu im Stande wären, die Aktivität zu steigern. Die Unterschiede zu den N-methylierten Verbindungen von Kast wären die sehr viel größeren Reste, die möglicherweise die Bindung an eine neue hydrophobe Bindungstasche ermöglichen könnten. Zudem wären die neuen Substituenten prinzipiell in der Lage H-Brückenbindungen zu funktionellen Gruppen verschiedener Aminosäuren aufzubauen.

Neben Annomontin mit einem  $\beta$ -Carbolin als Grundgerüst war natürlich auch interessant, ob Carbazole mit diesen Substituenten auch inhibitorische Aktivität aufweisen würden. Deswegen sollten die Verbindungen, die mit den  $\beta$ -Carbolinen synthetisiert wurden, auch mit den Carbazolen hergestellt werden.

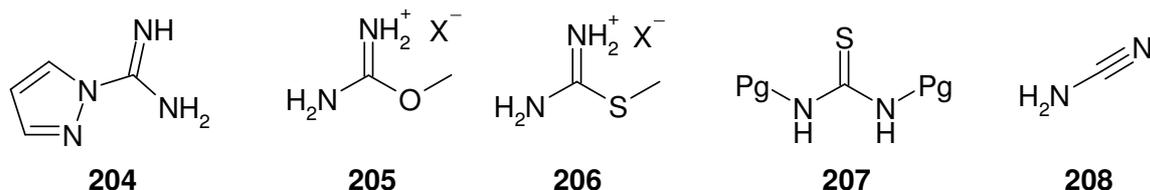


**Abb. 106:** 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-9H-carbazol

Um zu diesen neuen Verbindungen zu gelangen, sollten die Synthesen analog zu der Synthese von Annomontin (**11**) und **29** (Abb. 106) erfolgen (Kap. 3.1.1.2.). Dazu mussten die geeigneten N-Arylguanidine zuerst synthetisiert werden.

### 3.2.1. Synthese der Guanidin-Bausteine

Die Synthese von Guanidinen aus primären oder sekundären Aminen kann auf verschiedene Art und Weisen erfolgen. Als mögliche Reagenzien kommen Pyrazol-1-carboxamide (**204**), O-Methylisoharnstoffsalze (**205**), S-Methylisoharnstoffsalze (**206**), geschützte Thioharnstoffe (**207**) und Cyanamid (**208**) in Frage<sup>110</sup> (Abb. 107).

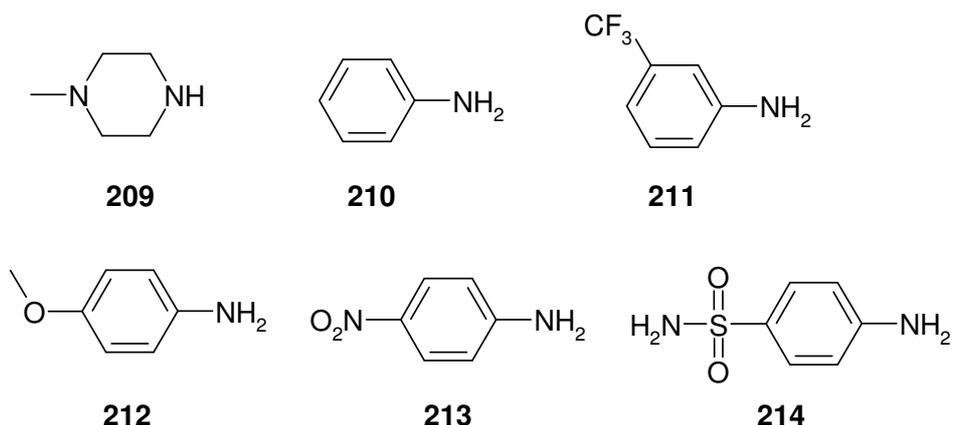


**Abb. 107:** Reagenzien zur Synthese von Guanidinen aus primären Aminen

Der Mechanismus läuft bei allen Verbindungen ähnlich ab. Im Prinzip greift das Amin nucleophil an einem der Reagenzien an. Dabei entsteht das gewünschte Guanidin entweder direkt (**208**) oder nach Abspaltung einer weiteren Gruppe (**204** - **207**).

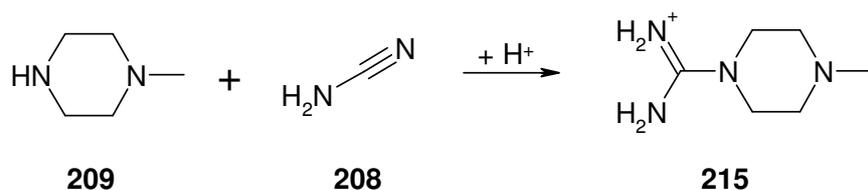
Da Cyanamid kommerziell erhältlich ist und bei der Reaktion keine Nebenprodukte, wie Methanolat, Thiomethanolat oder Imidazol entstehen, die eventuell zu Störungen führen könnten, wurde dieses Reagenz für die Synthese der Guanidine verwendet. Die Synthese erfolgte dabei immer auf dieselbe Art und Weise. Zu dem Amin wurde Schwefelsäure und 25%-ige wässrige Cyanamid-Lösung gegeben<sup>111</sup>. Nach einer Reaktionszeit von 4h konnte das Produkt isoliert werden.

Abb. 108 zeigt die Amine, die zu den entsprechenden Guanidinen umgesetzt werden sollten.



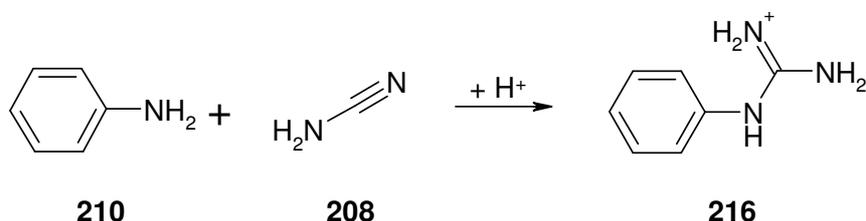
**Abb. 108:** Edukte für die Synthese von Guanidin-Bausteinen

Als erstes wurde N-Methylpiperazin (**209**) zum Guanidin **215** umgesetzt (Abb. 109). Die Überlegung war, einen größeren Rest mit einer zusätzlichen basischen, funktionellen Gruppe einzuführen. Das Monomethylderivat von Annomontin zeigte noch einen schwachen inhibitorischen Effekt, der durch die zusätzliche Aminogruppe im Molekül verstärkt werden könnte.



**Abb. 109:** Synthese von 4-Methylpiperazin-1-carboxamidin

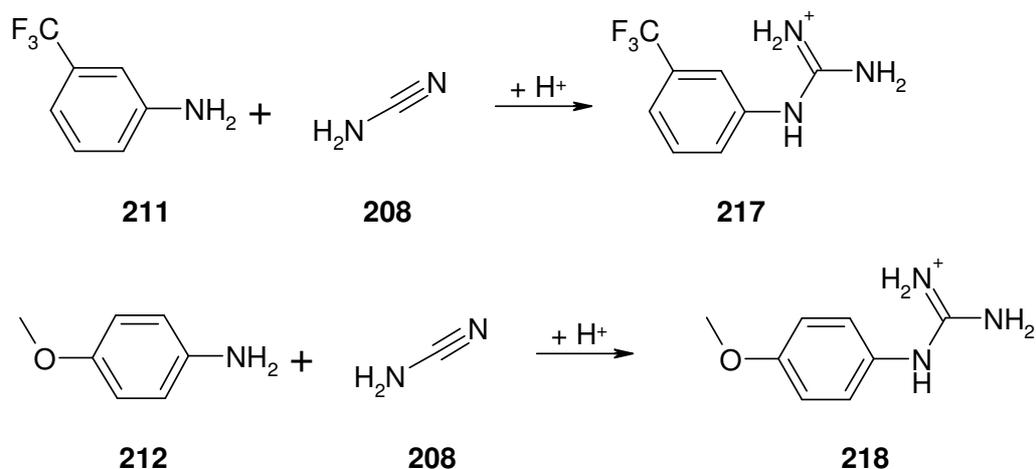
Die Synthese von N-Phenylguanidin (**216**) aus Anilin (**210**) sollte dazu dienen, einen Phenylaminorest in das Molekül einzuführen, der hydrophobe Wechselwirkungen ermöglichen sollte (Abb. 110).



**Abb. 110:** Synthese von N-Phenylguanidin

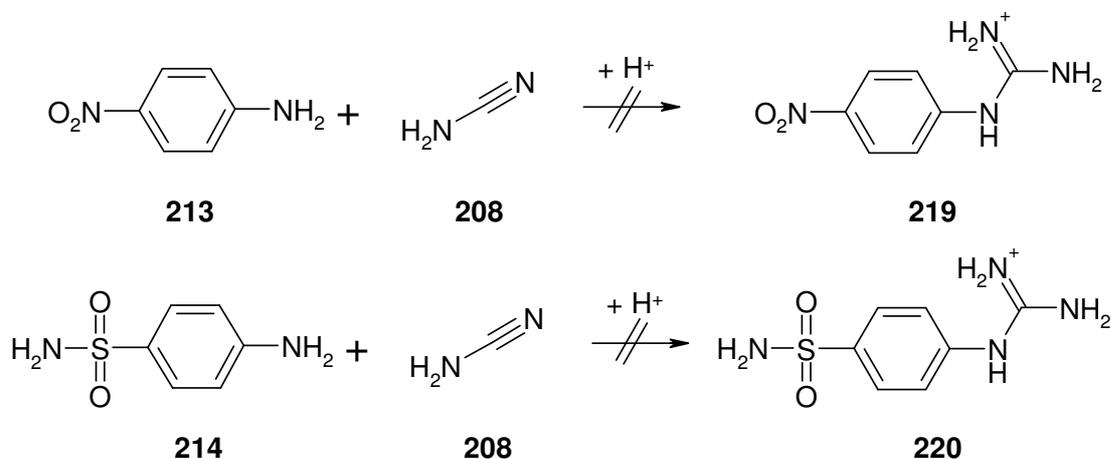
Danach folgten mit der Herstellung von N-(3-Trifluormethylphenyl)-guanidin (**217**) aus 3-Trifluormethylanilin (**211**), das einen  $-I$ -Effekt aufweist, und N-(4-Methoxyphenyl)-guanidin (**218**) aus 4-Methoxyanilin (**212**), das einen  $+M$ -Effekt besitzt,

zwei Aromaten, die zu Wechselwirkungen mit polarisierten Gruppen befähigt wären (Abb. 111).



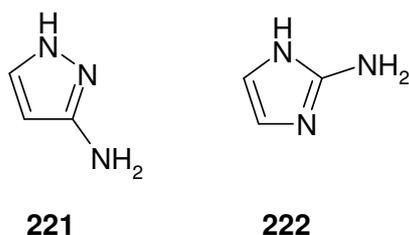
**Abb. 111:** Synthese von N-(3-Trifluorphenyl)- und N-(4-Methoxyphenyl)guanidin

Die Versuche der Synthese der Guanidine **219** und **220** aus 4-Nitroanilin (**213**) und Sulfanilamid (**214**), die  $-M$ -Substituenten aufwiesen, verliefen nicht erfolgreich (Abb. 112). Der Grund hierfür mag in der durch die Substituenten verringerten Nucleophilie liegen.



**Abb. 112:** Versuche zur Synthese von Guanidinen mit  $-M$ -Substituenten

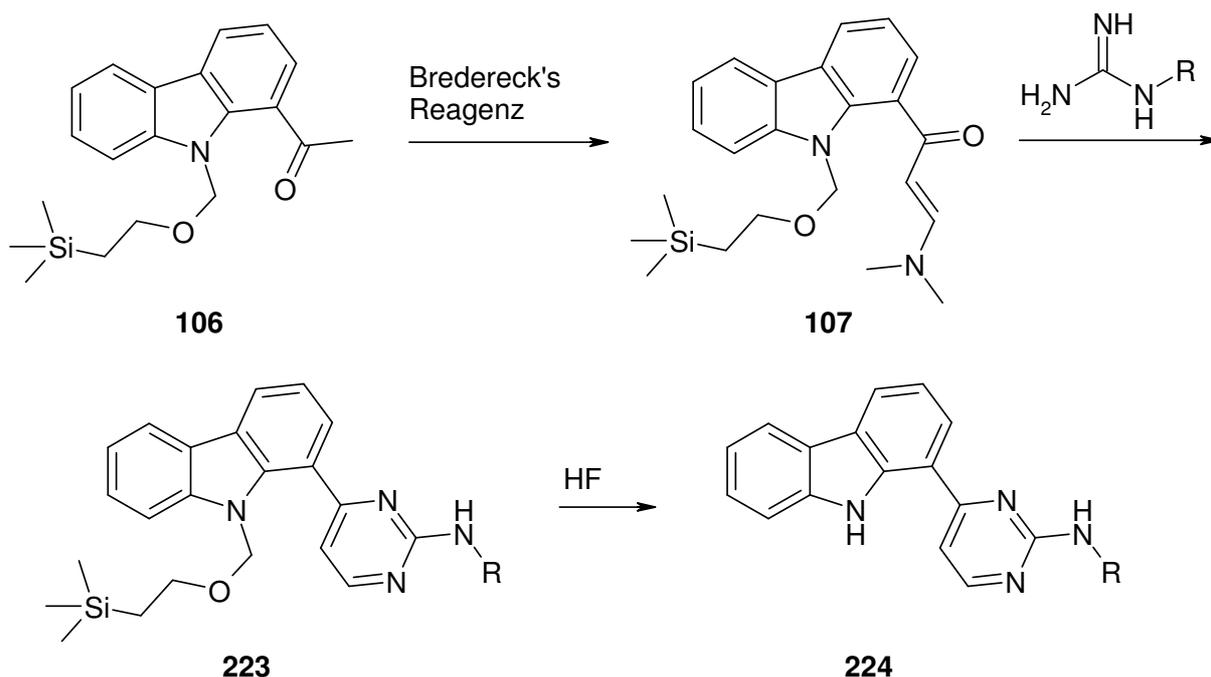
Weitere Nucleophile, die verwendet aber nicht synthetisiert wurden, weil sie im Molekül bereits eine Amidin- oder Guanidinstruktur aufwiesen, sind 3-Aminopyrazol (**221**) und 2-Aminoimidazol (**222**, Abb. 113). Abweichend von den anderen Guanidinen sollten hier als Reste keine Arylpyrimidine sondern Bicyclen entstehen.



**Abb. 113:** Edukte mit enthaltener Amidin- bzw. Guanidinstruktur

### 3.2.2. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidylcarbazolen

Die Synthese erfolgte hier ausgehend von **106** in derselben Art und Weise wie die Synthese von **29**. Dafür wurde **106** zuerst mit Brederick's Reagenz und anschließend dem entsprechenden Guanidin versetzt. Es entstand das geschützte Zwischenprodukt (**223**), das mit Hilfe von HF zum gewünschten Endprodukt (**224**) umgesetzt wurde (Abb. 114).

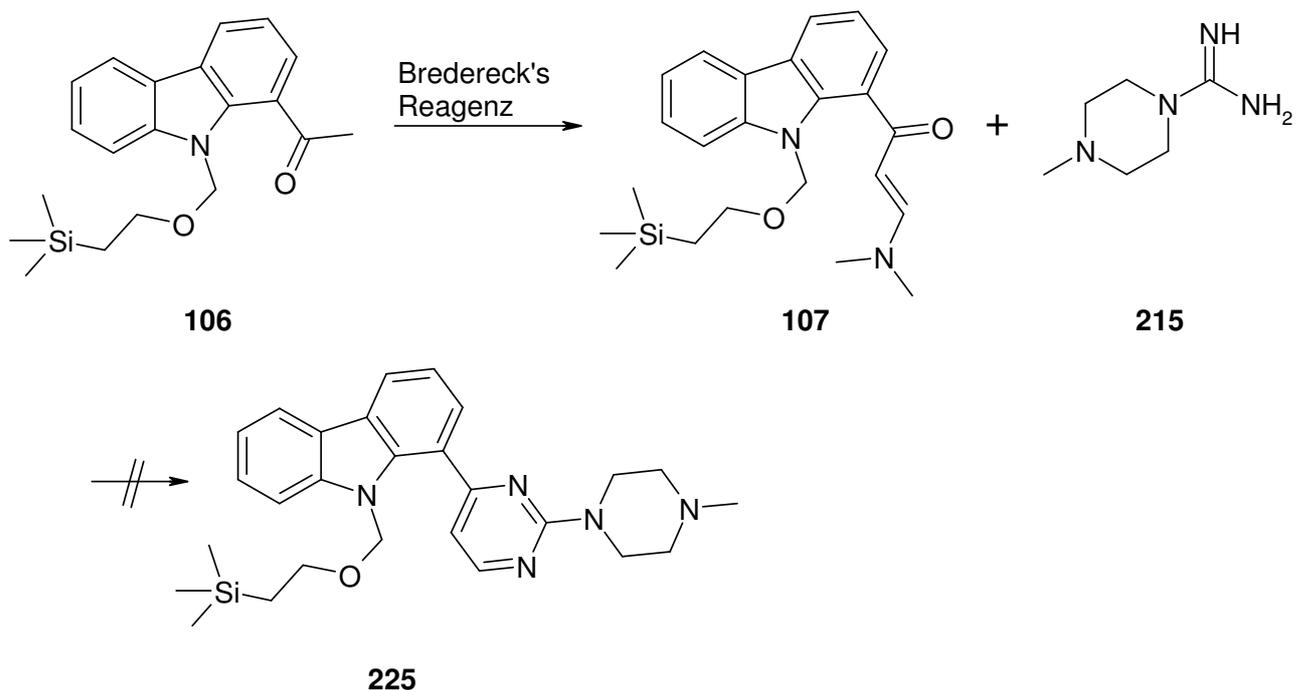


**Abb. 114:** Schema der Synthese substituierter Aminopyrimidylcarbazole

Die aus den Aminen **209** - **212** hergestellten Guanidine **215** - **218** und die Verbindungen **221** und **222** wurden auf diese Weise umgesetzt.

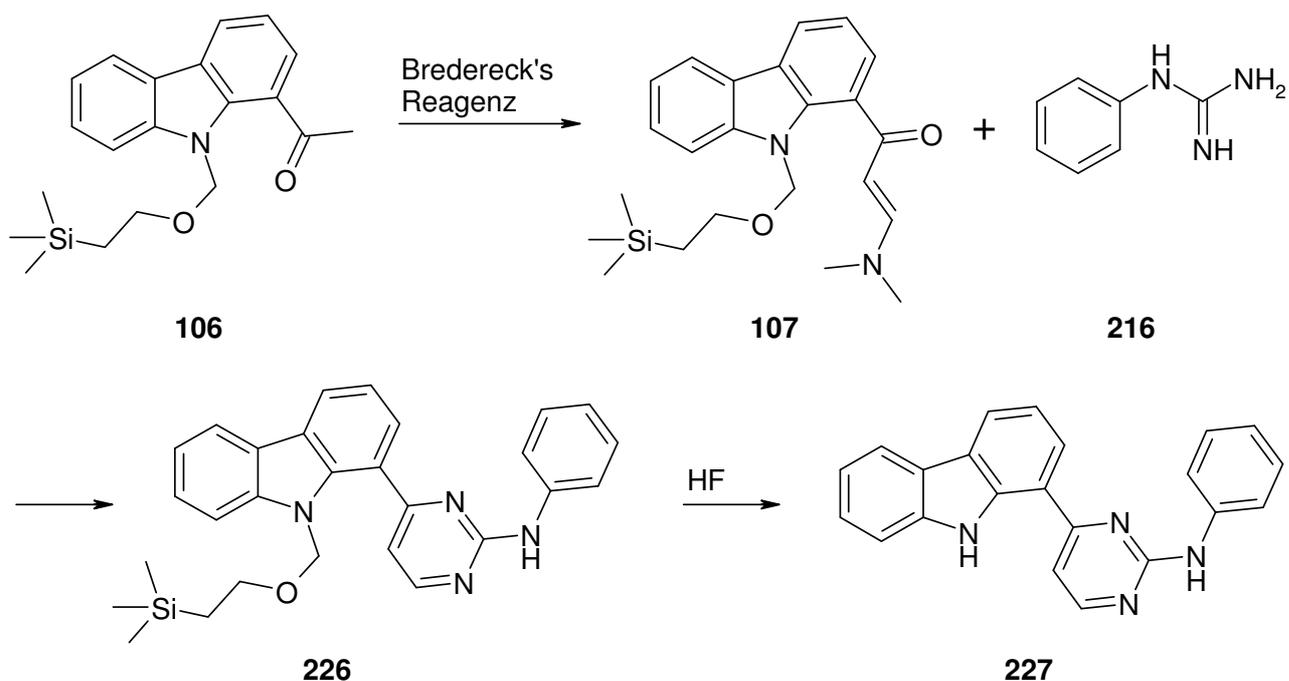
Die Umsetzung von **106** mit N-Methylpiperazin-1-carboxamid (**215**) zum entsprechenden N-Methylpiperazinopyrimidinylcarbazol (**225**) verlief nicht erfolgreich (Abb. 115). Mehrere Wiederholungen des Versuchs führten dabei zu demselben Ergeb-

nis. Der Grund hierfür könnte in der sterischen Hinderung durch die SEM-Schutzgruppe liegen.

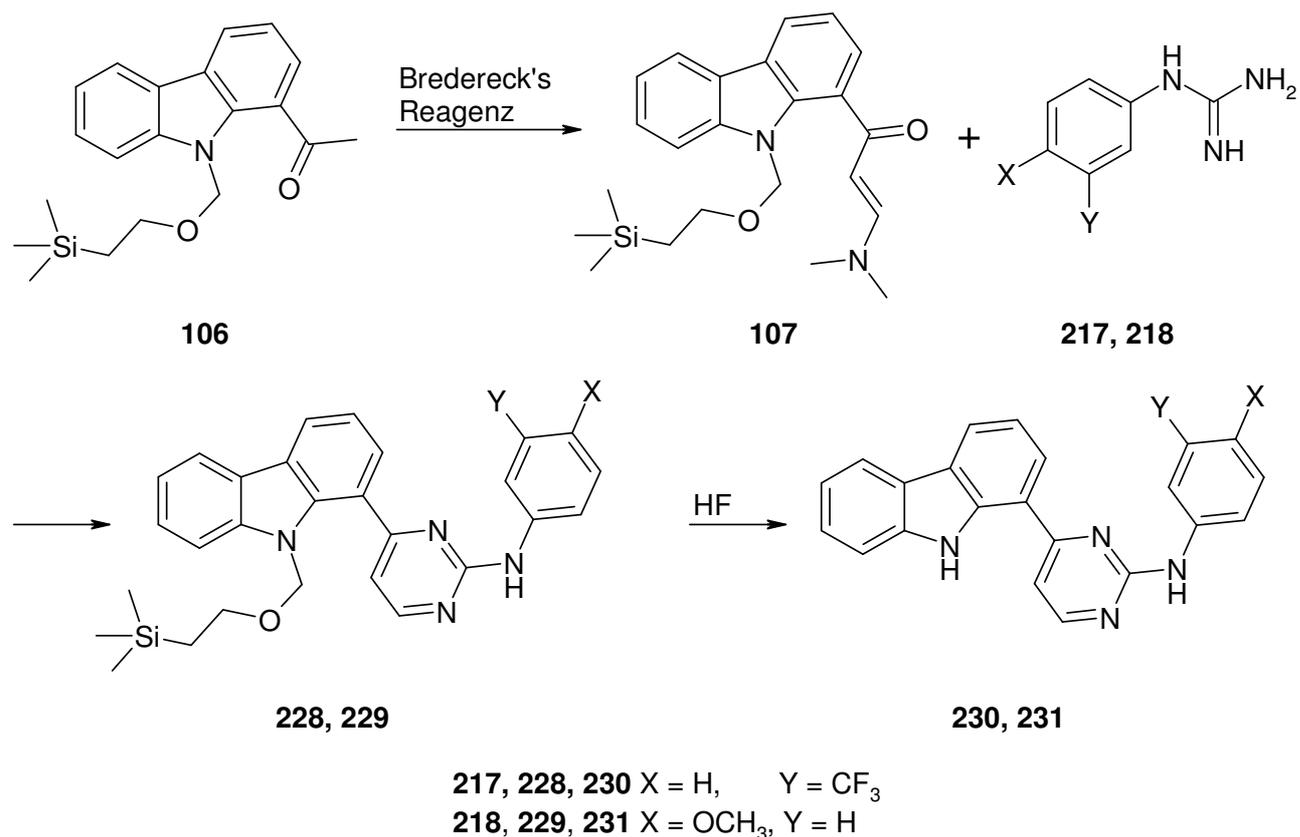


**Abb. 115:** Versuch der Synthese von N-Methylpiperazinopyrimidinylcarbazol

Die Reaktion von **106** mit dem aus Anilin gewonnenen Guanidin **216** zu **226** war mit einer Ausbeute von fast 90 % wesentlich erfolgreicher. Die Entschützung mit HF zu **227** gelang mit einer Ausbeute von 56 % ebenfalls gut (Abb. 116).



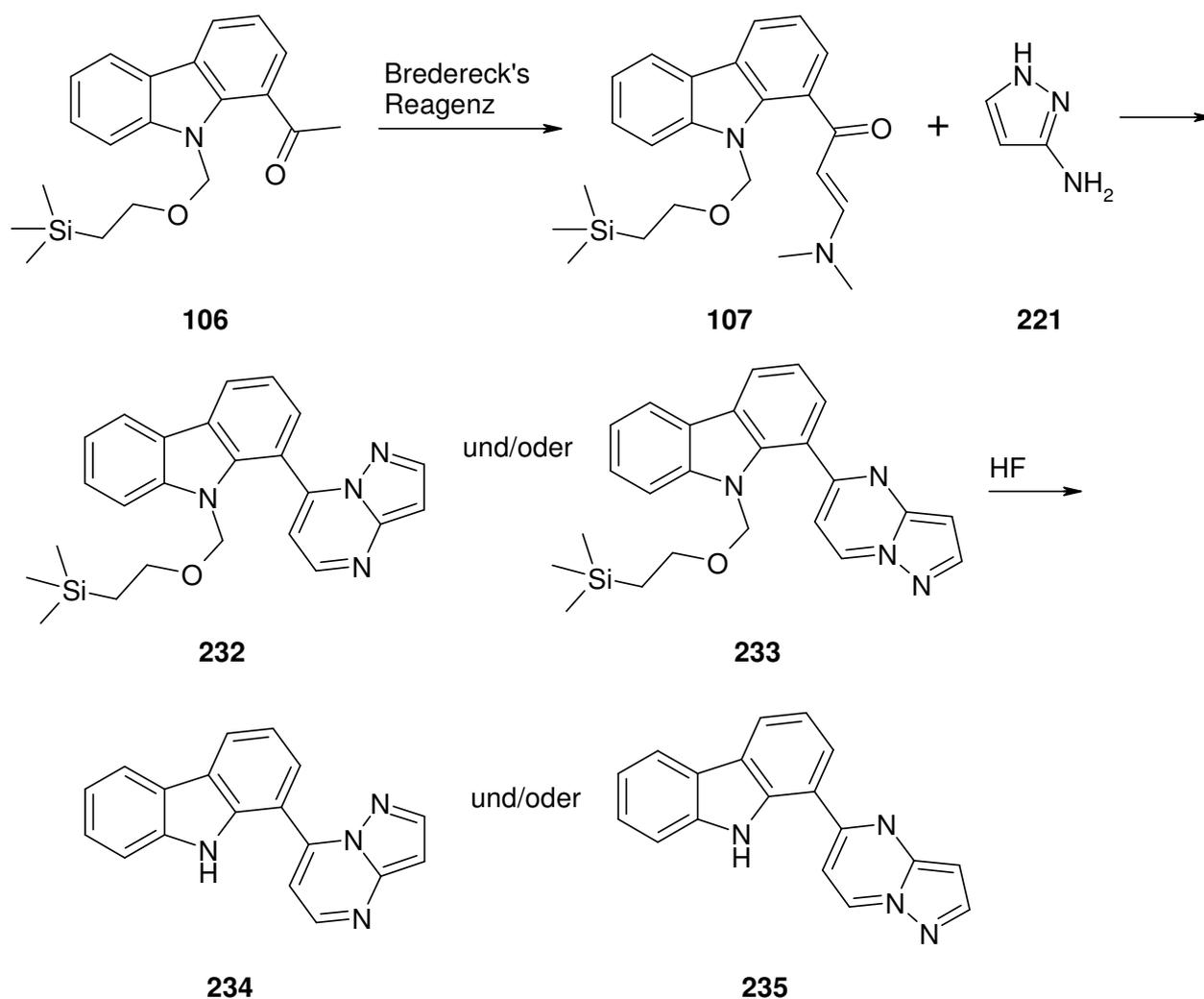
**Abb. 116:** Synthese des N-(Phenylamino)-pyrimidylcarbazols



**Abb. 117:** Synthese von Methoxy- und Trifluormethylphenylaminopyrimidinylcarbazol

Jetzt sollten noch die Guanidine **217** und **218** mit **106** und Brederecks' Reagenz umgesetzt werden. Da Guanidin **217** einen  $-I$ -Effekt aufweist und dadurch die Reaktivität der Guanidin-Gruppe herabgesetzt wird, war mit einer geringeren Ausbeute bei der Reaktion zu rechnen. Dagegen überwiegt bei **218** der  $+M$ -Effekt den  $-I$ -Effekt, so dass die Reaktion besser als bei **226** verlaufen sollte.

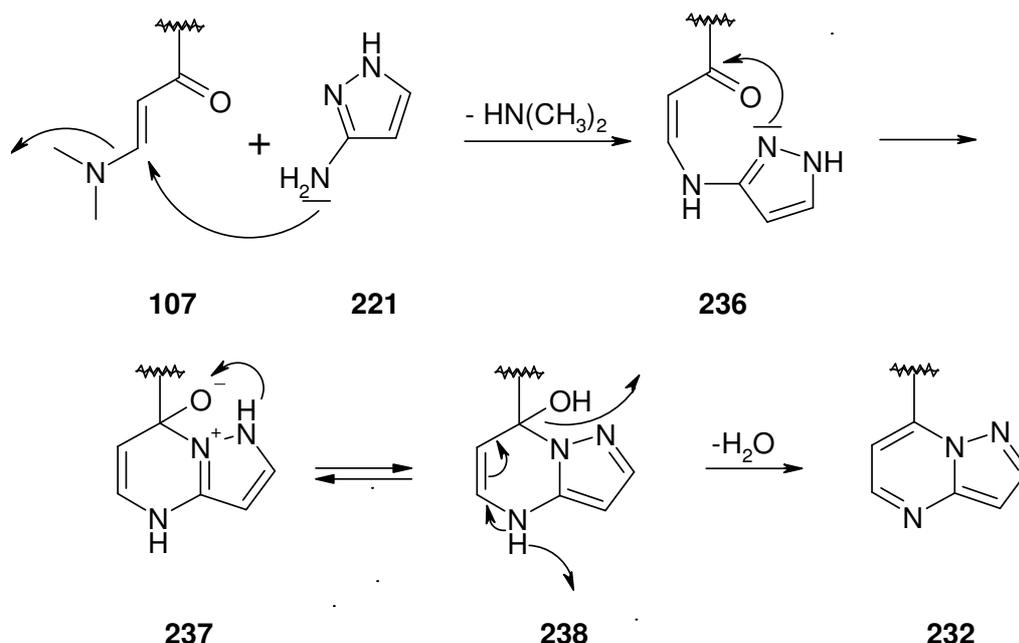
Wie vermutet funktionierte die Synthese von **228** mit einer Ausbeute von fast 50 % schlechter als bei **226**. Hingegen fiel die Ausbeute von **229** entgegen der Erwartung mit knapp 50 % geringer aus als bei der Synthese von **226**. Die Entschützung zu **230** und **231** stellte mit Ausbeuten von 56 % und 74 % wiederum keine Herausforderung dar (Abb. 117).



**Abb. 118:** Reaktion von **106** mit 3-Aminopyrazol

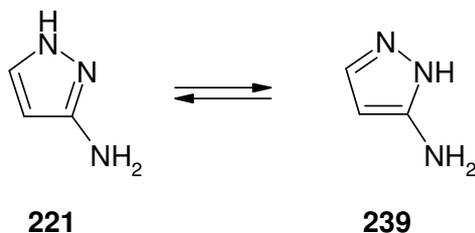
Nun folgte noch die Umsetzung mit **221**, das mit dem von **106** abgeleiteten Enamin **107** eine Reaktion eingehen konnte. 3-Aminopyrazol (**221**) stellt ein Bisnucleophil dar, d.h. es besitzt im Molekül zwei Positionen, die als Nucleophil reagieren können. Mit Hilfe von Bisnucleophilen und Biselektrophilen können Ringe neu aufgebaut werden. Weist das Bisnucleophil oder das Biselektrophil eine symmetrische Struktur auf, wird ein Ring generiert. Ist dagegen einer der beiden Reaktionspartner unsymmetrisch aufgebaut, können je nach Angriff unterschiedliche Isomere entstehen. Die Umsetzung von **107** mit **221** lieferte in einer mäßigen Ausbeute von 23 % ein Produkt, das theoretisch aus zwei isomeren Bicyclen bestehen konnte (Abb. 118).

Um die Entstehung dieser beiden möglichen Bicyclen besser verstehen zu können, muss man sich den jeweiligen Mechanismus für diese Reaktionen genauer betrachten.



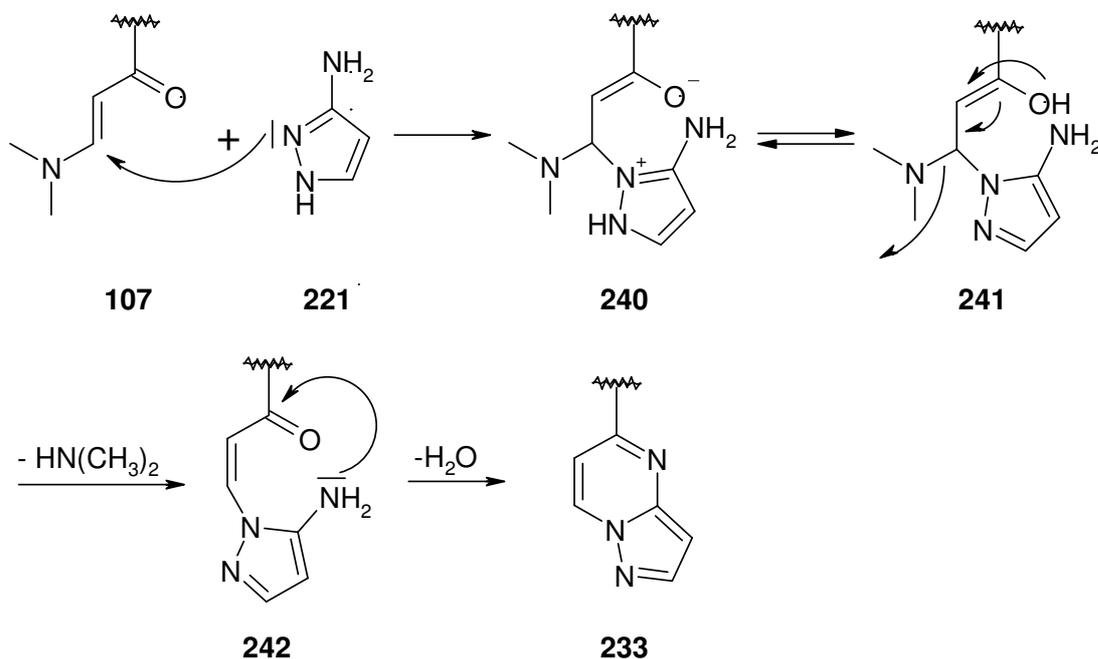
**Abb. 119:** Mechanismus zur Bildung von Isomer **232**

Der Mechanismus für die Bildung von **232** verläuft im ersten Schritt über eine Michael-Addition unter Abspaltung von Dimethylamin und Bildung von **236**. Danach greift der in 2-Position sitzende  $sp^2$ -hybridisierte Stickstoff nucleophil am Carbonylkohlenstoff an und bildet den Bicyclus **237** aus, der eine Betain-Struktur aufweist. Der Stickstoff in 1-Position kann keinen nucleophilen Angriff durchführen, weil das freie Elektronenpaar für die Aromatizität des Pyrazol-Rings benötigt wird. Das entstandene Intermediat **237** stabilisiert sich, indem zum einen der Pyrazol-Ring tautomerisiert und dadurch die positive Ladung in 2-Position aufgehoben wird und zum anderen das Proton von der 1-Position zum negativ geladenen Sauerstoff wandert. Diese Zwischenstufe **238** spaltet nun Wasser ab, um zum aromatischen Bicyclus **232** zu gelangen (Abb. 119). Die Triebfeder bei dieser Reaktion ist der Energiegewinn der Verbindung **232** durch das Erreichen der Aromatizität.



**Abb. 120:** Tautomerie von 3-Aminopyrazol

Da 3-Aminopyrazol in zwei tautomeren Formen existieren kann (Abb. 120), sollte man überlegen, ob **239** zu einem anderen Produkt führen kann als **221**.



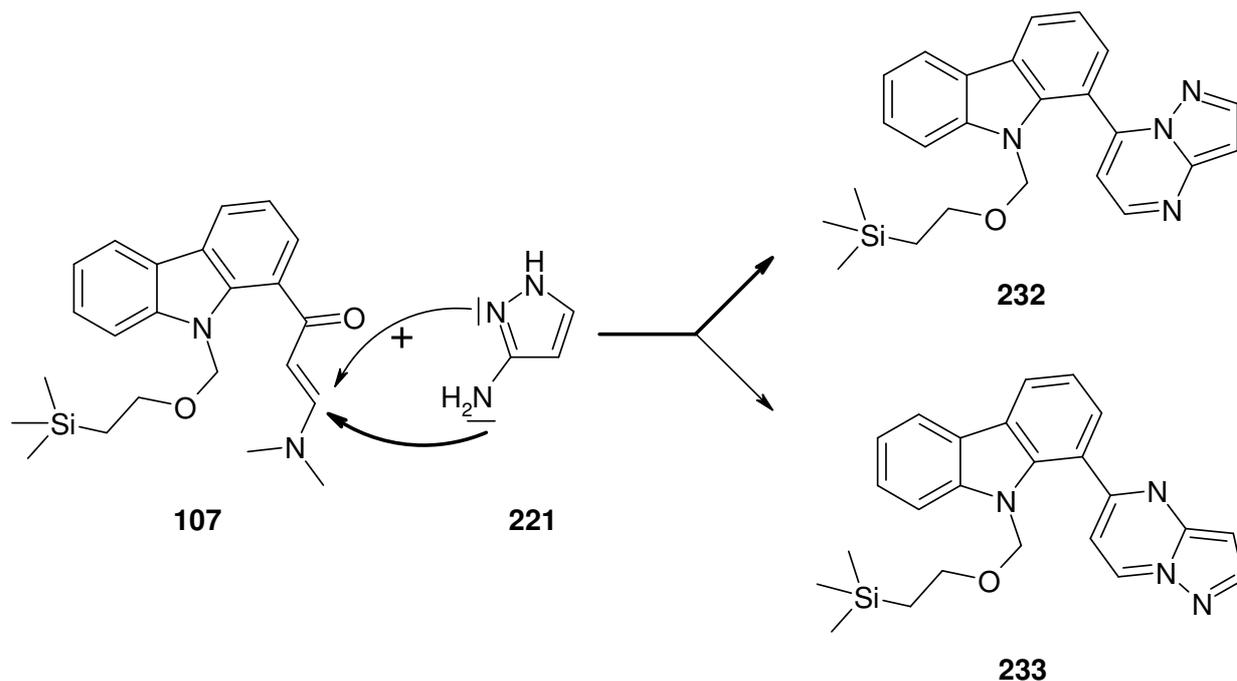
**Abb. 121:** Mechanismus zur Bildung von **233**

Die Bildung des Isomers **233** funktioniert ähnlich wie die des Isomers **232**. Der erste Schritt stellt wieder eine Michael-Addition dar, bloß dass diesmal nicht die freie Amino-Gruppe die 1,4-Addition durchführt, sondern der  $\text{sp}^2$ -hybridisierte Stickstoff in 2-Position. Das entstandene Zwischenprodukt der Michael-Addition **240** stabilisiert sich dadurch, dass der Pyrazol-Ring tautomerisiert und das freiwerdende Proton zum freien Sauerstoff wandert. Nach der Abspaltung von Dimethylamin aus **241** kondensiert die Aminogruppe der Zwischenstufe **242** intramolekular mit der Carbonylgruppe unter Ausbildung des Bicyklus **233** (Abb. 121).

Bei der Aufarbeitung und Isolierung der Produkte mittels FSC wurde auf der DC neben dem Hauptfleck noch ein zweiter schwächerer Fleck ausgemacht. Diese beiden Flecken ließen sich durch veränderte Fließmittelgemische durch Säulenchromatographie im präparativen Maßstab nicht trennen. Aus diesem Grund wurde untersucht, ob sich das Gemisch an einer analytischen HPLC-Anlage trennen ließe. Überraschenderweise konnte bei den HPLC-Läufen an einer RP18-Säule nur ein Peak detektiert werden. Deshalb wurden mehrere Lösungsmittelgemische ausprobiert, um eine Trennung noch zu ermöglichen. Folgende Verhältnisse von Methanol und Wasser wurden verwendet: 95/5, 90/10, 85/15, 80/20, 75/25, 70/30, 65/25.

Da auch bei der Variation der Lösungsmittelgemische kein Anzeichen eines zweiten Peaks zu erkennen war und auch die NMR-Daten keinen Hinweis auf ein zweites Isomer boten, wurde daraus geschlossen, dass nur ein Isomer vorlag. So stellte sich die Frage, welches Isomer nun wirklich entstanden war.

Da die NMR-Daten darüber keinen Aufschluss geben konnten und durch die Beschaffenheit der Verbindung keine Röntgenkristallstrukturanalyse möglich war, kann nur eine theoretische Abhandlung erfolgen.



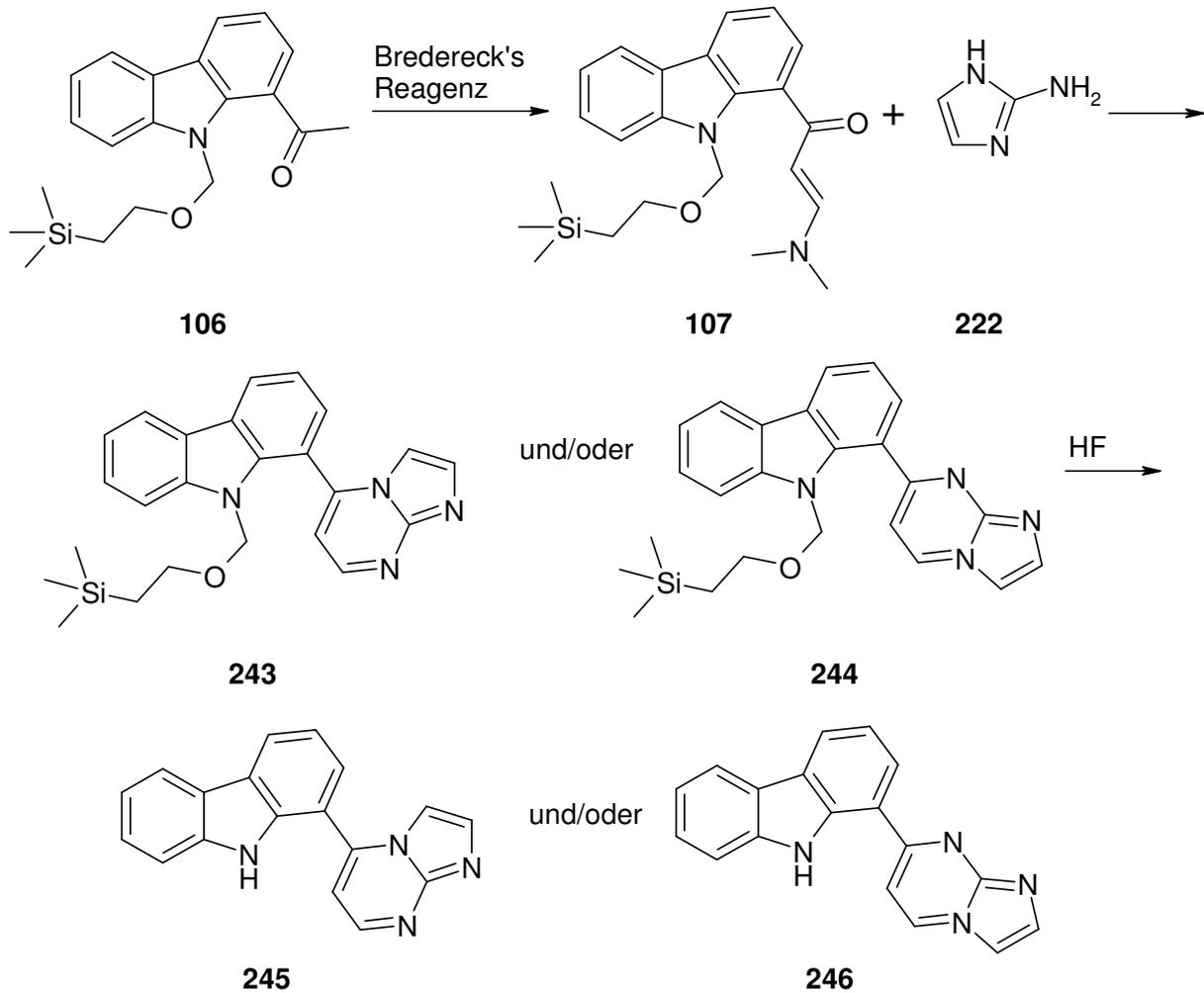
**Abb. 122:** Angriffsmöglichkeiten von 3-Aminopyrazol

Um die Frage welches Isomer bevorzugt entstehen könnte, besser beantworten zu können, muss man sich nochmal vor Augen halten, welche Gruppen den nucleophilen Angriff durchführen können (Abb. 122). Dadurch dass die Aminogruppe durch die beiden Wasserstoff-Atome weniger sterisch gehindert ist, ist die Wahrscheinlichkeit für einen Angriff der Aminogruppe und der Bildung von **232** wesentlich größer als die Bildung von **233**.

