

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



**Neue Kinaseinhibitoren
vom β - und γ -Carbolin-Typ**

von
Anne Wurzlbauer
aus
Pfarrkirchen

2013

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 7 der Promotionsordnung vom 28.11.2011 von Herrn Prof. Dr. Franz Bracher betreut.

Eidesstattliche Versicherung

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 29.10.2013

Anne Wurzlbauer

Dissertation eingereicht am: 04.11.2013

1. Gutachter: Prof. Dr. Franz Bracher

2. Gutachter: Prof. Dr. Klaus T. Wanner

Mündliche Prüfung am: 19.12.2013

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Franz Bracher für seine engagierte und stets wohlwollende Unterstützung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch den Mitgliedern der Prüfungskommission, insbesondere Herrn Prof. Dr. Klaus Wanner für die freundliche Übernahme des Koreferats.

Ferner danke ich:

Herrn Prof. Dr. Walter Becker, Frau Katharina Rüben, Frau Agnes Walte für die Durchführung aller Testungen im Rahmen des DYRK1A-Projektes und für die hervorragende Zusammenarbeit.

Herr Prof. Dr. Wolfgang Sippl für die Erstellung der Dockingmodelle im Rahmen des DYRK1A-Projektes.

Herrn Prof. Dr. Stefan Knapp, Oleg Fedorov und allen Mitarbeitern des *Structural Genomics Consortium* der *University of Oxford* für die Durchführung des Kinase-Screenings.

Herrn Dr. Lars Allmendinger und seinen Mitarbeiterinnen und Herrn Dr. Spahl und seinen Mitarbeitern für die Durchführung NMR-, Massen- und IR-spektroskopischer Messungen.

Frau Martina Stadler für die Durchführung des Agar-Diffusionstests und des MTT-Assays sowie für das Abwiegen unzähliger Substanzproben.

Allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises für die stets gute Zusammenarbeit. Mein besonderer Dank gilt hierbei Herrn Dr. Uwe Wollein, Herrn Dr. Jürgen Krauß, Frau Dr. Sandra Hemmers, Herrn Christoph Müller, Frau Tanja Höft, Frau Veronika Hogger, Herrn Tobias Hauke, Herrn Andreji Angelovski und Frau Ursula Kopp und natürlich meinen Laborkollegen Herrn Nghia Ong, Herrn Dr. Nikolaus Hiltz, Herrn Florian Lirk und Herrn Tobias Popp. Mein Dank gilt auch meinen Studenten für die praktische Hilfe bei der Laborarbeit.

Mein Dank gilt auch meinen Freunden.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern und meinen Brüdern für den Rückhalt und die Unterstützung.

Meiner Familie gewidmet

Inhalt

1. Einleitung	1
1.1. Das humane Kinom	1
1.2. Serin/Threonin-Kinasen und Inhibitoren	2
1.2.1. DYRK.....	2
1.2.2. DYRK1A-Inhibitoren.....	4
1.2.3. CLKs und Inhibitoren.....	12
1.2.4. CDKs und Inhibitoren	14
1.3. Monoaminoxidase A (MAO-A)	16
2. Themenstellung und Syntheseplanung.....	17
2.1. Themenstellung	17
2.1.1. 3,4-Dihydro-Bauerin C (32) und 1,2,4,5-Tetrahydro-3-oxo- γ -carbolin (38) als Leitstrukturen.....	17
2.1.2. Annomontin (30) als Leitstruktur	19
2.1.3. Harmin (1) als Leitstruktur	20
2.2. Synthesplanung	27
2.2.1. Synthese des γ -Carbolin-Isomers 39 von Dihydro-Bauerin C (32)	27
2.2.2. Synthese eines Dichlor-Analogen von Annomontin (40)	28
2.2.3. Entwicklung eines selektiven DYRK1A-Inhibitors ausgehend von Harmin.....	29
3. Synthesen	33
3.1. Synthese des γ-Carbolin-Isomers 39 von 3,4-Dihydro-Bauerin C (32)	33
3.1.1. Syntheseplanung	33
3.1.2. Synthese des γ -Carbolin-Isomers von 3,4-Dihydro-Bauerin C (39)....	39
3.1.3. Versuche zur selektiven Methylierung an N-5	42
3.1.4. Einführung einer Schutzgruppe an N-2.....	43
3.1.5. Synthese ausgehend von 6,7-Dichlor-1-methyl-1 <i>H</i> -indol (61) über eine Pummerer-Cyclisierung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung	50
3.1.5.1. Bartoli-Indol-Synthese	50
3.1.5.2. N-Methylierung von 6,7-Dichlorindol (63)	50
3.1.5.3. Vilsmeier-Haack-Formylierung	51