Die anschließende Entschützung von **232** oder **233** zu dem jeweiligen Pyrazol-Derivat **234** oder **235** (Abb. 118) verlief mit einer Ausbeute von 41 % ebenfalls erfolgreich.

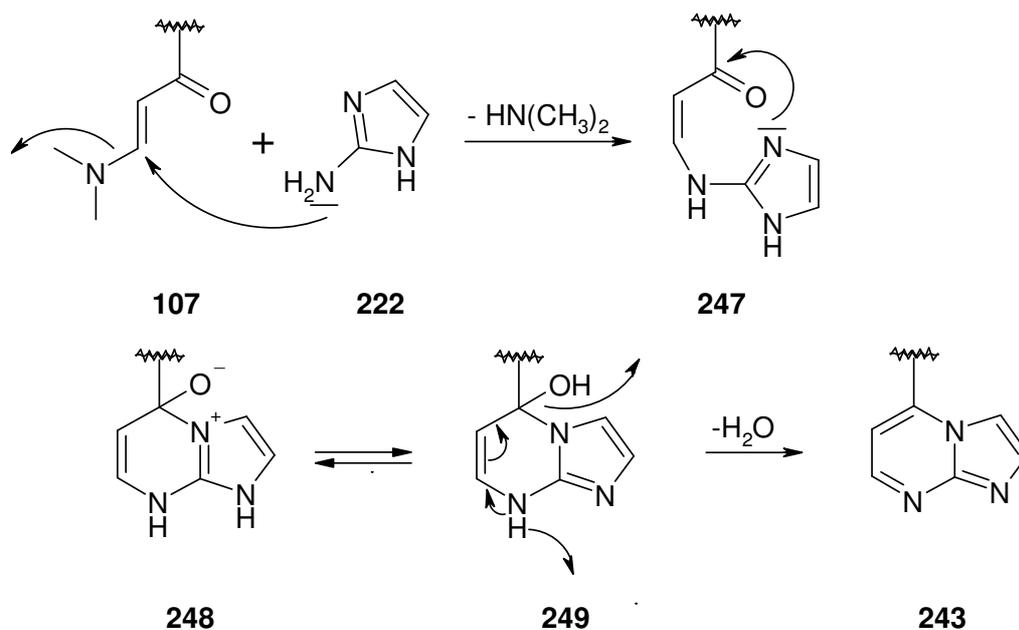
Eine weitere Umsetzung von **107** erfolgte mit 2-Aminoimidazol (**222**). Dieses stellt ebenso wie **221** ein Bisnucleophil dar und kann zum Aufbau von Ringen verwendet werden. Deswegen konnten wie schon bei der Umsetzung von **107** mit **221** zwei

Isomere entstehen. Diese beiden theoretischen Isomere **243** und **244** entstanden in einer Ausbeute von 67 % (Abb. 123).



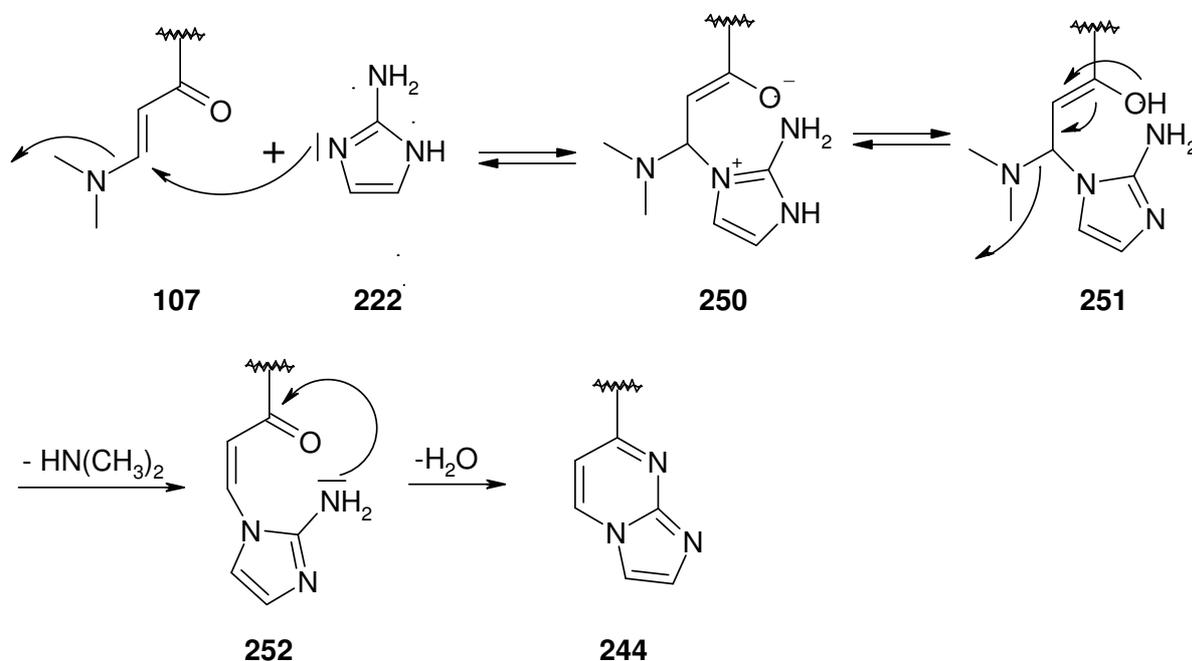
**Abb. 123:** Reaktion von **107** mit 2-Aminoimidazol

Um das Zustandekommen der beiden Isomere besser verstehen zu können, muss man sich den Mechanismus dieser Reaktion genauer betrachten. Dieser weist große Ähnlichkeiten mit dem der Pyrazol-Derivate auf, so dass der Mechanismus nicht mehr in allen Details erklärt wird.



**Abb. 124:** Mechanismus zur Bildung von 243

Zuerst erfolgt eine Michael-Addition von **222** an **107** unter Abspaltung von Dimethylamin. Danach wird der Carbonyl-Kohlenstoff nucleophil vom  $\text{sp}^2$ -hybridisierten Stickstoff angegriffen und es bildet sich der Bicyclus **248**. Dieser tautomerisiert zu **249** und reagiert unter Abspaltung Wasser zu Verbindung **243** (Abb. 124).

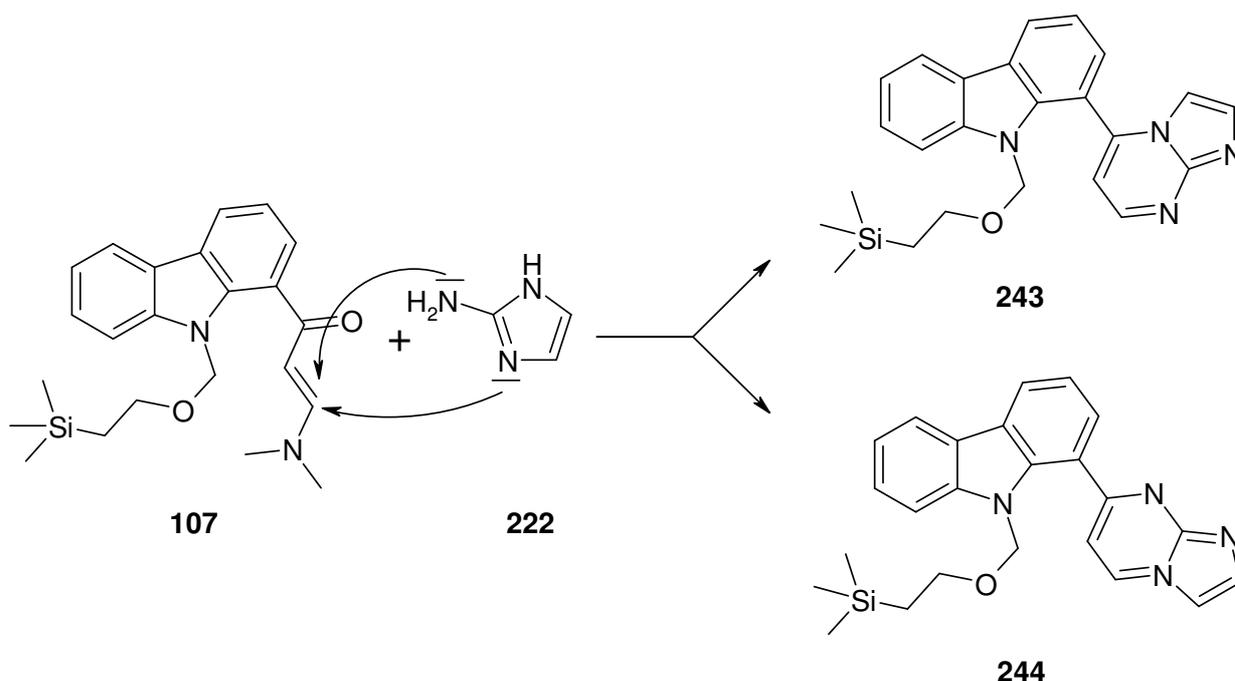


**Abb. 125:** Mechanismus zur Bildung von 244

Bei der Bildung des Isomers **244** erfolgt der Angriff an das Enamin **107** bei der Michael-Addition nicht durch die Amino-Gruppe, sondern durch den  $\text{sp}^2$ -hybridisierten

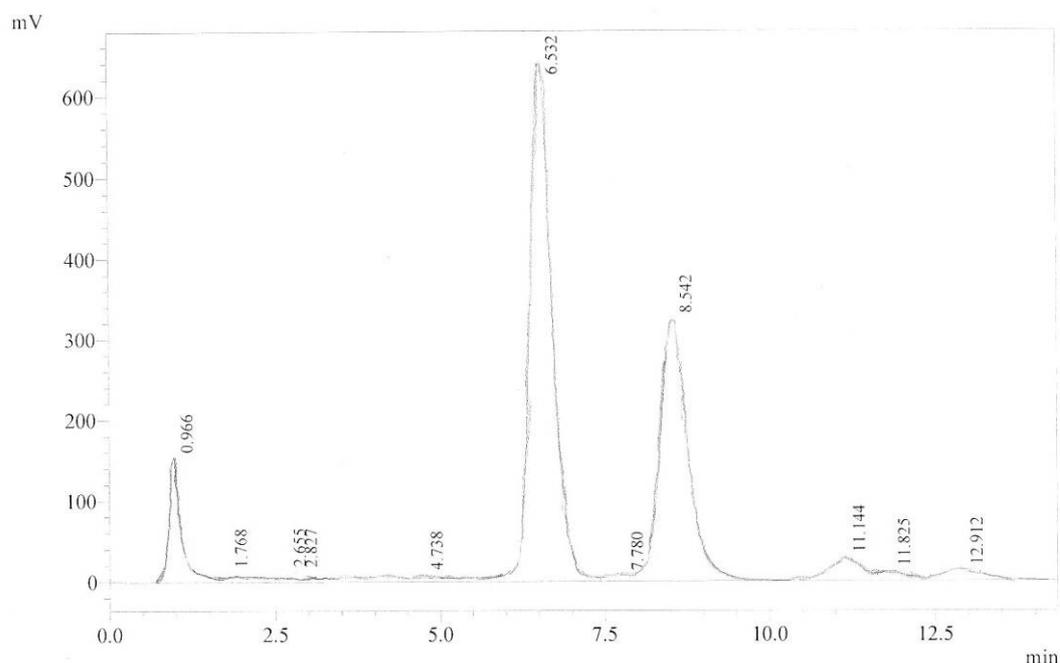
Stickstoff im Imidazol-Ring **222**. Das gebildete Additionsprodukt **250** tautomerisiert zu **251** und geht unter Abspaltung von Dimethylamin in **252** über. Der endgültige Ringschluss erfolgt dann durch Kondensation der Aminogruppe mit der Carbonylgruppe zum Isomer **244** (Abb. 125).

Die Aufreinigung mittels FSC lieferte ein Gemisch von zwei Produkten, das durch Fließmittelveränderungen nicht getrennt werden konnten. An der analytischen HPLC konnten die Isomere an einer RP18-Säule bei einer isokratischen Elution mit Methanol/Wasser 75:25 getrennt werden. Die beiden Isomere liegen dabei in einem Verhältnis von 2:1 vor (Abb. 127). Die NMR-Daten zeigten Signale für zwei Verbindungen, die keine eindeutige Zuordnung der isolierten Verbindungen zu den jeweiligen Isomeren zuließen. Auch eine Röntgenkristallstrukturanalyse war nicht möglich, da die Isomere als Harze vorlagen. Deswegen kann das bevorzugte Isomer nur theoretisch ermittelt werden.



**Abb. 126:** Angriffspunkte von 2-Aminoimidazol

Im Prinzip gelten hier die gleichen Überlegungen wie bei der Umsetzung mit 3-Aminopyrazol (**221**). Die geringere sterische Hinderung der Aminogruppe sollte den Angriff aus dieser Position und die Bildung von **243** begünstigen (Abb. 126).



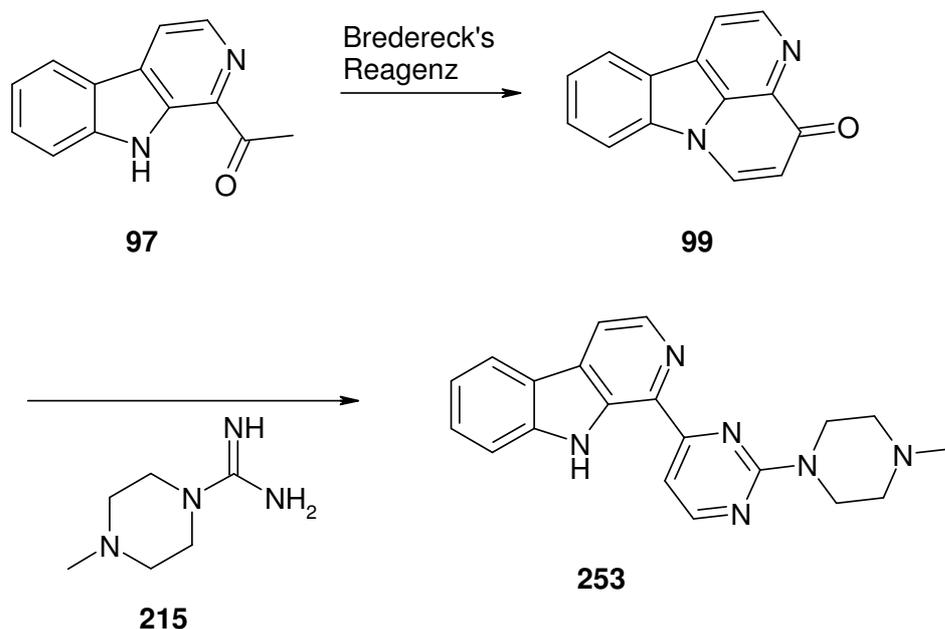
**Abb. 127:** Chromatogramm der Isomere **243** und **244**

Die anschließende Entschützung von **243** und **244** zu den jeweiligen Imidazol-Derivaten **245** und **246** (Abb. 123) verlief mit einer Ausbeute von 52 % ebenfalls erfolgreich. Die beiden Isomere waren mittels FSC wieder nicht zu trennen. Im NMR-Spektrum konnte neben dem deutlich zu erkennenden Signalsatz für das Hauptprodukt ein zweiter Signalsatz entdeckt werden, der sehr eng am Hauptprodukt lag und zudem so schwach war, dass keine Auswertung erfolgen konnte.

### 3.2.3. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidyl- $\beta$ -carbolinen

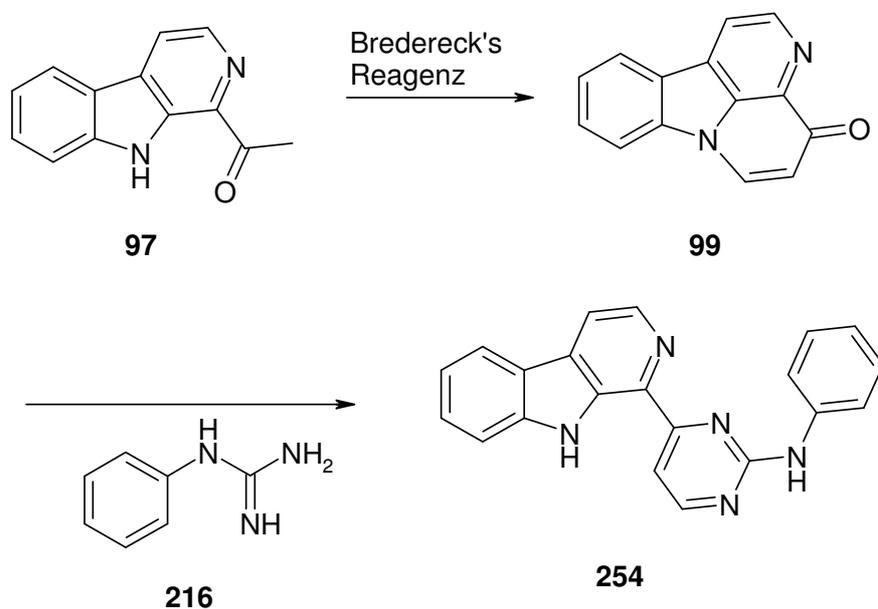
Nach der Synthese von N-substituierten Aminopyrimidylcarbazolen sollten nun auch N-substituierte Annomontin-Analoga generiert werden, um die SAR besser verstehen zu können. Dazu wurde 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) mit den identischen Reagenzien und unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie SEM-1-Acetylcarbazol (**106**) umgesetzt. Wie Hildebrand<sup>12</sup>, Puzik<sup>44</sup> und Kast<sup>13</sup> in ihren Promotionen schon gezeigt hatten, war eine Schutzgruppe für den Indol-Stickstoff hierbei nicht nötig, da das intermediär gebildete Canthin-4-on (**99**) durch Guanidiniumcarbonat zu Annomontin (**11**) reagiert (s. Kap. 3.1.1.2.). Das aus **97** mit Hilfe von Brederick's Reagenz gewonnene Canthin-4-on (**99**) sollte demnach ohne Umwege mit den gewünschten Guanidinen zu den gewünschten Endprodukten umgesetzt werden können.

Zuerst wurde das aus **97** gewonnene Canthin-4-on (**99**) mit **215** umgesetzt (Abb. 128). Dies gelang mit einer Ausbeute von 58 % außerordentlich gut.



**Abb. 128:** Synthese von Piperazinylpyrimidyl- $\beta$ -carbolin

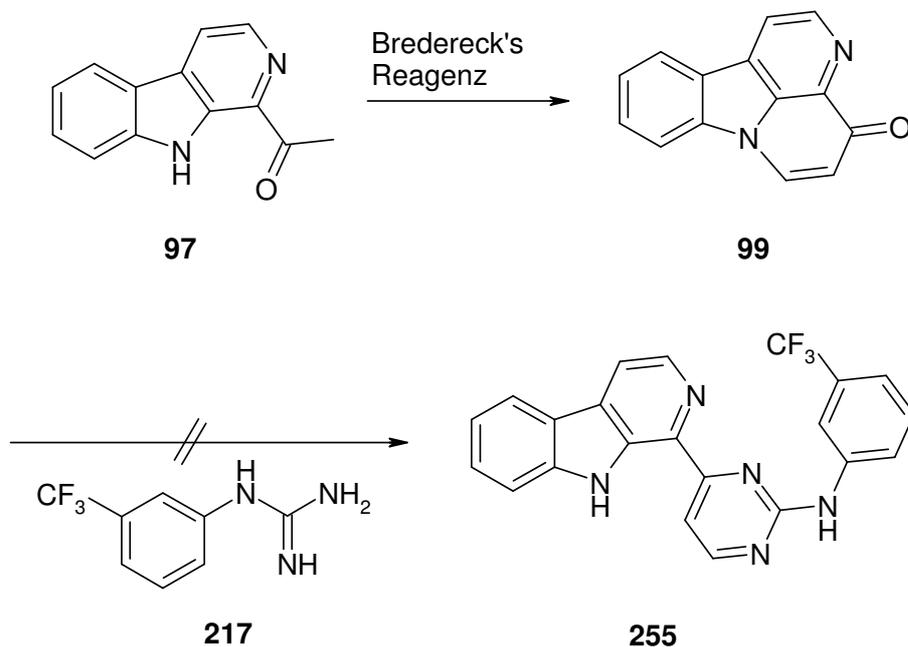
Als nächstes wurde Phenylguanidin (**216**) mit dem aus **97** gewonnenen Canthin-4-on (**99**) versetzt (Abb. 129). Die Ausbeute bei dieser Reaktion lag bei 75 %.



**Abb. 129:** Synthese von Phenylaminopyrimidyl- $\beta$ -carbolin

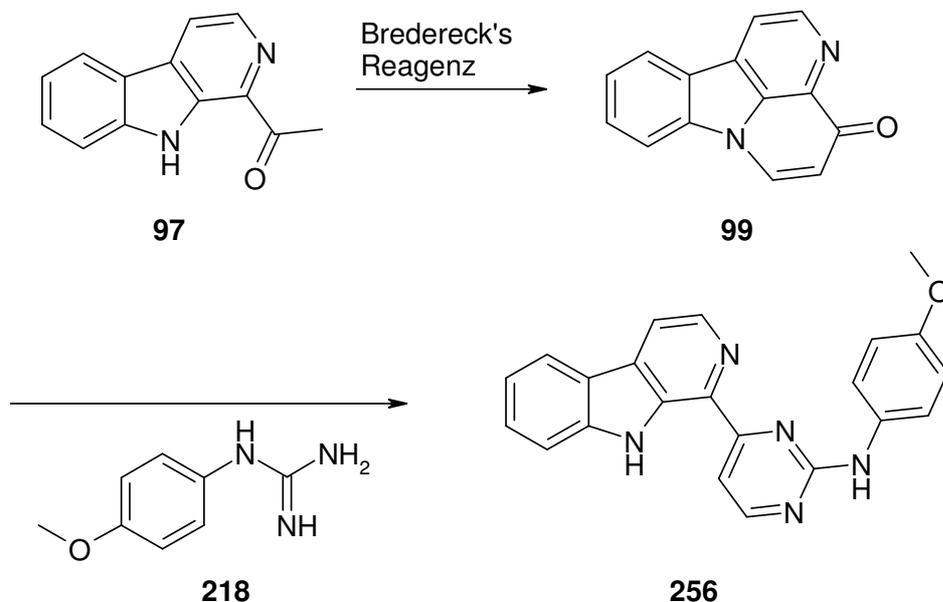
Nun ging es daran die Synthese von **97** mit den Guanidinen **217** und **218** zu verwirklichen. Theoretisch sollte dies genauso funktionieren wie bei dem Carbazol-Grundkörper. Umso erstaunlicher war es, dass bei der Synthese mit dem Guanidin

**217** keine Reaktion zu **255** erfolgte (Abb. 130). Auch eine Wiederholung des Versuchs lieferte dasselbe Ergebnis.



**Abb. 130:** Versuch zur Synthese von Trifluormethylphenylaminopyrimidinyl- $\beta$ -carbolin

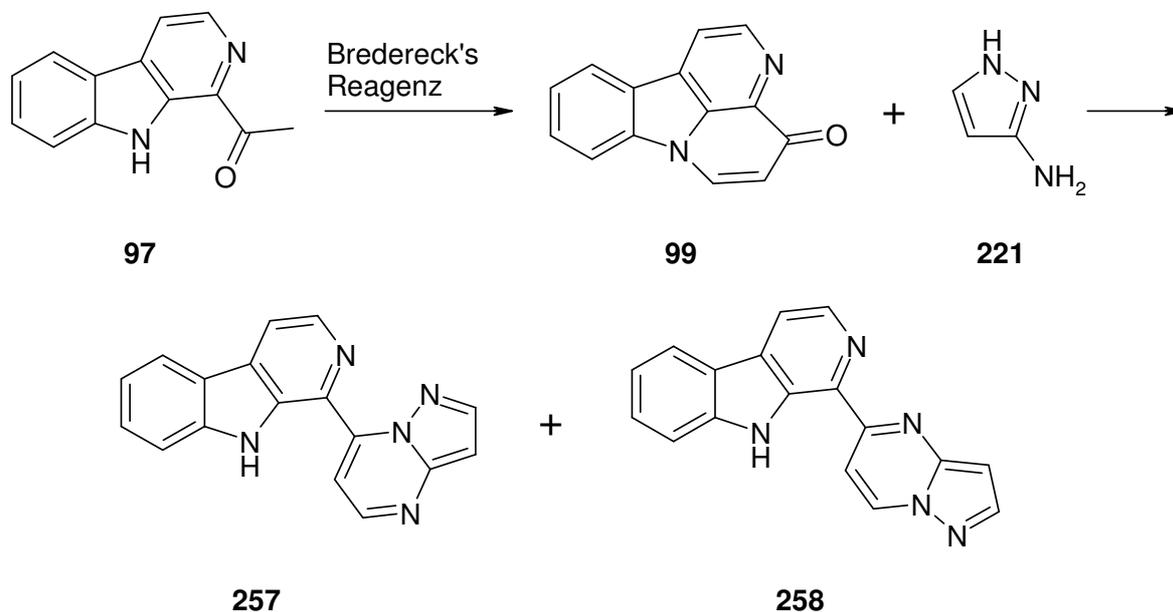
Die Synthese von **256** mit dem Guanidin **218** verlief mit einer Ausbeute von fast 50 % zufriedenstellend (Abb. 131).



**Abb. 131:** Synthese von Methoxyphenylaminopyrimidinyl- $\beta$ -carbolin

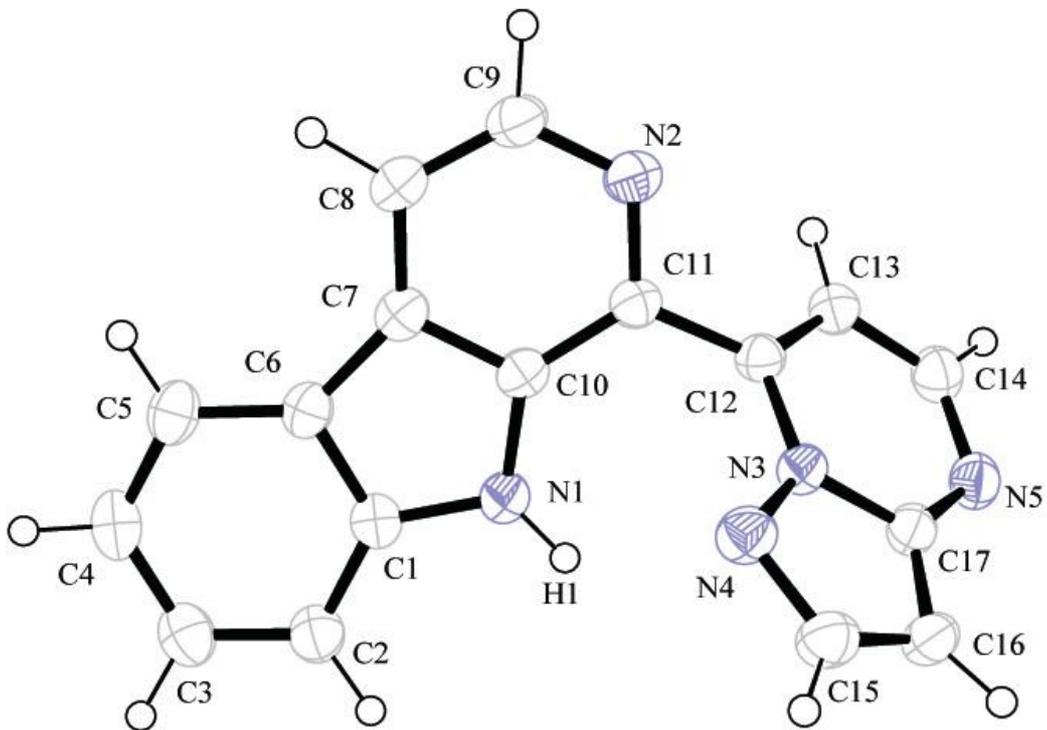
Bei der Reaktion von **99** mit 3-Aminopyrazol (**221**) entstanden, wie aus den Erfahrungen mit den Carbazolen zu erwarten war (s. Kap. 3.2.2.), zwei Produkte, die

diesmal mittels FSC getrennt werden konnten (Abb. 132). Die Ausbeuten für die beiden Isomere **257** und **258** lagen hier bei 43 % für eine Reifraktion und 3% für eine Mischfraktion. Aus den NMR-Daten konnten die Signale für das zweite Isomer aus der Mischfraktion nicht zugeordnet werden.



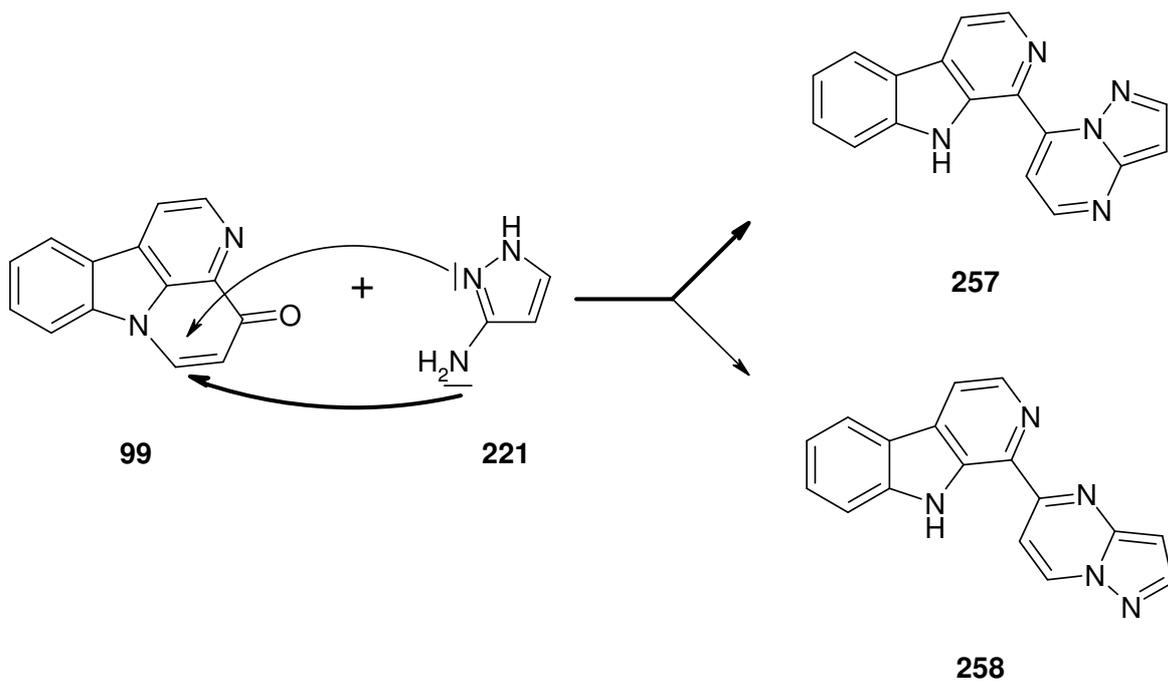
**Abb. 132:** Reaktion von 1-Acetyl-β-carbolin (**97**) mit 3-Aminopyrazol

Mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse ließ sich ermitteln, dass es sich bei dem Hauptisomer um Verbindung **257** handelt (Abb. 133).



**Abb. 133:** Durch Röntgenstrukturanalyse ermittelte Struktur von **257**

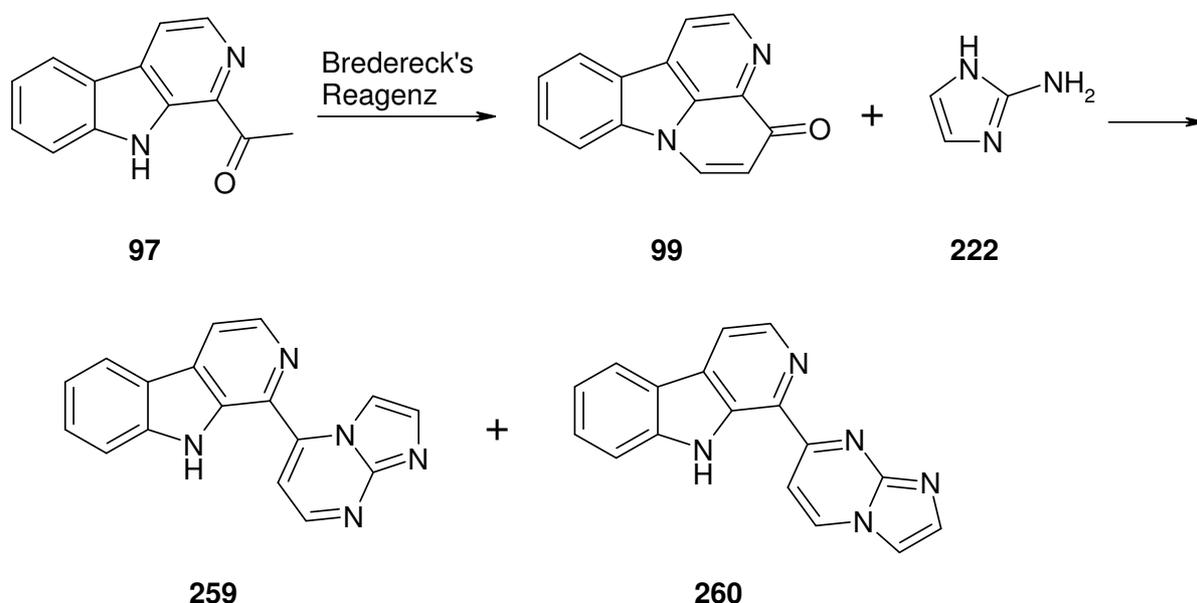
Die bevorzugte Bildung von **257** kann man sich wieder anhand der Angriffsmöglichkeiten von 3-Aminopyrazol (**221**) erklären.



**Abb. 134:** Angriffe von **221** an **99**

Hier gilt wieder dasselbe wie schon bei den Carbazolen. Durch die geringere sterische Hinderung ist der Angriff der Aminogruppe begünstigt und bildet das Hauptisomer **257** aus. Durch die Röntgenkristallstrukturanalyse wird zudem bekräftigt, dass bei den Carbazol-Derivaten von 3-Aminopyrazol (**221**) **232** das Hauptisomer darstellen sollte (Abb. 134).

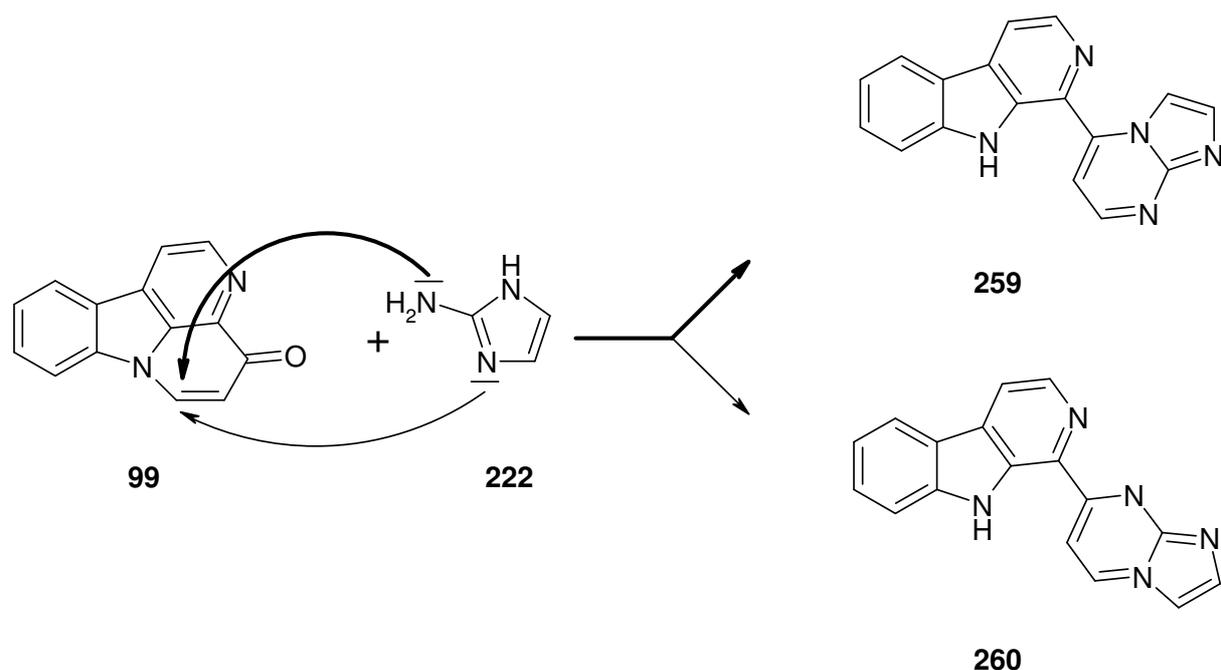
Bei der Reaktion von dem aus **97** gebildeten Zwischenprodukt **99** mit 2-Aminoimidazol (**222**) entstand laut der NMR- und der GC-MS-Daten nur ein Produkt, allerdings nur in einer Ausbeute von 4 %. Ferner konnten die NMR-Daten nicht klären, welcher der zwei möglichen Bicyclen entstanden war. Eine Kristallbildung für die Aufnahme einer Röntgenkristallstrukturanalyse war auch nicht möglich, so dass eine weitere Charakterisierung, welcher Bicyclus hier vorlag, nicht vorgenommen werden konnte (Abb. 135).



**Abb. 135:** Reaktion von 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) mit 2-Aminoimidazol (**222**)

Erstaunlich bei dieser Reaktion ist, dass die Ausbeute hier sehr gering ist, da die Guanidin-Struktur im Molekül die Reaktion eigentlich begünstigen sollte. Welche Gründe für die schlechte Ausbeute bei der Reaktion von 2-Aminoimidazol (**222**) mit dem aus 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) gebildeten Canthin-4-on (**99**) verantwortlich sind, konnte nicht geklärt werden. Außerdem entstand hier im Gegensatz zu der Reaktion mit dem Carbazol **107**, wo zwei Produkte entstanden, nur ein Produkt.

Zur Abschätzung, welches Produkt entstanden sein könnte, kann wieder die Überlegung der möglichen Angriffe Aufschluss geben (Abb. 136).

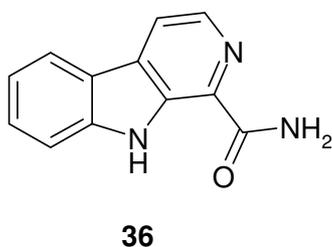


**Abb. 136:** Angriff von **222** an **99**

Durch die geringere sterische Hinderung sollte der Angriff der Aminogruppe bevorzugt sein, d.h. das gebildete Produkt sollte das Isomer **259** sein.

### 3.3. Carbazol- und $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäureamide

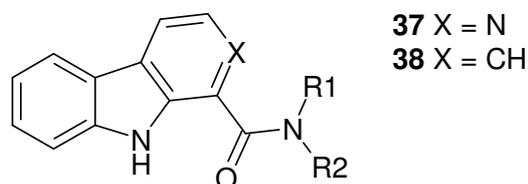
Kast<sup>13</sup> hatte während seiner Promotion 1-Carbamoyl- $\beta$ -carbolin (**36**) synthetisiert (Abb. 137). Dieses zeigte mit 0,9  $\mu$ M eine dem Annomontin vergleichbare inhibitorische Aktivität gegenüber CDK1. Weitere Amide wurden von Kast nicht synthetisiert.



**Abb. 137:** 1-Carbamoyl- $\beta$ -carbolin

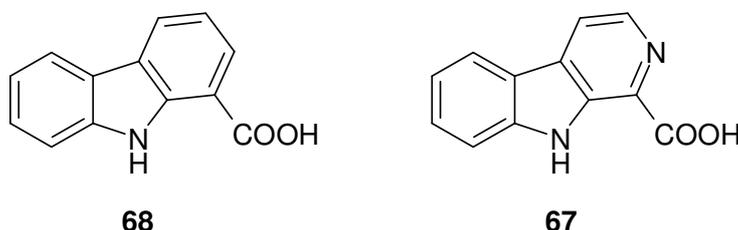
Deswegen lag es nahe weitere Amide zu synthetisieren, um daraus Struktur-Wirkungsbeziehungen ableiten zu können. Außerdem war es interessant zu erfah-

ren, ob der Stickstoff im  $\beta$ -Carbolin-Grundgerüst essentiell für die inhibitorische Aktivität des Amids ist. Deshalb sollten neben den  $\beta$ -Carbolinamiden (**37**) auch Carbazolamide (**38**) hergestellt werden (Abb. 138).



**Abb. 138:** Schema der Carbonsäureamide

**36** wurde von Kast in einer Reaktion nach Minisci ausgehend von Norharman mit Formamid hergestellt. Der Mechanismus läuft dabei genauso wie in Kap. 3.1.2.2.1. beschrieben ab. Dieses Verfahren eignete sich aber nur bedingt für die Synthese anderer Amide. Außerdem war dieses Verfahren für die Synthese von Carbazolamiden nicht geeignet. Um den Arbeitsaufwand möglichst gering zu halten, sollten die Amide möglichst auf dieselbe Art und Weise synthetisiert werden. Darum sollte die Synthese der Amide aus den jeweiligen Carbonsäuren **68** und **67** erfolgen (Abb. 139).



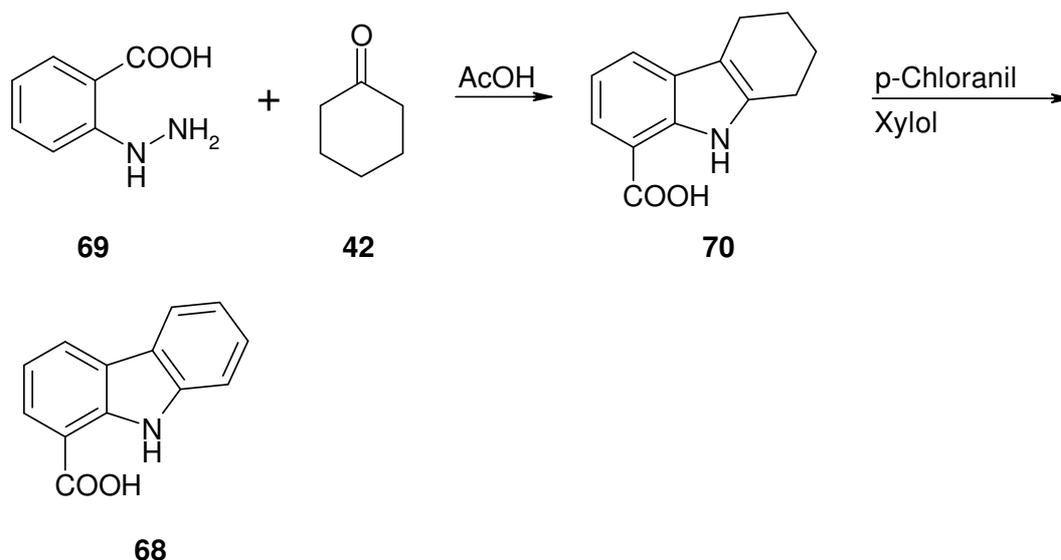
**Abb. 139:** Edukte für die Synthese der Amide

Die Synthese der Amide erfolgte dann mit Hilfe geeigneter Kondensationsreagenzien. Fast immer wurde hierfür CDI, ansonsten DCC und HOBT, verwendet. Die Mechanismen für diese Reaktionen können in Kap. 3.1.2.2.1.3. nachgelesen werden.

### 3.3.1. Synthese der Carbazol-1-carbonsäureamide

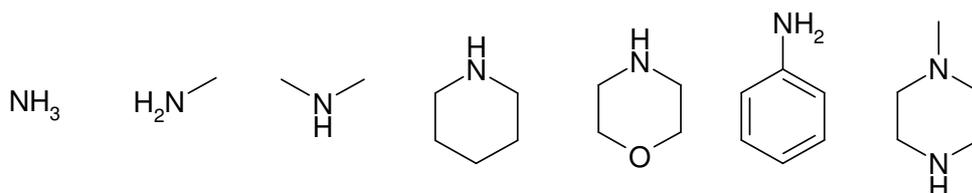
Bei der Synthese der Carbazol-1-carbonsäure wurde nach demselben Schema vorgegangen wie zur Synthese von 1-Bromcarbazol (**41**). Dazu wurde Cyclohexanon (**42**) mit 2-Hydrazinobenzoessäure (**69**) in Eisessig mit einer Ausbeute von über 108

80 % zur 5,6,7,8-Tetrahydrocarbazol-1-carbonsäure (**70**) umgesetzt. **70** wurde dann mit Hilfe von p-Chloranil zur Carbazol-1-carbonsäure (**68**) dehydriert (Abb. 140). Genauere Informationen zu Reaktionen und Reagenzien sind im Kap. 3.1.1.1.2. zu finden. Die Ausbeute fiel mit über 30 % befriedigend aus. Bessere Ausbeuten werden laut Literatur<sup>43</sup> bei der Oxidation von 6,7,8,9-Tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureestern erhalten.



**Abb. 140:** Synthese der Carbazol-1-carbonsäure

Das erhaltene Produkt **68** wurde mit verschiedensten Aminen zu den entsprechenden Amiden umgesetzt (Abb. 141).



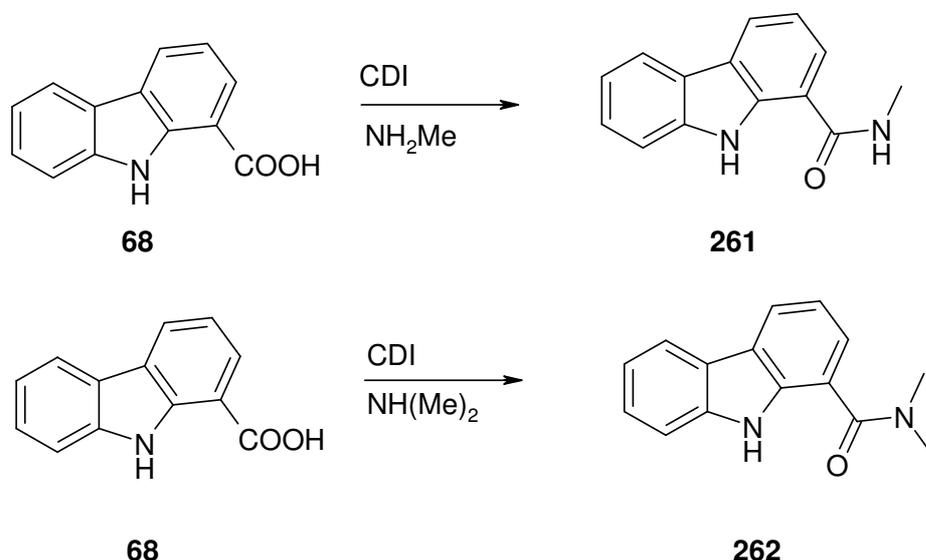
**Abb. 141:** Für die Amidsynthese eingesetzte Amine

Die Aufarbeitung und Isolierung gestaltete sich hierbei schwierig, weil Nebenprodukte entstanden, die sich auch auf die Ausbeuten niederschlugen.

Zuerst wurden Methylamin und Dimethylamin zur Synthese verwendet, da sie kleine Reste aufwiesen und in Reinform vorlagen.

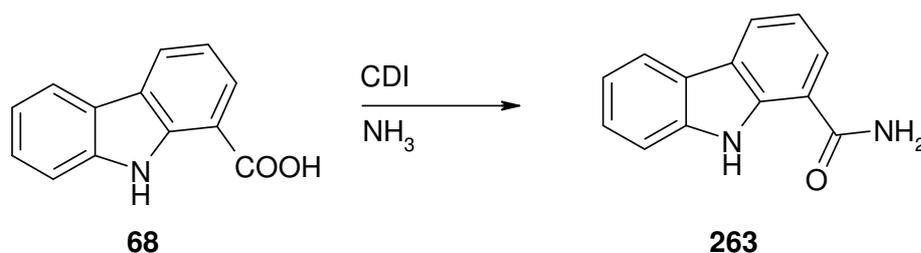
Die Reaktion mit Methylamin zum Methylamid **261** wurde neben der Methode mit CDI auch mit DCC und HOBT durchgeführt. Es sollte herausgefunden werden, ob die Art der Reagenzien einen Einfluss auf die Ausbeute hat. Da die Ausbeuten für beide Methoden bei 25 % lagen, wurden alle späteren Versuche nur noch mit CDI

durchgeführt, weil hier nur ein Reagenz für die Synthese notwendig war. Die Synthese des Dimethylamids **262** verlief mit einer Ausbeute von fast 50 % besser als des Methylamids (Abb. 142).



**Abb. 142:** Synthese von Methyl- und Dimethylamid

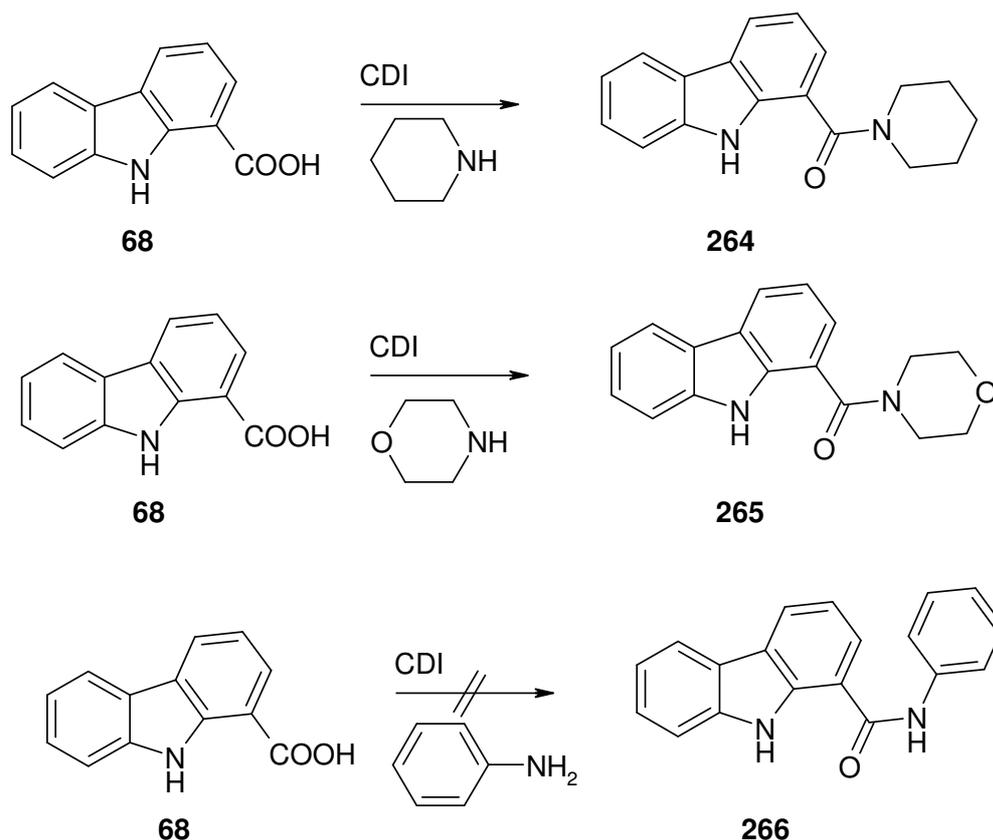
Die Reaktion zum primären Amid **263** mit wässrigem 25 %-igem Ammoniak sollte aufgrund des Wassers eine geringere Ausbeute haben als die des primären und sekundären Amids (Abb. 143). Dies bestätigte sich bei einer Ausbeute von 8 % auch.



**Abb. 143:** Synthese von Carbazolamid

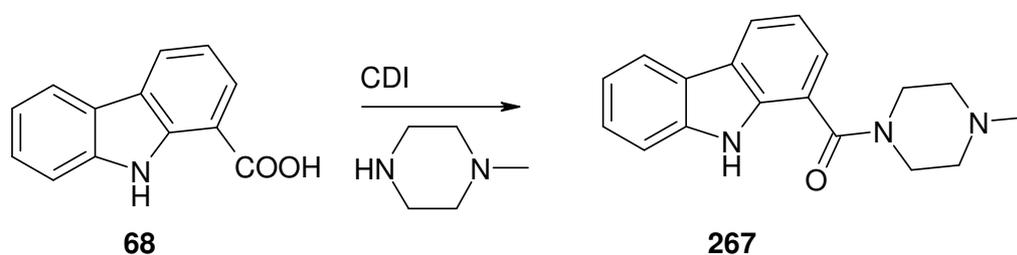
Mit Hilfe dieser Produkte **261** - **263** sollte abgeklärt werden, inwiefern die H-Brückendonatoren-Eigenschaften eine Rolle für eine eventuelle Wirkung spielen.

Danach sollten größere Reste wie Piperidin, Morpholin und Anilin mit der Carbonsäure verknüpft werden. Bei Piperidin und Anilin sollten mögliche hydrophobe Wechselwirkungen erforscht werden und inwieweit die Planarität dabei eine Rolle spielt. Bei Morpholin könnte der zyklische Ether als H-Brückenakzeptor dienen.



**Abb. 144:** Synthese von Carbazolsäureamiden mit cyclischen Resten

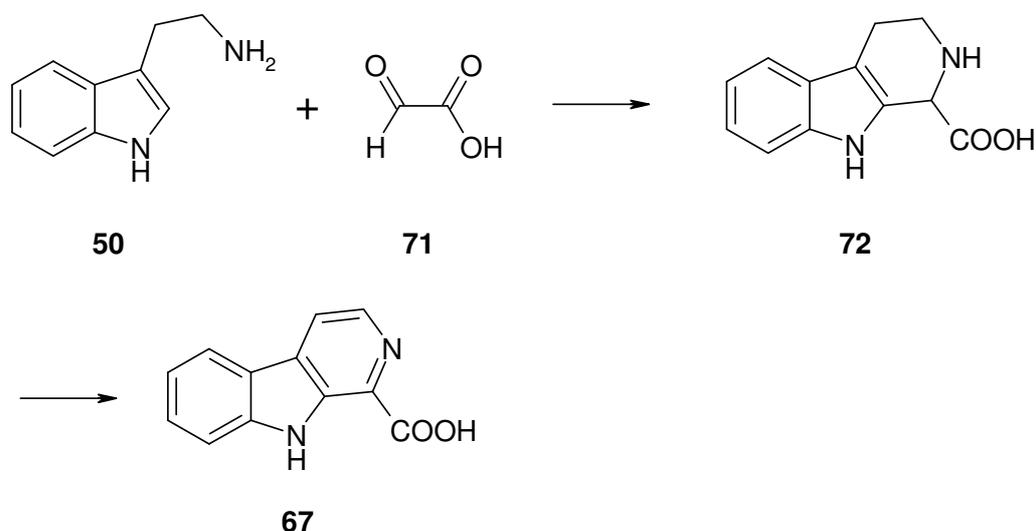
Die Synthesen mit Piperidin bzw. Morpholin zu **264** bzw. **265** verliefen mit Ausbeuten von fast 50 % und über 35 % mit befriedigenden Ausbeuten. Bei der Reaktion mit Anilin konnte kein Produkt (**266**) isoliert werden (Abb. 144). Ein möglicher Grund hierfür könnte die geringere Nucleophilie der Aminogruppe des Anilins sein. Zum Schluss wurde **68** mit N-Methylpiperazin zu **267** umgesetzt, um die Bedeutung basischer Gruppen und deren Wechselwirkung zu erforschen (Abb. 145). Die Ausbeute lag hier bei 63 %.



**Abb. 145:** Synthese von Carbazolpiperazinamid

### 3.3.2. Synthese der $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäureamide

Verbindung **67** sollte in einer Pictet-Spengler Reaktion aus Tryptamin (**50**) und Glyoxalsäure (**71**) und anschließender Oxidation der intermediären 1,2,3,4-Tetrahydro- $\beta$ -carbolin-1-carbonsäure (**72**) gewonnen werden<sup>112, 113</sup>. Details zur Pictet-Spengler-Reaktion können in Kap. 3.1.2.2.2. nachgelesen werden. Die anschließende Oxidation erfolgte mit Blei(IV)-acetat (Abb. 146). Zu anderen Methoden zur Oxidation vgl. Kap. 3.1.2.2.3..

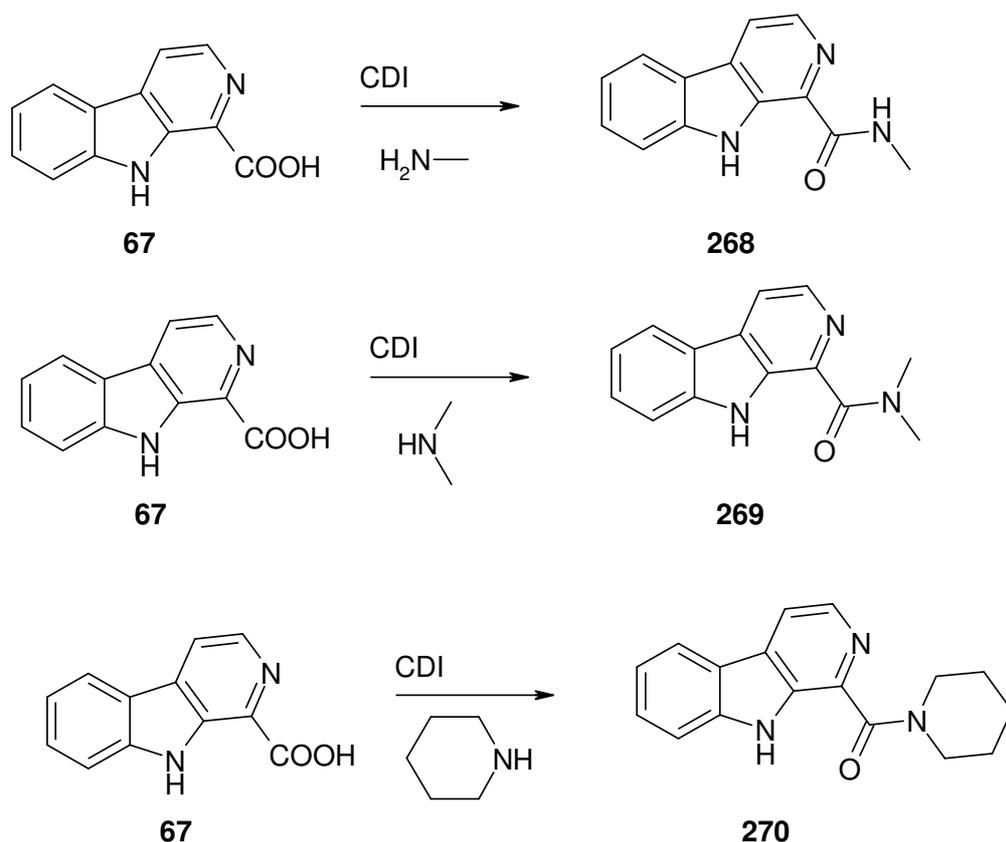


**Abb. 146:** Synthese von  $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäure

Bei der Reaktion konnte als Nebenprodukt immer wieder Norharman (**27**) isoliert werden, das zu Einbußen bei der Ausbeute führte. Das Entstehen von **27** kann aus der eigentlichen Synthese von Norharman erklärt werden. Norharman wird üblicherweise aus Tryptophan (**56**) und Formaldehyd hergestellt, bei dem das intermediär entstehende 1,2,3,4-Tetrahydro- $\beta$ -carbolin mit Kaliumdichromat zu Norharman oxidiert wird (Abb. 99)<sup>114</sup>. Dabei dient die Carbonsäure als Abgangsgruppe. In analoger Weise könnte **72** mit Pb(IV) reagieren.

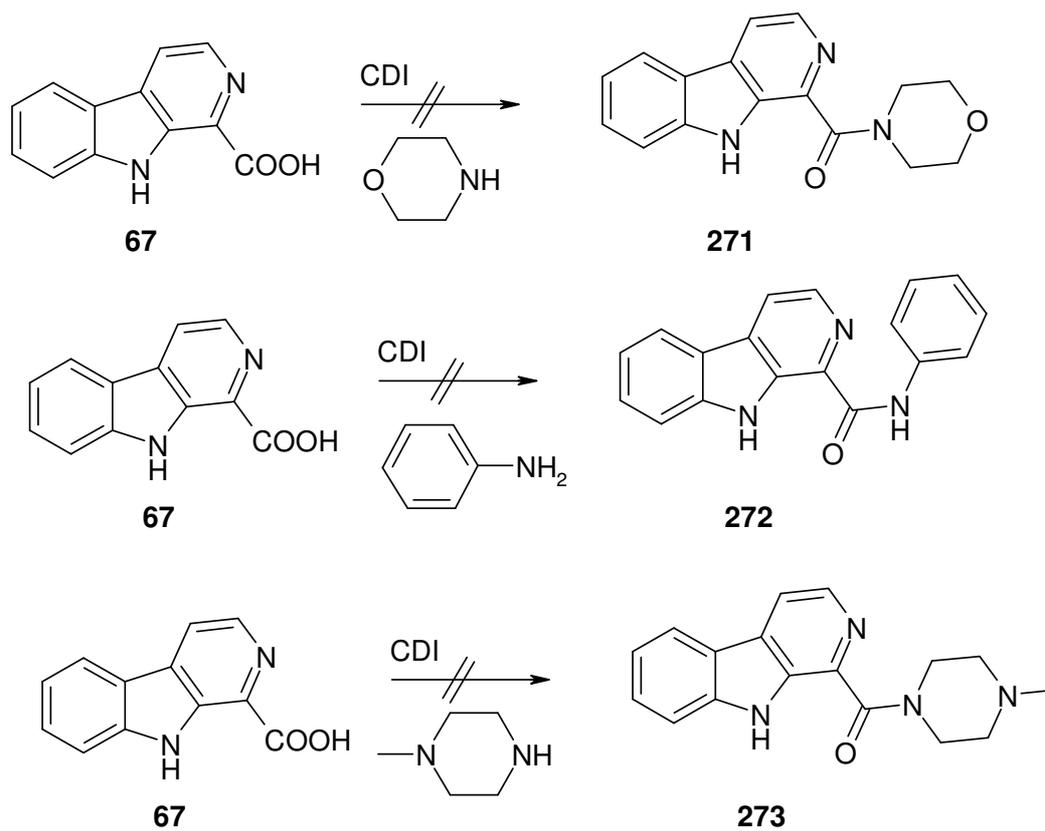
Die in Abb. 141 dargestellten Amine wurden bis auf Ammoniak mit **67** und CDI zu den entsprechenden Amiden umgesetzt. Die entstandenen Amide und Norharman (**27**) wiesen bei der Aufarbeitung sehr ähnliche  $R_f$ -Werte auf, so dass bei allen Reaktionen als Nebenprodukt Norharman enthalten war, was sich auch negativ auf die Ausbeute auswirkte.

Da Kast das primäre Amid schon synthetisiert hatte, lag der Fokus mehr auf sekundären und tertiären Amiden. Die Umsetzung mit Methylamin zu **268** gelang mit einer Ausbeute von 14 %. Wie schon bei den Carbazolamiden war die Ausbeute mit Dimethylamin zu **269** besser als mit Methylamin und lag diesmal bei fast 30 %. Auch die Reaktion mit Piperidin als Kupplungspartner zu **270** klappte mit 28 % befriedigend (Abb. 147).



**Abb. 147:** Synthese verschiedener β-Carbolin-1-carbonsäureamide

Die Ansätze mit Morpholin zu **271**, Anilin zu **272** und N-Methylpiperazin zu **273** konnten indes nicht das gewünschte Produkt liefern (Abb. 148).



**Abb. 148:** Missglückte Versuche zur Amidbildung

## 4. Biologische Testung

Alle in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurden auf ihre biologische Aktivität hin untersucht. Dabei wurden Verfahren zur Bestimmung der antimikrobiellen und zytotoxischen Aktivität und diverse Screenings mit unterschiedlichen Enzymen durchgeführt.

### 4.1. Agar-Diffusionstest

Um mögliche antimikrobielle Eigenschaften der Substanzen zu erkennen, wurden alle synthetisierten Verbindungen an einer Reihe von Modellkeimen im sogenannten Agar-Diffusionstest getestet. Dieses Verfahren dient lediglich dem grundsätzlichen Erkennen einer antimikrobiellen Aktivität. Da Diffusion in dem wasserhaltigen Nähragar eine entscheidende Rolle bei der Durchführung des Tests spielt, können aus den gemessenen Hemmhofdurchmessern nur begrenzt quantitative Aussagen getroffen werden. Zur genauen Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität müssen im Agar-Diffusionstest positiv getestete Verbindungen weitergehenden Untersuchungen unterzogen werden.

Als Modellkeime wurden folgende Mikroorganismen verwendet:

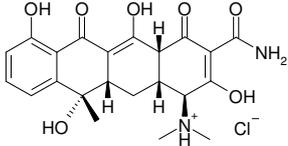
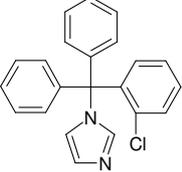
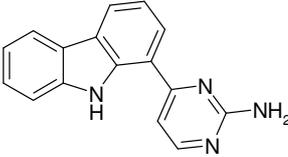
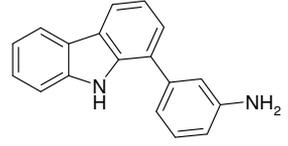
<i>Escherichia coli</i>	DSMZ-Nr. 426	gramnegatives Bakterium
<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	DSMZ-Nr. 8361	gramnegatives Bakterium
<i>Staphylococcus equorum</i>	DSMZ-Nr. 20675	grampositives Bakterium
<i>Streptococcus entericus</i>	DSMZ-Nr. 14446	grampositives Bakterium
<i>Yarrowia lipolytica</i>	DSMZ-Nr. 1345	Hefe
<i>Candida glabrata</i>	DSMZ-Nr. 11226	Hefe
<i>Hyphopichia burtonii</i>	DSMZ-Nr. 70663	Dermatophyt
<i>Aspergillus niger</i>	DSMZ-Nr. 1988	Schimmelpilz

Als Referenzsubstanzen wurden das Antibiotikum Tetracyclinhydrochlorid und das Antimykotikum Clotrimazol verwendet. Die praktische Durchführung des Agar-Diffusionstest wird im Experimentellen Teil dieser Arbeit ausführlich beschrieben.

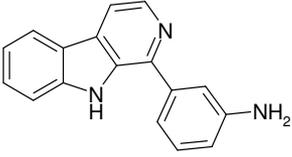
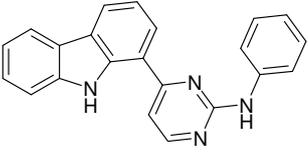
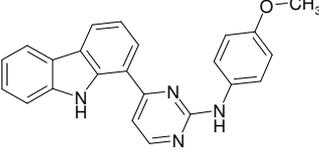
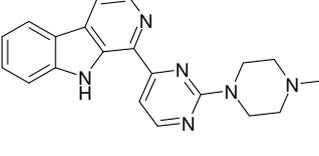
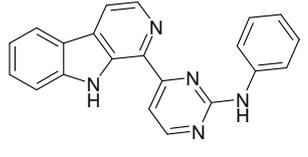
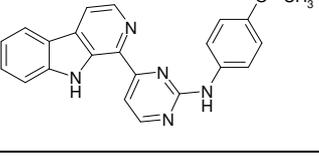
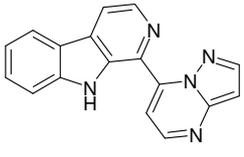
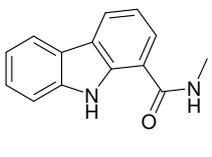
4.1.1. Testergebnisse

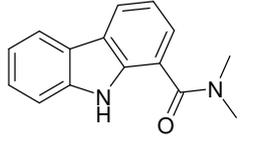
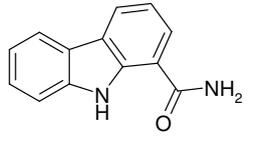
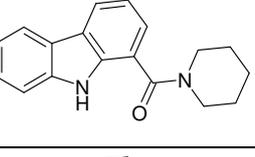
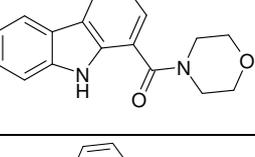
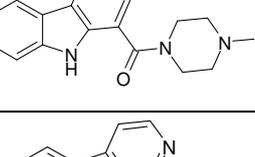
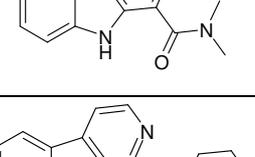
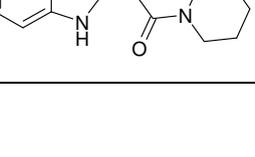
In der nachfolgenden Tabelle sind alle ermittelten Hemmhofdurchmesser der getesteten Substanzen zusammengefasst. Die Angabe der Durchmesser erfolgt in Millimeter (mm) als totaler Hemmhof (TH) oder Wachstumshemmung (WH). Wenn keine antimikrobielle Aktivität gegen einen bestimmten Modellkeim ermittelt werden konnte, ist dies durch einen Strich (-) gekennzeichnet.

Tab. 1: Ergebnisse des Agar-Diffusionstests

Substanz	Strukturformel	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus enterococcus</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Tetracyclinhydrochlorid		29 TH	24 TH	30 TH	39 TH				
Clotrimazol						19 TH 24 WH	21 TH	16 TH 20 WH	29 TH
29		-	-	-	10 WH	7	-	-	10
30		-	11	7	7	8 TH 12 WH	7	-	10

4. Biologische Testung

Substanz	Strukturformel	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Streptococcus entericus</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>Aspergillus niger</i>
33		-	8	-	-	-	-	-	8 WH
227		-	-	-	-	-	-	-	-
231		-	-	-	-	-	-	-	-
253		-	20	8	13	10 WH	10	-	10
254		-	-	-	-	-	-	-	-
256		-	8	-	8	-	-	8 WH	-
257		-	-	-	-	-	-	-	-
261		-	13	-	10 WH	10	12	-	8 TH 12 WH

Substanz	Strukturformel	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Streptococcus entericus</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>Aspergillus niger</i>
262		-	20	-	7	-	8	-	-
263		-	7	8	7	-	7	-	-
264		-	10	8	7	-	-	-	-
265		-	12	-	7	-	-	-	-
267		8	13	8 WH	-	-	8	-	-
269		-	14	-	-	-	-	-	-
270		-	16	-	-	-	-	-	-

#### 4.1.2. Diskussion der Testergebnisse

Wie aus Tab. 1 zu ersehen ist, zeigten die im Agar-Diffusionstest getesteten Substanzen keine oder nur mäßige Aktivität. Keine Substanz war stärker antimykotisch oder antibakteriell aktiv als die Referenzsubstanzen.

In der Gruppe der Desazaderivate von Annomontin zeigten alle getesteten Substanzen mäßige antimykotische und antibakterielle Aktivität. Erstaunlich ist die Tat-

sache, dass **30** die größte Bandbreite bei der Aktivität besitzt. Die sp<sup>2</sup>-hybridisierten Stickstoffe bei **29** und **33** erhöhen zwar die Selektivität, aber nicht die Aktivität.

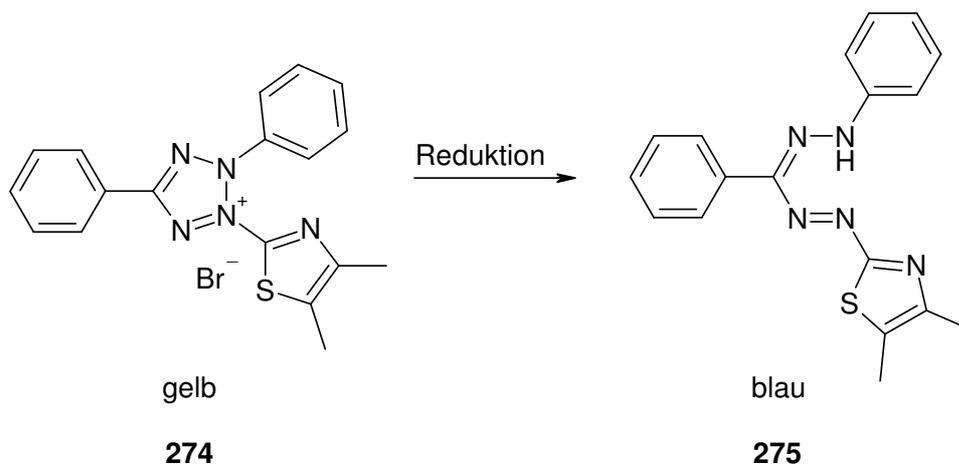
Die an der Aminogruppe substituierten Aminopyrimidin-Carbazol-Derivate erwiesen sich weder als antibakteriell noch antimykotisch aktiv. Bei den in analoger Weise substituierten  $\beta$ -Carbolin-Derivate verhält es sich anders. Bestehen die Reste wie bei **254** und **257** aus unsubstituierten Aromaten, kann keine Aktivität gemessen werden. Bei Einführung eines Methoxy-Restes wie bei **256** kann aber mäßige Aktivität festgestellt werden. Zudem war **256** als einzige Substanz gegen *Hyphopichia burtonii* aktiv. Bei Einführung einer zweiten basischen Aminogruppe wie bei **253** steigt die Aktivität und das Spektrum stark an. Dies wird auch dadurch deutlich, dass **253** die potenteste der getesteten Substanzen ist.

Die  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamide **269** und **270** zeigten nur mäßige Aktivität gegen einen einzigen Erreger, *Pseudomonas antimicrobia*. Bei den Carbazolcarbonyl-reamiden wirkten die Substanzen **263**, **264** und **265** nur mäßig. Die beste Breitbandwirkung hatte das Methylamid **261**. Hingegen zeigte das Dimethylamid zusammen mit **253** die höchste antimykotische Aktivität, auch wenn die Anzahl der gehemmten Erreger zurückging. Zu erwähnen ist noch, dass Verbindung **267** als einzige getestete Verbindung gegenüber *Escherichia coli* inhibitorische Effekte zeigte.

Als Resümee lässt sich festhalten, dass die Substanzen antimykotisches und antimikrobielles Potential besitzen. Bei den Desazaderivaten könnte durch entsprechende Versuche und Substitutionen am Carbazol-Grundkörper oder der Aminogruppe möglicherweise die Aktivität von **30** wesentlich gesteigert werden. Bei den N-arylamino-substituierten Derivaten sticht vor allem **253** hervor, bei dem ebenfalls vielleicht durch Modifikationen am  $\beta$ -Carbolin-Grundkörper die Aktivität weiter erhöht werden könnte. Da die Carbazole hier keine Aktivität zeigten, erscheint die Forschung in dieser Richtung nicht sinnvoll. Bei den Amid-Verbindungen ist vor allem das Potential der Carbazolcarbonyl-reamide ausbaufähig. Besonderes Augenmerk sollte hier auf die Verbindung **261** wegen ihrer breiten Aktivität und auf **262** und **267** wegen der selektiven Hemmung gelegt werden. Hier kommen wieder Modifikationen am Grundkörper in Betracht.

## 4.2. MTT-Test

Zur Bestimmung der zytotoxischen Aktivität ist seit Jahren der MTT-Test das Standardverfahren. Bei uns im Arbeitskreis kam die Methode nach Mosmann<sup>115</sup> zum Einsatz, deren Grundlage die Reaktion eines wasserlöslichen, blassgelben Tetrazoliumsalzes, 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT, **274**), zu einem wasserunlöslichen, tiefblau gefärbtem Formazan (**275**) darstellt (Abb. 149).



**Abb. 149:** Reduktion des gelben MTT-Salzes zum blauen Formazan

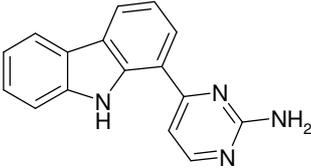
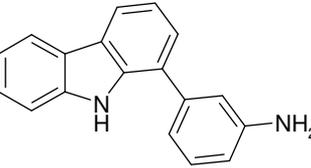
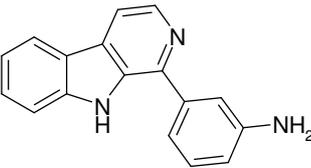
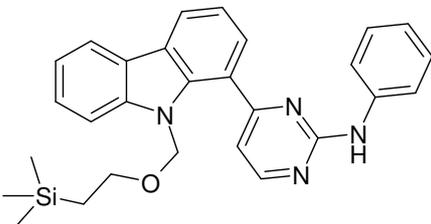
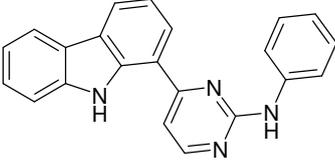
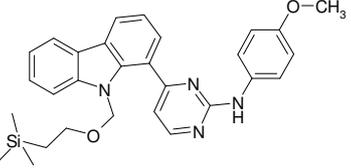
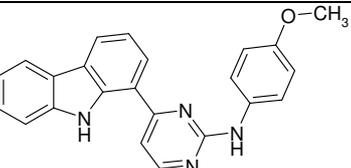
Die Reduktion erfolgt nur in lebenden, metabolisch aktiven Zellen durch NADH bzw. NADPH und Enzyme des Endoplasmatischen Retikulums. Neuere Untersuchungen zeigten, dass nicht Succinat sondern NADH und NADPH hauptsächlich an der Reaktion von MTT beteiligt sind<sup>116, 117</sup>. Durch photometrische Messung des durch die Zellen gebildeten blauen Formazans kann die Zellviabilität bestimmt werden.

In dieser Arbeit wurde der MTT-Test an humanen Leukämiezellen der Zelllinie HL-60 durchgeführt, als Positivkontrolle wurde Triton<sup>®</sup> X-100 eingesetzt. Die genaue praktische Durchführung wird im Experimentellen Teil dieser Arbeit beschrieben. Die im Folgenden angegebenen IC<sub>50</sub> -Werte sind unter dem Aspekt zu betrachten, dass sich mit dem MTT-Test nur generell eine eventuelle zytotoxische Aktivität der Substanzen aufzeigen bzw. quantifizieren lässt. Um detailliertere Aussagen, wie etwa auch potenzielle Wirkmechanismen ableiten zu können, müssten weitergehende Untersuchungen durchgeführt werden.

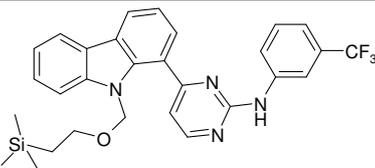
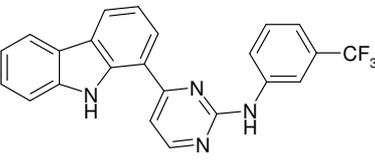
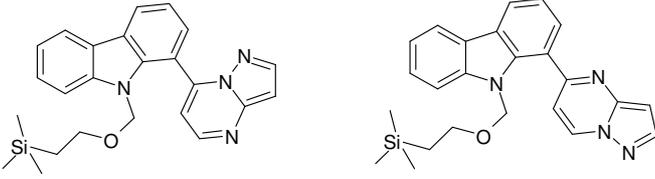
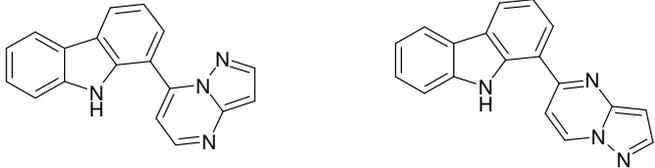
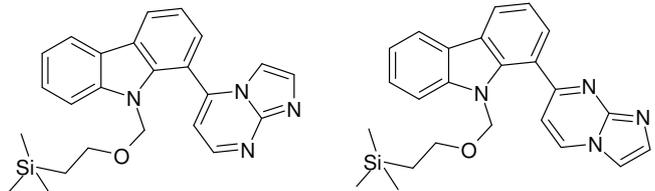
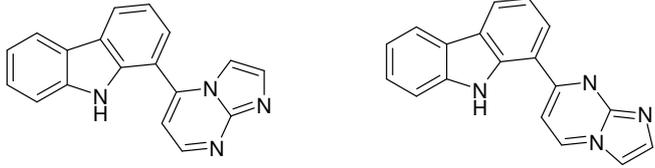
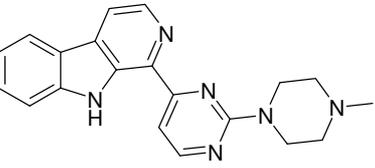
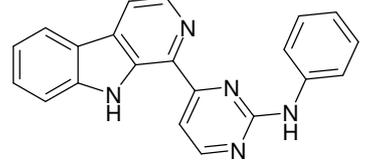
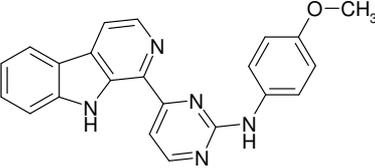
## 4.2.1. Testergebnisse

In Tab. 2 sind alle ermittelten  $IC_{50}$ -Werte zusammengefasst. Die Berechnung der  $IC_{50}$ -Werte erfolgte mit der Software Prism<sup>®</sup> 4 der Firma GraphPad.

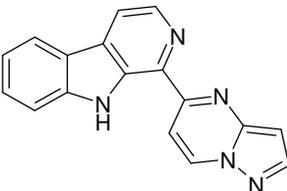
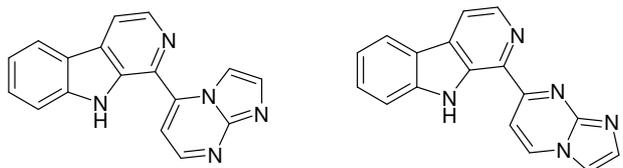
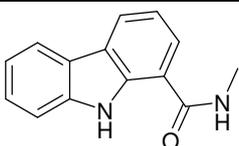
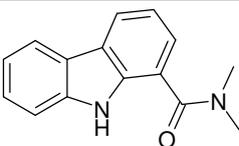
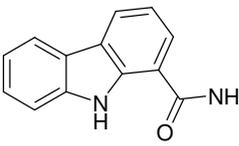
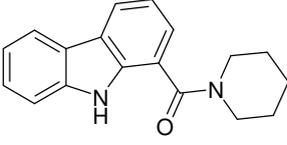
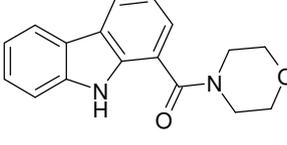
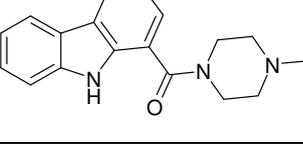
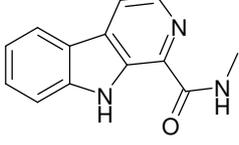
**Tab. 2:** Ermittelte  $IC_{50}$ -Werte im MTT-Test

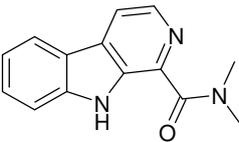
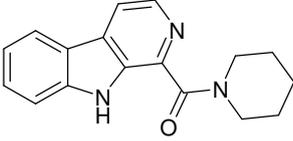
Substanz	Strukturformel	$IC_{50}$ [ $\mu$ M]
29		15
30		69
33		76
226		>100
227		>100
229		>100
231		>100

#### 4. Biologische Testung

Substanz	Strukturformel	IC <sub>50</sub> [μM]
228		>100
230		>100
232 233		15
234 235		51
243 244		10
245 246		>100
253		31
254		>100
256		>100

4. Biologische Testung

Substanz	Strukturformel	IC <sub>50</sub> [μM]
257		>100
258		83
259 260		>100
261		>100
262		>100
263		> 100
264		71
265		>100
267		>100
268		> 100

Substanz	Strukturformel	IC <sub>50</sub> [μM]
269		>100
270		>100

#### 4.2.2. Diskussion der Testergebnisse

Der MTT-Test wurde durchgeführt, um potenziell zytotoxische Substanzen als solche zu identifizieren und etwaige Auswirkungen auf andere Testsysteme abwägen zu können. Als Faustregel kann ein IC<sub>50</sub>-Wert von ≤ 5 μM als interessant angesehen werden. Dies entspricht in etwa der Aktivität von Cisplatin im MTT-Test. Man sollte dabei aber in Erinnerung behalten, dass diese Werte je nach Zelllinie großen Schwankungen unterliegen. Es finden sich in der Literatur für Cisplatin z.B. für die humane Lungen-Adenokarzinom-Zelllinie PC-14 ein Wert von 4 μM, während für die humane Gastro-Adenokarzinom-Zelllinie MKN-45 ein Wert von 87 μM ermittelt wurde<sup>118</sup>. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache können Werte zwischen 10 – 100 μM, die unter normalen Umständen als zu schwach zytotoxisch einzuschätzen wären, noch in Betracht gezogen werden.

In der Gruppe der Desazaderivate erreichte Verbindung **29** mit 15 μM die beste Zytotoxizität. Für die beiden anderen Derivate **30** und **33** wurden Werte von 69 und 76 μM ermittelt. Der Pyrimidinring in **29** scheint einen wesentlichen Einfluss auf die Zytotoxizität zu haben, während der Grundkörper weniger eine Rolle bei der Zytotoxizität spielt. Im Vergleich scheint sich der Carbazol-Grundkörper im Vergleich zum β-Carbolinring positiv auf die Zytotoxizität auszuwirken.

Die an der Aminogruppe substituierten Aminopyrimidin-Carbazol- und -β-Carbolin-Derivate zeigten fast alle keine zytotoxische Aktivität. Anscheinend führen Aromaten an der Aminogruppe des Aminopyrimidin-Restes zur Inaktivierung im MTT-Test. Dabei spielt es keine Rolle, ob die Aromaten substituiert sind oder nicht. Auch beeinflusste die Art des Grundkörpers nicht die Aktivität im MTT-Assay. Erstaunlich ist, dass das N-geschützte Isomerengemisch **232**, **233**, das mit Brede-

reck's Reagenz und 3-Aminopyrazol aus Acetylcarbazol **106** hergestellt wurde, mit 15  $\mu\text{M}$  zytotoxischer ist als die entschützten Endprodukte **234**, **235** mit 51  $\mu\text{M}$ . Bei dem Isomerengemisch **243**, **244**, das mit Hilfe von Brederock's Reagenz und 2-Aminolimidazol aus Acetylcarbazol **106** synthetisiert wurde und mit 10  $\mu\text{M}$  die zytotoxischste Substanz darstellt, und **245**, **246** ist der Sachverhalt noch deutlich extremer, da der  $\text{IC}_{50}$ -Wert des entschützten Produkts bei über 100  $\mu\text{M}$  liegt. Ebenfalls interessant ist die Tatsache, dass die reinen Isomere der Umsetzung von 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) mit Brederock's Reagenz und 3-Aminopyrazol unterschiedliche Aktivität aufweisen. Während **258** noch schwache Aktivität zeigt, kann bei **257** keine Zytotoxizität festgestellt werden. Zytotoxisch mäßig aktiv war die mit einem Piperazin-Ring versehene Verbindung **253** mit 31  $\mu\text{M}$ , die bereits im Agar-Diffusionstest antibakterielle und antimykotische Aktivität zeigte.

Bei den Carbazol- und  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamiden zeigte nur eine einzige Substanz überhaupt schwache zytotoxische Aktivität. Der Wert für **264** lag bei 71  $\mu\text{M}$ . Warum jetzt gerade das Carbazol-1-carbonsäurepiperidinamid (**264**) zytotoxische Aktivität zeigt, ist schwer zu erklären, weil schon kleinste Veränderungen am Molekül die Aktivität verminderten. So zeigten das Carbazol-1-carbonsäuremorpholinamid (**265**) und das  $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäurepiperidinamid (**270**) geringere zytotoxische Aktivität als **264**.

### 4.3. Hemmung der Acetyl- und Butyrylcholinesterase

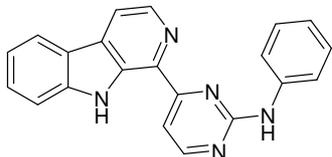
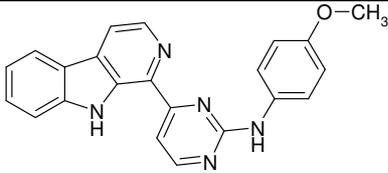
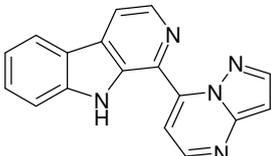
$\beta$ -Carboline werden in der Literatur<sup>119</sup> als Inhibitoren der Acetyl- und Butyrylcholinesterase beschrieben. Deswegen wurden ausgewählte  $\beta$ -Carboline dieser Arbeit zur Testung an Prof. Dr. J. Lehmann, Institut für Pharmazie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, geschickt. Veränderungen im AChE/BChE-Gleichgewicht sind vor allem relevant bei der Alzheimer-Erkrankung, wobei im Zuge der Erkrankung der Anteil an AChE im Vergleich zum Gesunden stetig abnimmt und zugleich die Menge an BChE entweder gleich bleibt oder sogar ansteigt. Die Proben wurden zunächst einem Vortest an den beiden Enzymen unterzogen und die Substanzen, die die Restaktivität der Enzyme auf 30 % und weniger zu vermindern vermochten, einem weiteren differenzierteren Test zur Bestimmung der  $\text{IC}_{50}$  am einzelnen Enzym zugeführt. Details der praktischen Durchführung sind im Experimentellen Teil dieser Arbeit angegeben.

## 4.3.1. Testergebnisse

## Vortest

In einem Vortest wurden alle  $\beta$ -Carboline auf ihre Aktivität gegenüber der Acetylcholin- und Butyrylcholinesterase in Konzentrationen von 10  $\mu$ M getestet.

**Tab. 3:** Ergebnisse des Vortests auf AChE- und BChE-Inhibition

Substanz	Strukturformel	AChE-Inhibition [%]	BChE-Inhibition [%]	Selektivität (AChE[%]/BChE[%])
254		12	0	>1000
256		49	0	>1000
257 258		7	7	1

## 4.3.2. Diskussion der Testergebnisse

Die Ergebnisse des Vortests zeigten (Tab. 3), dass die Substanzen **254** und **256** zwar selektiv die AChE hemmen, aber die Aktivität nicht ausreicht, um weitere Tests zur Bestimmung der  $IC_{50}$ -Konzentration an der BChE zu rechtfertigen. Die  $IC_{50}$ -Werte aktueller Inhibitoren für die BChE liegen um die 500 nM<sup>120</sup>.

Wenn man die beiden Strukturen **254** und **256** und ihre Aktivität vergleicht, ist auffällig, dass durch die Einführung der Methoxy-Gruppe die Inhibition um fast 40 % gesteigert werden konnte. Dies lässt vermuten, dass durch die Einführung anderer funktioneller Gruppen oder Änderung der Position der Methoxy-Gruppe im Molekül

die Aktivität möglicherweise so weit gesteigert werden könnte, dass daraus neue Leitstrukturen für neue Inhibitoren resultieren könnten.

### 4.4. Sirtuin-Test

In Zusammenarbeit mit Prof. Dr. M. Jung, Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, wurden die meisten Verbindungen dieser Arbeit auf Aktivierung bzw. Inhibition der NAD-abhängigen Histon-Deacetylasen (Sirtuine) getestet. Die Verbindungen wurden dabei zunächst einem Vortest unterzogen und aktive Substanzen anschließend in differenzierteren Tests jeweils an SIRT1 und SIRT2 getestet. Weitere Informationen zur Durchführung der Sirtuin-Tests sind im Experimentellen Teil dieser Arbeit angegeben.

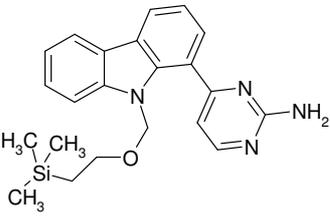
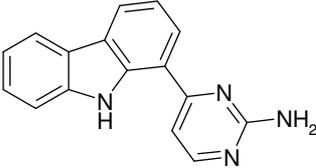
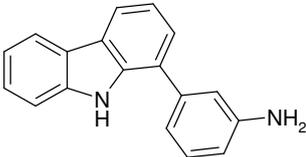
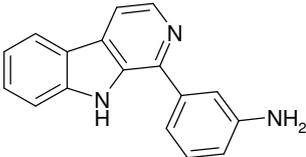
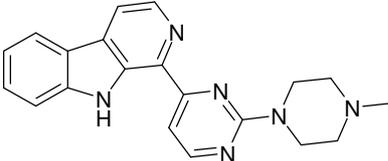
#### 4.4.1. Testergebnisse

Folgende Substanzen wurden von Prof. Dr. M. Jung getestet: **108, 29, 30, 33, 253**.