3.1.5.4. Reduktive Aminierung	51
3.1.5.5. Synthese der Vorstufe für die Pummerer-artige Cyclisierung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung	53
3.1.5.6. Versuch zur Friedel-Crafts-artigen Cyclisierung.....	56
3.1.5.7. Versuch zur Cyclisierung über eine Pummerer-artige Reaktion.....	57
3.1.6. Synthese des γ -Carbolin-Isomers 39 ausgehend von 6,7-Dichlor-1-methylindol (61) über eine Minisci-artige Reaktion.....	58
3.1.6.1. Versuch zur Funktionalisierung an C-2 des Aldehyds 69	59
3.1.6.2. Funktionalisierung an C-2 des Methylindols 61	60
3.1.6.3 Formylierung der Ethoxycarbonylmethylverbindung 70.....	62
3.1.6.3. Versuch zur Synthese des γ -Carbolin-Isomers von 3,4-Dihydro-Bauerin C (39).....	63
3.2. Synthese eines Dichlor-Analogen von Annomontin	65
3.2.1. Syntheseplanung	65
3.2.2. Darstellung des dichlorierten 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolins (98)	66
3.2.3. Dehydrierung des 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolins 98.....	68
3.2.4. Bromierung des 1-Oxo- β -carbolins 104	68
3.2.5. Stille-Kupplung.....	70
3.2.6. Synthese von Dichlorannomontin (40).....	72
3.3. Synthese von Analoga von Harmin (1)	74
3.3.1. Syntheseplanung	74
3.3.1.1. Variationen am Ring C.....	74
3.3.1.2. Variationen am Ring B.....	75
3.3.1.3 Variationen am Ring A.....	77
3.3.2. Variationen am Ring C	80
3.3.2.1. Elektrophile aromatische Substitutionen am Harmin (1) und Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs.....	80
3.3.2.2. Variation der Methoxygruppe.....	82
3.3.3. Variationen am Ring B.....	84
3.3.3.1. Synthese von 9-Desazaharminen	84
3.3.3.1.1. Synthese des Grundkörpers.....	84
3.3.3.1.2. Reduktion des Azafluorenons 44 zum Alkohol 45	87
3.3.3.1.3. Versuch zur Synthese des Indeno[2,1-c]pyridins 46	88
3.3.3.1.4. Wittig-Reaktion.....	91

3.3.3.1.5. Synthese von 2-Desaza-Harmin (43) im Rahmen einer Masterarbeit	94
3.3.3.2 Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs von Harmin	95
3.3.3.2.1 Einfache <i>N</i> -Alkylderivate	95
3.3.3.2.2. Aminoalkylderivate des Harmins	99
3.3.3.2.3. Einführung von polaren Resten mit einem CH ₂ -X Motiv	100
3.3.4. Variationen am Ring A	110
3.3.4.1. Kondensationen an der Methylgruppe an Position 1	110
3.3.4.1.1. Synthese von Benzylidenharmin (42)	110
3.3.4.1.1. Kondensationsreaktionen am Harmin (1)	111
3.3.4.2. <i>N</i> -Alkylierung von Benzylidenharmin (42)	115
3.3.4.2. Tetracyclen mit einer Überbrückung von Ring A mit N-9	116
3.3.4.3. Flexible Variation an C-1	121
3.3.4.3.1. Minisci-Reaktionen an Norharman	121
3.3.4.3.2. Pd-katalysierte Kupplungen	122
3.3.4.3.2.1. Synthese von Harmalacidin (58)	122
3.3.4.3.2.2. Dehydrierung von Harmalacidin (58)	125
3.3.4.3.2.3. Halogenierung an C-1 des 1-Oxo-β-carbolins 119	126
3.3.4.3.2.4. <i>N</i> -Alkylierung des 1-Chlor-β-carbolins (197)	128
3.3.4.3.2.5. Pd-katalysierte Funktionalisierung an C-1	129
3.3.3. Synthese von Harmin-Bauerin C-Hybriden	131
3.3.3.1. <i>N</i> -Alkylierung von 1-Brom-7,8-dichlor-β-carbolin (99)	131
3.3.3.2. Pd-Katalysierte Funktionalisierung an C-1 von 1-Brom-7,8-dichlor-β-carbolin (99)	132
3.3.3.3. <i>N</i> -Alkylierung des Bauerin C-Harmin-Hybrides 120	133
4. Biologische Testung	135
4.1. Agar-Diffusionstest	135
4.1.1. Testergebnisse	136
4.1.2. Diskussion der Testergebnisse	138
4.2. MTT-Test	140
4.2.1. Testergebnisse	141
4.2.2. Diskussion der Testergebnisse	142
4.3. High Throughput-Screening an Proteinkinasen	144