#### SIRT1-Aktivierungstest

Alle Verbindungen bis auf **108** aktivierten in einem Vortest die SIRT1 gut. Besonders interessant waren dabei die Werte von **30, 33** und **253**. Diese Verbindungen wurden einem differenzierteren Test unterzogen. Die angegebenen Werte in Tabelle 4 geben die x-fache Aktivierung gegenüber dem üblichen Umsatz des Enzyms an.

Tab. 4: SIRT1-Aktivierungstest

Substanz	Strukturformel	Aktivierung x-fach gegen den Umsatz
108		-
29		1,5
30		2,4
33		2,0
253		3,8

### SIRT2-Inhibitionstest

Verbindung **108** zeigte in den Vortests einen inhibitorischen Effekt auf SIRT2. Die Bestimmung der  $IC_{50}$  konnte allerdings nicht ausgewertet werden, so dass kein Wert zur Verfügung steht.

#### 4.4.2. Diskussion der Testergebnisse

Verbindung **33** liegt mit einer Aktivierung von 200 % im Bereich von literaturbekannten Aktivator<sup>121</sup>. Substanz **30** ist mit einer 2,4-fachen Aktivierung bereits besser als diese Aktivator. Daraus kann geschlossen werden, dass allein die

Veränderung des Grundkörpers von  $\beta$ -Carbolin zu Carbazol die Aktivität um knapp 25 % erhöht. Verbindung **253** kann mit einer 3,8-fachen Aktivierung den weltweit besten Wert aufweisen. Vergleicht man die getesteten Substanzen so ist auffällig, dass **29** kaum Aktivität aufweist, **30** hingegen schon. Das lässt sich eventuell dadurch erklären, dass sich der Pyrimidin-Ring negativ auf die Aktivierung auswirkt. Wenn man sich nun vor Augen hält, dass der  $\beta$ -Carbolin-Grundkörper und der Pyrimidin-Ring sich vermeintlich negativ auf die Aktivität auswirken, kann daraus nur geschlossen werden, dass der Piperazin-Rest eine maßgebliche Rolle bei der Aktivität ausübt. Daraus kann gefolgert werden, dass das Potential von **253** anscheinend noch nicht ausgeschöpft ist.

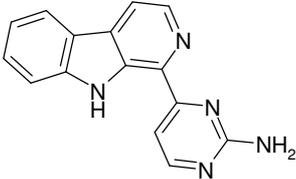
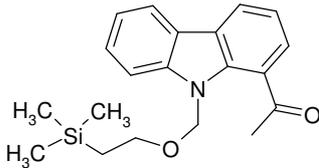
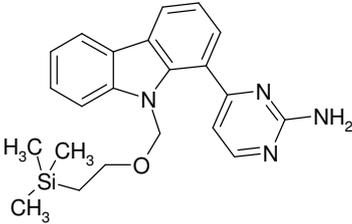
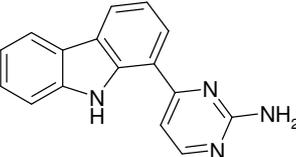
### 4.5. CDK-Inhibition (CDK1/Cyclin B-Histon H1 Kinase Assay)

Die Testung ausgewählter Substanzen wurde in Zusammenarbeit mit Dr. L. Meijer, CNRS, Station Biologique de Roscoff, Frankreich, durchgeführt. Eine Beschreibung der praktischen Durchführung wird im Experimentellen Teil gegeben.

#### 4.5.1. Testergebnisse

Um die Ergebnisse besser vergleichen zu können, wird der  $IC_{50}$ -Wert von Annonin **11** ebenfalls angegeben. Liegen für die Kinase keine Werte vor, ist das mit einem Strich (-) gekennzeichnet.

Tab. 5: Testergebnisse der CDK-Inhibition

Substanz	Strukturformel	IC <sub>50</sub> -Wert (µM)		
		CDK1	CDK5	GSK3
11		1	-	-
106		-	>10	>10
108		-	>10	>10
29		2,0	1,4	7,3

#### 4.5.2. Diskussion der Testergebnisse

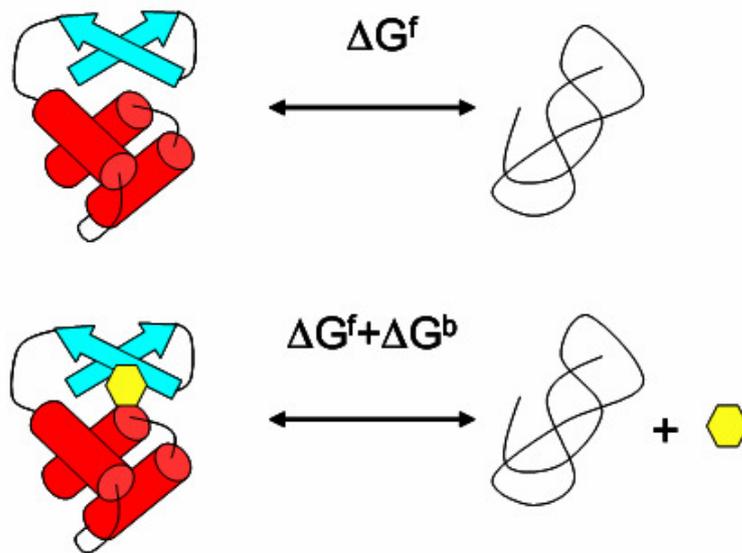
Wie man in Tab. 5 erkennen kann, zeigen die Vorstufen zu Verbindung **29** keine Aktivität gegenüber CDK. Zwar ist der IC<sub>50</sub>-Wert von **29** mit 2,0 µM doppelt so hoch wie der von Annomontin, aber die Substanz zeigt immer noch einen sehr guten inhibitorischen Effekt.

Die Aktivität kann man sich sehr gut erklären, wenn man bedenkt, dass Annomontin kompetitiv ATP aus dem aktiven Zentrum von CDK verdrängen soll. Da ATP einen Pyrimidin-Ring besitzt, ist es nicht verwunderlich, wenn auch für den Inhibitor eine Pyrimidin-Partialstruktur von Bedeutung ist.

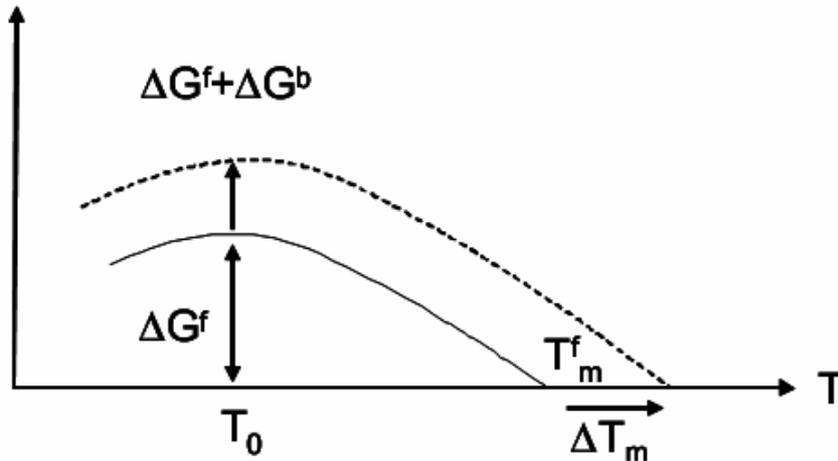
Allerdings ist auch zu erkennen, dass der Stickstoff im β-Carbolin anscheinend vorteilhaft für die Einlagerung und Positionierung von Annomontin in der Enzymtasche, aber nicht essenziell für die Aktivität ist.

## 4.6. SGC Oxford High-Throughput Kinase-Screening

Die in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen wurden in Zusammenarbeit mit Dr. S. Knapp, Structural Genomics Consortium (SGC), University of Oxford, UK, in einem Hochdurchsatz-Screening (HTS) an einer Vielzahl von Enzymen getestet. Der Schwerpunkt lag dabei auf Kinasen aus der Serin/Threonin-Familie wie PIM, CLK oder CDK. Grundlage des Screenings ist ein Verfahren, bei dem durch Vergleich der Liganden-abhängigen Schmelztemperatur (*melting temperature*,  $T_m$ ) der Enzyme auf einfachem und effektivem Wege indirekt die Affinität kleiner Moleküle bestimmt werden kann. Bindet ein Ligand an die Kinase, führt dies durch Änderung der freien Enthalpie zu einem relativen Anstieg der Schmelztemperatur des Proteins ( $T_m$  *shift*), der direkt proportional zur Bindungsaffinität und zur Konzentration des Liganden ist. Als Vergleich wird die Schmelztemperatur des Enzyms ohne Zusatz des Liganden herangezogen (Abb. 150, Abb. 151).



**Abb. 150:** Änderung der Enthalpie durch Bindung eines Liganden



**Abb. 151:** Erhöhung der Schmelztemperatur durch die geänderte Enthalpie

Näherungsweise kann also folgende Gleichung formuliert werden:

$$\Delta T_m \sim \Delta G^b \sim \ln(K_b)$$

Die Schmelztemperatur selbst kann fluorimetrisch bestimmt werden. Mithilfe eines Fluoreszenzfarbstoffes, der nur an die hydrophoben Reste des denaturierten Proteins binden kann und im ungebundenen Zustand durch molekularen Sauerstoff in der Lösung gequencht wird, kann die Schmelztemperatur sehr einfach und präzise bestimmt werden.

Die auf diese Weise ermittelten Werte der relativen Schmelztemperaturerhöhung können nicht nur zu Erstellung einer Inhibitoren-Affinitätsrangfolge genutzt werden, vielmehr korrelieren die gemessenen T<sub>m</sub>-Werte, wie Experimente gezeigt haben, sogar sehr gut mit den direkt durch isothermische Titrationskalorimetrie (*isothermal titration calorimetry, ITC*) bestimmten Bindungskonstanten K<sub>b</sub>. Dieses Verfahren zur Bestimmung der Ligandenaffinität wird auch als thermische Stabilitätsmessung (*Thermal Stability Measurement*) bezeichnet. Weitere Details zur Durchführung des Verfahrens werden im Experimentellen Teil dieser Arbeit angegeben.

**Tab.. 6:** Bedeutung der getesteten Kinasen

<b>Abkürzung</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Relevanz</b>
AKT3	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3	Zellregulierung
BMP2K	human BMP-2-inducible kinase	evtl. Regulation der Osteoblastendifferenzierung
BMPR2	BMP receptor, type II kinase	evtl. primäre pulmonale Hypertonie
CAMK2A	calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2 alpha	Freigabe von Neurotransmittern im ZNS
CAMKK2	calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2, beta	Calcium/Calmodulin-abhängige Kinase
CDK2	cyclin-dependent kinase	Regulation des Zellzyklus
CDKL1	cyclin-dependent kinase-like 1	Regulation des Zellzyklus
CLK1	cdc2-like kinase 1	Regulation des alternativen Spleissens
DAPK3	death-associated protein kinase 3	Induktion von Apoptose
FES	feline sarcoma oncogene	Tyrosin-Kinase zur Aufrechterhaltung der zellulären Transformation
GAK	cyclin G associated kinase	Hilfsenzym in der Regulation des Zellzyklus
GSG2	germ cell-specific gene 2	Regulation der Chromosomenanordnung in der Metaphase
MAP3K5	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5	Regulation des Zellzyklus und Zelldifferenzierung, vor allem Herz und Pankreas
MAPK11	mitogen-activated protein kinase 11	Zellproliferation, -differenzierung, -entwicklung, Regulation der Transkription
MAPK3	mitogen-activated protein kinase 3	Zellproliferation, -differenzierung, -entwicklung, Regulation der Transkription
MERTK	c-mer proto-oncogene tyrosine kinase	Pathogenese von Retinitis pigmentosa

Abkürzung	Beschreibung	Relevanz
NEK2	(never in mitosis gene a)-related kinase 2	Zellteilung, spielt eine Rolle bei diversen (Brust-)Karzinomen
NEK7	(never in mitosis gene a)-related kinase 7	Zellteilung
PAK5	p21(CDKN1A)-activated kinase 5	Dynamik des Zytoskeletts, Proliferation und Zellüberleben
PIM1-3	proviral integration site murine leukemia virus	Regulation des Zellzyklus, Apoptose
RPS6KA2	ribosomal protein S6 kinase, 90kDA, polypeptide 2	Kontrolle des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung
SLK	STE20-like kinase (yeast)	Entzündungssignalkaskade
STK10	serine/threonine kinase 10	Progression des Zellzyklus, Regulation der Interleukin-2-Expression
STK17A	serin/threonine kinase 17a	Induktion von Apoptose
STK3	serine/threonine kinase 3	Induktion von Apoptose
STK38L	serine/threonine kinase 38 like	Regulation der Differenzierung und Reifung von Nervenzellen
STK4	serin/threonine kinase 4	Induktion der Chromatinkondensation bei Apoptose
TNIK	TRAF2 and NCK interacting kinase	Regulation des Aktins (Zytoskelett)
TTK	TTK protein kinase	Regulation der Zellproliferation
TYRO3	TYRO3 protein tyrosine kinase	Signaltransduktion und Zelladhäsion
VRK1-3	vaccinia related kinase	Regulation der Zellproliferation

#### 4.6.1. Testergebnisse

Die nachfolgende Tabelle enthält als Werte die relativen Differenzen der Schmelztemperatur ( $\Delta T_m$ ). Rot unterlegt sind die Werte der aktivsten Verbindungen mit einer Temperaturdifferenz  $>6$  °C, gelb bedeutet  $\Delta T_m = 3 - 6$  °C und moderate Aktivi-

tät, türkis steht für  $\Delta T_m < 3 \text{ }^\circ\text{C}$  und keine signifikante Aktivität. Weißer Hintergrund bedeutet, dass die Verbindung bis zur Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht an der entsprechenden Kinase getestet werden konnte.

**Tab. 7:** Kinase Screening I

Substanz	AKT3	BMP2K	BMPR2	CAMK2A	CAMKK2	CDK2	CDKL1	CLK1	DAPK3	FES	GAK	GSG2
11	0,3	5,9	2,4	0,1	0,8	0,1	0,0	3,8	3,6	-0,1	2,9	4,0
33	-0,2	-0,1	-0,2	0,5	0,2	0,4	-0,1	2,2	1,5	0,1	0,7	1,6
30	0,2	0,2	0,1	1,8	0,7	0,7	0,5	2,4	2,6	0,4	0,5	0,9
253	-0,3	2,0	0,3	0,0	-0,8	-0,2	0,0	4,9	2,5	0,2	1,3	4,4
182	-0,4	-0,3	-0,5	0,1	0,3	-0,2	-0,1	-0,1	-0,4	0,2	0,5	0,0
183	0,1	-0,5	-0,5	-0,3	-0,3	-0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	-0,2	0,0
106	0,2	-0,1	-0,2	-0,1	-0,5	-0,4	-0,1	0,1	0,7	-0,1	-0,2	-0,1
108	0,2	1,1	0,3	-0,4	-1,1	-0,5	0,0	0,8	0,6	-0,5	0,6	1,9
29	0,4	9,9	4,2	-6,1	0,8	1,5	0,8	7,6	5,5	0,6	3,7	6,9
264										0,1		0,0
261										0,2		0,3
265										0,2		0,0
262										0,2		-0,1
270										0,1		0,4
269										0,0		0,6
268										0,1		1,4
263										0,1		1,0

Tab. 8: Kinase Screening II

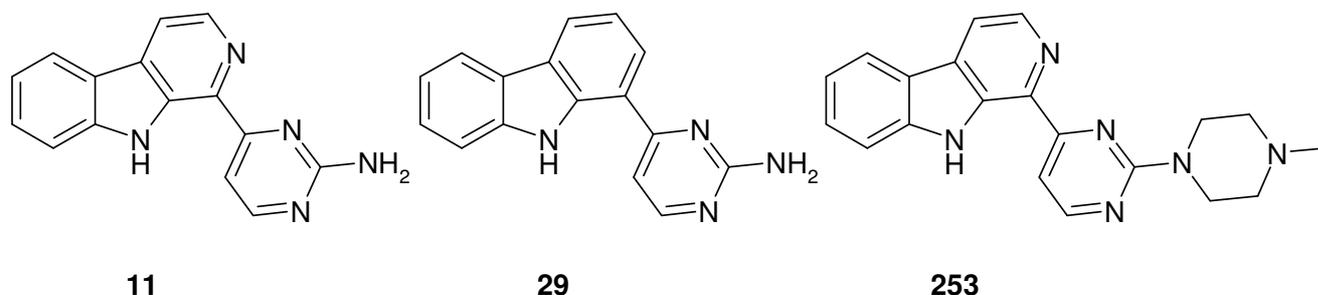
Substanz	MAP3K5	MAPK11	MAPK3	MERTK	NEK2	NEK7	PAK5	PIM1	PIM2	PIM3	RPS6KA2	SLK
11	0,8	2,1	-0,2	1,0	1,3	0,5		2,3	2,2	2,3	0,9	1,6
33	0,2	0,7	-0,3	0,4	0,6	0,2	0,0	2,4	2,0	2,2	0,3	0,9
30	0,2	0,8	-0,6	0,5	1,9	1,1	0,3	2,9	1,3	2,0	0,7	0,6
253	0,3	0,7	0,0	0,2	0,2	0,0	0,8	5,9	2,6	5,4	3,6	0,0
182	0,3	0,4	-0,3	0,0	-0,2	-0,3	-0,2	-1,0	0,4	-0,1	-0,1	0,1
183	0,1	0,6	-0,4	0,2	0,2	0,1	-0,1	-0,8	0,6	0,2	0,1	0,3
106	0,0	-0,9	-0,3	0,3	0,1	-0,3	0,1	-1,7	-0,2	0,2	-0,2	1,2
108	0,3	-1,3	-0,1	0,2	-0,1	-0,4	0,5	-0,7	-0,2	0,0	-0,1	0,7
29	0,5	0,8	-1,4	0,0	1,6	1,0	1,4	6,4	5,2	6,2	2,2	3,0
264	0,1							-0,3	-0,1			
261	0,0							0,4	0,4			
265	0,2							0,0	-0,3			
262	0,2							0,2	-0,1			
270	0,1							1,1	0,0			
269	0,1							0,8	0,2			
268	0,1							0,7	0,1			
263	0,8							2,2	1,2			

Tab. 9: Kinase Screenig III

Substanz	STK10	STK17A	STK38L	STK3	STK4	TNIK	TTK	TYRO3	VRK1	VRK2	VRK3
11		1,7	0,1	0,9	0,8		1,6	-0,2		-0,2	0,0
33	1,5	0,7	0,1	0,1	0,4	-0,1	1,2	0,3	0,4	0,1	0,0
30	1,3	1,4	0,1	0,6	0,6	-1,0	1,9	1,5	0,1	0,0	0,1
253	0,1	6,8	-0,1	0,7	0,7	1,0		0,3	0,4	0,1	0,0
182	1,3	-0,5	0,1	-0,2	0,2	-0,1	0,3	0,2	-0,3	-0,2	0,2
183	1,3	0,1	0,1	-0,2	0,1	-0,9	-0,1	-0,2	-0,2	0,0	0,1
106	0,7	-0,5	0,1	0,1	-0,4	0,1	0,4	0,5	0,4	-0,1	-0,2
108	0,7	0,1	0,1	0,6	-0,2	0,6	0,2	0,5	0,3	0,0	-0,3
29	3,3	5,0	1,1	1,6	2,2	2,1	2,5	0,8	0,3	-0,3	-0,1
264			-0,3								
261			-0,3								
265			-0,3								
262			-0,3								
270			-0,5								
269			-0,6								
268			-0,5								
263			-0,1								

#### 4.6.2. Diskussion der Testergebnisse

Da für Annomontin **11** für CDK1 bereits  $IC_{50}$ -Werte von  $1,0 \mu M$  in der Literatur beschrieben wurden<sup>13</sup> und für die in dieser Arbeit synthetisierten Verbindung **29** ein  $IC_{50}$ -Wert von  $2,0 \mu M$  berichtet wurde (s. Kap. 4.5.), wurden ähnliche Aktivitäten auch für andere CDK's und verwandete Kinasen erwartet. Überraschenderweise konnte bei allen getesteten Verbindungen, sowie bei Annomontin (**11**), keine signifikante CDK2- oder CDKL1-Aktivität festgestellt werden. Offensichtlich muss die Enzymtasche bei CDK2 leicht verändert sein, so dass die Inhibitoren nicht mehr alle Wechselwirkungen, die bei CDK1 und CDK5 noch auftreten, bei CDK2 etablieren konnten, was letztendlich in einem Aktivitätsverlust resultiert. Die Strukturen der aktivsten Verbindungen zeigt Abb. 152.



**Abb. 152:** Struktur der wirksamen Verbindungen im Kinase-Assay

In der Gruppe der Desazaderivate weist nur Verbindung **29** Kinase-inhibitorische Aktivität auf. Alle weiteren Desazaderivate zeigen keine nennenswerten Aktivitäten. Dies ist nicht besonders verwunderlich, wenn man sich überlegt, dass **29** ATP imitieren soll, das einen Pyrimidin-Ring trägt. Durch diese Ergebnisse scheint die Hypothese bestätigt, dass der Pyrimidin-Ring essentiell für die Aktivität in der Bindungstasche ist. Außerdem wird bestätigt, dass der Austausch des  $\beta$ -Carboline-Grundkörpers gegen den Carbazol-Grundkörper einen geringen bis gar keinen Effekt auf die Aktivität ausübt (s. Kap. 4.5.). Der Austausch wirkt sich sogar positiv auf die inhibitorische Kinase-Aktivität aus. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, weist **29** gegenüber Annomontin (**11**) einerseits im direkten Vergleich eine größere Aktivität auf. Andererseits zeigt **29** zudem noch Aktivität gegenüber Kinasen, die von **11** nicht inhibiert werden. Beide Verbindungen zeigten gute bis sehr gute Aktivität bei BMP2K, CLK1, DAPK3 und GSG2, wobei aber **29** immer eine bessere Aktivität aufwies als **11**. Außerdem sind bei **29** noch Aktivitäten gegenüber BMPR2, GAK, PIM1-3, SLK, STK10 und STK17A zu erkennen.

Besonderes Augenmerk muss man auf die Aktivität gegenüber den Kinasen BMP2K, CLK1, GSG2, PIM1 und PIM3 lenken, die eine besonders starke Temperaturverschiebung  $\Delta T_m$  zwischen 6,2 und 9,9 °C aufwiesen. Die größte Temperaturdifferenz konnte hier gegenüber BMP2K gemessen werden.

Für die an der Aminogruppe substituierten Aminopyrimidin-Carbazol- und  $\beta$ -Carbolin-Derivate lagen bis zum Abschluss der Arbeit leider nur Ergebnisse für Verbindung **253** vor. Diese sind allerdings sehr ermutigend. Zwar hat sich das Spektrum gegenüber **29** und **11** etwas verengt, aber dafür haben sich Aktivitäten gegenüber bestimmten Kinasen verstärkt oder neu erschlossen. Für **11**, **29** und **253** konnten Aktivitäten gegenüber CLK1 und GSG2 festgestellt werden. **29** und **253** zeigen beide Aktivität gegenüber PIM1, PIM3 und STK17A. Eine spezifische Aktivität weist **253** gegenüber RPS6KA2 auf.

Verbindung **253** zeigte nur gegen STK17A eine ausgezeichnete Kinase-inhibitorische Aktivität. Die Temperaturdifferenz zur nächsten Kinase beträgt fast ein Grad Celsius. Dies ist möglicherweise schon ausreichend, um eine ausreichende Selektivität für STK17A zu erreichen.

Alle Carbazol- und  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamide wiesen gegenüber den getesteten Kinasen keine signifikante Aktivität auf. Da allerdings die Substanzen bis zum jetzigen Zeitpunkt erst an wenigen Kinasen getestet worden sind, kann nicht ausgeschlossen werden, dass noch inhibitorische Aktivitäten gegenüber anderen Kinasen festgestellt werden.

Im Vergleich von **29** und **253** kann man sagen, dass schon kleine Änderungen im Molekül massive Auswirkungen auf die Aktivität haben. Die Einführung der Piperazin-Gruppe in das Molekül hat einen kompletten Aktivitätsverlust von **253** bei mehreren Kinasen zur Folge: BMP2K, BMPR2, DAPK3, GAK, PIM2, SLK, STK10. Besonders frappierend ist dieser bei BMP2K. Eine Verminderung der Aktivität kann für **253** bei CLK1, GSG2, PIM1 und PIM3 beobachtet werden. Daraus kann geschlossen werden, dass neben dem Pyrimidin-Ring die freie Aminogruppe essenziell für die Aktivität an diesen Kinasen ist. Somit ist eine mögliche Verbesserung der Aktivität besser dadurch zu erreichen, dass Modifikationen am Grundkörper vorgenommen werden.

Für die Kinase STK17A gilt genau das Gegenteil: Hier bewirkt der Piperazin-Ring bei **253** eine Aktivitätsverstärkung im Vergleich zu **29**. Ob die Aktivitätssteigerung durch den Ring als hydrophobe Komponente zu erklären ist oder ob die zweite ba-

sische Amino-Funktion hier von Bedeutung ist, kann aufgrund der Datenlage nicht eindeutig geklärt werden. Die Testung der restlichen an der Aminogruppe substituierten Aminopyrimidin-Carbazol- und  $\beta$ -Carbolin-Derivate könnte hier einen wesentlichen Beitrag leisten. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch Modifikationen am Grundkörper eine Aktivitätssteigerung ermöglichen können, die Gegenstand weiterer Forschungsarbeiten sein können und müssen.

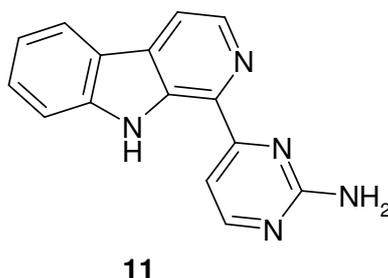


## 5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit sind Desazaderivate des aus *Annona montana* isolierten Naturstoffs Annomontin, N-substituierte Aminopyrimidyl- $\beta$ -Carbolin- und Carbazolderivate und verschiedene  $\beta$ -Carbolin- und Carbazolcarbonsäureamide als potenzielle neue Kinase-Inhibitoren synthetisiert worden. Ziel war es dabei, durch Modifikationen die Aktivität und/oder die Selektivität zu steigern. Diese sollten zudem Aufschlüsse über Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR) ermöglichen.

### 5.1. Desazaderivate von Annomontin

Das von Hildebrand synthetisierte Annomontin (**11**, Abb. 153) zeigte gute Kinaseinhibitorische Aktivität gegen den CDK1/CyclinB-Komplex. Kast hatte gezeigt, dass andere Heteroaromaten als der Pyrimidinring und Methylierungen an der Aminogruppe zu Einbußen bei der Aktivität führen.

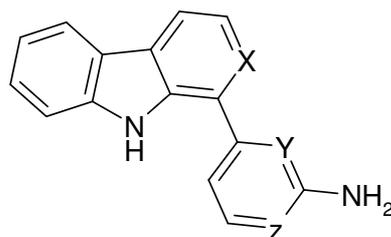


**Abb. 153:** Annomontin und seine Desazaderivate

Für das Studium weiterer SAR sollten die  $sp^2$ -hybridisierten Stickstoff-Atome in Annomontin gegen Kohlenstoff-Atome ausgetauscht werden.

#### 5.1.1. Synthese der Carbazol-Analoga von Annomontin

Zuerst wurden die Produkte synthetisiert, die als Grundkörper einen Carbazol-Ring tragen. Dabei wurden zwei Derivate synthetisiert: 1-(3-Aminopyrimidyl)-9H-carbazol (**29**), 1-(3-Aminophenyl)-9H-carbazol (**30**, Abb. 154)

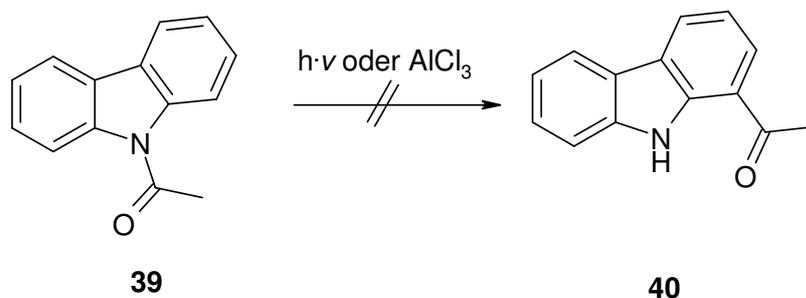


**11** X = N, Y = N, Z = N  
**29** X = CH, Y = N, Z = N  
**30** X = CH, Y = CH, Z = CH

**Abb. 154:** Annomontin und die synthetisierten Carbazol-Analoga

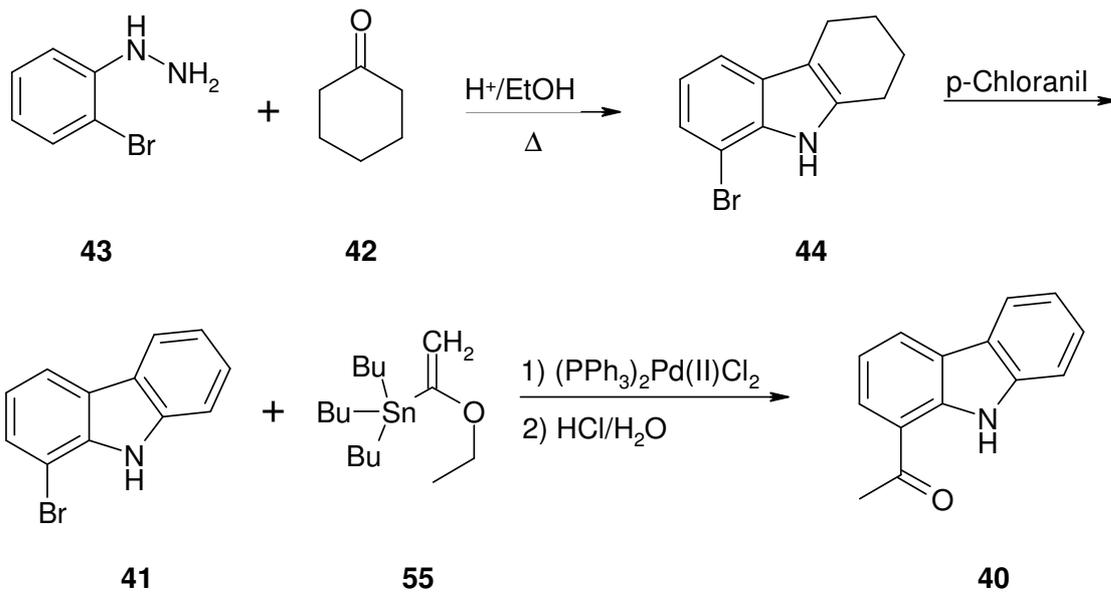
Die Synthese von **29** sollte über die gleiche Syntheseroute wie bei Annomontin erfolgen, d.h. ausgehend von 1-Acetylcabazol (**40**) in einem Eintopfverfahren durch Zugabe von Brederick's Reagenz und anschließenden Ringschluss durch Guanidiniumcarbonat.

Versuche zur Herstellung von **40** aus N-Acetylcabazol (**39**) via Fries- und Photo-Fries-Umlagerung waren nicht erfolgreich (Abb. 155).



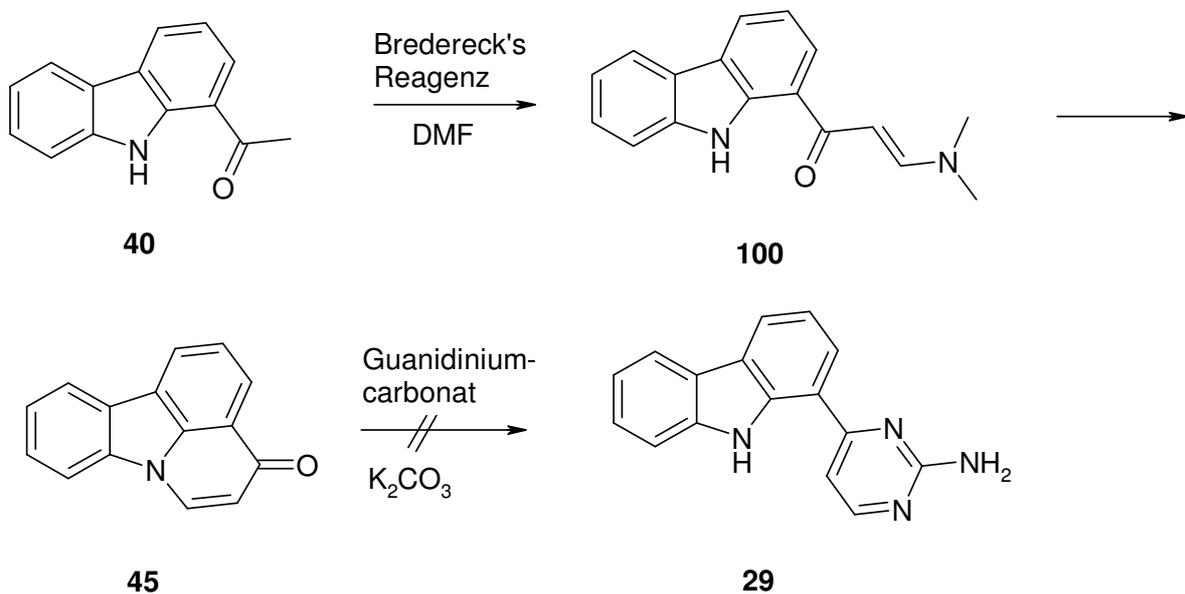
**Abb. 155:** Versuche zur Synthese von 1-Acetylcabazol

**40** konnte schließlich in einer dreistufigen Synthese via Fischer-Indol-Synthese, anschließender Dehydrierung mit Chloranil und einer abschließender Stille-Kupplung mit Tributylethoxyvinylstannan erhalten werden (Abb. 156).



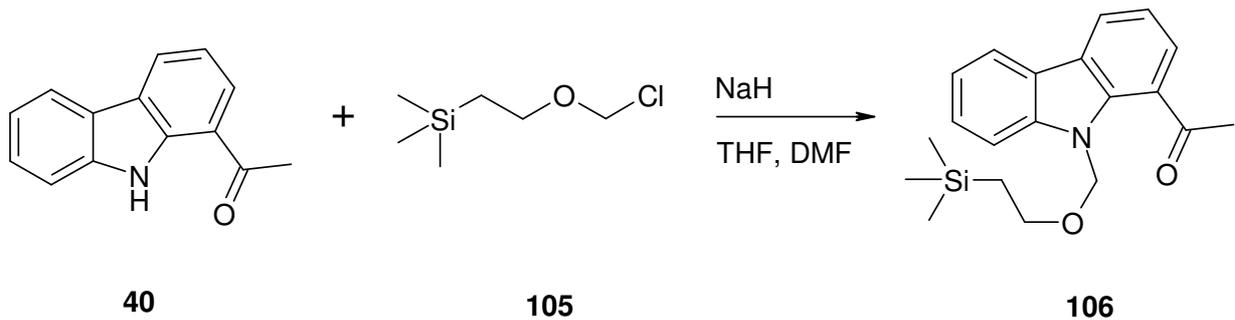
**Abb. 156:** Synthese von 1-Acetylcarbazol über Fischer-Indol-Synthese

Bei der anschließenden Umsetzung von **40** mit Brederick's Reagenz und Guanidiniumcarbonat entstand nicht das gewünschte Endprodukt **29**, sondern die Zwischenstufe **45** (Abb. 157).



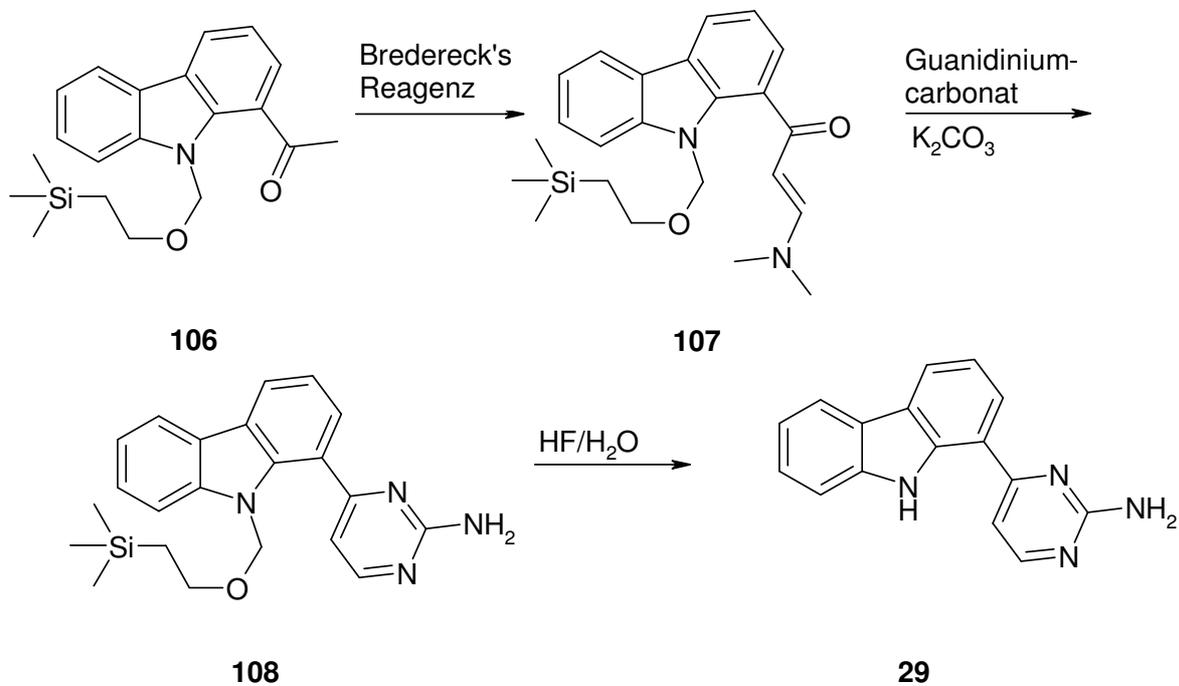
**Abb. 157:** Erster Syntheserversuch von **29**

Um den Ringschluss zum Tetracyclus **45** zu vermeiden, wurde die SEM-Schutzgruppe durch Deprotonierung des Indolstickstoffs mit Natriumhydrid und anschließende Zugabe von SEM-Cl (**105**) eingeführt (Abb. 158).



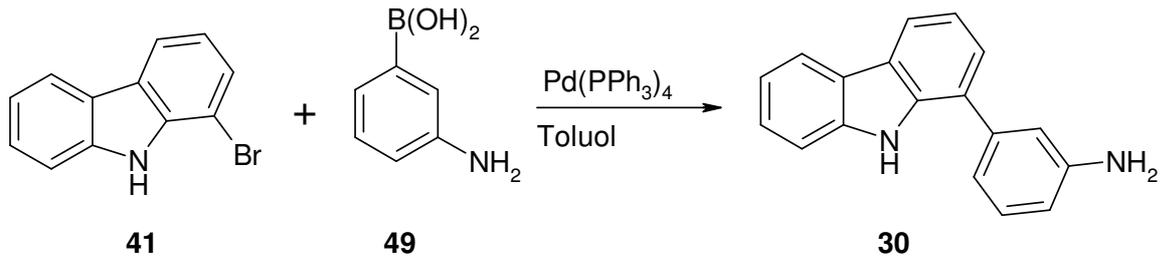
**Abb. 158:** Einführung der SEM-Schutzgruppe

Die anschließende Umsetzung von **106** mit Brederick's Reagenz und Guanidiniumcarbonat führte zum SEM-geschützten Desazaderivat **108**. Als letzter Schritt folgte die Entschützung mit HF zum gewünschten Endprodukt **29** (Abb. 159).



**Abb. 159:** Syntheseroute für **29**

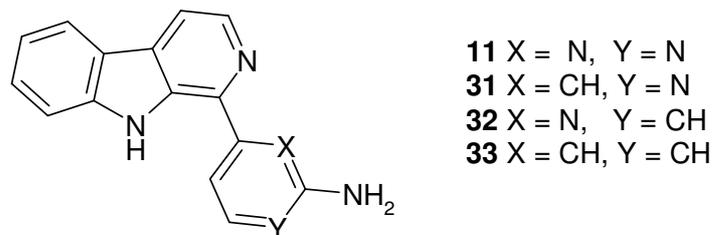
Das zweite Desaza-Derivat **30** von Annomontin wurde ausgehend von 1-Bromcarbazol **41** in einer Suzuki-Kupplung mit 3-Aminobenzolboronsäure (**49**) und Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) synthetisiert (Abb. 160).



**Abb. 160:** Synthese von **30** mittels Suzuki-Kupplung

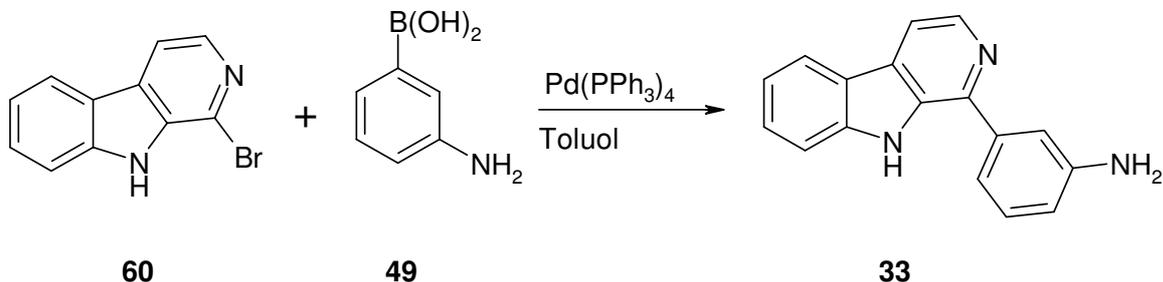
### 5.1.2. Synthese der $\beta$ -Carbolin-Analoga von Annomontin

Bei den Derivaten, die einen  $\beta$ -Carbolin-Ring als Grundkörper tragen, sollten drei Zielverbindungen hergestellt werden: 1-(3-Aminophenyl)- (**33**), 1-(2-Aminopyridin-4-yl)- (**31**) und 1-(2-Aminopyridin-6-yl)-  $\beta$ -carbolin (**32**) (Abb. 161).



**Abb. 161:** Annomontin und die zu synthetisierenden  $\beta$ -Carbolin-Analoga

Verbindung **33** wurde nach demselben Prinzip wie **30** hergestellt, nämlich mittels einer Suzuki-Kupplung von 1-Brom- $\beta$ -carbolin (**60**) und 3-Aminobenzolboronsäure (**49**) unter Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0)-Katalyse (Abb. 162).

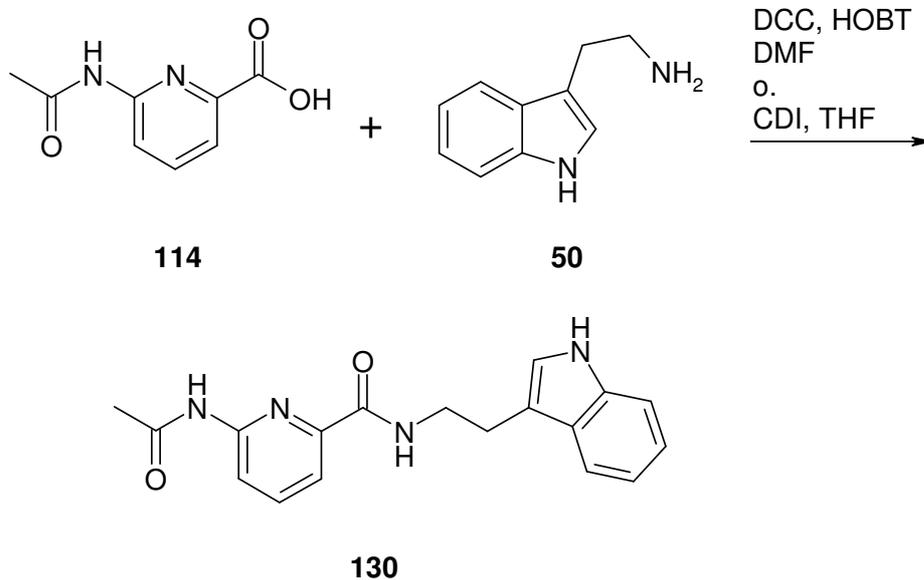


**Abb. 162:** Synthese von **33** mittels Suzuki-Kupplung

Die Verbindungen **31** und **32** wurden auf verschiedenen Synthesewegen versucht herzustellen. Über eine Bischler-Napieralski-Synthese sollten die gewünschten Verbindungen synthetisiert werden. Dazu wurden die dazugehörigen Aminopicoli-

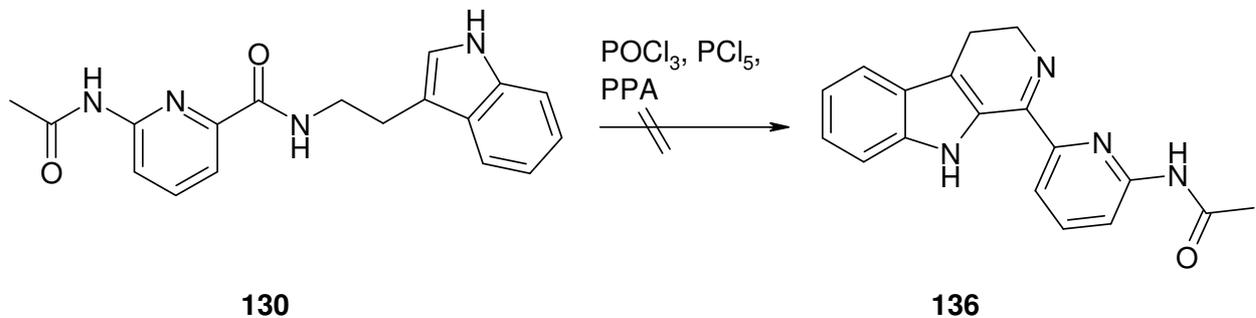
ne mit einer Acetylgruppe geschützt und mit  $\text{KMnO}_4$  zu den jeweiligen Carbonsäuren **114** und **117** oxidiert.

Nach Bildung der Carbonsäure folgte die Amidbildung mit Hilfe von entweder DCC und HOBT oder CDI (Abb. 163).



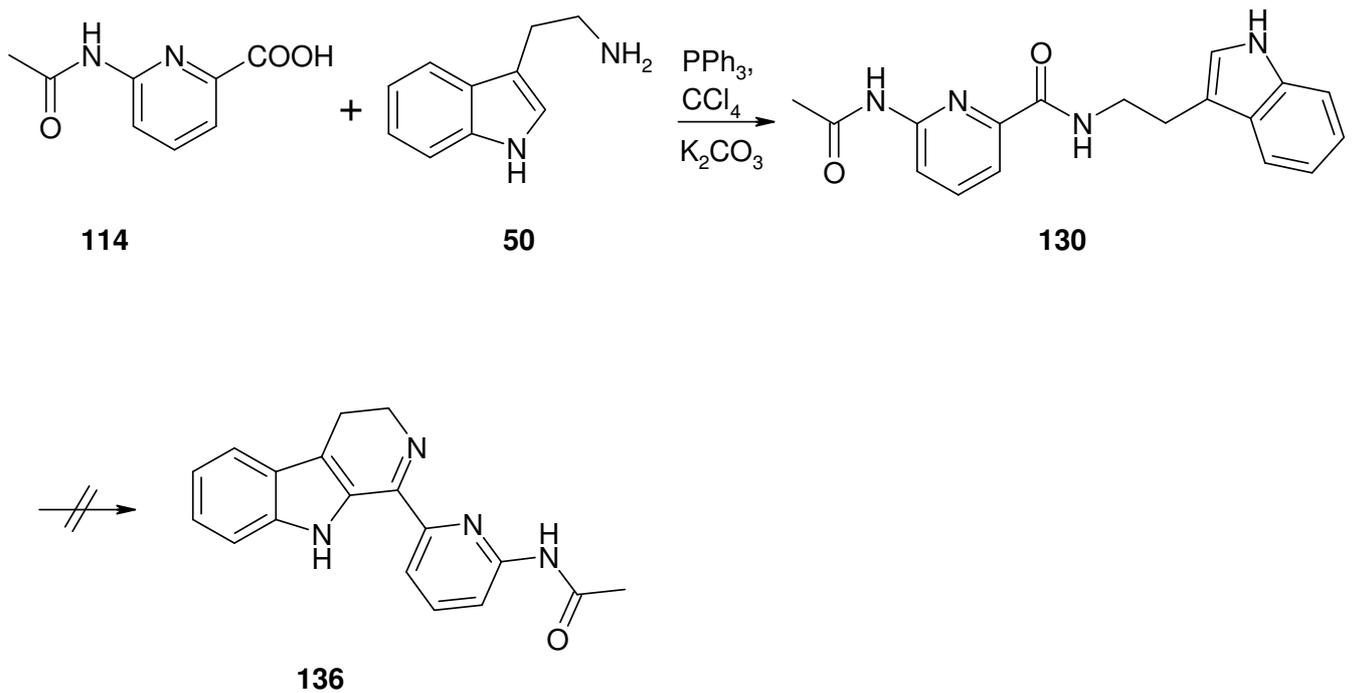
**Abb. 163:** Bildung des Pyridincarbonsäureamids mit DCC/HOBT bzw. CDI

Die Ringschlussversuche mit  $\text{POCl}_3$ ,  $\text{PCl}_5$ , PPA und PPE verliefen negativ (Abb. 164).



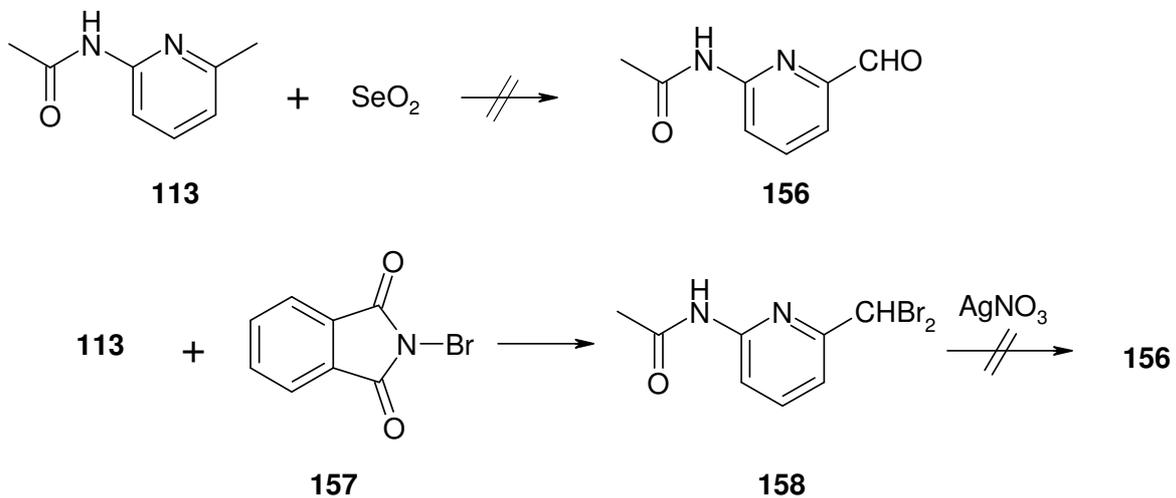
**Abb. 164:** Versuche zur Zyklisierung des Amids

Eine Variante, bei der in einem Eintopfverfahren die Amidbildung und danach die Cyclisierung unter Zusatz von Tetrachlorkohlenstoff und Triphenylphosphin ablaufen sollte, resultierte nur in der Isolierung des Amids **130** (Abb. 165).



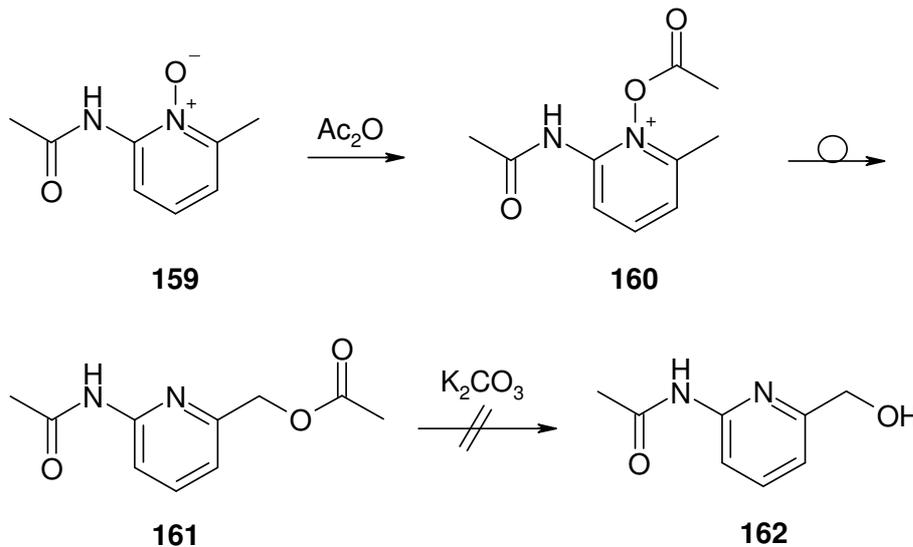
**Abb. 165:** Versuch des Ringschlusses mit Tetrachlorkohlenstoff

Nach diesen erfolglosen Syntheseversuchen wurde als Alternative die Pictet-Spengler-Reaktion in Angriff genommen. Der dazugehörige Aldehyd **156** konnte durch Oxidation von **113** mit Selendioxid oder durch Reaktion mit NBS und anschließender Zugabe von Silbernitrat nicht hergestellt werden (Abb. 166).



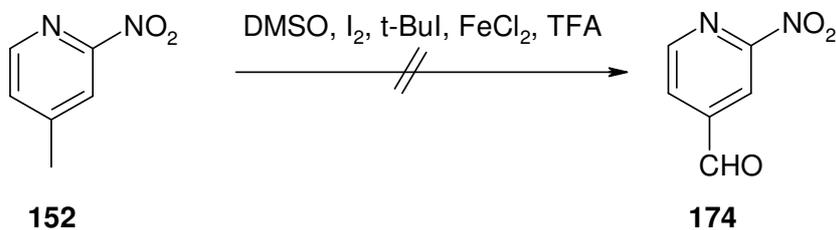
**Abb. 166:** Versuche zur Aldehydbildung aus **113**

Die alternative Synthese über das N-Oxid **159** und anschließende Polonovsky-Umlagerung, die nach alkalischer Hydrolyse und Oxidation mit PCC den Aldehyd **156** liefern sollte, verlief auch nicht erfolgreich (Abb. 167).



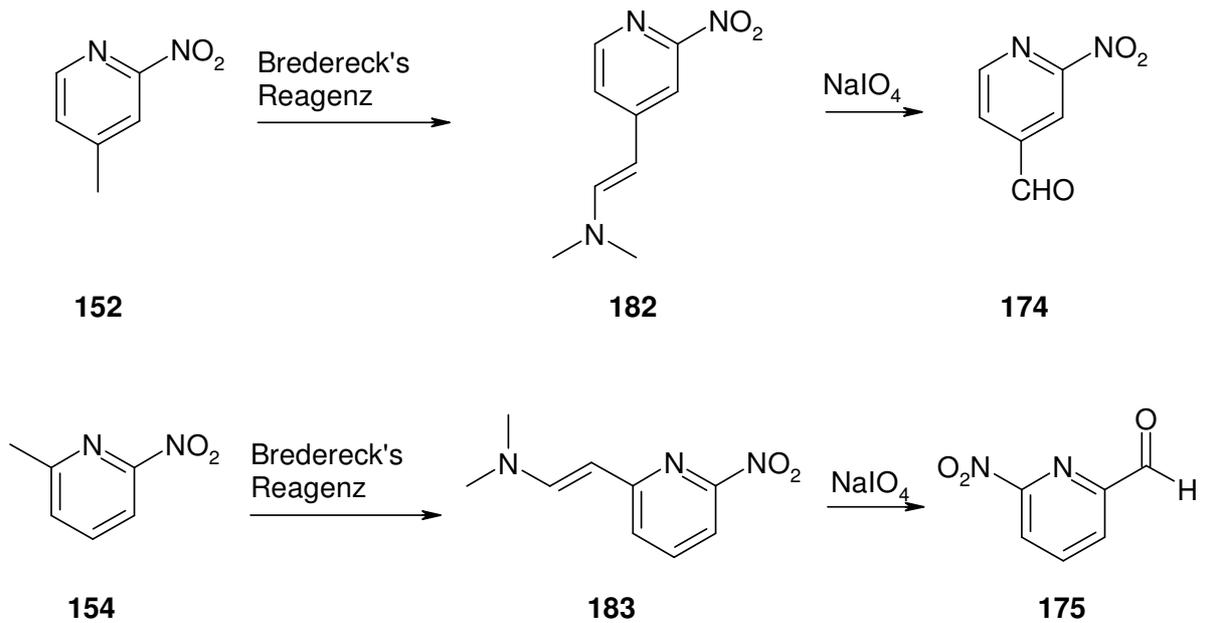
**Abb. 167:** Versuch der Aldehydbildung über Polonovsky-Umlagerung

Auch die direkte Hydroxymethylierung von 2-Aminopyridin bzw. die Oxidation von **113** unter Minisci-Bedingungen führten nicht zum Erfolg. Eine Wiederholung der Versuche mit den Nitropicolinen **152** und **154**, die durch Oxidation der Aminopicoline mit Caro'scher Säure hergestellt wurden, und die Reaktion unter Minisci-Bedingungen verliefen ebenfalls erfolglos (Abb. 168).



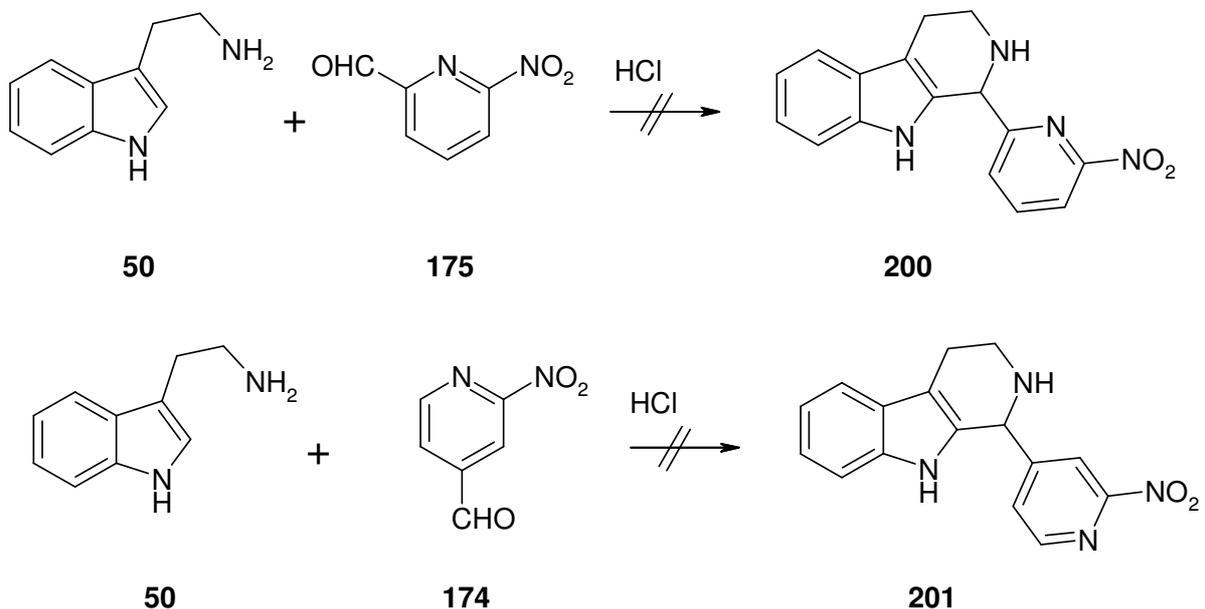
**Abb. 168:** Versuch der Aldehydbildung unter Minisci-Bedingungen

Der Durchbruch wurde geschafft, indem die Nitropicoline **152** und **154** zuerst mit Brederick's Reagenz zu den Enaminen **182** und **183** und danach in einer malprade-artigen Reaktion zu den Aldehyden **174** und **175** umgesetzt werden konnten (Abb. 169).



**Abb. 169:** Synthese der Nitropyridinaldehyde

Nach der Synthese der Aldehyde **174** und **175** wurde die Pictet-Spengler-Reaktion in Angriff genommen. Die Reaktion von **174** und **175** zum  $\beta$ -Carbolin schlug fehl (Abb. 170).

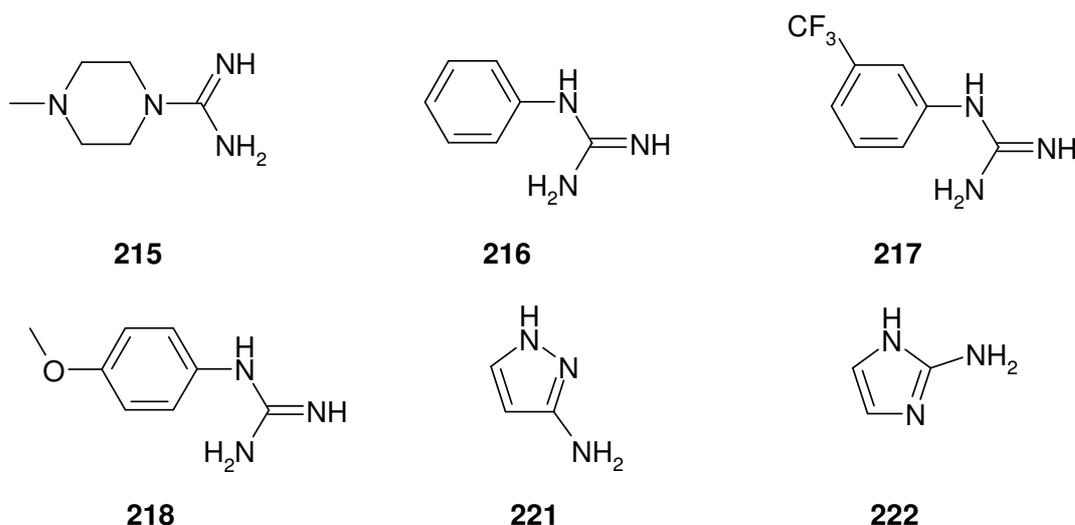


**Abb. 170:** Versuche zur Synthese der Pyridyl- $\beta$ -carboline

Die Versuche, mit Tryptophan und Pyridin-2- bzw. -4-carbaldehyd den  $\beta$ -Carbolin-Ring herzustellen, scheiterten. Mit Tryptamin konnte der  $\beta$ -Carbolin-Ring hergestellt werden, aber die nachfolgende Tschitschibabin-Reaktion, die die erforderliche Aminogruppe einführen sollte, verlief negativ.

## 5.2. Synthese von Carbazol- und $\beta$ -Carbolinderivaten mit N-substituierten Aminopyrimidylsubstituenten in 1-Position

Die Synthesen für diese Substanzklasse liefen nach demselben Prinzip ab, wie auch Annomontin (**11**) und **29** synthetisiert worden waren. Dabei kamen folgende in Abb. 171 gezeigten Guanidine und Amidine zum Einsatz. Diese wurden bis auf **221** und **222** ausgehend von den jeweiligen Aminen durch Reaktion mit Cyanamid hergestellt.



**Abb. 171:** Verwendete Guanidine und Amidine

### 5.2.1. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidylcarbazolen

In dieser Klasse wurde ausgehend von SEM-geschütztem 1-Acetylcarbazol **106** das Enamin **107** mit Hilfe von Brederick's Reagenz erzeugt und dann durch Reaktion mit dem Guanidin bzw. Amidin der substituierte Pyrimidin-Ring aufgebaut werden konnte. Die Abspaltung der SEM-Schutzgruppen erfolgte anschließend mit HF (Abb. 172).

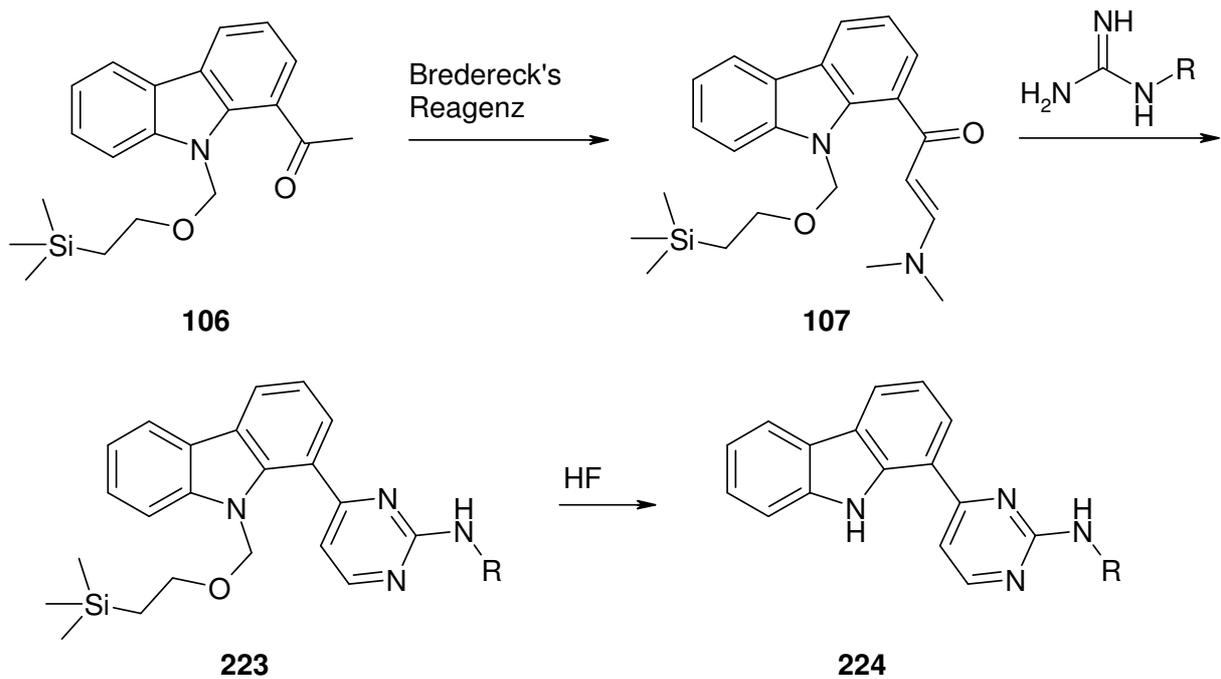


Abb. 172: Schema für die Synthese

Dabei verlief nur die Reaktion mit **215** negativ. Alle anderen Versuche waren erfolgreich (Abb. 173).

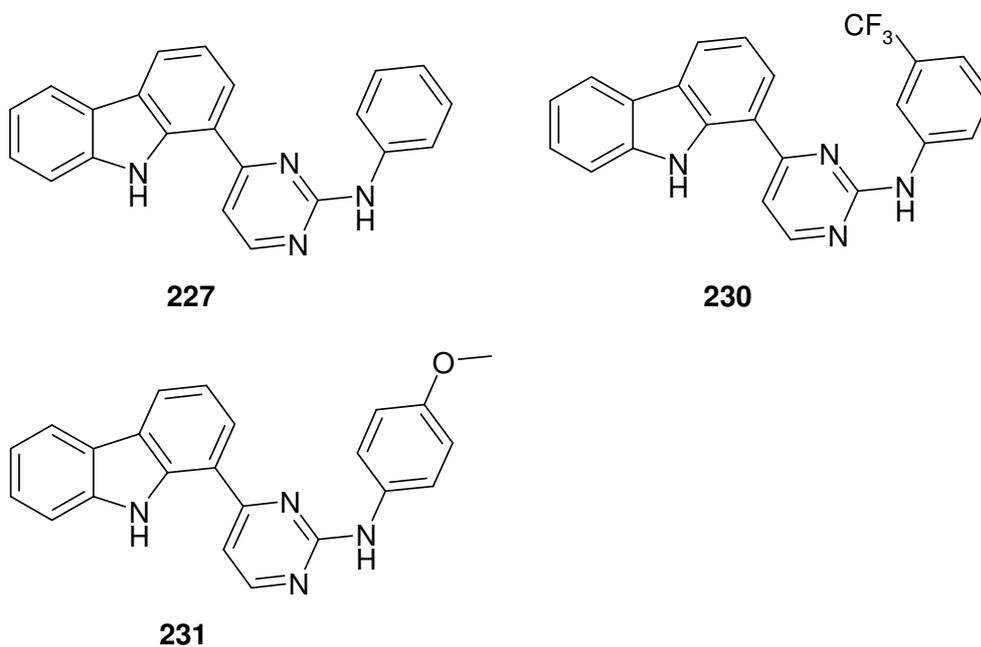
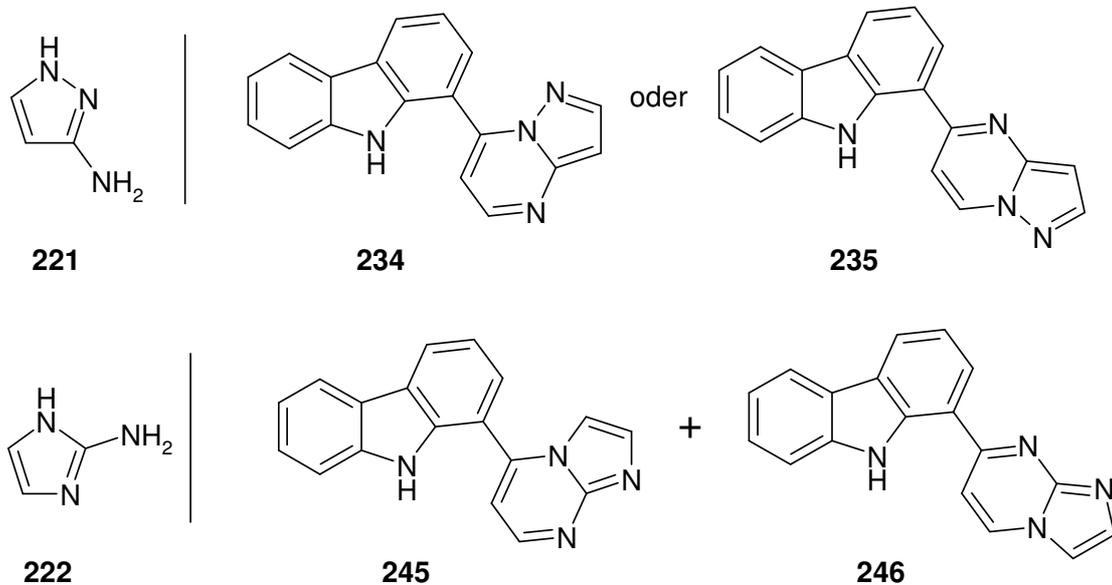


Abb. 173: Synthetisierte Verbindungen

Bei der Umsetzung von **107** mit **221** wurde ein Produkt isoliert, obwohl beide Isomere **234** und **235** theoretisch möglich wären (Abb. 174). Die Befunde weisen darauf hin, dass **234** bei der Reaktion entstanden ist. Dies konnte aber leider nicht endgültig bestätigt werden. Bei der Reaktion von **107** mit **222** entstanden die zwei

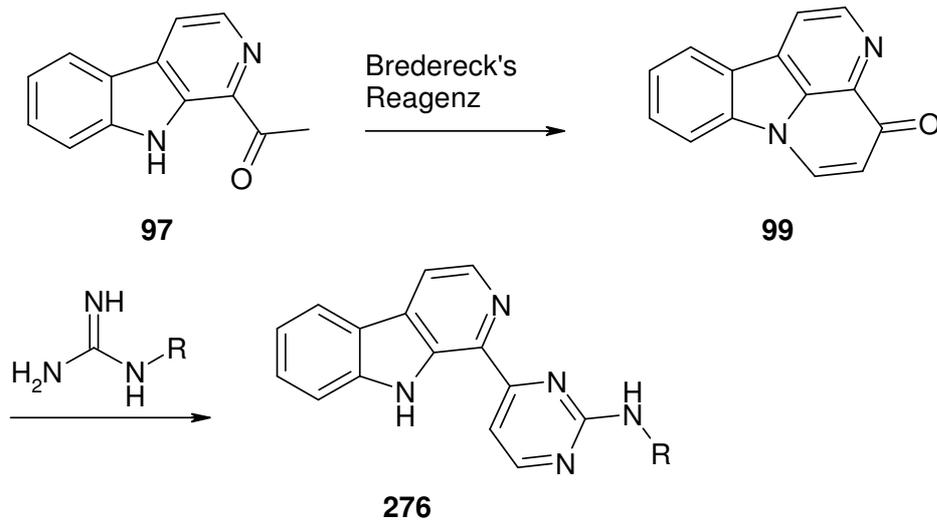
isomeren Bicyclen **245** und **246**, die chromatographisch mittels HPLC getrennt werden konnten (Abb. 174). Die Isomere entstanden in einem Verhältnis von 2:1. Eine weitere Charakterisierung war nicht möglich, aber die Datenlage lässt vermuten, dass Verbindung **245** als Hauptisomer entstanden ist.



**Abb. 174:** Entstandene Isomere bei der Reaktion von **221** und **222**

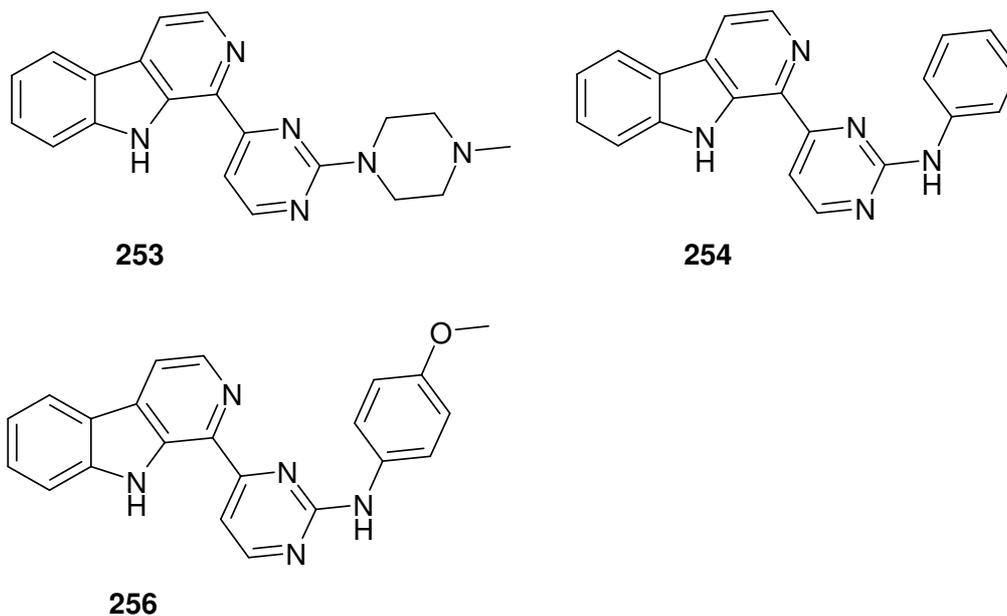
### 5.2.2. Synthese von N-substituierten Aminopyrimidyl-β-carbolinen

Vom Prinzip her funktioniert die Synthese hier wie in Kap. 5.2.1., nur dass hier 1-Acetyl-β-carbolin (**97**) als Ausgangsverbindung dient und keine Schutzgruppe benötigt wird, weil das intermediär auftretende Canthin-4-on **99** vom Guanidin bzw. Amidin wieder aufgebrochen wird (Abb. 175).



**Abb. 175:** Schema zur Synthese der  $\beta$ -Carboline-Derivate

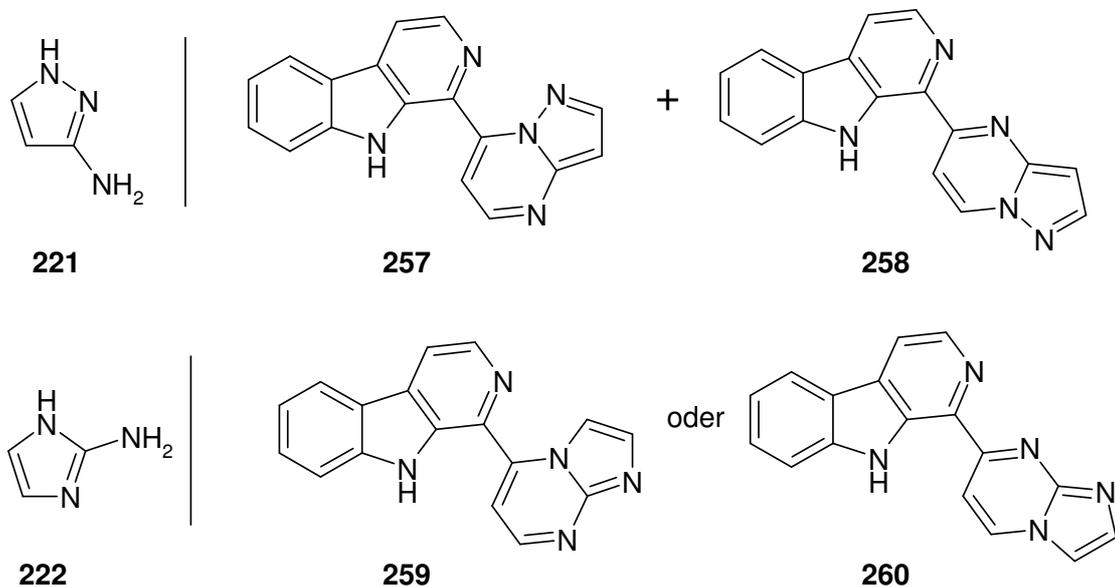
Auch hier verliefen fast alle Reaktionen erfolgreich. Nur die Reaktion mit **217** verlief nicht erfolgreich (Abb. 176).



**Abb. 176:** Synthetisierte Verbindungen **253**, **254** und **256**

Wie nach den Arbeiten zu den Carbazolen schon zu erwarten war, wurden bei der Reaktion mit **221** zwei isomere Bicyclen erhalten, von denen einer in ausreichender Reinheit isoliert werden konnte. Es handelte sich dabei um das Isomer **257**. Bei der Reaktion mit **222** entstand laut der Daten von NMR und GC-MS nur ein Produkt, dessen Struktur nicht eindeutig aufgeklärt werden konnte (Abb. 177). Auf-

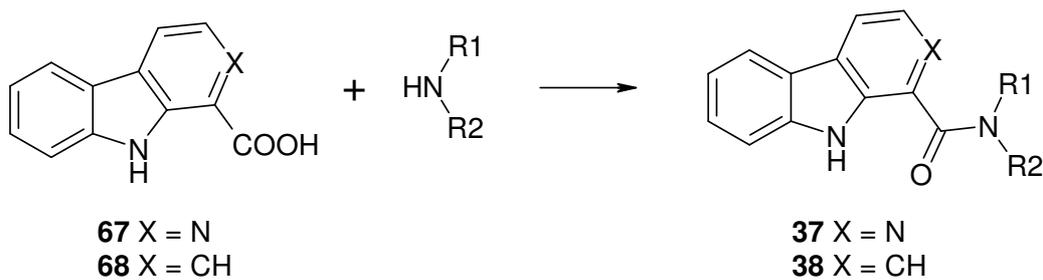
grund der Erfahrungen mit Verbindung **257** kann aber vermutet werden, dass **259** als Produkt entstanden ist.



**Abb. 177:** Produkte der Reaktion mit **221** bzw. **222**

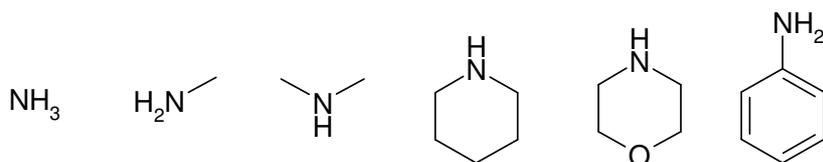
### 5.3. Synthese von Carbazol- und $\beta$ -Carbolincarbonsäureamiden

Zur Bildung der Säureamide mussten die jeweiligen Carbonsäuren zuerst hergestellt werden. Zur Amidbildung wurde fast immer CDI, in Ausnahmefällen DCC und HOBT verwendet (Abb. 178).



**Abb. 178:** Synthese der Säureamide

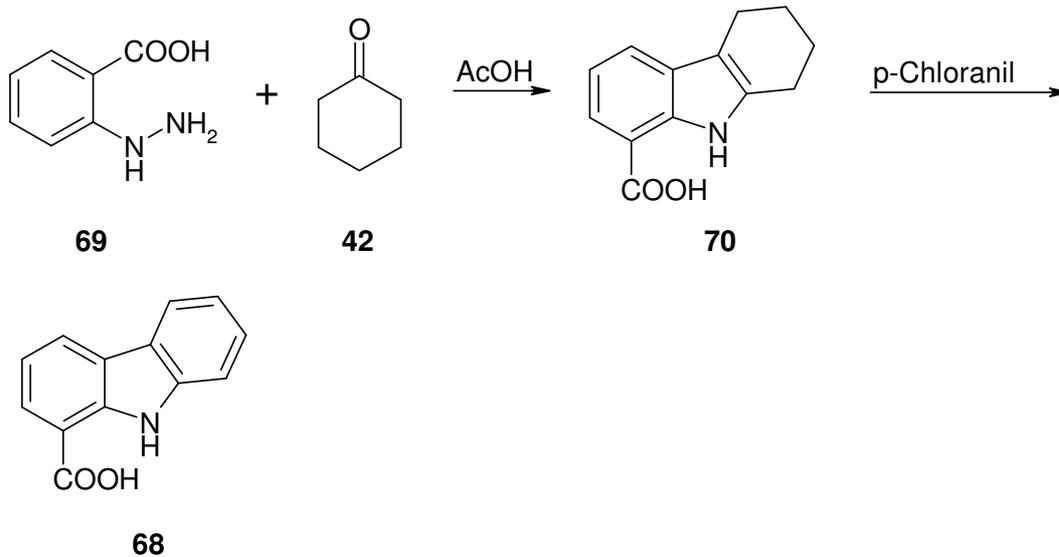
Die jeweiligen Carbonsäuren wurden mit folgenden Aminen versetzt (Abb. 179).



**Abb. 179:** Verwendete Amine für die Amidsynthese

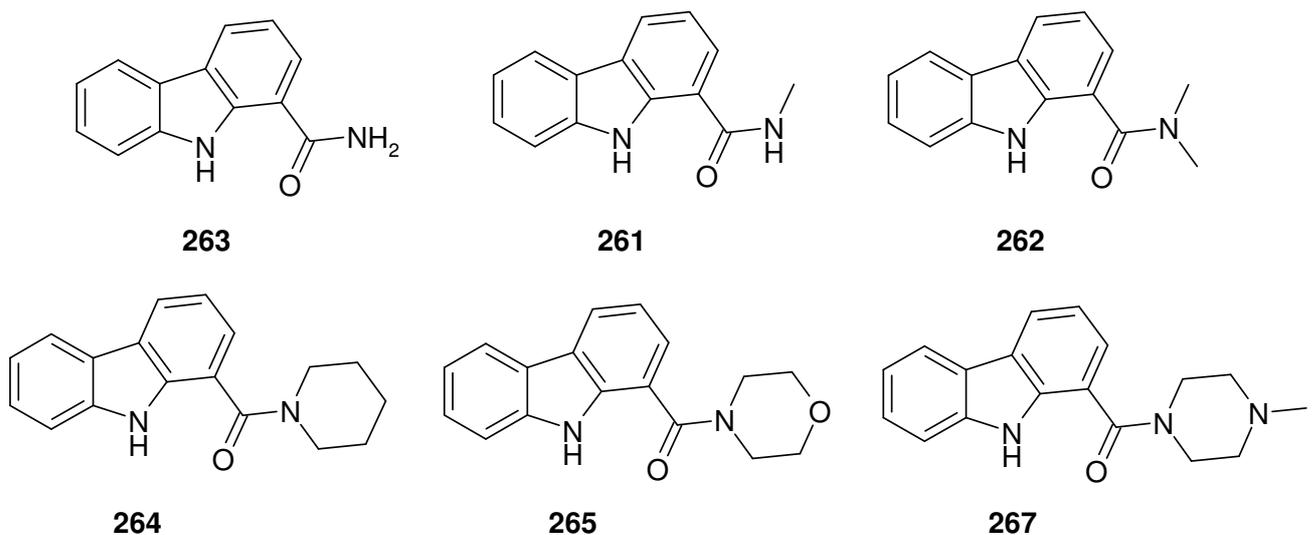
## 5.3.1. Synthese der Carbazolcarbonsäureamide

Die Carbazolcarbonsäure **68** wurde nach dem gleichen Prinzip aufgebaut wie 1-Bromcarbazol (**41**). 2-Hydrazinobenzoesäure (**69**) reagierte in einer Fischer-Indol-Synthese zum Tetrahydrocarbazol **70**, das mit Chloranil zur Carbonsäure **68** dehydriert wurde (Abb. 180).



**Abb. 180:** Bildung der Carbazolcarbonsäure **68**

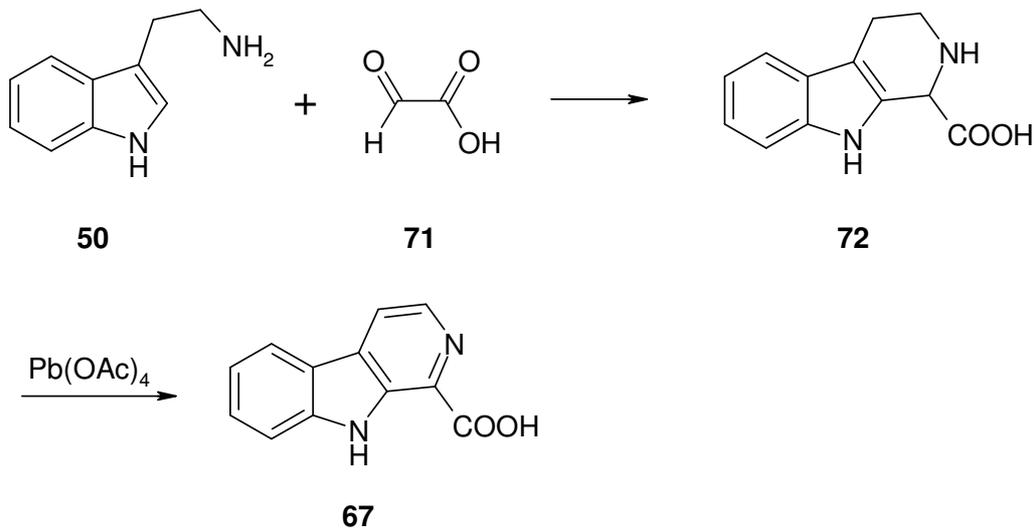
Fast alle Amine reagierten unter den angegebenen Bedingungen zu den entsprechenden Amiden. Nur mit Anilin konnte keine Reaktion bewerkstelligt werden (Abb. 181).



**Abb. 181:** Synthetisierte Carbazolcarbonsäureamide

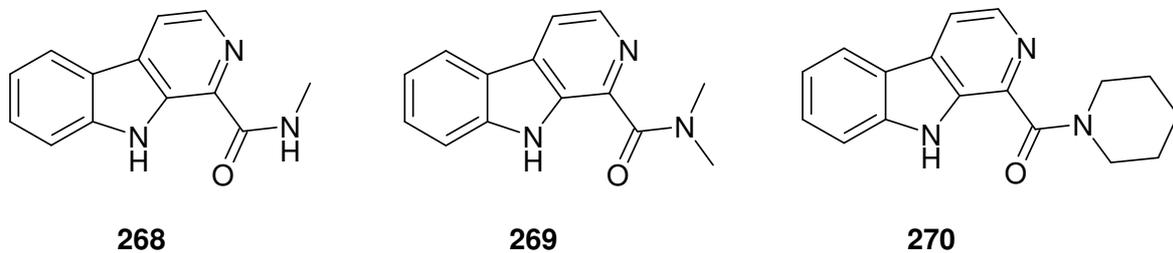
5.3.2. Synthese der  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamide

Die  $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäure (**67**) wurde mittels einer Pictet-Spengler-Reaktion von Tryptamin (**50**) mit Glyoxalaldehyd (**71**) gewonnen. Das dabei entstehende Tetrahydro- $\beta$ -carbolin **72** wurde mit Pb(IV)-acetat zur  $\beta$ -Carbolincarbonsäure oxidiert (Abb. 182).



**Abb. 182:** Synthese der  $\beta$ -Carbolincarbonsäure **67**

Das Problem bei dieser Reaktion bestand darin, dass bei der Oxidation auch Norharman entsteht, das die Aufarbeitung behinderte. Da das primäre Amid von Kast schon hergestellt worden war, wurde dieses nicht mehr synthetisiert. Die Reaktionen zum Methylamid **268**, Dimethylamid **269** und Piperidinamid **270** verliefen erfolgreich, allerdings nicht für das Morpholinamid, N-Methylpiperazinamid und das Anilid (Abb. 183).



**Abb. 183:** Synthetisierte  $\beta$ -Carbolincarbonsäureamide

## 5.4. Biologische Testung

Die synthetisierten Substanzen wurden einer Vielzahl an biologischen Tests unterzogen, wie Agar-Diffusions-, MTT- und diversen Kinase-Tests.

Im Agardiffusionstest zeigte sich, dass alle getesteten Verbindungen nur mäßige bis gar keine antimikrobielle Aktivität aufweisen. Die Aktivität der Desazaderivate war dabei verschwindend gering oder nicht vorhanden. Bei den N-substituierten Aminopyrimidyl-Derivaten konnte allein **253** mit einem breiten Spektrum gegenüber grampositiven, gramnegativen Bakterien, Hefen und Pilzen aufwarten. Der beste Wert konnte bei *Pseudomonas antimicrobia*, einem gramnegativen Bakterium, erzielt werden. Bei den Säureamiden zeigte lediglich **261** eine mäßige Wirkung gegen grampositive, gramnegative Bakterien, Hefen und Pilze. **262** hemmte hier fast selektiv und auch vergleichbar mit dem Standard *Pseudomonas antimicrobia*.

Die große Mehrheit der Verbindungen zeigte keine nennenswerte zytotoxische Aktivität im MTT-Test. Diejenigen Substanzen, die mit einem IC<sub>50</sub>-Wert <50 µM eine gute Aktivität besaßen, waren das Desaza-Derivat **29**, die N-substituierten Aminopyrimidyl-Carbazole **217/218** und **243/244** und das β-Carbolin **253**. Bei den Carbazol-Derivaten handelt es sich um Verbindungen, die eine SEM-Schutzgruppe tragen. Dabei ist interessant, dass die entschützten Verbindungen schlechter aktiv sind als die geschützten.

Im Acetyl-/Butyrylcholinesterase-Test kam keine Verbindung über die Vortests hinaus. Aber gute Tendenzen sind erkennbar, weil bei zwei strukturell sehr ähnlichen Derivaten eine große Aktivitätsverbesserung zu erkennen war, so dass hier weitere Analoga bessere Erfolge bringen könnten.

Im Sirtuin-Test konnte bei den Verbindungen **30**, **33** und **253** eine erhebliche Aktivierung von SIRT1 gemessen werden. Die größte Aktivierung verursachte **253**, danach kam **30** und die geringste Aktivierung von diesen drei Verbindungen zeigte **33**.