4.3.1. Testergebnisse.....	146
4.3.2. Diskussion der Testergebnisse	146
4.4. Testung auf Hemmung der CLK1	148
4.4.1. Testergebnisse und Diskussion	148
4.5. Testung auf Hemmung der DYRK1, CLK1 und MAO-A	151
4.5.1. Testergebnisse.....	154
4.5.2. Diskussion der Testergebnisse	163
4.5.3. Testung von 199: Screening an 300 Kinasen	172
4.5.4. Bestimmung der Zytotoxizität der besten Verbindungen aus dieser Arbeit.....	177
4.5.5. Testung der besten Verbindungen in einem zellulären Assay.....	179
5. Zusammenfassung	181
6. Experimenteller Teil.....	201
6.1. Geräte	201
6.2. Arbeitstechniken	202
6.3. Synthesevorschriften	204
4-(7,8-Dichlor-9 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-yl)-pyrimidin-2-amin (40)	204
7-Methoxy-1-methyl-9 <i>H</i> -indeno-[2,1- <i>c</i>]pyridin-9-on (44)	205
(±)-7-Methoxy-1-methyl-9 <i>H</i> -indeno-[2,1- <i>c</i>]pyridin-9-ol (45).....	206
(2 <i>E</i>)-(7-Methoxy-1-methyl-9 <i>H</i> -indeno[2,1 <i>c</i>]pyridin-9-yliden)ethannitril (47)	208
6,7-Dichlor-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3- <i>b</i>]indol-3-on (48)	209
1-(7,8-Dichlor-9 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-yl)-ethanon (56)	211
6,7-Dichlor-1-methyl-1 <i>H</i> -indol (61).....	213
6,7-Dichlor-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl-methanamin (64)	214
6,7-Dichlor-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-carbaldehyd (69)	215
2-(6,7-Dichlor-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-2-yl)carbonsäureethylester (70).....	216
2-(6,7-Dichlor-3-formyl-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-2-yl)carbonsäureethylester (71)	218
2-Allyl-6,7-dichlor-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3- <i>b</i>]indol-3-on (78).....	219
2-Allyl-6,7-dichlor-5-methyl-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3- <i>b</i>]indol-3-on (79)	220

<i>N</i>-[(6,7-Dichlor-1-methyl-1<i>H</i>-indol-3-yl)methyl]-2-(phenylthio)acetamid (90)	222
2-(3-Aminomethyl)-6,7-dichlor-1-methyl-1<i>H</i>-indol-2-yl)carbonsäureethylester (96)	223
1-Brom-7,8-dichlor-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (99)	224
7,8-Dichlor-2,9-dihydro-1<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol-1-on (104)	225
4-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-3-carbonsäureethylester (115)	227
(7-Methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol-9-yl)essigsäureethylester (116)	229
1-Formyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (117)	230
7-Methoxy-2,9-dihydro-1<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol-1-on (119)	231
7,8-Dichlor-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (120)	232
8-Brom-9-butyl-7-methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (128)	233
9-Butyl-8-chlor-7-methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (129)	235
9-Butyl-6-chlor-7-methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (130)	237
9-Butyl-7-methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (131)	238
7-Methoxy-1-methyl-9-(prop-2-in-1-yl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>] (135)	239
(7-Methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol-9-yl)-acetonitril (136)	241
6-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-2-carbonsäureethylester (137)	243
7-Hydroxy-1-methyl-9<i>H</i>-indeno-[2,1-<i>c</i>]pyridin-9-on (140)	244
9-Benzyl-7-methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (143)	245
7-Methoxy-1-methyl-9-(prop-2-en-1-yl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (144)	246
7-Methoxy-1-methyl-9-(3-methylbut-2-en-1-yl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (145)	247
7-Methoxy-9-(4-methoxybenzyl)-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (146)	249
7-Methoxy-1-methyl-9-(pyridin-4-yl-methyl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (147)	250
7-Methoxy-1-methyl-9-((<i>E</i>)-3-phenylallyl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (148)	252
7-Methoxy-1-methyl-9-(2-naphthylmethyl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (150)	254
7-Methoxy-1-methyl-9-(2-phenoxyethyl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (151)	255
7-Methoxy-1-methyl-9-(3-phenylpropyl)-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol (152)	257
[3-(7-Methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol-9-yl)-propyl]-dimethylamin (153)	258
[2-(7-Methoxy-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]indol-9-yl)-ethyl]-dimethylamin (154)	260