Im CDK1/Cyklin B-Histon H1 Kinase Assay wurde **29** im Vergleich zu Annomontin (**11**) auf CDK-Inhibition getestet. Erfreulicherweise hemmte **29** CDK1 im selben mikromolaren Bereich wie **11**. Dies zeigt, dass der β-Carbolin-Ring für die Aktivität nicht erforderlich ist. Inwieweit der Pyrimidin-Ring eine Rolle spielt, konnte aus diesem Assay nicht entschieden werden.

Im Hochdurchsatz-Screening des Structural Genomics Consortium (SGC) der Universität Oxford wurden die meisten Substanzen an diversen Kinasen getestet. Hier zeigte sich, dass nur zwei Verbindungen, nämlich **29** und **252**, Aktivität gegenüber mehreren Kinasen aufweisen. Alle anderen getesteten Verbindungen wiesen keine oder nur geringe Aktivitäten auf. Das Spektrum der beiden Verbindungen bei den Kinasen variiert nur sehr wenig, aber es ist zu sehen, dass **29** eine breitere Aktivität zeigt als **253**. Zudem ist erstaunlich, dass beide Substanzen gegenüber mehr Kinasen aktiv sind, als ihre „Muttermutterverbindung“ **11**.

Diese Ergebnisse bestätigen die Andeutungen aus dem MTT-Test, wo die Substanzen **29** und **253** zytotoxische Aktivität aufwiesen. Außerdem kann daraus geschlossen werden, dass der Aminopyrimidin-Ring für die Aktivität einen essenziellen Bestandteil darstellt, da die anderen Desaza-Derivate keine Aktivität aufweisen. Inwieweit der  $\beta$ -Carbolin- oder der Carbazol-Ring für die Aktivität eine Rolle spielen, kann aus diesen Ergebnissen nicht geschlossen werden.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Allgemeine Angaben zu Geräten und Arbeitstechniken

#### Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einer Schmelzpunktapparatur der Firma Büchi Melting Point B-540 ermittelt. Die Schmelzpunkte sind in °C angegeben.

#### Dünnschichtchromatographie

Es fanden DC Fertigfolien Polygram<sup>®</sup> SIL G/UV<sub>254</sub> (Schichtdicke 0,2 mm; Format 40 x 80 mm) der Firma Macherey-Nagel Verwendung. Die Detektion erfolgte durch Betrachten unter UV-Licht bei 254 und 366 nm, sowie durch Eintauchen in geeignete Anfärbereagenzien.

#### Elementaranalysen

Zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung der Verbindungen wurde der Elementaranalysator Rapid der Firma Heraeus eingesetzt.

#### IR-Spektren

Feststoffe wurden als KBr-Presslinge, ölige Substanzen als Film zwischen Natriumchlorid-Fenstern mit dem IR-Spektrometer Perkin-Elmer FT-IR Paragon 1000 vermessen.

#### Massenspektren

Die Spektren wurden mit dem Hewlett Packard 5989 A Mass Spectrometer mit folgenden Techniken aufgenommen: Elektronenstoß-Ionisation (EI) bei 70 eV Anregungsenergie oder Chemische Ionisation (CI) mit Methan als Reaktandgas. Für die Messung der hochauflösenden Massen wurde ebenfalls mit Elektronenstoß-Ionisation gearbeitet. Als Gerät wurde das GC/MS-System JMS-GCmate II eingesetzt.

### **NMR-Spektren**

Die Spektren wurden mit den Spektrometern Jeol GSX 400 ( $^1\text{H-NMR}$ : 400 MHz,  $^{13}\text{C-NMR}$ : 100 MHz) und Jeol JNM-R-GX 500 ( $^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz,  $^{13}\text{C-NMR}$ : 125 MHz) aufgenommen. Die in ppm angegebenen chemischen Verschiebungen  $\delta$  beziehen sich auf die  $\delta$ -Skala mit Tetramethylsilan (TMS,  $\delta = 0,00$  ppm) als internen Standard. Die Kopplungskonstanten  $J$  sind in Hz angegeben. Als Lösungsmittel wurden  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}_6$  und  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  verwendet.

### **Flash Säulen-Chromatographie (FSC)**

Für die säulenchromatographische Reinigung der Rohprodukte wurde Kieselgel 60, Korngröße 0,040 – 0,063 mm, der Firma Merck verwendet. Die jeweils eingesetzten Elutionsmittelzusammensetzungen finden sich bei den Beschreibungen der einzelnen Verbindungen. Bei den angegebenen Mischungsverhältnissen handelt es sich um Volumenanteile.

### **Trocknung von Lösungsmitteln**

Tetrahydrofuran (THF) wurde über Natrium-Benzophenon-Ketyl unter Rückfluss erhitzt und abdestilliert.

Toluol wurde über elementarem Natrium unter Rückfluss erhitzt und abdestilliert.

Dimethylformamid (DMF) wurde über Calciumhydrid unter Rückfluss erhitzt und abdestilliert.

Die anderen Lösungsmittel wurden in der handelsüblichen Qualität ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt.

### **Ausbeuten**

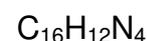
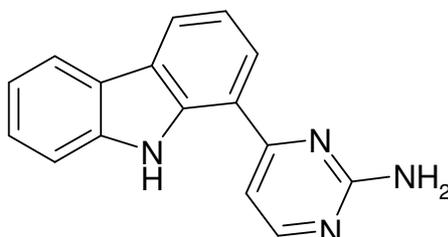
Die angegebenen Ausbeuten beziehen sich auf die säulenchromatographisch gereinigten Substanzen.

### **Software**

Als Software wurde Office XP (Firma Microsoft) und ISIS/Draw 2.5 (Firma MDL Information System) genutzt.

## 6.2. Beschreibung der Substanzen

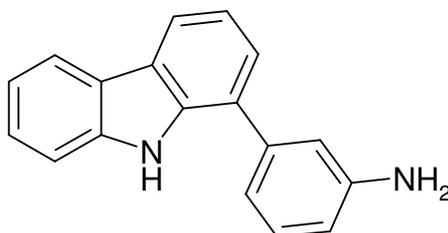
### 1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-9H-carbazol (29)



219 mg (0,56 mmol) **108** werden in 20 ml THF gelöst und mit 1 ml 40%-iger Flusssäure versetzt. Unter DC-Kontrolle wird bei RT solange gerührt bis das Edukt verschwunden ist. Die Lösung wird mit 10 ml Wasser versetzt und zwei mal mit je 20 ml Diethylether gewaschen. Die wässrige Phase wird mit 10 ml 1 M KOH alkalisiert und drei mal mit je 20 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan/Ethyldimethylamin 4:1+1%).

<b>Ausbeute:</b>	87,6 mg (60 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	220,5 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CD}_2\text{Cl}_2</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 11,15 (s, 1 H, N-H); 8,39 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H, 6'-H); 8,22 (dd, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 0,9$ Hz, 1 H, 4-H); 8,12 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H, 5-H); 8,00 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 0,9$ Hz, 1 H, 2-H); 7,59 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H, 8-H); 7,46 (dt, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1 H, 7-H); 7,32 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H, 5'-H); 7,31 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 3-H); 7,26 (dt, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 0,9$ Hz, 1 H, 6-H)	
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CD}_2\text{Cl}_2</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 166,1 (C-4'); 163,3 (C-2'); 158,9 (C-6'); 140,0 (C-8a); 139,1 (C-9a); 126,7 (C-7); 125,3 (C-4a); 124,8 (C-2); 123,6 (C-4); 122,8 (C-4b); 120,7 (C-5); 120,0 (C-	

	6); 119,2 (C-3); 118,4 (C-1); 111,6 (C-8); 107,5 (C-5')			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3448; 3371; 3290; 3151; 2924; 1625; 1573; 1543; 1458; 1319; 1264; 1221; 1113; 821; 794; 749; 626			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 260 [M] <sup>+</sup> (100); 244 (33); 219 (9); 130 (9)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 261 [M + H] <sup>+</sup> (100)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 73,83	H 4,65	N 21,52
	gef.	C 72,85	H 7,92	N 19,86

**1-(3-Aminophenyl)-9H-carbazol (30)**C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>M<sub>r</sub> = 258,33 g/mol

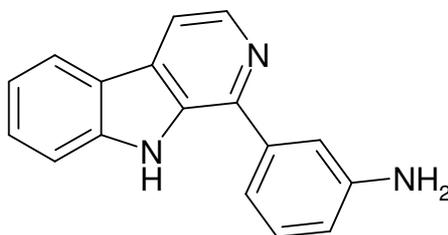
262 mg (1,06 mmol) **41** werden unter Stickstoffatmosphäre in 20 ml Toluol gelöst und mit 61,5 mg (0,05 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0), 735 mg (5,32 mmol) Kaliumcarbonat und 238 mg (1,28 mmol) 3-Aminophenylboronsäurehemisulfat versetzt. Die Lösung wird 7 d unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 20 ml Wasser versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Chloroform 3:2).

<b>Ausbeute:</b>	93 mg (34 %)	braunes Harz
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,38 (s, 1 H, N-H); 8,10 (d, $J$ = 7,8 Hz, 1 H, 5-H); 8,05 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1 H, 4-H); 7,49 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1 H, 8-H); 7,46 (dt, $J_1$ = 8,0 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 1 H, 7-H); 7,43 (dd, $J_1$ = 6,8 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 1 H, 2-H); 7,34 (t, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 5'-H); 7,30 (t, $J$ = 7,6 Hz, 1 H, 3-H); 7,27 (t, $J$ = 7,2 Hz, 1 H, 6-H); 7,08 (dd, $J_1$ = 7,6 Hz, $J_2$ = 1,2 Hz, 1 H, 6'-H); 6,98 (s, 1 H, 2'-H); 6,75 (dd, $J_1$ = 7,9 Hz, $J_2$ = 2,2 Hz, 1 H, 4'-H); 3,79 (bs, 2 H, -NH <sub>2</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 147,2 (C-3'); 140,2 (C-1'); 139,5 (C-8a); 137,3 (C-9a); 130,2 (C-5'); 126,6 (C-7); 125,5 (C-2); 125,2 (C-1); 124,6 (C-4a); 123,7 (C-4b); 120,6 (C-5); 120,1 (C-6); 119,8 (C-3); 119,4 (C-4); 118,6 (C-6'); 114,9 (C-2'); 114,3 (C-4'); 111,1 (C-8)	

## 6. Experimenteller Teil

---

<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3416; 3056; 2925; 1670; 1605; 1494; 1454; 1320; 1234; 1136; 1024; 785; 749; 699; 618; 570
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 258 [M] <sup>+</sup> (100); 247 (27); 166 (19); 139 (9); 128 (13); 114 (6); 94 (13); 83 (7); 69 (7); 55 (5)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 259 [M + H] <sup>+</sup> (100); 246 (18); 168 (12)
<b>HRMS:</b>	ber.: 258,1157 gef.: 258,1144

**1-(3-Aminophenyl)- $\beta$ -carbolin (33)**C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>M<sub>r</sub> = 259,31 g/mol

257 mg (1,04 mmol) **60** werden unter Stickstoffatmosphäre in 20 ml Toluol gelöst und mit 60,1 mg (0,05 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0), 719 mg (5,20 mmol) Kaliumcarbonat und 232 mg (1,24 mmol) 3-Aminophenylboronsäurehemisulfat versetzt. Die Lösung wird 7 d unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 20 ml Wasser versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Chloroform 3:2).

**Ausbeute:** 110 mg (41 %) brauner Feststoff

**Schmelzpunkt:** 175,2 °C

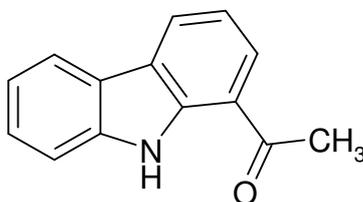
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 8,71 (s, 1 H, N-H); 8,54 (d,  $J$  = 5,3 Hz, 1 H, 3-H); 8,15 (d,  $J$  = 7,9 Hz, 1 H, 5-H); 7,92 (d,  $J$  = 5,2 Hz, 1 H, 4-H); 7,54 (t,  $J$  = 7,6 Hz, 1 H, 7-H); 7,48 (d,  $J$  = 8,1 Hz, 1 H, 8-H); 7,34 (t,  $J$  = 7,1 Hz, 1 H, 5'-H); 7,32 (d,  $J$  = 7,3 Hz, 1 H, 4'-H); 7,30 (t,  $J$  = 7,1 Hz, 1 H, 6-H); 7,26 (s, 1 H, 2'-H); 6,78 (ddd,  $J_1$  = 2,3 Hz,  $J_2$  = 2,6 Hz,  $J_3$  = 6,7 Hz, 1 H, 6'-H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 147,4 (C-1'); 143,2 (C-1); 140,3 (C-8a); 139,6 (C-3'); 139,4 (C-3); 133,5 (C-9a); 130,0 (C-5'); 129,7 (C-4a); 128,4 (C-7); 121,9 (C-4b); 121,8 (C-5); 120,2 (C-6); 118,0 (C-4'); 115,6 (C-6'); 114,8 (C-2'); 113,7 (C-4); 111,6 (C-8)

## 6. Experimenteller Teil

---

<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3483; 3388; 3060; 2923; 2853; 1621; 1564; 1477; 1416; 1316; 1232; 1067; 823; 795; 752
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 259 [M] <sup>+</sup> (100); 243 (9); 206 (3); 149 (3); 129 (8); 115 (6)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 260 [M + H] <sup>+</sup> (100)
<b>HRMS:</b>	ber.: 259,1109 gef.: 259,1138

**1-Acetyl-9H-carbazol (40)**C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NOM<sub>r</sub> = 209,25 g/mol

523 mg (2,13 mmol) 1-Brom-9H-carbazol (**41**) werden zusammen mit 74,8 mg (0,110 mmol) Bis-(Triphenylphosphin)-palladium-(II)-chlorid unter Stickstoffatmosphäre in 20 ml Toluol gelöst. Zu dieser Lösung werden 897 µl (2,66 mmol) Tributylethoxyvinylstannan zugetropft und die Mischung 13 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 3 ml 2M Salzsäure zugegeben und weitere 2 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz dreimal mit je 40 ml Ethylacetat ausgeschüttelt, die vereinigten organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 4:1).

<b>Ausbeute:</b>	270 mg (61 %)	hellgelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	126-127 °C (Lit. <sup>122</sup> 130-131 °C)	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 10,58 (s, 1 H, N-H); 8,29 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 4-H); 8,09 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H, 5-H); 7,97 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1 H, 2-H); 7,54 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1 H, 8-H); 7,47 (dt, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1 H, 7-H); 7,28 (t, $J = 7,2$ Hz, 1 H, 6-H); 7,26 (d, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1 H, 3-H); 2,75 (s, 3 H, CH <sub>3</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 200,3 (C=O); 140,0 (C-8a); 139,1 (C-9a); 128,0 (C-2); 126,7 (C-7); 126,2 (C-4); 125,0 (C-4a); 122,0 (C-4b); 120,5 (C-5); 120,2 (C-6); 119,3 (C-1); 118,3 (C-3); 111,4 (C-8); 26,7 (CH <sub>3</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 33358; 3052; 2958; 2925; 1649; 1623; 1595; 1586; 1571; 1491; 1452; 1342; 1262; 1222; 1201; 1133;	

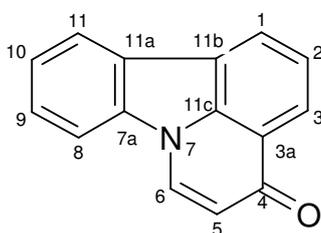
1011; 965; 748; 731; 599

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 209  $[M]^{+}$  (91); 194 (100); 180 (5);  
166 (53); 139 (28); 97 (111); 91 (13); 69 (16); 63 (7)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 210  $[M + H]^{+}$  (100) ; 168 (11)

<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 80,36	H 5,30	N 6,69
	gef.	C 76,20	H 5,46	N 6,09

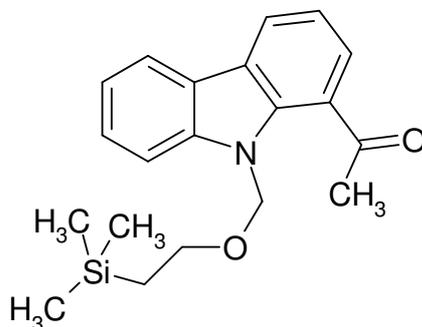
## Pyrido[3,2,1-jk]-9H-carbazol-4-on (45)

C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>NOM<sub>r</sub> = 219,25 g/mol

270 mg (1,29 mmol) **40** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und mit 533  $\mu$ l (2,58 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan (Bredereck's Reagenz) versetzt und 13 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 10 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und drei Mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Methylenchlorid/ Ethanol 9:1).

<b>Ausbeute:</b>	138 mg (49 %)	bräunlicher Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	141-142 °C (Lit. <sup>61</sup> 177-178 °C)	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,27 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, 1 H, 3-H); 8,24 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 6-H); 8,20 (dd, $J_1 = 7,4$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, 1 H, 1-H); 8,03 (dd, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 0,6$ Hz, 1 H, 11-H); 7,64 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H, 8-H); 7,61 (t, $J = 7,4$ Hz, 1 H, 2-H); 7,54 (dt, $J_1 = 7,4$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, 1 H, 9-H); 7,41 (dt, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, 1 H, 10-H); 6,50 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 5-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 179,9 (C=O); 138,1 (C-7a); 137,6 (C-11c); 131,6 (C-6); 127,9 (C-9); 126,0 (C-11a); 125,7 (C-11b); 124,9 (C-1); 124,8 (C-2); 124,3 (C-10); 124,1 (C-3); 123,2 (C-3a); 121,9 (C-11); 115,0 (C-5); 111,2 (C-8)	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3434; 2924; 2854; 1639; 1611; 1506; 1452; 1327; 1285; 1262; 1230; 1189; 1092; 1020; 798; 756	
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 219 [M] <sup>+</sup> (100); 191 (31); 164 (13);	

	138 (5); 96 (14); 82 (7); 69 (6)		
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 220 [M + H] <sup>+</sup> (100)		
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 82,18      H 4,14      N 6,39	
	gef.	C 81,16      H 5,15      N 6,08	

**1-Acetyl-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9H-carbazol (106)**C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>2</sub>SiM<sub>r</sub> = 339,51 g/mol

810 mg (3,87 mmol) **40** werden unter Stickstoffatmosphäre in 20 ml wasserfreiem THF und 20 ml DMF gelöst. Die Lösung wird auf 0 °C abgekühlt und mit 232 mg (5,81 mmol) Natriumhydrid versetzt und 30 min bei 0 °C gerührt. Es werden 1,10 ml (5,81 mmol) (2-Chloromethoxyethyl)-trimethylsilan (SEM-Cl) zugetropft und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird in Eiswasser geschüttelt und drei mal mit je 40 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 40 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und mit 40 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 8:2).

**Ausbeute:** 734 mg (56 %) hellgelber Feststoff

**Schmelzpunkt:** 71,2 – 72,3 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 8,24 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7,7 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,3 Hz, 1 H, 4-H); 8,09 (ddd, *J*<sub>1</sub> = 7,7 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,3 Hz, *J*<sub>3</sub> = 0,9 Hz, 1 H, 5-H); 7,69 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7,5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,2 Hz, 1 H, 2-H); 7,53 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H, 8-H); 7,50 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7,9 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,1 Hz, 1 H, 2-H); 7,31 (t, *J* = 7,5 Hz, 1 H, 3-H); 7,29 (dt, *J*<sub>1</sub> = 8,0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,2 Hz, 1 H, 6-H); 5,76 (s, 2 H, N-CH<sub>2</sub>-O); 3,09 (t, *J* = 8,3 Hz, 2 H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si); 0,71 (t, *J* = 8,3 Hz, 2 H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si); -0,18 (s, 9 H, -Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 201,3 (C=O); 142,1 (C-9a); 135,1 (C-8a);

## 6. Experimenteller Teil

---

126,6 (C-7 o. C-1); 126,5 (C-7 o. C-1); 126,1 (C-4a);  
125,8 (C-2); 123,3 (C-4); 122,7 (C-4b); 120,4 (C-6);  
120,2 (C-5); 118,9 (C-3); 109,6 (C-8); 73,0 (N-CH<sub>2</sub>-O);  
64,8 (O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si); 29,6 (CH<sub>3</sub>-C=O); 17,7 (O-CH<sub>2</sub>-  
CH<sub>2</sub>-Si); -1,6 (-Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)

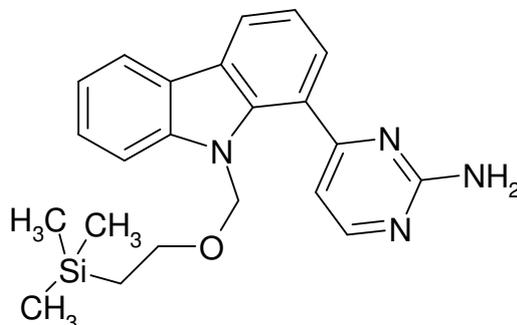
**IR (KBr):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3435; 3059; 3016; 2945; 2883; 1687; 1581;  
1421; 1319; 1303; 1250; 1223; 1072; 949; 928; 858

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 339 [M]<sup>+</sup> (7); 311 (8); 292 (7); 280  
(6); 266 (100); 238 (11); 222 (40); 193 (31); 180 (8); 166  
(6); 152 (6); 133 (8); 126 (9); 103 (6); 59 (6)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 340 [M + H]<sup>+</sup> (4); 282 (7); 222 (100);  
105 (12)

<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 70,76	H 7,42	N 4,13
	gef.	C 70,53	H 7,40	N 4,00

**1-(2-Aminopyrimidin-4-yl)-9-(2-trimethylsilanyl-ethoxymethyl)-9H-carbazol  
(108)**



$$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{OSi}$$

$$M_r = 390,56 \text{ g/mol}$$

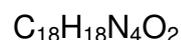
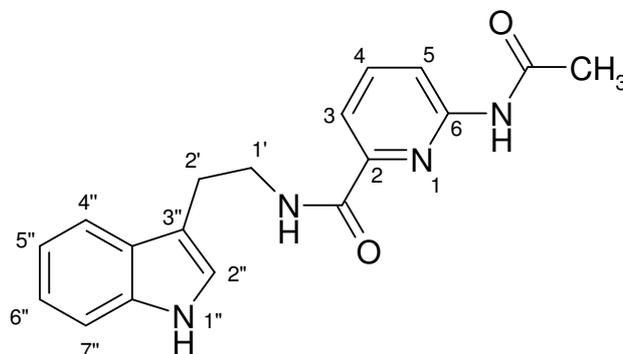
98,2 mg (0,29 mmol) **106** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 119  $\mu\text{l}$  (0,57 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 156 mg (0,87 mmol) Guanidiniumcarbonat und mit 80,0 mg (0,57 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 10 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Methylenchlorid/Ethanol 9:1).

<b>Ausbeute:</b>	64,5 mg (81 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	136,6 – 137,7 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,40 (d, $J = 5.0$ Hz, 1 H, 6'-H); 8,17 (dd, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1 H, 4-H); 8,09 (ddd, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, $J_3 = 0,9$ Hz, 1 H, 5-H); 7,52 (d, $J = 8,2$ Hz, 1 H, 8-H); 7,48 (dt, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1 H, 7-H); 7,42 (dd, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,3$ Hz, 1 H, 2-H); 7,33 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 3-H); 7,29 (dt, $J_1 = 6,7$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1 H, 6-H); 6,97 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H, 5'-H); 5,56 (s, 2 H, N-CH <sub>2</sub> -O); 3,06 (t, $J = 8,3$ Hz, 2 H, O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si); 0,66 (t, $J = 8,3$ Hz, 2 H, O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si); -0,17 (s, 9 H, Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )	

## 6. Experimenteller Teil

---

<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 168,2 (C-4'); 162,4 (C-2'); 158,4 (C-6'); 141,9 (C-8a); 136,9 (C-9a); 128,2 (C-2); 126,4 (C-7); 125,7 (C-4a); 123,8 (C-1); 123,4 (C-4b); 121,5 (C-4); 120,4 (C-6); 120,2 (C-5); 119,9 (C-3); 112,2 (C-5'); 110,2 (C-8); 73,8 (N-CH <sub>2</sub> -O); 65,2 (O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si); 17,8 (O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si); -1,5 (Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3319; 3170; 2951; 2895; 1660; 1568; 1479; 1456; 1248; 1215; 1070; 860; 835; 752			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 390 [M] <sup>+</sup> (3); 317 (35); 301 (13); 289 (100); 273 (35); 261 (99); 244 (8); 231 (9); 229 (9); 204 (8); 151 (6)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 391 [M + H] <sup>+</sup> (17); 289 (11); 273 (100); 105 (6)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 67,66	H 6,71	N 14,35
	gef.	C 66,09	H 6,84	N 14,01

**6-Acetylamino-pyridin-2-carbonsäure-[2-(1*H*-indol-3-yl)-ethyl]-amid (130)**

210 mg (1,31 mmol) Tryptamin (**50**) werden in 10 ml Acetonitril gelöst und 215 mg (1,19 mmol) 6-Acetamidopyridin-2-carbonsäure (**114**) und 1249 mg (4,76 mmol) Triphenylphosphin zugegeben. Man rührt 15 min bei Raumtemperatur und versetzt mit 1 ml Tetrachlorkohlenstoff und 181 mg (1,31 mmol) Kaliumcarbonat. Man rührt 12 h bei Raumtemperatur und erhitzt danach 16 h unter Rückfluss. Man gießt in 40 ml Wasser und extrahiert drei mal mit je 50 ml Chloroform. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Chloroform 3:2).

**Ausbeute:** 255 mg (66 %) hellbrauner Feststoff

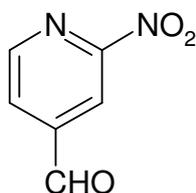
**Schmelzpunkt:** 183,5 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** δ (ppm) = 8,28 (s, 1 H, Indol N-H); 8,27 (bs, 1 H, 5-H); 7,91 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7,6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 0,8 Hz, 1 H, 3-H); 7,82 (t, *J* = 7,9 Hz, 1 H, 4-H); 7,68 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H, 4''-H); 7,41 (d, *J* = 8,2 Hz, 1 H, 7''-H); 7,24 (dt, *J*<sub>1</sub> = 7,6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,1 Hz, 1 H, 6''-H); 7,14 (dt, *J*<sub>1</sub> = 7,5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,0 Hz, 1 H, 5''-H); 7,08 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H, 2''-H); 3,77 (txd, *J* = 6,5 Hz, 2 H, 1'-H); 3,09 (t, *J* = 6,6 Hz, 1 H, 2'-H); 2,19 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-CO-)

**<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** δ (ppm) = 168,7 (CH<sub>3</sub>-C=O-); 163,7 (-NH-C=O-); 149,7 (C-

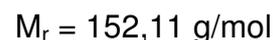
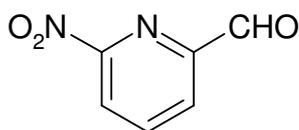
---

	6); 147,9 (C-2); 139,8 (C-4); 136,4 (C-7a''); 127,7 (C-3a''); 122,3 (C-2''); 122,1 (C-6''); 119,2 (C-5''); 119,2 (C-4''); 118,1 (C-3); 116,3 (C-5); 113,2 (C-3''); 111,4 (C-7''); 40,4 (C-1'); 25,1 (C-2'); 24,7 (CH <sub>3</sub> - <u>C</u> O)			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3327; 2928; 2850; 1626; 1577; 1534; 1450; 1396; 1309; 1243; 1088; 892; 827; 745; 641			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 322 [M] <sup>+</sup> (8); 277 (5); 192 (4); 180 (13); 163 (10); 143 (100); 130 (48); 103 (9); 93 (19); 77 (11); 66 (5)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 323 [M + H] <sup>+</sup> (100); 305 (7); 279 (11); 186 (12); 143 (13)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 66,65	H 6,21	N 17,27
	gef.	C 66,09	H 7,77	N 14,16

**2-Nitro-pyridin-4-carbaldehyd (174)**M<sub>r</sub> = 152,11 g/mol

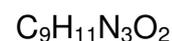
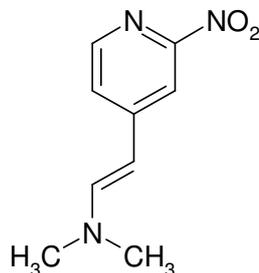
1,05 g (5,43 mmol) **182** werden in 75 ml 50 prozentigem, wässrigem THF gelöst und mit 3,48 g (16,3 mmol) Natriummetaperiodat versetzt und 7 h bei RT gerührt. Der erhaltene Rückstand wird abfiltriert und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wird drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:1).

<b>Ausbeute:</b>	379 mg (46 %)	hellgelbes Harz
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	δ (ppm) = 10,23 (s, 1 H, -CHO); 8,94 (d, <i>J</i> = 4,8 Hz, 1 H, 6-H); 8,68 (s, 1 H, 3-H); 8,14 (dd, <i>J</i> <sub>1</sub> = 1,3 Hz, <i>J</i> <sub>2</sub> = 4,6 Hz, 1 H, 5-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	δ (ppm) = 188,6 (-CHO); 157,0 (C-4); 150,7 (C-6); 145,4 (C-2); 127,6 (C-5); 116,9 (C-3)	
<b>IR (NaCl):</b>	ν̄ (cm <sup>-1</sup> ) = 3401; 3101; 2926; 1722; 1549; 1353; 1248; 1161; 1081; 1009; 872; 749; 659	
<b>MS (EI):</b>	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 152 [M] <sup>+</sup> (11); 151 (70); 122 (28); 106 (100); 94 (35); 57 (34); 51 (73)	
<b>MS (CI):</b>	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 153 [M + H] <sup>+</sup> (100); 124 (3); 120 (3)	
<b>HRMS:</b>	ber.: 151,0144 gef.: 151,0144	

**6-Nitro-pyridin-2-carbaldehyd (175)**

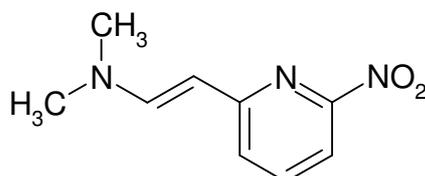
707 mg (3,66 mmol) **183** werden in 50 ml 50 prozentigem, wässrigem THF gelöst und mit 2348 mg (10,98 mmol) Natriummetaperiodat versetzt und 7 h bei RT gerührt. Der erhaltene Rückstand wird abfiltriert und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wird drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 20 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:1).

<b>Ausbeute:</b>	165 mg (30 %)	hellgelbes Harz
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 10,16 (s, 1 H, - $\text{CHO}$ ); 8,51 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 7,9$ Hz, 1 H, 5-H); 8,34 (dd, $J_1 = 1,1$ Hz, $J_2 = 7,6$ Hz, 1 H, 3-H); 8,29 (dt, $J_1 = 0,8$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, 1 H, 4-H)	
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 190,7 (- $\text{CHO}$ ); 156,8 (C-6); 151,7 (C-2); 151,5 (C-4); 126,2 (C-3); 122,1 (C-5)	
<b>IR (NaCl):</b>	$\tilde{\nu}$ ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3099; 2925; 2854; 1727; 1716; 1547; 1356; 1271; 1145; 1077; 995; 903; 818; 741	
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 152 [ $\text{M}]^{+\bullet}$ (20); 151 (100); 123 (57); 106 (92); 85 (69); 57 (72)	
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 153 [ $\text{M} + \text{H}]^+$ (100); 133 (9); 119 (9);	

**N,N-Dimethyl-[2-(2-nitro-pyridin-4-yl)-vinyl]-amin (182)**

4089 mg (2,96 mmol) **152** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml DMF gelöst, mit 917  $\mu$ l (4,44 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt und 15 h bei 140 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand mit Isohexan gewaschen. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 4:1).

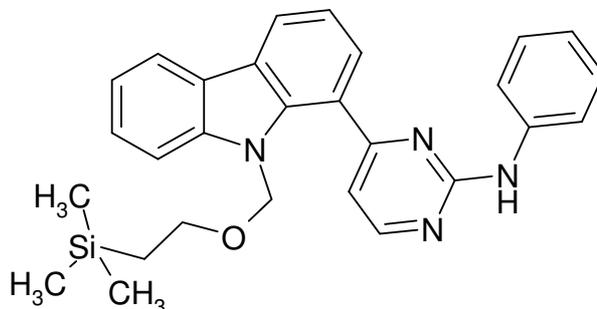
<b>Ausbeute:</b>	370 mg (65 %)	roter Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	98,6 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,18 (d, $J$ = 5,2 Hz, 1 H, 6'-H); 7,85 (d, $J$ = 1,6 Hz, 1 H, 3'-H); 7,21 (d, $J$ = 13,5 Hz, 1 H, 1-H); 7,16 (dd, $J_1$ = 1,7 Hz, $J_2$ = 5,2 Hz, 1 H, 5'-H); 5,06 (d, $J$ = 13,5 Hz, 1 H, 2-H); 2,97 (s, 6 H, -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 158,0 (C-2'); 152,5 (C-4'); 148,2 (C-6'); 145,3 (C-1); 121,9 (C-5'); 110,4 (C-3'); 92,6 (C-2); 40,7 (-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3424, 3064; 3034; 2910; 1635; 1609; 1597; 1539; 1438; 1397; 1374; 1357; 1299; 1286; 1116; 988; 953; 839; 830	
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 193 [M] <sup>+</sup> (100); 147 (76); 132 (15); 107 (14); 81 (25); 77 (12); 51 (7)	
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 194 [M + H] <sup>+</sup> (100); 179 (3)	
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 55,95      H 5,74      N 21,75
	gef.	C 55,77      H 5,33      N 21,06

**N,N-Dimethyl-[2-(6-nitro-pyridin-2-yl)-vinyl]-amin (183)**

379 mg (2,74 mmol) **154** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml DMF gelöst, mit 849 µl (4,11 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt und 15 h bei 140 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand mit Isohexan gewaschen. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 4:1).

<b>Ausbeute:</b>	241 mg (46 %)	roter Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	92,2 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	δ (ppm) = 7,62 (d, <i>J</i> = 13,0 Hz, 1 H, 1-H); 7,61 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1 H, 4'-H); 7,58 (dd, <i>J</i> <sub>1</sub> = 1,6 Hz, <i>J</i> <sub>2</sub> = 8,0 Hz, 1 H, 5'-H); 7,12 (dd, <i>J</i> <sub>1</sub> = 1,6 Hz, <i>J</i> <sub>2</sub> = 7,0 Hz, 1 H, 3'-H); 5,17 (d, <i>J</i> = 13,0 Hz, 1 H, 2-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	δ (ppm) = 158,2 (C-2'); 155,6 (C-6'); 145,2 (C-1); 137,4 (C-4'); 122,2 (C-3'); 108,7 (C-5'); 92,5 (C-2); 39,5 (-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	ν̃ (cm <sup>-1</sup> ) = 3423; 3088; 2923; 1631; 1602; 1541; 1459; 1414; 1388; 1355; 1254; 1159; 1100; 990; 815; 743; 690	
<b>MS (EI):</b>	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 193 [M] <sup>+</sup> • (91); 176 (100); 146 (78); 131 (72); 104 (17); 81 (38); 77 (31); 51 (18)	
<b>MS (CI):</b>	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 194 [M + H] <sup>+</sup> (100); 167 (6); 147 (5)	
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 55,95      H 5,74      N 21,75
	gef.	C 55,80      H 4,33      N 18,95

**1-[2-(Phenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9H-carbazol (226)**



$$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{OSi}$$

$$M_r = 466,66 \text{ g/mol}$$

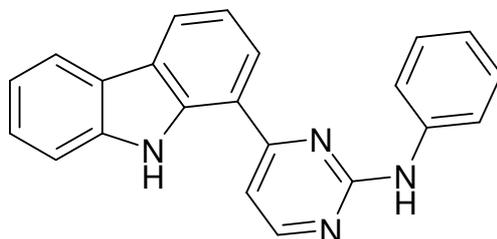
295 mg (0,87 mmol) **106** werden unter Stickstoffatmosphäre in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 413  $\mu\text{l}$  (1,74 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 517 mg (2,61 mmol) N-Phenylguanidiniumnitrat und mit 241 mg (1,74 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 8:1).

<b>Ausbeute:</b>	350 mg (86 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	103,2 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,54 (d, $J = 4,9$ Hz, 1 H, 6'-H); 8,20 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1 H, 4-H); 8,12 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H, 5-H); 7,68 (dd, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,53-7,48 (m, 3 H, 2-H, 7-H, 8-H); 7,36-7,31 (m, 4 H, 4-H, 6-H, 3''-H, 5''-H); 7,09 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H, 5'-H); 7,03 (dt, $J_1 = 7,4$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1 H, 4''-H), 5,57 (s, 2 H, -N-CH <sub>2</sub> -O-); 3,05 (t, $J = 8,3$ Hz, 2 H, -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); 0,64 (t, $J = 8,3$ Hz, 2 H, -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); -0,20 (s, 9 H, -Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )	

---

<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 167,7 (C-4'); 159,5 (C-2'); 157,9 (C-6'); 141,9 (C-8a); 139,6 (C-1''); 137,0 (C-9a); 129,0 (C-3'', C-5''); 128,3 (C-2); 126,4 (C-7); 125,8 (C-4a); 123,4 (C-4b); 122,6 (C-1); 122,5 (C-4''); 121,4 (C-4); 120,4 (C-6); 120,1 (C-5); 119,9 (C-3); 119,0 (C-2'', C-6''); 113,0 (C-5'); 110,1 (C-8); 73,8 (-N- <u>C</u> H <sub>2</sub> -O-); 65,1 (-O- <u>C</u> H <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); 17,7 (-O-CH <sub>2</sub> - <u>C</u> H <sub>2</sub> -Si-); -1,6 (-Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3252; 3057; 2921; 2870; 1604; 1567; 1498; 1441; 1410; 1330; 1248; 1213; 1066; 997; 829; 751; 694			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 466 [M] <sup>+</sup> (1); 393 (19); 377 (7); 365 (100); 349 (26), 337 (97); 271 (7); 204 (5)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 467 [M + H] <sup>+</sup> (16); 365 (39); 349 (100); 337 (7); 222 (9); 180 (21); 105 (12)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 72,07	H 6,48	N 12,01
	gef.	C 72,07	H 6,48	N 11,60

## 1-[2-(Phenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9H-carbazol (227)

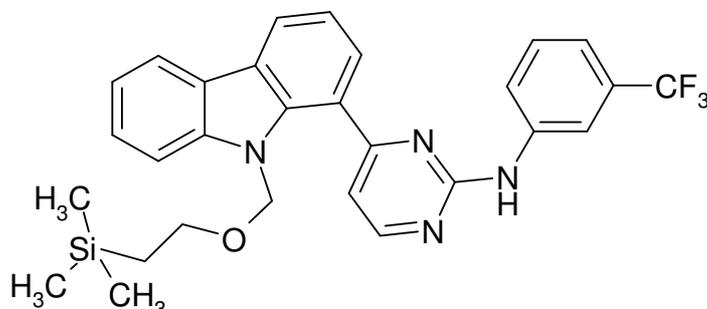
C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>M<sub>r</sub> = 336,40 g/mol

190 mg (0,41 mmol) **226** werden in 20 ml THF gelöst und mit 1,0 ml 40%-iger Flusssäure versetzt. Der Ansatz wird bei RT 16 h gerührt. Die Lösung wird mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:4).

<b>Ausbeute:</b>	77 mg (56 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	144,8 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 11,76 (s, 1 H, N-H); 9,94 (s, 1 H, N-H); 8,60 (d, $J$ = 5,4, Hz, 1 H, 6'-H); 8,37 (d, $J$ = 7,6 Hz, 1 H, 4-H); 8,25 (d, $J$ = 7,8 Hz, 1 H, 2-H); 8,23 (d, $J$ = 7,8 Hz, 1 H, 5-H); 7,83 (d, $J$ = 7,8 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,68 (d, $J$ = 5,4 Hz, 2 H, 8-H, 5'-H); 7,51 (dt, $J_1$ = 7,6 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 1 H, 7-H); 7,41 (t, $J$ = 7,9 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7,35 (t, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 3-H); 7,26 (t, $J$ = 7,6 Hz, 1 H, 6-H); 7,08 (t, $J$ = 7,4 Hz, 1 H, 4''-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 164,3 (C-4'); 159,7 (C-2'); 158,1 (C-6'); 140,2 (C-1''); 139,6 (C-8a); 137,6 (C-9a); 128,8 (C-3'', C-5''); 126,2 (C-7); 124,7 (C-2); 124,3 (C-4a); 123,5 (C-4); 121,8 (C-4b); 121,7 (C-4''); 120,3 (C-5); 119,3 (C-6, C-2'', C-6''); 118,6 (C-3); 117,8 (C-1); 111,5 (C-8); 107,4 (C-5')	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3375; 2924; 2854; 1597; 1552; 1525; 1445;	

	1421; 1261; 1226; 1136; 997; 786; 744; 696; 626			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 336 [M] <sup>+</sup> (63); 320 (9); 219 (9); 191 (9); 182 (15); 167 (22); 125 (20); 111 (28); 97 (34); 83 (40); 57 (100); 55 (66)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 337 [M + H] <sup>+</sup> (100); 304 (23); 243 (37); 226 (13); 212 (16); 198 (23); 182 (38); 168 (51); 159 (33); 135 (34); 125 (37); 111 (41); 105 (12)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 78,55	H 4,79	N 16,65
	gef.	C 77,84	H 5,66	N 15,19

**1-[2-(3-Trifluormethylphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9H-carbazol (228)**



$C_{29}H_{29}F_3N_4OSi$

$M_r = 534,66 \text{ g/mol}$

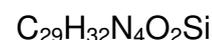
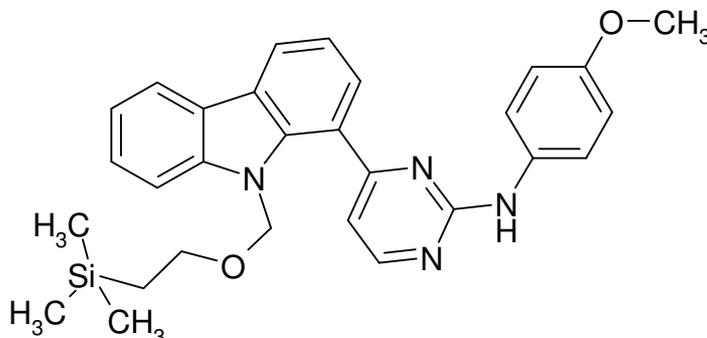
200 mg (0,59 mmol) **106** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 247  $\mu\text{l}$  (1,18 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 479 mg (1,77 mmol) N-(3-Trifluormethyl-phenyl)-guanidiniumnitrat und mit 245 mg (1,77 mmol)  $K_2CO_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $MgSO_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 8:2).

<b>Ausbeute:</b>	141 mg (44 %)	oranger Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	120,1 °C	
<b><math>^1H</math>-NMR (<math>CDCl_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,57 (d, $J = 4,9 \text{ Hz}$ , 1 H, 6'-H); 8,20 (dd, $J_1 = 7,7 \text{ Hz}$ , $J_2 = 1,4 \text{ Hz}$ , 1 H, 4-H); 8,12 (d, $J = 7,7 \text{ Hz}$ , 5-H); 8,08 (bs, 1 H, 2''-H); 7,82 (dd, $J_1 = 8,0 \text{ Hz}$ , $J_2 = 1,9 \text{ Hz}$ , 1 H, 6''-H); 7,53-7,47 (m, 3 H, 2-H, 7-H, 8-H); 7,46 (s, 1 H, N-H); 7,40 (t, $J = 8,0 \text{ Hz}$ , 1 H, 5''-H); 7,36 (t, $J = 7,6 \text{ Hz}$ , 1 H, 3-H); 7,31 (dt, $J_1 = 7,8 \text{ Hz}$ , $J_2 = 1,5 \text{ Hz}$ , 1 H, 6-H); 7,27 (d, $J = 7,8 \text{ Hz}$ , 1 H, 4''-H); 7,16 (d, $J = 5,0 \text{ Hz}$ , 1 H, 5'-H); 5,55 (s, 2 H, -N-CH <sub>2</sub> -O-); 3,04 (t, $J = 8,3 \text{ Hz}$ , 2 H, -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); 0,63 (t, $J = 8,3 \text{ Hz}$ , 2 H, -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-	

---

	); -0,21 (s, 9 H, -Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )			
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 167,9 (C-4'); 159,2 (C-2'); 157,9 (C-6'); 142,0 (C-8a); 140,1 (C-1''); 137,0 (C-9a); 130,2 (C-3''); 129,5 (C-5''); 128,4 (C-2); 126,5 (C-7); 125,8 (C-4a); 125,2 (-CF <sub>3</sub> ); 123,7 (C-1); 123,4 (C-4b); 121,8 (C-6''); 121,7 (C-4); 120,5 (C-6); 120,1 (C-5); 119,9 (C-3); 118,8 (C-4''); 115,5 (C-2''); 113,7 (C-5'); 110,2 (C-8); 73,9 (-N-CH <sub>2</sub> -O-); 65,2 (-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); 17,7 ((-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); -1,7 (s, 9 H, -Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3267; 3070; 2951; 2918; 2876; 1571; 1456; 1439; 1413; 1334; 1181; 1162; 1120; 1070; 997; 861; 836; 794; 751; 698			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 534 [M] <sup>+</sup> (1); 461 (16); 433 (100); 405 (94); 384 (11); 271 (6); 247 (7)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 535 [M + H] <sup>+</sup> (12); 433 (21); 417 (100); 269 (32); 105 (17)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 65,15	H 5,47	N 10,48
	gef.	C 65,08	H 5,50	N 10,22

**1-[2-(4-Methoxyphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9-(2-trimethylsilyloxyethyl)-9H-carbazol (229)**



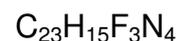
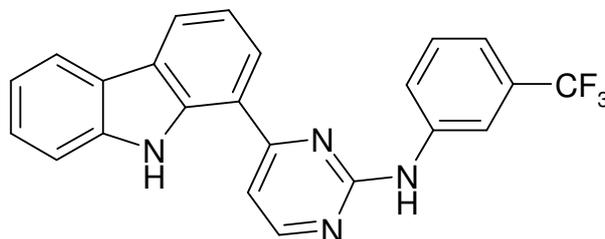
200 mg (0,58 mmol) **106** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 239  $\mu\text{l}$  (1,16 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 395 mg (1,74 mmol) N-(4-Methoxyphenyl)-guanidiniumnitrat und mit 241 mg (1,53 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 8:2).

<b>Ausbeute:</b>	140 mg (49 %)	roter Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	85,0 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,49 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H, 6'-H); 8,19 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1 H, 5-H); 8,11 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H, 4-H); 7,55 (d, $J = 9,1$ Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,52 (d, $J = 8,2$ Hz, 1 H, 8-H); 7,50-7,46 (m, $J_1 = 6,9$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 2 H, 2-H, 7-H); 7,35 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 3-H); 7,30 (t, $J = 7,4$ Hz, 1 H, 6-H); 7,19 (s, 1 H, N'-H); 7,03 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H, 5'-H); 6,87 (d, $J = 9,1$ Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H); 5,57 (s, 2 H, -N-CH <sub>2</sub> -O-); 3,79 (s, 3 H, -O-CH <sub>3</sub> ); 3,06 (t, $J = 8,3$	

---

	Hz, 2 H, O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); 0,65 (t, $J = 8,2$ Hz, 2 H, -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); -0,19 (s, 9 H, Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )			
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 167,7 (C-4'); 159,8 (C-2'); 158,0 (C-6'); 155,5 (C-4''); 141,9 (C-9a); 137,0 (C-8a); 132,6 (C-1''); 128,3 (C-7); 126,4 (C-2); 125,6 (C-4a); 123,9 (C-1); 123,4 (C-4b); 121,4 (C-5, C-2'', C-6''); 120,4 (C-3); 120,1 (C-4); 119,8 (C-6); 114,2 (C-3'', C-5''); 112,6 (C-5'); 110,2 (C-8); 73,8 (-N-CH <sub>2</sub> -O-); 65,1 (-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); 55,5 (-O-CH <sub>3</sub> ); 17,7 (-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Si-); -1,6 (-Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3424; 2924; 1578; 1509; 1453; 1423; 1240; 1071; 1035; 828; 751; 696; 621			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 496 [M] <sup>+</sup> (3); 429 (7); 423 (7); 395 (100); 379 (28); 367 (100); 271 (32)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 497 [M + H] <sup>+</sup> (6); 395 (9); 379 (100); 105 (11)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 70,13	H 6,49	N 11,28
	gef.	C 70,34	H 7,06	N 10,12

## 1-[2-(3-Trifluormethylphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9H-carbazol (230)

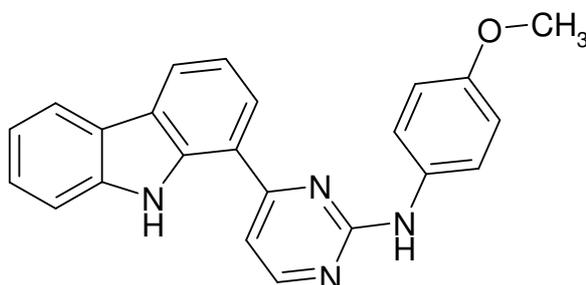


41 mg (0,080 mmol) **228** werden in 10 ml THF gelöst und mit 1,0 ml 40%-iger Flusssäure versetzt. Der Ansatz wird bei RT 16 h gerührt. Die Lösung wird mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung neutralisiert und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:1).

<b>Ausbeute:</b>	18 mg (56 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	205,3 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 10,74 (s, 1 H, 9-N-H); 8,55 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H, 6'-H); 8,24 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 4-H); 8,11 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 5-H); 8,02 (dd, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 0,6$ Hz, 1 H, 2-H); 7,99 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H, 6''-H); 7,83 (s, 1 H, 2''-H); 7,59 (t, $J = 7,9$ Hz, 1 H, 5''-H); 7,51 (d, $J = 8,2$ Hz, 2 H, N-H, 4''-H); 7,48 (d, $J = 5,5$ Hz, 1 H, 5'-H); 7,44 (dt, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1 H, 7-H); 7,33 (t, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 3-H); 7,26 (dt, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1 H, 6-H), 7,20 (d, $J = 8,2$ Hz, 1 H, 8-H)	
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 165,5 (C-4'); 158,4 (C-6'); 156,6 (C-2'); 139,9 (C-1''); 139,5 (C-8a); 138,5 (C-9a); 132,9 (C-3''); 129,9 (C-5''); 126,3 (C-7); 125,1 (C-4a); 124,4 (C-2); 124,3 (C-6'', $\text{CF}_3$ ); 123,7 (C-4); 122,3 (C-4b); 120,3 (C-5); 120,1 (C-4''); 119,7 (C-6); 118,9 (C-3); 117,8 (C-2''); 117,7 (C-	

	1); 111,0 (C-8); 108,8 (C-5')
<b>IR (NaCl):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3362; 3254; 2924; 2853; 1740; 1590; 1552; 1448; 1419; 1338; 1325; 1264; 1235; 1224; 1166; 1127; 1068; 1000; 796; 748; 627
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 404 [M] <sup>+</sup> (100); 388 (22); 219 (7); 167 (11);
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 405 [M + H] <sup>+</sup> (100); 300 (6); 290 (12); 127 (9)

## 1-[2-(4-Methoxyphenylamino)-pyrimidin-4-yl]-9H-carbazol (231)

C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>OM<sub>r</sub> = 366,43 g/mol

83 mg (0,17 mmol) **229** werden in 20 ml THF gelöst und mit 1,0 ml 40%-iger Flusssäure versetzt. Der Ansatz wird bei RT 16 h gerührt. Die Lösung wird mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:1).

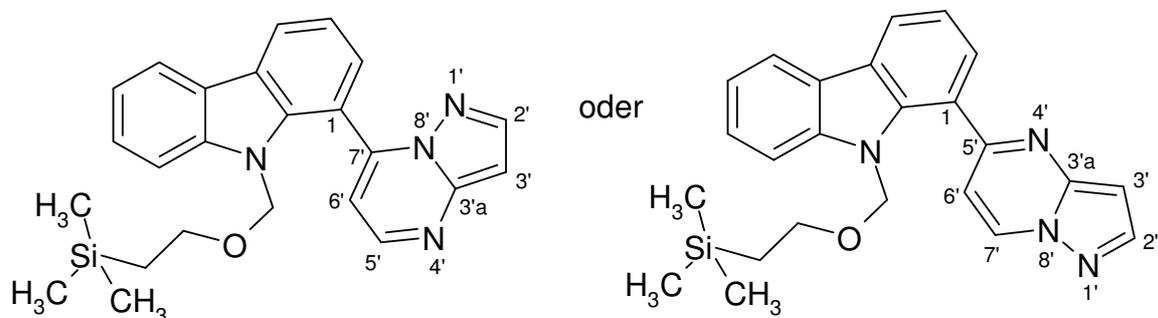
<b>Ausbeute:</b>	46 mg (74 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	235,1 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 11,70 (s, 1 H, 9-N-H); 9,75 (s, 1 H, N-H); 8,54 (d, $J$ = 5,4 Hz, 1 H, 6'-H); 8,36 (d, $J$ = 7,5 Hz, 1 H, 4-H); 8,23 (d, $J$ = 7,5 Hz, 1 H, 2-H); 8,22 (d, $J$ = 7,9 Hz, 5-H); 7,67 (d, $J$ = 8,6 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,61 (d, $J$ = 5,5 Hz, 1 H, 6'-H); 7,50 (t, $J$ = 7,5 Hz, 1 H, 7-H); 7,34 (t, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 3-H); 7,25 (t, $J$ = 7,5 Hz, 1 H, 6-H); 7,01 (d, $J$ = 8,7 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 3,80 (s, 3 H, -O-CH <sub>3</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 165,2 (C-4'); 160,9 (C-2'); 158,4 (C-6'); 155,0 (C-4''); 139,6 (C-8a); 137,8 (C-9a); 133,2 (C-1''); 126,3 (C-7); 124,8 (C-2); 124,5 (C-4a); 123,5 (C-4); 121,9 (C-2'', C-6''); 121,8 (C-4b); 120,5 (C-5); 119,5 (C-6); 118,8 (C-3); 118,0 (C-1); 114,2 (C-3'', C-5''); 111,5 (C-8); 106,8 (C-5'); 55,3 (-O-CH <sub>3</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3364; 2924; 2853; 1608; 1578; 1556; 1459;	

1426; 1315; 1296; 1238; 1205; 1137; 1103; 1028; 825;  
815; 787; 746; 596

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 366  $[M]^{+\bullet}$  (93); 351 (47); 243 (14);  
182 (63); 97 (43); 69 (69); 57 (100)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 367  $[M + H]^+$  (100); 304 (44); 243  
(44); 196 (32); 182 (60); 153 (51); 101 (54)

**1-(Pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9H-carbazol (232), 1-(Pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)-9-(2-trimethylsilyl-ethoxymethyl)-9H-carbazol (233)**



173 mg (0,51 mmol) **106** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 206  $\mu\text{l}$  (1,02 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 125 mg (1,53 mmol) 3-Aminopyrazol und mit 211 mg (1,53 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 8:2).

<b>Ausbeute:</b>	95 mg (23 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	92,1 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,62 (d, $J = 4,1$ Hz, 1 H, 7'-H/5'-H); 8,29 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1 H, 4-H); 8,13 (ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,9$ Hz, $J_3 = 0,9$ Hz, 1 H, 5-H); 8,10 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H, 2'-H); 7,49 (dd, $J_1 = 7,4$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1 H, 2-H); 7,47 (dd, $J_1 = 6,6$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1 H, 8-H); 7,44 (d, $J = 7,4$ Hz, 1 H, 7-H); 7,41 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 3-H); 7,30 (dt, $J_1 = 7,1$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1 H, 6-H); 7,01 (d, $J = 4,1$ Hz, 1 H, 6'-H); 6,84 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H, 3'-H); 4,91 (dd,	

$J_1 = 435,5 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 11,3 \text{ Hz}$ , 2 H, -N-CH<sub>2</sub>-O-); 2,92 (dq,  $J_1 = 43,5 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 8,6 \text{ Hz}$ , 2 H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si-); 0,52 (dt,  $J_1 = 8,3 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 1,9 \text{ Hz}$ , 2 H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si-); -0,18 (s, 9 H, -Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 149,1 (C-3'a); 148,7 (C-5'/C-7'); 146,6 (C-7'/C-5'); 145,1 (C-2'); 141,5 (C-8a); 137,3 (C-9a); 128,1 (C-2); 126,6 (C-7); 125,5 (C-4a); 123,1 (C-4b); 122,6 (C-4); 120,6 (C-6); 120,3 (C-5); 119,9 (C-3); 114,9 (C-1); 109,8 (C-8, C-6'); 97,3 (C-3'); 73,0 (-N-CH<sub>2</sub>-O-); 65,2 (-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si-); 17,5 (-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si-); -1,6 (-Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)

**IR (KBr):**  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3423; 2949; 2920; 2866; 1610; 1536; 1455; 1420; 1336; 1249; 1214; 1181; 1068; 1051; 997; 868; 833; 775; 755

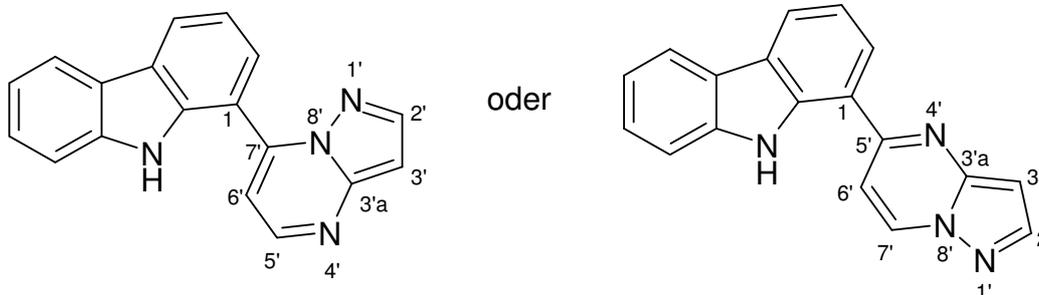
**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 414 [M]<sup>+</sup>\* (3); 341 (34); 313 (100); 297 (28); 285 (59); 229 (7)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 415 [M + H]<sup>+</sup> (3); 313 (9); 297 (100)

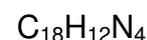
**Elementaranalyse:**

ber.:	C 69,19	H 6,77	N 13,45
gef.:	C 68,78	H 6,39	N 12,35

**1-(Pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)-9H-carbazol (234), 1-(Pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)-9H-carbazol (235)**



oder



$$M_r = 284,32 \text{ g/mol}$$

42 mg (0,10 mmol) **232/233** werden in 10 ml THF gelöst und mit 1,0 ml 40%-iger Flusssäure versetzt. Der Ansatz wird bei RT 16 h gerührt. Die Lösung wird mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung neutralisiert und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:1).

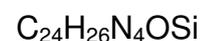
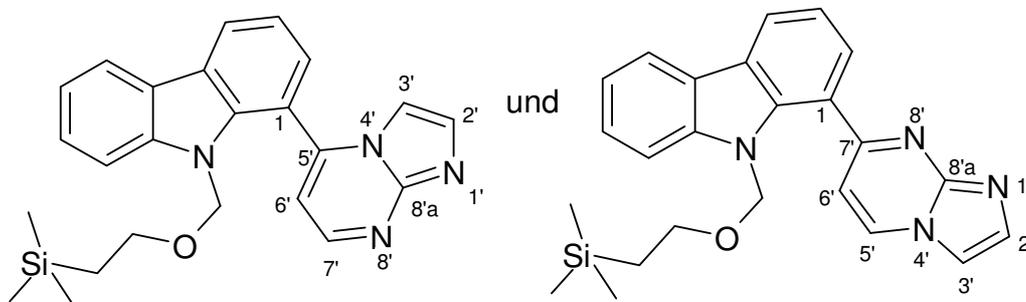
<b>Ausbeute:</b>	12 mg (41 %)	gelbes Harz
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,60 (d, $J = 4,2$ Hz, 1 H, 7'-H/5'-H); 8,32 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 4-H); 8,30 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H, 2'-H); 8,13 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 5-H); 7,78 (dd, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1H, 2-H); 7,47 (d, $J_1 = 1,1$ Hz, 1 H, 7-H); 7,46 (dd, $J_1 = 3,0$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 1 H, 8-H); 7,42 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 3-H); 7,29 (dt, $J_1 = 6,7$ Hz, $J_2 = 2,6$ Hz, 1 H, 6-H); 7,12 (d, $J = 4,4$ Hz, 1 H, 6'-H); 6,91 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H, 3'-H)	
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 150,2 (C-3'a); 149,0 (C-5'/C-7'); 147,0 (C-7'/C-5'); 145,1 (C-2'); 140,4 (C-8a); 138,7 (C-9a); 127,6 (C-2); 126,6 (C-7); 125,6 (C-4a); 123,5 (C-4); 123,2 (C-4b); 120,4 (C-5); 120,2 (C-6); 119,7 (C-3); 114,8 (C-1); 111,6 (C-8); 109,3 (C-6'); 97,6 (C-3')	

## 6. Experimenteller Teil

---

<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3448; 2924; 2854; 1734; 1610; 1541; 1457; 1420; 1377; 1317; 1221; 1111; 831; 772; 742; 635
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 284 [M] <sup>+</sup> (100); 256 (6); 229 (5); 191 (6); 166 (4); 142 (8); 111 (6); 94 (9); 57 (22); 55 (22)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 285 [M + H] <sup>+</sup> (100); 225 (5); 105 (9)
<b>HRMS:</b>	ber.: 284,1062 gef.: 284,1028

**1-(Imidazo[1,2-a]pyrimidin-5-yl)-9-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-9H-carbazol (243), 1-(Imidazo[1,2-a]pyrimidin-7-yl)-9-(2-trimethylsilanylethoxymethyl)-9H-carbazol (244)**



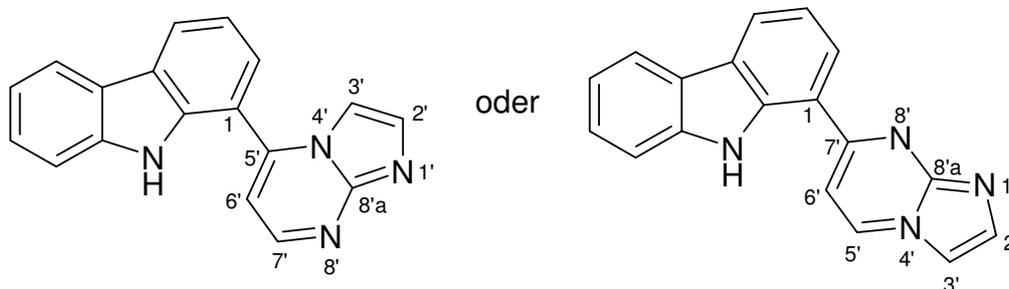
200 mg (0,60 mmol) **106** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 274  $\mu\text{l}$  (1,21 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 238 mg (0,92 mmol) 2-Aminoimidazol und mit 248 mg (1,61 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Methylenchlorid/Ethanol 9:1).

**Ausbeute:** 165 mg (67 %) braunes Harz

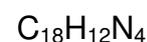
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8,71 (d,  $J = 4,2$  Hz, 1 H, 7'-H/5'-H); 8,31 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1 H, 2-H); 8,11 (dd,  $J_1 = 7,7$  Hz,  $J_2 = 1,4$ , 1 H, 4-H); 8,07 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1 H, 5-H); 7,55 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1 H, 8-H); 7,47 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1 H, 6'-H); 7,46 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1 H, 2'-H); 7,35 (dt,  $J_1 = 7,6$  Hz,  $J_2 = 0,9$  Hz, 1 H, 7-H); 7,26 (dt,  $J_1 = 7,6$  Hz,  $J_2 = 0,9$  Hz, 1 H, 6-H); 7,24 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1 H, 3-H); 7,07 (d,  $J = 6,4$  Hz, 1 H, 3'-H); 5,84 (s, 2 H, -N-CH<sub>2</sub>-O-); 3,33 (t,  $J = 8,2$  Hz, 2 H, -Si-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); 0,76 (t,  $J = 8,2$  Hz, -Si-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-); -0,14 (s, 9

	H, -Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
	$\delta$ (ppm) = 8,71 (d, $J$ = 4,2 Hz, 1 H, 7'-H/5'-H); 8,31 (d, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 2-H); 8,13 (d, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 4-H); 8,07 (d, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 5-H); 7,55 (d, $J$ = 7,4 Hz, 1 H, 8-H); 7,49 (d, $J$ = 1,2 Hz, 1 H, 6'-H); 7,44 (d, $J$ = 1,2 Hz, 1 H, 2'-H); 7,35 (dt, $J_1$ = 7,6 Hz, $J_2$ = 0,9 Hz, 1 H, 7-H); 7,26 (dt, $J_1$ = 7,6 Hz, $J_2$ = 0,9 Hz, 1 H, 6-H); 7,24 (t, $J$ = 7,6 Hz, 1 H, 3-H); 7,07 (d, $J$ = 6,4 Hz, 1 H, 3'-H); 4,97 (dd, $J$ = 252,7 Hz, $J_2$ = 11,2 Hz, 2 H, -N-CH <sub>2</sub> -O-); 3,33 (t, $J_1$ = 8,2 Hz, 2 H, -Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-); 0,47 (t, $J$ = 8,4 Hz, -Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-); -0,18 (s, 9 H, -Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 149,2 (C-7'/C-5'); 144,7 (C-5'/C-7'); 141,8 (C-8a); 136,5 (C-9a); 135,2 (C-2'); 130,0 (C-8'a); 126,1 (C-4a); 123,5 (C-2, C-4b); 121,1 (C-4); 121,0 (C-7); 120,3 (C-5); 119,9 (C-6); 119,0 (C-1); 118,9 (C-3); 110,1 (C-8); 109,9 (C-3', C-6'); 73,8 (-N-CH <sub>2</sub> -O-); 65,1 (-Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-); 18,0 (-Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-); -1,5 (-Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
	$\delta$ (ppm) = 149,2 (C-7'/C-5'); 144,7 (C-5'/C-7'); 141,5 (C-8a); 136,5 (C-9a); 136,5 (C-2'); 130,0 (C-8'a); 126,1 (C-4a); 123,3 (C-2, C-4b); 121,1 (C-4); 121,0 (C-7); 120,0 (C-5); 119,9 (C-6); 119,0 (C-1); 118,9 (C-3); 110,1 (C-8); 109,9 (C-3', C-6'); 73,1 (-N-CH <sub>2</sub> -O-); 65,6 (-Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-); 17,3 (-Si-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-); -1,6 (-Si-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3424; 3055; 2951; 2922; 1643; 1578; 1557; 1492; 1456; 1418; 1354; 1315; 1247; 1221; 1104; 1073; 922; 860; 835; 751; 693
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 414 [M] <sup>+</sup> • (3); 355 (29); 313 (42); 293 (49); 292 (27); 265 (25); 222 (100); 204 (7); 194 (30); 166 (6)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 415 [M + H] <sup>+</sup> (6); 293 (8); 277 (100); 222 (9); 105 (7)

**1-(Imidazo[1,2-a]pyrimidin-5-yl)-9H-carbazol (245), 1-(Imidazo[1,2-a]pyrimidin-7-yl)-9H-carbazol (246)**



oder



$$M_r = 284,32 \text{ g/mol}$$

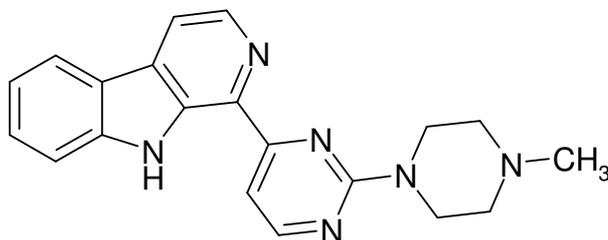
70 mg (0,17 mmol) **243/244** werden in 15 ml THF gelöst und mit 1,0 ml 40%-iger Flusssäure versetzt. Der Ansatz wird bei RT 16 h gerührt. Die Lösung wird mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung neutralisiert und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Methylenchlorid/Ethanol 9:1).

<b>Ausbeute:</b>	25 mg (52 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	101,9 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,71 (d, $J = 4,2$ Hz, 1 H, 7'-H/5'-H); 8,29 (d, $J = 5,8$ Hz, 1 H, 4-H); 8,26 (d, $J = 7,5$ Hz, 1 H, 2-H); 8,08 (d, $J = 7,4$ Hz, 1 H, 5-H); 7,69 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H, 8-H); 7,65 (t, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 3-H); 7,57 (dt, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1 H, 7-H); 7,44 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H, 6-H); 7,42 (d, $J = 4,1$ Hz, 1 H, 2'-H); 7,07 (d, $J = 4,4$ Hz, 1 H, 3'-H); 6,54 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H, 6'-H)	
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 149,5 (C-7'/C-5'); 146,0 (C-5'/C-7'); 138,2 (C-8a); 137,8 (C-9a); 131,7 (C-8'a); 128,0 (C-7); 127,1 (C-2'); 126,2 (C-4b); 125,9 (C-4a); 125,1 (C-3); 124,9 (C-2); 124,5 (C-4); 124,4 (C-6); 123,3 (C-1); 122,1 (C-5); 115,1 (C-6'); 110,2 (C-8); 109,9 (C-3')	

## 6. Experimenteller Teil

---

<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3427; 2925; 2853; 1740; 1640; 1612; 1507; 1455; 1329; 1287; 1229; 1190; 1074; 758; 544
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 284 [M] <sup>+</sup> (46); 249 (20); 219 (100); 191 (34); 167 (14); 149 (17); 113 (20)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 285 [M + H] <sup>+</sup> (20); 220 (100); 196 (6)

**1-[2-(4-Methyl-piperazin-1-yl)-pyrimidin-4-yl]- $\beta$ -carbolin (253)**C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>M<sub>r</sub> = 344,42 g/mol

428 mg (2,03 mmol) **97** werden unter Stickstoffatmosphäre in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und mit 840  $\mu$ l (4,07 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Man versetzt mit 2,33 g (6,10 mmol) 4-Methyl-piperazin-1-carboxamidiniumsulfat und 562 mg (4,07 mmol) Kaliumcarbonat und erhitzt weitere 17 h unter Rückfluss. Nach dem Abkühlen versetzt man mit 20 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und extrahiert drei mal mit je 25 ml Ethylacetat. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Ethylacetat/Isohexan 1:1 +10 % EDMA).

**Ausbeute:** 410 mg (58 %) gelber Feststoff

**Schmelzpunkt:** 135,6 °C

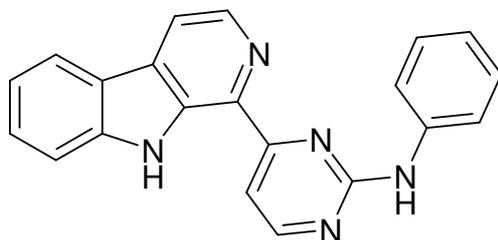
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 10,72 (s, 1 H, N-H); 8,54 (d,  $J$  = 5,1 Hz, 1 H, 3-H); 8,53 (d,  $J$  = 5,1 Hz, 1 H, 6'-H); 8,15 (dd,  $J_1$  = 0,9 Hz,  $J_2$  = 7,9 Hz, 1 H, 5-H); 8,02 (dd,  $J_1$  = 5,1 Hz,  $J_2$  = 0,4 Hz, 1 H, 4-H); 7,82 (d,  $J$  = 5,1 Hz, 1 H, 5'-H); 7,58 (dt,  $J_1$  = 1,1 Hz,  $J_2$  = 7,6 Hz, 1 H, 7-H); 7,51 (ddd,  $J_1$  = 0,9 Hz,  $J_2$  = 1,1 Hz,  $J_3$  = 6,4 Hz, 1 H, 8-H); 7,31 (dt,  $J_1$  = 0,9 Hz,  $J_2$  = 7,5 Hz, 1 H, 6-H); 4,01 (t,  $J$  = 5,1 Hz, 4 H, 2''-H, 6''-H); 2,62 (t,  $J$  = 5,2 Hz, 4 H, 3''-H, 5''-H); 2,41 (s, 3 H, N-CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 165,2 (C-4'); 161,9 (C-2'); 158,6 (C-6'); 140,3 (C-8a); 138,7 (C-3); 136,8 (C-1); 135,0 (C-9a); 130,8 (C-

## 6. Experimenteller Teil

---

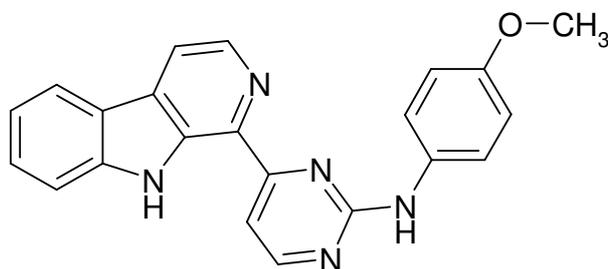
	4a); 128,7 (C-7); 121,9 (C-5); 121,0 (C-4b); 120,2 (C-6); 116,5 (C-4); 111,6 (C-8); 107,0 (C-5'); 54,9 (C-3'', C-5''); 46,3 (-N- <u>C</u> H <sub>3</sub> ), 44,4 (C-2'', C-6'')			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3397; 2926; 2851; 2799; 1565; 1487; 1436; 1340; 1213; 1158; 1069; 989; 832; 748			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 344 [M] <sup>+</sup> (61); 287 (17); 274 (100); 262 (10)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 345 [M + H] <sup>+</sup> (100); 286 (20); 275 (17); 242 (15); 208 (5)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 69,75	H 5,85	N 24,40
	gef.	C 60,29	H 5,59	N 16,99

1-[2-(Phenylamino)-pyrimidin-4-yl]- $\beta$ -carbolin (254)C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>M<sub>r</sub> = 337,39 g/mol

200 mg (0,95 mmol) 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) werden unter Stickstoffatmosphäre in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 391  $\mu$ l (1,90 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 574 mg (2,85 mmol) N-Phenylguanidiniumnitrat und mit 394 mg (2,85 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 1:1).

<b>Ausbeute:</b>	308 mg (96 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	250,3 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 11,77 (s, 1 H, N-H); 9,96 (s, 1 H, N'-H); 8,69 (d, $J$ = 5,0 Hz, 1 H, 6'-H); 8,57 (d, $J$ = 4,9 Hz, 1 H, 3-H); 8,37 (d, $J$ = 5,0, 1 H, 4-H); 8,36 (d, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 5-H); 7,95 (d, $J$ = 5,1, 5'-H); 7,84 (d, $J$ = 7,7 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,79 (d, $J$ = 7,7 Hz, 1 H, 8-H); 7,69 (dt, $J_1$ = 7,7 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 1 H, 7-H); 7,43 (t, $J$ = 8,0 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H); 7,35 (t, $J$ = 7,5 Hz, 1 H, 6-H); 7,09 (t, $J$ = 7,5 Hz, 1 H, 4''-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 164,5 (C-2'); 159,7 (C-4'); 158,5 (C-6'); 140,7 (C-8a); 140,1 (C-1''); 138,1 (C-3); 135,6 (C-1); 134,2 (C-9a); 130,4 (C-4a); 128,9 (C-8); 128,8 (C-3'', C-5''); 122,0	

	(C-5, C-4''); 120,2 (C-4b); 120,0 (C-6); 119,2 (C-2'', C6''); 117,2 (C-4); 112,1 (C-8); 107,7 (C-5')
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3402; 2924; 2853; 1599; 1560; 1450; 1421; 1320; 1238; 1163; 827; 766; 738; 715; 626; 582
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 337 [M] <sup>+</sup> (100); 293 (12); 278 (33); 261 (89); 235 (13); 211 (17); 168 (41); 149 (71); 111 (49); 109 (34)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 338 [M + H] <sup>+</sup> (19); 290 (19); 279 (46); 262 (100); 240 (17); 232 (20); 212 (53); 188 (15); 161 (50); 127 (14)
<b>HRMS:</b>	ber.: 337,1327 gef.: 337,1315

1-[2-(4-Methoxyphenylamino)-pyrimidin-4-yl]- $\beta$ -carbolin (256)C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>OM<sub>r</sub> = 367,41 g/mol

210 mg (1,00 mmol) 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) werden unter Stickstoffatmosphäre in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 412  $\mu$ l (2,00 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 681 mg (3,00 mmol) N-(4-Methoxyphenyl)-guanidiniumnitrat und 415 mg (3,00 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 1:1).

**Ausbeute:** 180 mg (49 %) gelber Feststoff

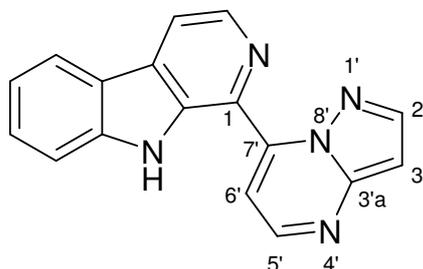
**Schmelzpunkt:** 106,9 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 10,53 (s, 1 H, N-H); 8,57 (d,  $J$  = 5,2 Hz, 1 H, 6'-H); 8,54 (d,  $J$  = 5,0 Hz, 1 H, 3-H); 8,13 (d,  $J$  = 7,9 Hz, 1 H, 5-H); 8,04 (d,  $J$  = 4,9 Hz, 1 H, 4-H); 7,99 (d,  $J$  = 5,3 Hz, 1 H, 5'-H); 7,54 (dt,  $J_1$  = 7,7 Hz,  $J_2$  = 1,1 Hz, 1 H, 7-H); 7,51 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H); 7,31 (s, 1 H, N'-H); 7,27 (dt,  $J_1$  = 7,5 Hz,  $J_2$  = 0,8 Hz, 1 H, 6-H); 7,20 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 1 H, 8-H); 7,11 (d,  $J$  = 9,0 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H); 3,96 (s, 3 H, -O-CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 165,1 (C-2'); 161,2 (C-4'); 159,1 (C-6'); 157,3 (C-4''); 140,6 (C-8a); 138,4 (C-3); 136,1 (C-1); 135,3 (C-

---

	9a); 131,9 (C-1''); 130,9 (C-4a); 128,7 (C-7); 126,3 (C-2'', C-6''); 121,6 (C-5); 120,7 (C-4b); 120,0 (C-6); 116,7 (C-4); 114,8 (C-3'', C-5''); 111,7 (C-8); 108,2 (C-5'); 55,6 (-O- <u>C</u> H <sub>3</sub> )			
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3380; 2925; 2854; 1684; 1612; 1512; 1241; 1031; 826; 744			
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 367 [M] <sup>+</sup> (100); 352 (53); 336 (7); 211 (51); 194 (18); 183 (8); 166 (47); 151 (53); 139 (20); 111 (26); 108 (41)			
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 368 [M + H] <sup>+</sup> (3); 212 (29); 152 (100); 127 (6)			
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 71,92	H 4,66	N 19,06
	gef.	C 71,17	H 5,72	N 20,97

1-(Pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)- $\beta$ -carbolin (257)C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>M<sub>r</sub> = 285,31 g/mol

210 mg (1,00 mmol) 1-Acetyl- $\beta$ -carbolin (**97**) werden unter Stickstoffatmosphäre in 10 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 412  $\mu$ l (2,00 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 249 mg (3,00 mmol) 3-Aminopyrazol und mit 415 mg (3,00 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Isohexan/Ethylacetat 1:1).

**Ausbeute:** 123 mg (43 %) gelber Feststoff

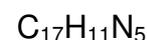
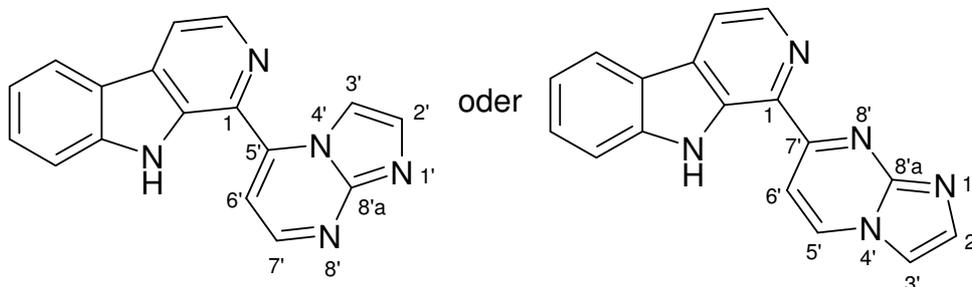
**Schmelzpunkt:** 192,7 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 10,64 (s, 1 H, N-H); 8,69 (d,  $J$  = 4,4 Hz, 1 H, 5'-H/7'-H); 8,68 (d,  $J$  = 5,0 Hz, 1 H, 3-H); 8,36 (d,  $J$  = 2,5 Hz, 2'-H); 8,19 (d,  $J$  = 4,9 Hz, 1 H, 5-H); 8,18 (d,  $J$  = 4,9 Hz, 1 H, 4-H); 7,78 (d,  $J$  = 4,4 Hz, 1 H, 6'-H); 7,61 (dt,  $J_1$  = 7,5 Hz,  $J_2$  = 1,1 Hz, 7-H); 7,58 (d,  $J$  = 7,4 Hz, 1 H, 8-H); 7,34 (dt,  $J_1$  = 7,2 Hz,  $J_2$  = 1,4 Hz, 1 H, 6-H); 6,94 (d,  $J$  = 2,5 Hz, 1 H, 3'-H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 150,2 (C-3'a); 149,5 (C-5'/C-7'); 146,2 (C-7'/C-5'); 144,5 (C-2'); 141,0 (C-8a); 139,7 (C-3); 136,1 (C-1, C-9a); 132,3 (C-4a); 129,3 (C-7); 121,6 (C-5); 121,4 (C-4b); 120,6 (C-6); 116,9 (C-4); 112,4 (C-8);

	110,5 (C-6'); 97,6 (C-3')
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3425; 3089; 2921; 2851; 1612; 1540; 1460; 1426; 1239; 1118; 1067; 824; 778; 727; 597
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 285 [M] <sup>+</sup> (100); 258 (5); 218 (6); 115 (6)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 286 [M + H] <sup>+</sup> (100); 240 (3)
<b>Elementaranalyse:</b>	
	ber.            C 71,57            H 3,89            N 24,55
	gef.            C 72,21            H 4,78            N 21,02

**1-(Imidazo[1,2-a]pyrimidin-5-yl)-9H- $\beta$ -carbolin (259), 1-(Imidazo[1,2-a]pyrimidin-7-yl)-9H- $\beta$ -carbolin (260)**



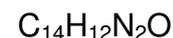
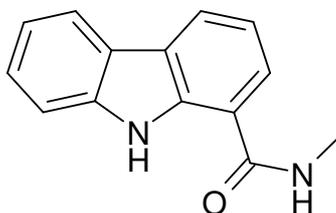
200 mg (0,95 mmol) **97** werden unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und tropfenweise mit 391  $\mu\text{l}$  (1,9 mmol) Bis(dimethylamino)tert-butoxymethan versetzt. Die Lösung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt und mit 395 mg (1,43 mmol) 2-Aminoimidazol und mit 301 mg (2,18 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  versetzt und weitere 17 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung versetzt und drei mal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mittels FSC aufgereinigt (Methylenchlorid/Ethanol 9:1).

<b>Ausbeute:</b>	10 mg (3 %)	gelber Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	299,0 °C	
<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (MeOH-<math>\text{D}_4</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,85 (d, $J = 4,1$ Hz, 1 H, 7'-H/5'-H); 8,65 (d, $J = 5,2$ Hz, 1 H, 3-H); 8,39 (d, $J = 5,2$ Hz, 1 H, 4-H); 8,34 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz, 1 H, 5-H); 8,15 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H, 3'-H); 7,85 (d, $J = 1,7$ Hz, 1 H, 2'-H); 7,67 (dt, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1 H, 7-H); 7,63 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H, 8-H); 7,62 (d, $J = 4,3$ Hz, 1 H, 6'-H); 7,39 (dt, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1 H, 6-H)	
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (MeOH-<math>\text{D}_4</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 169,1 (C-5'/C-7'); 154,4, (C-7'/C-5'); 151,4 (C-8'a); 143,8 (C-8a); 140,1 (C-3); 135,7 (C-2'); 134,9 (C-1);	

## 6. Experimenteller Teil

---

	133,8 (C-9a); 133,7 (C-4a); 131,2 (C-7); 123,5 (C-5); 122,9 (C-4b); 122,3 (C-6); 118,8 (C-4); 113,2 (C-3'); 111,8 (C-8); 111,4 (C-6')
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3448; 3058; 1614; 1517; 1498; 1455; 1254; 1231; 1148; 1121; 1070; 822; 732; 612
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 285 [M] <sup>+</sup> (99); 284 (100); 258(7); 221 (23); 208 (20); 193 (14); 140 (6); 116 (9); 102 (5)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 286 [M + H] <sup>+</sup> (100); 212 (6); 166 (15); 153 (14); 151 (16); 135 (36); 121 (9)
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.            C 71,57            H 3,89            N 24,55 gef.            C 70,25            H 4,06            N 22,73

**9H-Carbazol-1-carbonsäuremethyamid (261)****Variante 1 mit CDI und THF**

191 mg **68** (0,90 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 148,7 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (0,92 mmol) wird die rot-braune Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 33,1 mg Methylamin (1,07 mmol) zugetropft und die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 5 ml 2M Schwefelsäure, drei mal mit je 5 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Ethylacetat/Isohexan 1:1) aufgereinigt.

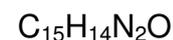
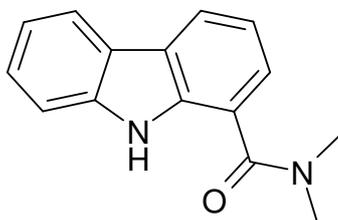
**Variante 2 mit DCC, HOBt, DMF**

Eine Mischung aus 210 mg **68** (0,99 mmol), 129,8 mg HOBt (0,96 mmol), 230,2 mg DCC (1,11 mmol) und 0,4 ml Et<sub>3</sub>N (3 mmol) wird in 10 ml trockenem DMF gelöst und 20 min bei RT gerührt. Dann werden 38,9 mg Methylamin (1,25 mmol) zugetropft und 2 h bei RT gerührt. Zu dieser Lösung werden 10 ml Ethylacetat und 10 ml Wasser gegeben. Die wässrige Phase wird drei mal mit je 5 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der braune Rückstand mittels FSC (Isohexan/Ethylacetat 1:1) aufgereinigt.

**Ausbeute:** 1) 51 mg (25%), 2) 54 mg (24%) brauner Feststoff

**Schmelzpunkt:** 145 – 147 °C

<b><math>^1\text{H-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 10,41 (s, 1 H, NH); 8,20 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 4-H); 8,08 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 5-H); 7,53 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 2-H); 7,48 (d, 1 H, $J = 8,2$ Hz, 8-H); 7,45 (dt, 1 H, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 7-H); 7,25 (dt, 1 H, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 6-H); 7,19 (t, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 3-H); 6,45 (s, 1 H, CO-NH-); 3,08 (d, 3 H, $J = 4,8$ Hz, NH- $\text{CH}_3$ )
<b><math>^{13}\text{C-NMR}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b>	$\delta$ (ppm) = 168,5 (C=O); 139,9 (C-8a); 139,6 (C-9a); 126,5 (C-7); 125,0 (C-4a); 123,8 (C-4); 122,1 (C-2); 120,3 (C-4b, C-5); 119,6 (C-6); 118,1 (C-3); 114,9 (C-1); 111,1 (C-8); 26,5 (NH- $\text{CH}_3$ )
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3270; 3055; 2941; 2918; 2852; 1720; 1599; 1496; 1454; 1398; 1234; 808; 750
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 224 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (97); 193 (100); 165 (54); 139 (22)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 225 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (100) ; 194 (21)
<b>Elementaranalyse:</b>	ber.: C 74,98 % H 5,39 % N 12,49 % gef.: C 70,50 % H 5,86 % N 10,98 %

**9H-Carbazol-1-carbonsäuredimethylamid (262)**

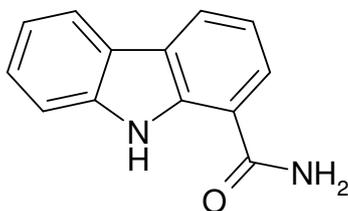
214 mg **68** (1,02 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 163,2 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (1,01 mmol) wird die rot-braune Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 0,15 ml einer 40%igen wässrigen Dimethylamin-Lösung (1,19 mmol) zugetropft und die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 5 ml 2M Schwefelsäure, drei mal mit je 5 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Ethylacetat/Isohexan 2:1) aufgereinigt.

<b>Ausbeute:</b>	119 mg (49%)	hellbraune Kristalle
<b>Schmelzpunkt:</b>	146 - 148 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 9,53 (s, 1 H, NH); 8,08 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 4-H); 8,03 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 5-H); 7,43-7,39 (m, 3 H, 2-H, 7-H, 8-H); 7,20 (dt, 1 H, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 6-H); 7,15 (t, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 3-H); 3,14 (s, 6 H, -N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 170,4 (C=O); 139,9 (C-8a); 138,8 (C-9a); 126,2 (C-2); 124,8 (C-4a); 124,6 (C-7); 122,7 (C-4b); 122,2 (C-4); 120,2 (C-5); 119,5 (C-6); 117,9 (C-3); 116,9 (C-1); 111,1 (C-8); 60,4 (-N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3246; 3060; 2960; 2925; 1604; 1498; 1456; 1423; 1392; 1265; 816; 754	

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 238  $[M]^{+\bullet}$  (100); 193 (92); 166 (44);  
165 (35); 139 (33)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 239  $[M + H]^+$  (100) ; 194 (20)

<b>Elementaranalyse:</b>	ber.:	C 75,61 %	H 5,92 %	N 11,76 %
	gef.:	C 73,81 %	H 5,95 %	N 10,88 %

**9H-Carbazol-1-carbonsäureamid (263)**

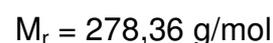
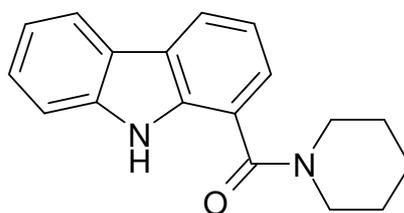
230 mg 9H-Carbazol-1-carbonsäure (**68**, 1,09 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 175,3 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (1,08 mmol) wird die rot-braune Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 0,2 ml einer 25%igen wässrigen Ammoniak-Lösung (2,5 mmol) zugetropft und die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 5 ml 2M Schwefelsäure, drei mal mit je 5 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Ethylacetat/Isohexan 5:1) aufgereinigt.

<b>Ausbeute:</b>	18 mg (8%)	brauner Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	262 - 264 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 11,39 (s, 1 H, NH); 8,30 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 4-H); 8,14 (d, 1 H, $J = 7,9$ Hz, 5-H); 7,96 (dd, 1 H, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 2-H); 7,74 (d, 1 H, $J = 8,2$ Hz, 8-H); 7,51 (s, 2 H, CO-NH <sub>2</sub> ); 7,40 (t, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 7-H); 7,21 (t, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 3-H); 7,17 (t, 1 H, $J = 7,5$ Hz, 6-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 169,2 (C=O); 140,2 (C-8a); 138,7 (C-9a); 126,0 (C-7); 124,7 (C-2); 124,0 (C-4a); 123,7 (C-4); 121,5 (C-4b); 120,1 (C-5); 119,0 (C-6); 117,7 (C-3); 115,9 (C-1); 112,2 (C-8)	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3429; 3346; 3159; 1724; 1662; 1630; 1604;	

1495; 1454; 1423; 1319; 1124; 789; 752

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 210  $[M]^{+\bullet}$  (68); 193 (100); 165 (64);  
139 (13)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 211  $[M + H]^+$  (100); 194 (52)

**9H-Carbazol-1-carbonsäurepiperidinamid (264)**

191 mg **68** (0,90 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 160,8 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (0,99 mmol) wird die rot-braune Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 90,2 mg Piperidin (1,06 mmol) zugetropft und die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 5 ml 2M Schwefelsäure, drei mal mit je 5 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Ethylacetat/Isohexan 1:1) aufgereinigt.