4-[2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-ethyl]morpholin (155)	261
7-Methoxy-1-methyl-9-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]-9H-pyrido[3,4-b]indol (156)	263
7-Methoxy-1-methyl-9-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]-9H-pyrido[3,4-b]indol (157)	264
2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-essigsäure (158)	266
3-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-propionsäureethylester (159)	267
(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)essigsäuremethylester (161)	269
(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)essigsäureisopropylester (162)	270
2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-N-methylacetamid (163)	272
2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)acetamid (164)	273
2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-N,N-dimethylacetamid (165)	275
3-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-propannitril (167)	276
(±)-2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-propannitril (168)	278
1-(1-Methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)ethan-1-on (172)	279
1-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)ethanon (175)	281
1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol (197)	282
1-Chlor-7-methoxy-9-(prop-2-in-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (198)	283
(1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)acetonitril (199)	285
1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl-essigsäureethylester (200)	286
3-(1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-N,N-dimethylpropan-1-amin (201)	287
1-Ethyl-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]-9-yl-essigsäureethylester (202)	289
1-Brom-7,8-dichlor-9-(prop-2-in-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (205)	290
(1-Brom-7,8-dichlor-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-acetonitril (206)	292
7,8-Dichlor-1-methyl-9-(prop-2-in-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (209)	293
(7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)acetonitril (210)	294
(7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]-9-yl)essigsäureethylester (211)	296

3-(7,8-Dichlor-1-methyl-9<i>H</i>-pyrido[3,4-<i>b</i>]-9-yl)-<i>N,N</i>-dimethylpropan-1-amin (212).....	297
6.4. Arbeitstechniken Biologische Testung	299
6.3.1. Agar-Diffusionstest.....	299
6.3.2. MTT-Test	300
6.3.4. High throughput Screening an Proteinkinasen (SGC Oxford)	301
6.3.5. Testsysteme für DYRK1A, MAO-A, CLK1 und DYRK2.....	301
7. Abkürzungsverzeichnis	303
8. Abbildungsverzeichnis	305
9. Literaturverzeichnis.....	313

1. Einleitung

1.1. Das humane Kinom

Der Begriff „Kinom“ bezeichnet die Gesamtheit aller Kinasen, die von einer einzelnen Zelle oder einem Organismus exprimiert werden. 2002 wurde die Charakterisierung des humanen Kinoms abgeschlossen. Das Kinom umfasst insgesamt 518 einzelne Kinasen¹ (Abb.1). Davon sind 90 Tyrosinkinase, 388 Serin/Threoninkinase und 40 andere Kinasen. Kinasen sind Enzyme, die Phosphatgruppen auf andere Proteine übertragen. Kinasen phosphorylieren ihre Substrate an den Hydroxylgruppen der Aminosäuren Serin, Threonin oder Tyrosin. Als Phosphatquelle dient dabei ATP (Adenosintri-phosphat), welches dabei in Adenosindiphosphat (ADP) umgewandelt wird. Proteinkinase werden in zwei Hauptfamilien aufgeteilt, je nachdem welche Aminosäure phosphoryliert wird. Die Unterteilung erfolgt in Serin/Threonin- und Tyrosinkinase. Kinasen spielen eine wichtige Rolle, sowohl in der inter- wie auch intrazellulären Signaltransduktion biologischer Systeme, wie zum Bsp. in der Regulation des Zellzyklus oder zellulärer Funktionen wie Apoptose, Metabolismus, Morphologie und Migration der Zellen. Daneben sind Kinasen auch an immunologischen und inflammatorischen Prozessen, neurodegenerativen Erkrankungen, Infektionen sowie metabolischen Störungen beteiligt. Störungen in der Kinase-gesteuerten Regulation dieser Vorgänge sind wichtige Schlüsselfaktoren bei einer Vielzahl von Erkrankungen, wodurch die Modulation der Kinaseaktivität, besonders durch niedermolekulare Stoffe, eine attraktive Strategie zur Entwicklung neuer Wirkstoffe darstellt. Proteinkinase haben seit einigen Jahren zunehmend Beachtung als Zielmoleküle für die Wirkstoffentwicklung erlangt und jedes Jahr werden neue Kinase-Hemmstoffe als Medikamente zugelassen². Kinasen wurden auf Grund ihrer vielfältigen Bedeutung in der zellulären Regulation als „*Drug targets of the 21st century*“ bezeichnet³.