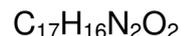
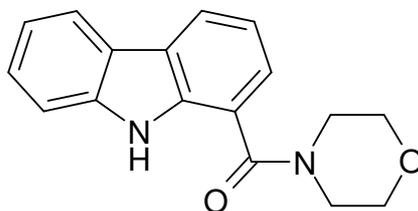
<b>Ausbeute:</b>	121 mg (48%)	hellbrauner Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	148 – 150 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 9,20 (s, 1 H, NH); 8,11 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 4-H); 8,06 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 5-H); 7,44-7,40 (m, 3 H, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 2-H, 7-H, 8-H); 7,24 (m, 1 H, 6-H); 7,19 (t, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 3-H); 3,70 (bs, 4 H, 2'-H, 6'-H); 1,75-1,65 (m, 6 H, 3'-H, 4'-H, 5'-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 169,3 (C=O); 139,8 (C-8a); 138,9 (C-9a); 126,3 (C-7); 124,7 (C-4a); 124,4 (C-2); 122,8 (C-4b); 122,2 (C-4); 120,2 (C-5); 119,5 (C-6); 118,0 (C-3); 116,8 (C-1); 111,0 (C-8); 40,8 (C-2', C-6'); 26,1 (C-4'); 24,6 (C-3', C-5')	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3271; 3055; 2941; 2918; 2852; 1720; 1599;	

1496; 1454; 1398; 1234; 808; 750; 733

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 278 [M]<sup>+</sup> (100); 194 (70); 166 (41);  
139 (26)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 279 [M + H]<sup>+</sup> (100); 194 (45); 166  
(13); 139 (12); 112 (46)

**HRMS:** ber.: 278,1419  
gef.: 278,1383

**9H-Carbazol-1-carbonsäuremorpholinamid (265)**

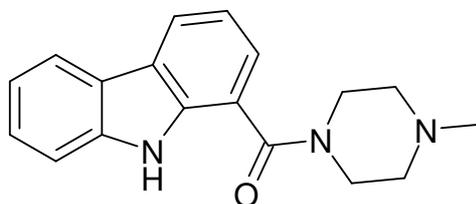
214 mg **68** (1,01 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 192,8 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (1,01 mmol) wird die rot-braune Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 90,0 mg Morpholin (1,03 mmol) zugetropft und die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 5 ml 2M Schwefelsäure, drei mal mit je 5 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Ethylacetat/Isohexan 2:1) aufgereinigt.

<b>Ausbeute:</b>	101 mg (36%)	hellbraune Kristalle
<b>Schmelzpunkt:</b>	187 - 188 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 11,28 (s, 1 H, NH); 8,21 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 4-H); 8,14 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 5-H); 7,60 (d, 1 H, $J = 8,2$ Hz, 8-H); 7,43 (dt, 1 H, $J_1 = 7,7$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 7-H); 7,40 (dd, 1 H, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 2-H); 7,22 (t, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 3-H); 7,20 (dt, 1 H, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,1$ Hz, 6-H); 3,50 (bs, 8 H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 167,6 (C=O); 140,3 (C-8a); 136,5 (C-9a); 126,2 (C-7); 124,2 (C-2); 123,5 (C-4a); 122,1 (C-4b); 121,7 (C-4); 120,3 (C-5); 119,1 (C-1); 118,4 (C-3); 118,2 (C-6); 111,5 (C-8); 66,2 (C-3', C-5'); 39,5 (C-2', C-6')	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3419; 3062; 2960; 2918; 2856; 1639; 1612;	

## 6. Experimenteller Teil

---

	1495; 1454; 1423; 1388; 1267; 1109; 810; 754
<b>MS (EI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 280 $[M]^{+\bullet}$ (84); 236 (12); 194 (100); 167 (25); 166 (57); 139 (40)
<b>MS (CI):</b>	$m/z$ (rel. Int. in %) = 281 $[M + H]^+$ (100); 225 (18); 194 (43); 169 (89); 114 (11)
<b>HRMS:</b>	ber.: 280,1212 gef.: 280,1220

**9H-Carbazol-1-carbonsäure-N-methylpiperazinamid (267)**C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>OM<sub>r</sub> = 293,37 g/mol

120 mg **68** (0,57 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 128,9 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (0,62 mmol) wird die rot-braune Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 59,7 mg Piperazin (0,60 mmol) zugetropft und die dunkelrote Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 5 ml 2M Schwefelsäure, drei mal mit je 5 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 5 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Methylenchlorid/Ethanol 9:1) aufgereinigt.

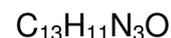
<b>Ausbeute:</b>	104 mg (63 %)	brauner Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	67,5 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 9,22 (s, 1 H, N-H); 8,13 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 4-H); 8,07 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 5-H); 7,44 (m, 2 H, 6-H, 8-H); 7,41 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 2-H); 7,25 (t, $J = 4,9$ Hz, 1 H, 7-H); 7,20 (t, $J = 7,7$ Hz, 1 H, 3-H); 3,83 (bs, 4 H, 2'-H; 6'-H); 2,52 (bs, 4 H, 3'-H, 5'-H); 2,36 (s, 3 H, -N-CH <sub>3</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 169,4 (C=O); 139,9 (C-8a); 139,1 (C-9a); 126,5 (C-6); 124,8 (C-4a); 124,7 (C-2); 122,8 (C-4b); 122,6 (C-4); 120,3 (C-5); 119,7 (C-7); 118,1 (C-3); 116,0 (C-1); 111,1 (C-8); 55,1 (C-3', C-5'); 45,9 (-N-CH <sub>3</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3422; 3280; 3059; 2928; 2848; 2794; 1610; 1497; 1457; 1437; 1322; 1296; 1269; 1227; 1203; 1138;	

1020; 1000; 754

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 293 [M]<sup>+•</sup> (64); 275 (6); 236 (15);  
221 (9); 194 (27); 166 (16); 139 (10); 99 (10); 70 (100);  
56 (25)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 294 [M + H]<sup>+</sup> (100); 120 (9)

<b>Elementaranalyse:</b>	ber.	C 73,70	H 6,53	N 14,32
	gef.	C 75,35	H 6,53	N 14,21

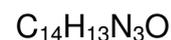
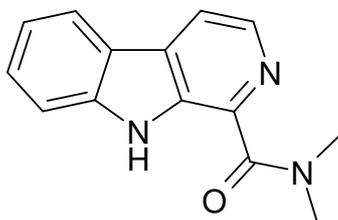
**$\beta$ -Carbolin-1-carbonsäuremethyamid (268)**

219 mg  $\beta$ -Carbolin-1-carbonsäure (**67**, 1,03 mmol) werden in 5 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 173,0 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (1,07 mmol) wird die orange Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 41,2 mg Methylamin (1,33 mmol) zugetropft und die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 5 ml Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 2 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 2 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Methylenchlorid/Ethanol 9:1) aufgereinigt.

<b>Ausbeute:</b>	33 mg (14%)	brauner Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	121 - 123 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 9,27 (s, 1 H, NH); 8,52 (d, 1 H, $J$ = 5,2 Hz, 3-H); 8,34 (d, 1 H, $J$ = 5,2 Hz, 5-H); 8,20 (dd, 1 H, $J_1$ = 5,2 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 4-H); 8,03 (d, 1 H, $J$ = 8,3 Hz, 8-H); 7,55 (dt, 1H, $J_1$ = 7,5 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 7-H); 7,43 (dt, 1 H, $J_1$ = 7,5 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 6-H); 2,97 (d, 3 H, CO-NH-CH <sub>3</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 151,0 (C=O); 140,5 (C-3); 138,0 (C-1); 136,1 (C-8a); 134,0 (C-9a); 129,5 (C-4a); 129,2 (C-7); 122,2 (C-4b); 121,8 (C-5); 119,3 (C-6); 114,6 (C-4); 114,3 (C-8); 27,3 (CO-NH-CH <sub>3</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3431; 3051; 2927; 1626; 1562; 1508; 1450; 1331; 1284; 1246; 814; 742	

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 225  $[M]^{+\bullet}$  (10); 168 (100); 152 (13);  
140 (18); 114 (10)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 226  $[M + H]^+$  (83); 169 (100)

**$\beta$ -Carbolin-1-carbonsäuredimethylamid (269)**

160 mg **67** (0,75 mmol) werden in 4 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 126,1 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (0,78 mmol) wird die orange Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 92,2 mg einer 40%igen wässrigen Dimethylamin-Lösung (0,82 mmol) zugetropft und die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 5 ml Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird drei mal mit je 2 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 2 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Methylenchlorid/Ethanol 9:1) aufgereinigt.

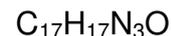
<b>Ausbeute:</b>	50 mg (28%)	hellbrauner Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	125 - 127 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 8,99 (s, 1 H, NH); 8,53 (d, 1 H, $J = 5,3$ Hz, 3-H); 8,12 (d, 1 H, $J = 7,7$ Hz, 5-H); 7,96 (d, 1 H, $J = 5,3$ Hz, 4-H); 7,63-7,61 (m, 2 H, 7-H, 8-H); 7,40-7,36 (m, 1 H, 6-H); 3,15 (s, 6 H, -N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 153,9 (C=O); 141,3 (C-3); 139,2 (C-8a); 135,4 (C-1); 134,9 (C-9a); 130,2 (C-4a); 129,2 (C-7); 122,4 (C-4b); 122,1 (C-6); 121,7 (C-5); 114,5 (C-4); 113,3 (C-8); 38,1 (-N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3433; 3041; 2929; 1682; 1618; 1566; 1489; 1452; 1390; 1228; 835; 750	

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 239  $[M]^{+\bullet}$  (100); 182 (54); 166 (15);  
133 (20)

**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 240  $[M + H]^+$  (100)

**HRMS:** ber.: 239,1059

gef.: 239,1074

**$\beta$ -Carbolin-1-carbonsäurepiperidinamid (270)**

109 mg **67** (0,51 mmol) werden in 4 ml frisch destilliertem THF gelöst. Nach Zugabe von 84,3 mg *N,N'*-Carbonyldiimidazol (0,52 mmol) wird die orange Lösung 3 h bei RT gerührt. Danach werden 50,1 mg Piperidin (0,59 mmol) zugetropft und die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 5 ml Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird frei mal mit je 2 ml 2M Natronlauge und drei mal mit je 2 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mittels FSC (Methylenchlorid/Ethanol 9:1) aufgereinigt.

<b>Ausbeute:</b>	40 mg (28%)	hellbrauner Feststoff
<b>Schmelzpunkt:</b>	109 - 111 °C	
<b><sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 9,04 (s, 1 H, NH); 8,54 (d, 1 H, $J$ = 5.2 Hz, 3-H); 8,10 (d, 1 H, $J$ = 7,9 Hz, 5-H); 7,93 (d, 1 H, $J$ = 5,2 Hz, 4-H); 7,71 (d, 1 H, $J$ = 8,2 Hz, 8-H); 7,61 (dt, 1 H, $J_1$ = 7,7 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 7-H); 7,37 (dt, 1 H, $J_1$ = 7,7 Hz, $J_2$ = 1,1 Hz, 6-H); 3,58-3,52 (m, 4 H, 2'-H, 6'-H); 1,74-1,70 (m, 6H, 3'-H, 4'-H, 5'-H)	
<b><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):</b>	$\delta$ (ppm) = 153,0 (C=O); 141,4 (C-3, C-1); 139,5 (C-8a); 135,4 (C-9a); 130,3 (C-4a); 129,2 (C-7); 122,5 (C-4b); 122,1 (C-6); 121,6 (C-5); 114,5 (C-4); 113,4 (C-8); 47,5 (C-2', C-6'); 26,1 (C-3', C-5'); 24,3 (C-4')	
<b>IR (KBr):</b>	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> ) = 3431 ; 3006; 2933; 2860; 1685; 1617; 1564; 1489; 1452 ; 1405; 1303; 1246; 820; 744; 729	

**MS (EI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 279  $[M]^{+\bullet}$  (38); 112 (100)  
**MS (CI):**  $m/z$  (rel. Int. in %) = 280  $[M + H]^+$  (100); 112 (25)  
**HRMS:** ber.: 279,1372  
gef.: 279,1352

## 6.3. Testmethoden

### 6.3.1. Agar-Diffusionstest

Von den zu testenden Verbindungen werden 1%-ige (m/V) Stammlösungen in DMSO hergestellt. Jeweils 5,0 µl dieser Stammlösungen werden auf Rundfilter (Ø 6 mm) der Firma Schleicher & Schuell aufgetragen (entspricht 50 g Substanz/Filterplättchen). Als Referenzlösungen werden 1%-ige (m/V) Stammlösungen von Clotrimazol bzw. Tetracyclin in Methanol hergestellt. Jeweils 2,5 µl dieser Lösungen werden ebenfalls auf Rundfilter aufgetragen (25 g/Filterplättchen). Als Blindwert werden analog dazu Rundfilter mit 5,0 µl reinem DMSO präpariert.

Die Filter werden vor dem Aufbringen auf die Testplatten 1 Stunde zum Trocknen stehen gelassen. Dazu soll an dieser Stelle angemerkt werden, dass für den Agar-dif-fusionstest normalerweise leicht verdampfbare Lösungsmittel wie Methylenchlorid oder Methanol verwendet werden. Da aber einige der zu testenden Substanzen nur in DMSO löslich waren, wurde dieses als Lösungsmittel für alle Test-Verbindungen gewählt, obwohl es kaum verdampfbar ist. Der Blindwert bestätigte jedoch, dass Rückstände von DMSO keinerlei Auswirkungen auf das Wachstum der Bakterien bzw. Pilze oder auf das Gelgerüst haben.

Die Pilze und Bakterien wurden von der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) in Braunschweig bezogen und zunächst nach der mitgelieferten Vorschrift in einer Flüssigkultur angezüchtet.

Beim Agar-Diffusionstest dient als Nährmedium für *Candida glabrata*, *Hyphopichia burtonii*, *Yarrowia lipolytica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas antimicrobica*, *Streptococcus entericus* und *Staphylococcus equorum* ein All-Culture Agar (AC-Agar) der Firma Sigma.

35,2 g AC-Agar und 20 g Agar (zur Verfestigung) werden in 1 Liter Wasser suspendiert und autoklaviert. Unter sterilen Arbeitsbedingungen werden je 15 ml des noch warmen, flüssigen Agars in Petrischalen gefüllt und ca. 30 Minuten stehen gelassen.

Als Nährmedium für *Aspergillus niger* dient ein Potato Agar.

32 g Potato Dextrose Agar und 20 g Agar (zur Verfestigung) werden in 1 Liter Wasser suspendiert und autoklaviert. Unter sterilen Arbeitsbedingungen werden je 15 ml des noch warmen, flüssigen Agars in Petrischalen gefüllt und ca. 30 Minuten stehen gelassen.

Die festen Agar-Böden werden mit einem mit einer Flüssigkultur des jeweiligen Keims getränkten Wattestäbchen bestrichen und sofort mit vier Substanzplättchen, sowie dem als Blindwert und dem als Referenz präparierten Plättchen belegt.

Die Inkubation der Agar-Platten erfolgt 36 Stunden bei 32,1 °C für die Bakterien und bei 28,0 °C für die Pilze. Der Durchmesser der Hemmhöfe wird manuell ausgemessen.

### 6.3.2. MTT-Test

Dieser Test wird an Zellen der humanen Leukämie Zelllinie HL-60 durchgeführt<sup>115</sup>.

Von den zu untersuchenden Testsubstanzen werden jeweils 10 mM Stammlösungen in DMSO hergestellt. Diese werden sechsmal nacheinander im Verhältnis 1:10 verdünnt.

Der Nullwert enthält 1 µl DMSO. Kontrollzellen werden weder mit DMSO noch mit Substanzen versetzt. Als Positivkontrolle wird eine Triton<sup>®</sup> X-100-Lösung in einer Endkonzentration von 1 g/ml zugesetzt.

Von jeder Testlösung bzw. von reinem DMSO und von der Triton<sup>®</sup> X-100-Stammlösung werden je 1 µl in ein Well mit 99 µl einer HL-60 Zellsuspension (Dichte ca.  $9 \times 10^5$  Zellen/ml) pipettiert und 24 Stunden bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert.

Jedes Well wird mit 10 µl MTT-Lösung (5 mg MTT in 1,0 ml PBS) versetzt und weitere 2 Stunden unter den oben angeführten Bedingungen inkubiert. Es werden anschließend 190 µl DMSO zugesetzt und nach weiteren 60 Minuten Wartezeit und gelegentlichem Rütteln wird die Platte photometrisch bei  $\lambda = 550$  nm in einem ELISA-Reader (Fa. SLT Spectra, Crailsheim) vermessen und die Ergebnisse statistisch ausgewertet.

### 6.3.3. Acetyl- und Butyrylcholinesterase-Test

Zur Testung auf Acetyl- und Butyrylcholinesterase-inhibitorische Aktivität wurden einige Substanzen an Prof. Dr. Jochen Lehmann, Institut für Pharmazie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, geschickt.

Die verwendete Methode wurde von Ellman<sup>123</sup> entwickelt und kürzlich von Kapková<sup>124</sup> modifiziert.

Alle Messungen erfolgten in Quarzküvetten durch UV-Spektrometrie. Die Stammlösung der Prüfsubstanz wird so hergestellt, dass in der Meßküvette eine Konzentration von  $10^{-4}$  M vorliegt. Dazu werden  $3,32 \times 10^{-5}$  mol (0,0332 mmol) der Testsubstanz in 10 ml Wasser, falls nötig mit einem geringen Zusatz von 1N Salzsäure oder Ethanol, gelöst. Aus dieser Stammlösung wird eine Verdünnungsreihe bis  $10^{-9}$  M in geeigneten Verdünnungsstufen hergestellt. Zur Vermessung der Proben werden 3 ml Phosphat-Puffer pH 8,0, 100 µl Probe, 100 µl 0,01 M 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoesäure (DTNB, Ellmann's Reagenz), 100 µl Acetylcholinesterase (AChE) bzw. Butyrylcholinesterase (BChE) und 20 µl 0,075 M Acetylthiocholiniumiodid (ATC) bzw. Butyrylthiocholiniumiodid (BTC) in einer Küvette gemischt.

Als Vergleichswert dient Puffer. Der Blank-Wert wird durch die Messung einer Mischung aus 3 ml Puffer, 200 µl Wasser, 100 µl DTNB und 20 µl ATC erhalten.

Alle Proben wurden nach Zugabe von ATC oder BTC und nach Durchmischung der Probenlösung für 2 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend bei  $\lambda = 412$  nm vermessen. Die Berechnung der verbleibenden Enzymaktivität erfolgt durch Einbeziehung eines 100%-Wertes, dessen Zusammensetzung sich nur durch die Zugabe von 100 µl Wasser anstatt der Probe unterscheidet.

Die Verdünnungsreihen der Testsubstanzen wurden jeweils dreifach vermessen, wobei vor jeder Messreihe der Blank- und 100%-Wert erneut vermessen wurden. Die Auswertung der Messdaten erfolgte mithilfe von GraphPad Prism<sup>®</sup> 4.

### 6.3.4. Sirtuin-Test

Die Testungen auf Aktivierung bzw. Inhibition von Sirtuinen wurden am Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, unter der Leitung von Prof. Dr. Manfred Jung durchgeführt.

Die Inhibition bzw. Aktivierung von SIRT wird in einem fluorimetrischen Assay ermittelt<sup>125</sup>.

45  $\mu$ l von Tris-HCl-Puffer pH 8,0 werden in ein Well gegeben. Dazu kommen im Allgemeinen 8-16 U (3,5 U/ $\mu$ l) von rekombinantem hSirt1.

Es werden 5  $\mu$ l an Inhibitor bzw. Aktivator in DMSO hinzugefügt und 10 min auf Eis gestellt. Danach gibt man 5  $\mu$ l 12,6 mM Substrat-Stammlösung von fluoreszierendem Z-(Ac)Lys-7-amino-4-methylcumarin (Z-(Ac)Lys-AMC, ZMAL) und 5  $\mu$ l 6 mM NAD<sup>+</sup>-Lösung hinzu. Bei der Blindprobe wird anstatt der Substrat-Lösung 5  $\mu$ l Tris-HCl Puffer zugesetzt. Bei der Negativkontrolle wird die Inhibitor- bzw. Aktivator-Lösung gegen Puffer-Lösung ausgetauscht.

Danach werden die Proben bei 37 °C 4 h inkubiert. Am Ende der Inkubationszeit werden zu der Negativkontrolle 5  $\mu$ l 126  $\mu$ M 7-Amino-4-methylcumarin-Lösung (AMC) zugegeben. Desweiteren werden alle Wells mit einer Stopplösung bestehend aus 48  $\mu$ l Tris-HCl-Puffer, 2  $\mu$ l 120 mM Nicotinamid-Lösung und 10  $\mu$ l 6 mg/ml Trypsin-Lösung versetzt. Die Proben werden weitere 20 min bei 37 °C inkubiert.

Die Wells werden anschließend bei einer Anregungswellenlänge von  $\lambda = 355$  oder 390 nm und einer Emissionswellenlänge von  $\lambda = 460$  nm vermessen. Die Werte der Blindprobe werden von der Negativkontrolle, die als 100 % angesehen wird, und den Probenwerten abgezogen. Die korrigierten Probenwerte werden durch die Negativkontrolle geteilt.

Die Auswertung der Mikroplatten erfolgte mit dem Microplate Polarstar Galaxy (BMG Labtechnologies Germany).

### 6.3.5. SGC Oxford High-Troughput Kinase-Screening

In Kooperation mit Dr. Stefan Knapp, Structural Genomics Consortium (SGC), University of Oxford, UK wurde ein Hochdurchsatzverfahren an Kinasen durchgeführt. Die Kinase-Aktivität wurde durch Vergleich der Liganden-abhängigen Schmelztemperatur ermittelt<sup>28, 126</sup>.

Die Schmelzexperimente wurden in dem Hochtemperatur-Fluoreszenz-Mikroplattenlesegerät FluoDia T70 der Firma Photon Tech. Int. durchgeführt.

Die Enzyme wurden mit 20 mM Piperazin-N-N'-bis(2-ethansulfonsäure) pH 7,0 (PIPES) versetzt, so dass die Endkonzentrationen in den Wells bei 2  $\mu\text{M}$  lag. Aus 500  $\mu\text{M}$  Stamm-Lösungen der Inhibitoren wurde ein Volumen zugesetzt, dass die Endkonzentration im Well bei 10  $\mu\text{M}$  lag. SYPRO-Orange wurde in einer Verdünnung von 1:1000 als fluoreszierendes Färbemittel zugesetzt. Die Platten wurden 15 min bei RT leicht geschüttelt. Die Anregungswellenlänge für SYPRO-Orange lag bei  $\lambda = 465 \text{ nm}$ , die Emissionswellenlänge bei  $\lambda = 590 \text{ nm}$ . Die Temperatur wurde um 1  $^{\circ}\text{C}/1,5 \text{ min}$  von 20 auf 72  $^{\circ}\text{C}$  angehoben. Alle 1,5 min wurde die Fluoreszenz gemessen. Die Referenzprobe wurde in derselben Art und Weise behandelt, nur dass statt dem Inhibitor Puffer zugesetzt wurde.

Die Temperaturdifferenzen wurden ermittelt, indem die Differenz zwischen den Mittelpunkten der Übergänge von Inhibitor und Referenz ermittelt wurde.

## 7. Anhang

### 7.1. Verzeichnis der Abkürzungen

%	Prozent
≤	kleiner gleich
°C	Grad Celsius
μl	Mikroliter
μM	mikromolar
μmol	Mikromol
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
Ac <sub>2</sub> O	Acetanhydrid
AChE	Acetylcholinesterase
AcO <sup>-</sup>	Acetat
AcOH	Essigsäure
AgNO <sub>3</sub>	Silbernitrat
AlCl <sub>3</sub>	Aluminiumchlorid
Ar	Aromat/Aryl
ATP	Adenosintriphosphat
BChE	Butyrylcholinesterase
ber.	berechnet
BOM	Benzylmethoxy
bzw.	beziehungsweise
CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	deutერიertes Methylenchlorid
CDCl <sub>3</sub>	Deuteriochloroform
CDI	Carbonyldiimidazol
CI	Chemische Ionisation
cm	Zentimeter
d	Dublett, Tag
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCU	Dicyclohexylharnstoff

dd	Doppeldublett
ddd	Dublett eines Doppeldublett
DDQ	Dichlordicyanobenzochinon
DEM	Diethoxymethyl
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d <sub>6</sub>	deuteriertes Dimethylsulfoxid
dt	Doppeltriplett
EC <sub>50</sub>	effective concentration 50 (effektive Konzentration)
EI	Elektronenstoß-Ionisation
et al.	und andere
eV	Elektronenvolt
FG	funktionelle Gruppe
FSC	Flash Säulen-Chromatographie
FT	Fourier-Transformation
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
gef.	gefunden
h	Stunde
HL-60	menschliche Leukämiezellen
HOBT	Hydroxybenzotriazol
HOSA	Hydroxylamin-O-sulfonsäure
HR-MS	high resolution mass spectrometry (hochauflösende Masse)
HTS	Hochdurchsatz Screening
Hz	Hertz
IC <sub>50</sub> -Wert	inhibitory concentration; Konzentration des Inhibitors, bei der ein halbmaximaler Effekt am Enzym beobachtet wird
Int.	Intensität
IR	Infrarot-Spektroskopie
J	Kopplungskonstante
LDA	Lithiumdiisopropylamid
Lit.	Literatur
ln	Natürlicher Logarithmus

## 7. Anhang

M	Molar
Max.	maximal
MCPBA	m-Chlorperbenzoesäure
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mol	Mol
MOM	Methoxymethyl
$M_r$	relative molare Masse
MS	Massenspektrometrie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
NAD <sup>+</sup>	Nicotinadenindinukleotid, oxidiert
NADH	Nicotinadenindinukleotid, reduziert
NADPH	Nicotinadenindinukleotidphosphat
NBS	N-Bromsuccinimid
nM	Nanomolar
nmol	Nanomol
NMR	nuclear magnetic resonance (Kernspinmagnetresonanz)
PCC	Pyridiniumchlorochromat
Ph	Phenyl
PPA	Polyphosphorsäure
PPE	Polyphosphorsäureester
PPh <sub>3</sub>	Triphenylphosphin
ppm	parts per million
R	allg. Gaskonstante
rel.	relativ
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SAR	structure activity relationship (Struktur-Aktivitäts-Beziehung)
SEM	Silylethoxymethyl
t	Triplett
T	Temperatur

---

Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
t-Bu	tert-Butyl-
TFA	Trifluoressigsäure
TH	totaler Hemmhof
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
UHP	Harnstoff-Wasserstoffperoxid
UV	ultraviolette Strahlung
vgl.	vergleiche
WH	Wachstumshemmung
z.B.	zum Beispiel

## 7.2. Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup>Manning, G., Whyte, D.B., Martinez, R., Hunter, T., Sudarsanam, S., *Science*, **2002**, *298*, 1912-34
- <sup>2</sup>Hanks, S.K., Hunter, T., *FASEB J.*, **1995**, *9*, 576-96
- <sup>3</sup>Dai, J., Sultan, S., Taylor, S.S., Higgins, J.M.G., *Genes and Dev.*, **2005**, *19*, 472-88
- <sup>4</sup>Higgins, J.M.G., Dai, J., Int. Patent, WO2006062855, **2006**
- <sup>5</sup>Nasmyth, K., *Cell*, **2001**, *107*, 689-701
- <sup>6</sup>Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., *Molekularbiologie der Zelle*, 4. Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, **2004**
- <sup>7</sup>Lu, G., Seta, K.A., Millhorn, D.E., *J. Biol. Chem.*, **2005**, *280*, 21731-38
- <sup>8</sup>Malumbres, M., Barbacid, M., *Trends Biochem. Sci.*, **2005**, *30*, 630-41
- <sup>9</sup>Nigg, E.A., *Bioessays*, **1995**, *17*, 471-80
- <sup>10</sup>[www.wikipedia.de](http://www.wikipedia.de)
- <sup>11</sup>Pohl, B., Luchterhandt, T., Bracher, F., *Synth. Commun.*, **2007**, *37*, 1273-80
- <sup>12</sup>Dissertation D. Hildebrand, Universität Marburg, **1994**
- <sup>13</sup>Dissertation O. Kast, LMU München, **2003**
- <sup>14</sup>Hagiwara, M., *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Proteins & Proteomics*, **2005**, *1754*, 324-31
- <sup>15</sup>Cheney, I.W., Yan, S., Appleby, T., Walker, H., Vo, T., Yao, N., Hamatake, R., Hong, Z., Wu, J.Z., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 1679-83
- <sup>16</sup>Capra, M., Nuciforo, P.G., Confalonieri, S., Quarto, M., Bianchi, M., Nebulosi, M., Boldorini, R., Pallotti, F., Viale, G., Gishizky, M.L., Draetta, G.F., Fiore, P.P.di, *Cancer Res.*, **2006**, *66*, 8147-54
- <sup>17</sup>Bennett, C.F., Freier, S.M., Dobie, K.W., U.S. Patent, US 2002-174559
- <sup>18</sup>Cuypers, T.H., Selten, G., Quint, W., Zijlstra, M., Maandag, E.R., Boelens, W., van Wezenbeek, P., Melief, C., Berns, A., *Cell*, **1984**, *37*, 141-50
- <sup>19</sup>Amaravadi, R., Thompson, C. B., *J. Clin. Invest.*, **2005**, *115*, 2618-24
- <sup>20</sup>Fox, C.J., Hammerman, P.S., Cinalli, R.M., Master, S.R., Chodosh, L.A., Thompson, C. B., *Genes Dev.*, **2003**, *17*, 1841-54
- <sup>21</sup>Pircher, T.J., Zhao, S., Geiger, J.N., Joneja, B., Wojchowski, D.M., *Oncogene*, **2000**, *19*, 3684-92

- <sup>22</sup>Roh, M., Gary, B., Song, C., Said-Al-Naief, N., Tousson, A., Kraft, A., Eltoun, I.-E., Abdulkadir, S.A., *Cancer Res.*, **2003**, *63*, 8079-84
- <sup>23</sup>Valdman, A., Fang, X., Pang, S.-T., Ekman, P., Egevad, L., *Prostate*, **2004**, *60*, 367-71
- <sup>24</sup>Giles, F., *Blood*, **2005**, *105*, 4158-9
- <sup>25</sup>Hammerman, P.S., Fox, C.J., Birnbaum, M.J., Thompson, C.B., *Blood*, **2005**, *105*, 4477-83
- <sup>26</sup>Adam, M., Pogacic, V., Bendit, M., Chappuis, R., Nawijn, M.C., Duyster, J., Fox, C.J., Thompson, C.B., Cools, J., Schwaller, J., *Cancer Res.*, **2006**, *66*, 3828-35
- <sup>27</sup>Bullock, A.N., Debreczeni, J., Amos, A.L., Knapp, S., Turk, B.E., *J. Biol. Chem.*, **2005**, *280*, 41675-82
- <sup>28</sup>Bullock, A.N., Debreczeni, J.E., Fedorov, O.Y., Nelson, A., Marsden, B.D., Knapp, S., *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 7604-14
- <sup>29</sup>Duby, J.J., Campbell, R.K., Setter, S.M., White, J.R., Rasmussen, K.A., *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **2004**, *61*, 160-73
- <sup>30</sup>North, B., Verdin, E., *Genome Biology*, **2004**, *5*, 224-4
- <sup>31</sup>Pagans, S., Pedal, A., North, B.J., Kaehlecke, K., Marshall, B.L., Dorr, A., Hetzer-Egger, C., Henklein, P., Frye, R., McBurney, M.W., Hruby, H., Jung, M., Verdin, E., Ott, M., *PLoS Biol.*, **2005**, *3*, e41
- <sup>32</sup>Bereshchenko, O.R., Gu, W., Dalla-Favera, R., *Nat. Genet.*, **2002**, *32*, 606-13
- <sup>33</sup>Ota, H., Tokunaga, E., Chang, K., Hikasa, M., Iijima, K., Eto, M., Kozaki, K., Aki-shita, M., Ouchi, Y., Kaneki, M., *Oncogene*, **2006**, *25*, 176-85
- <sup>34</sup>Vaziri, H., Dessain, S.K., Eaton, E.N., Imai, S.-I., Frye, R.A., Pandita, T.K., Guarente, L., Weinberg, R.A., *Cell*, **2001**, *107*, 149-59
- <sup>35</sup>Imai, S.-I., Armstrong, C.M., Kaeberlein, M., Guarente, L., *Nature*, **2000**, *403*, 795-800
- <sup>36</sup>Trapp, J., Jochum, A., Meier, R., Saunders, L., Marshall, B., Kunick, C., Verdin, E., Goekjian, P., Sippl, W., Jung, M., *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 7307-16
- <sup>37</sup>Napper, A.D., Hixon, J., McDonagh, T., Keavey, K., Pons, J.-F., Barker, J., Yau, W.T., Amouzegh, P., Flegg, A., Hamelin, E., Thomas, R.J., Kates, M., Jones, S., Navia, M.A., Saunders, J.O., DiStefano, P.S., Curtis, R., *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 8045-54
- <sup>38</sup>Anekonda, T.S., *Brain Research Reviews*, **2006**, *52*, 316-26
- <sup>39</sup>Bellus, D., Hrdlovic, P., *Chem. Rev.*, **1967**, *67*, 599-609

- <sup>40</sup>Fries, K., Finck, G., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1908**, *41*, 4271-84
- <sup>41</sup>Milstein, D., Stille, K.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 3636-8
- <sup>42</sup>Shine, H.J., *Aromatic Rearrangements*, American Elsevier, New York, **1969**, 190-207
- <sup>43</sup>Barclay, B.M., Campbell, N., *J. Chem. Soc.*, **1945**, 530-3
- <sup>44</sup>Dissertation A. Puzik, LMU München, **2003**
- <sup>45</sup>Whaley, W.M., Govindachari, T.R., *Organic Reactions*, **1951**, *6*, 74-150
- <sup>46</sup>Abramovitch, R.A., Spenser, I.D., *Advances in Heterocyclic Chemistry*, **1964**, *3*, 79-207
- <sup>47</sup>Tatsui, G., *J. Pharm. Soc. Japan*, **1928**, *48*, 92
- <sup>48</sup>Shizuka, H., Kato, M., Ochiai, T., Matsui, K., Morita, T., *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **1970**, *43*, 67-74
- <sup>49</sup>Zander, M., *Chem. Ber.*, **1981**, *114*, 2665-7
- <sup>50</sup>Gosh, S., *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 4611-4
- <sup>51</sup>Danehy, J.P., Vogt, R.R., Nieuwald, J.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, *57*, 2327-8
- <sup>52</sup>Itier, J., Casadevall, A., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1969**, *7*, 2342-55
- <sup>53</sup>Rogers, C.U., Corson, B.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, *69*, 2910-1
- <sup>54</sup>Fischer, E., Jourdan, F., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1883**, *16*, 2241-5
- <sup>55</sup>Bertrand, J., *Bull. Soc. Chim. France*, **1896**, *15*, 764-8
- <sup>56</sup>Blaise, E.-E., *Bull. Soc. Chim. France*, **1909**, *5*, 681-92
- <sup>57</sup>Zhu, L., Wehmeyer, R.M., Rieke, R.D., *J. Org. Chem.*, **1994**, *56*, 1445-53
- <sup>58</sup>Boudier, A., Bromm, L.O., Lotz, M., Knochel, P., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2000**, *39*, 4414-35
- <sup>59</sup>Kazmierski, I., Gosmini, C., Paris, J.-M., Périchon, J., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 6417-20
- <sup>60</sup>Kazmierski, I., Bastienne, M., Gosmini, C., Paris, J.-M., Périchon, J., *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 936-42
- <sup>61</sup>Rapoport, H., Bowman, M., *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 324-7
- <sup>62</sup>Whitmore, F.C., Mosher, H.S., Adams, R.R., Taylor, R.B., Chapin, E.C., Weisel, C., Yanko, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1944**, *66*, 725-31
- <sup>63</sup>Gmeiner, P., Bollinger, B., *Synthesis*, **1995**, 168-70
- <sup>64</sup>Gmeiner, P., Kraxner, J., Bollinger, B., *Synthesis*, **1996**, 1196-8
- <sup>65</sup>Kocienski, P.J., *Protecting Groups*, Thieme Verlag Stuttgart, 1. Aufl., **1994**, 218
- <sup>66</sup>Kocienski, P.J., *Protecting Groups*, Thieme Verlag Stuttgart, 1. Aufl., **1994**, 209

- <sup>67</sup>Wang, J.-J., Hu, W.-P., *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 5725-7
- <sup>68</sup>Dissertation C. Berns, LMU München, **2004**
- <sup>69</sup> Suzuki, A., Miyaura, N., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 866-7
- <sup>70</sup> Suzuki, A., Miyaura, N., *Chem. Rev.*, **1995**, *95*, 2457-83
- <sup>71</sup>Indian Patent, 182307, **1999**, Indian Patent, 182512, **1999**
- <sup>72</sup>Zafar, A., Geib, S.J., Hamuro, Y., Carr, A.J., Hamilton, A.D., *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 8419-27
- <sup>73</sup>Bischler, A., Napieralski, B., *Chem. Ber.*, **1893**, *26*, 1903-8
- <sup>74</sup>Berger, U., Dannhardt, G., Wiegrebe, W., *Arch. Pharm.*, **1983**, *316*, 182-9
- <sup>75</sup>Fodor, G., Gal, J., Philips, A., *Angew. Chem. Int. Edit.*, **1972**, *10*, 919-20
- <sup>76</sup>Blau, K., King, G.S., Merton, S., *Biom. Mass Spectr.*, **1977**, *4*, 232-6
- <sup>77</sup>Biswas, K.M., Jackson, A., Tehrani, M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1982**, 765-6
- <sup>78</sup>Frost, J.R., Gaudillière, B.R.P., Wick, A.E., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1985**, 895-7
- <sup>79</sup>Fodor, G., Nagubandi, S., *Tetrahedron*, **1980**, *36*, 1279-300
- <sup>80</sup>Sheehan, J.C., Hess, G.P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 1067-8
- <sup>81</sup>Klausner, Y.S., Bodansky, M., *Synthesis*, **1972**, 453-63
- <sup>82</sup>König, W., Geiger, R., *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 788-98
- <sup>83</sup>Staab, H.A., Lüking, M., Dürr, F.H., *Chem. Ber.*, **1962**, *95*, 1275-83
- <sup>84</sup>Kanaoka, Y, Sato, E., Ban, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **1967**, *15*, 101-7
- <sup>85</sup>Bhattacharjya, A., Chattopadhyay, P., Bhaumik, M., Pakrashi, S.C., *J. Chem. Res.*, **1989**, *7*, 228-9
- <sup>86</sup>Barstow, L.E., Hruby, V.J., *J. Org. Chem.*, **1971**, *36*, 1305-6
- <sup>87</sup>Appel, R., Warning, K., Ziehn, K.-D., *Chem. Ber.*, **1973**, *106*, 3450-4
- <sup>88</sup>Das, S.S., Nath, U., Deb, D., Das, P.J., *Synth. Commun.*, **2004**, *34*, 2359-63
- <sup>89</sup>Karramkam, M., Hinnen, F., Vaufrey, F., Dollé, F., *J. Label. Comp. Radiopharm.*, **2003**, *46*, 979-92
- <sup>90</sup>Späth, E., Lederer, E., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1930**, *63*, 2102-11
- <sup>91</sup>Hendrickson, F.B., de Vries, J.G., *J. Org. Chem.*, **1985**, *50*, 1688-95
- <sup>92</sup>Abarca, B., Asensio, A., Jones, G., Mouat, D.J., *Tetrahedron*, **1989**, *45*, 7041-8
- <sup>93</sup>Citterio, A., Gentile, A., Minisci, F., Serravalle, M., Ventura, S., *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 617-20
- <sup>94</sup>Dissertation F. Dombeck, LMU München, **2003**

- <sup>95</sup>Ashimori, A., Ono, T., Uchida, T., Ohtaki, Y., Fukaya, C., Watanabe, M., Yokoyama, K., *Chem. Pharm. Bull.*, **1990**, *38*, 2446-2458
- <sup>96</sup>Shi, X.-F., Xing, Z.-Y., Wu, L., Zhang, W.-Q., *Inorg. Chim. Acta*, **2006**, *359*, 603-8
- <sup>97</sup>Chand, P., Kotian, P.L., Morris, P.E., Bantia, S., Walsh, D.A., Babu, Y.S., *Bioorg. & Med. Chem.*, **2005**, *13*, 2665-78
- <sup>98</sup>Riesgo, E.C., Jin, X., Thummel, R.P., *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 3017-22
- <sup>99</sup>Pictet, A., Spengler, T., *Ber.*, **1911**, *44*, 2030-6
- <sup>100</sup>Ghosal, S., Banerjee, P.K., *Ind. J. Chem.*, **1971**, *9*, 289-93
- <sup>101</sup>Knabe, J., Saggau, R., *Arch. Pharm.*, **1973**, *306*, 500-9
- <sup>102</sup>Woodward, R.B., *Nature*, **1948**, *162*, 155-6
- <sup>103</sup>Jackson, A.H., Smith, A.E., *Tetrahedron*, **1965**, *21*, 989-1000
- <sup>104</sup>Jackson, A.H., Naidoo, B., Smith, P., *Tetrahedron*, **1968**, *24*, 6119-29
- <sup>105</sup>Misztal, S., *Dissert. Pharm. Pharmacol.*, **1970**, *22*, 127-35
- <sup>106</sup>MacLaren, J.A., *Aust. J. Chem.*, **1989**, *42*, 813-21
- <sup>107</sup>Lippke, K.P., Schunack, W.G., Wenning, W., Müller, W.E., *J. Med. Chem.*, **1983**, *26*, 499-503
- <sup>108</sup>Tavares, F.X., Boucheron, J.A., Dickerson, S.H., Griffin, R.J., Preugschat, F., Thomson, S.A., Wang, T.Y., Zhou, H.-Q., *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 4716-30
- <sup>109</sup>Wang, S., Meades, C., Wood, G., Osnowski, A., Anderson, A., Yuill, R., Thomas, M., Mezna, M., Jackson, W., Midgleiy, C., Griffiths, G., Fleming, I., Green, S., McNae, I., Wu, S.-Y., McInnes, C., Zheleva, D., Walkinshaw, M.D., Fischer, P.M., *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1662-75
- <sup>110</sup>Porcheddu, A., Giacomelli, G., Chighine, A., Masala, S., *Org. Lett.*, **2004**, *26*, 4925-7
- <sup>111</sup>PCT Int. Application, 9507877, **1995**
- <sup>112</sup>Vejdělík, Z.J., Trčka, V., Protiva, M., *J. Med. Pharm. Chem.*, **1961**, *3*, 427-40
- <sup>113</sup>Hiroshi, A., Kyuya, O., Minoru, Y., Takayuki, S., Masashi, K., Yasuo, K., Shunichi, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **1974**, *22*, 2614-23
- <sup>114</sup>Snyder, H.R., Walker, H.G., Werber, F.X., *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*, 527-9
- <sup>115</sup>Mosmann, T., *J. Immunol. Methods*, **1983**, *65*, 55-63
- <sup>116</sup>Berridge, M.V., Tan, A.S., *Arch. Biochem. Biophys.*, **1993**, *303*, 474-82
- <sup>117</sup>Berridge, M.V., Tan, A.S., McCoy, K.D., Wang, R., *Biochemica*, **1996**, *4*, 14-19
- <sup>118</sup>Yoo, H.W., Suh, M.E., Park, S.W., *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 4716-22

- <sup>119</sup>Schott, Y., Decker, M., Rommelspacher, H., Lehmann, J., *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2006**, *16*, 5840-3
- <sup>120</sup>Decker, M., *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 305-13
- <sup>121</sup>Nayagam, V.M., Wang, X., Cheng-Tan, Y., Poulsen, A., Goh, K.C., Ng, T., Wang, H., Song, H.Y., Ni, B., Entzeroth, M., Stünkel, W., *J. Biomol. Screen.*, **2006**, *11*, 959-67
- <sup>122</sup>Zander, M, *Chem. Ber.*, **1981**, *114*, 2665-7
- <sup>123</sup>Ellmann, G.L., Courtney, K.D., Andres jr., V., Featherstone, R.M., *Biochem. Pharmacol.*, **1961**, *7*, 88-95
- <sup>124</sup>Kapková, P., Stiefl, N., Sürig, U., Engels, B., Baumann, K., Holzgrabe, U., *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **2003**, *336*, 523-40
- <sup>125</sup>Heltweg, B., Trapp, J., Jung, M., *Methods*, **2005**, *36*, 332-7
- <sup>126</sup>Matulis, D., Kranz, J. K., Salemme, F. R., Todd, M., *Biochemistry*, **2005**, *44*, 5258-66



# Curriculum vitae

## Persönliche Daten

Name	Benjamin Strödke
Geburtsdatum	25.02.1978
Geburtsort	Bad Friedrichshall
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

## Schulbildung und Studium

09/1988 – 06/1997	Gymnasium Ottobrunn
	Abschluss: allgemeine Hochschulreife 06/1997
10/1998 – 10/2002	Studium der Pharmazie an der Ludwig-Maximilians-Universität München
	09/00      1. Staatsexamen
	10/02      2. Staatsexamen
	03/04      3. Staatsexamen
	03/04      Approbation als Apotheker

## Weiterbildung

03/2004 – 05/2007	Weiterbildung zum Fachapotheker für Pharmazeutische Analytik
-------------------	--

## Praktika und Anstellungen

07/1997 – 04/1998	Wehrdienst
	07/97 – 08/97      Grundausbildung in der Pionier-Kaserne auf der Schanz, Ingolstadt
	09/97 – 04/98      Wehrdienst in der Pionierschule, München
11/2002 – 04/2003	Pharmaziepraktikum in der Arabella-Apotheke, München
05/2003 – 10/2003	Pharmaziepraktikum an der Ludwig-Maximilians-Universität München bei Prof. Dr. F. Bracher
seit 05/2003	Promotion am Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München bei Prof. Dr. F. Bracher
	Tätigkeiten am Lehrstuhl:
	- Betreuung 8. Semester: Arzneimittelanalytik
	- Betreuung 2. Semester: Quantitative Analytik
	- Oberassistent 2. Semester Quantitative Analytik