Die Hauptfamilien der Kinasen können noch weiter in Gruppen, Familien und Unterfamilien⁴ unterteilt werden, wobei die Einteilung primär durch Sequenzvergleich der katalytischen Domäne erfolgte. Die für diese Arbeit relevanten Kinase-Familien gehören zu den Gruppen CMGC (nach den erhaltenen Familien CDK, MAPK, GSK3 und CLK) und zur Eukaryotic Protein Kinase (ePK) Superfamily (zum Bsp. Haspin-Kinase als ein Vertreter). Da eine Auflistung und Erklärung aller Familien und

Unterfamilien den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, werden im Anschluss ausschließlich die für diese Arbeit relevanten Kinasen genauer vorgestellt.

1.2. Serin/Threonin-Kinasen und Inhibitoren

Im Folgenden werde ich auf CLK und CDK und deren Inhibitoren nur ganz kurz eingehen und dafür ausführlicher die DYRK1A und ihre Inhibitoren besprechen.

1.2.1. DYRK

Die Kinasen der DYRK-Familie⁵ sind eukaryotische Proteinkinasen und gehören zur Gruppe der CMGC. Die Abkürzung DYRK steht für **D**ual-Specificity **T**ryosine (**Y**) Phosphorylation-regulated **K**inases. DYRKs zeichnen sich durch eine duale Spezifität aus. Zum einem katalysieren sie die Phosphorylierung von Threonin- und Serinresten von Substraten und zum anderen die Autophosphorylierung von Tyrosinresten in der Aktivierungsschleife. Diese Autophosphorylierung dient nur zur Aktivierung der Kinase, nicht aber zur Regulation der Enzymaktivität. Die DYRK-Familie besteht aus 5 Isomeren, die in 2 Klassen⁶ eingeteilt werden: zur Klasse 1 gehören DYRK1A und 1B und zur Klasse 2 DYRK 2, 3 und 4⁷. Die DYRKs spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle bei der Regulation der postembryonalen Neurogenese, Entwicklungsprozessen, Zellproliferation, Differenzierung und Zelltod⁶. Auch an der Proteinstabilisierung sind DYRKs beteiligt. Becker veröffentlichte 2012 einen Artikel, der sich mit der Rolle der DYRKs bei der Regulierung der Proteinstabilisierung im Zellcyclus beschäftigt⁸. Die DYRKs werden auf Grund ihrer vielfältigen Funktion als pleiotrope Proteinkinasen bezeichnet. Bislang am besten wurde DYRK1A untersucht. DYRK1A besitzt diverse Funktionen in der neuronalen Entwicklung und der Physiologie des Erwachsenenengehirns. Eine erhöhte Aktivität an DYRK1A spielt wahrscheinlich eine Rolle bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie zum Bsp. Down-Syndrom oder Morbus Alzheimer. DYRK1A wird auch als Kandidatengen für Down-Syndrom bezeichnet, da es auf dem Chromosom 21 lokalisiert ist. Eine exzessive Aktivität von DYRK1A wird auch mit neurodegenerativen Erkrankungen in Verbindung gebracht, da DYRK1A entscheidende Komponenten von Proteinaggregaten phosphoryliert, wie zum Bsp.

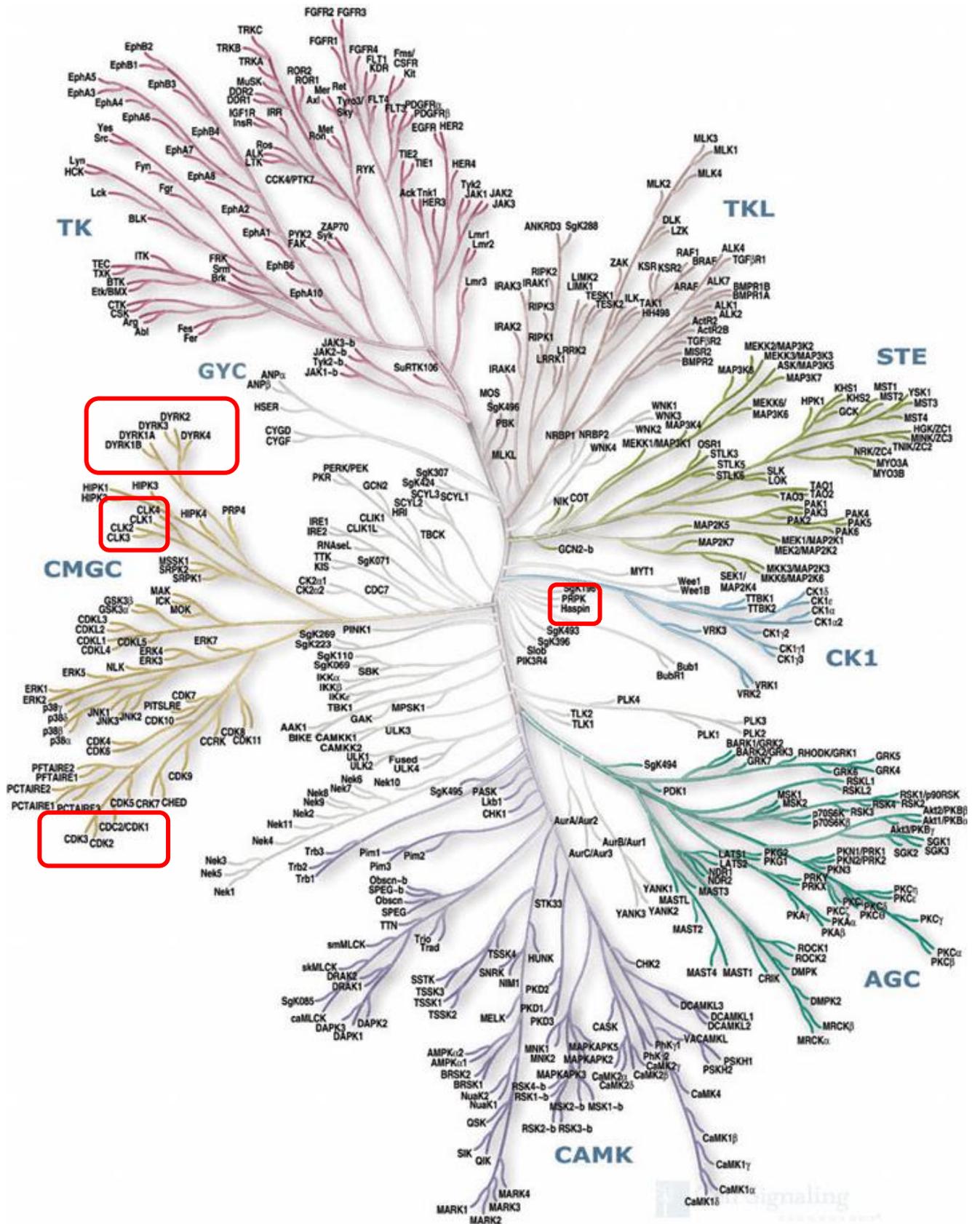


Abb. 1 Einteilung des Kinoms in Gruppen, Familien- und Unterfamilien¹. Die für diese Arbeit relevanten Kinasen sind rot markiert.

das Tau-Protein in den Neurofibrillen bei Morbus Alzheimer oder α -Synuclein in *Lewy bodies* bei Morbus Parkinson^{5,9,10,11}. Als weitere Substrate zählen auch Transkriptions- und Splicing-Faktoren sowie synaptische Proteine¹². DYRK1A wird auch eine Rolle beim alternativen Splicing zugesprochen, die aber noch genauer untersucht werden muss¹³.

DYRK1B, auch MIRK genannt, ist an der Differenzierung von Muskelzellen beteiligt und ist in verschiedenen Tumoren, wie zum Bsp. Pankreaskarzinom oder Kolonkarzinom überexprimiert¹⁴. DYRK1A und DYRK1B gleichen sich in ihrer Aminosäuresequenz der katalytischen Domäne zu 85 %, unterscheiden sich aber in ihrem C-Terminus¹⁵. Friedmann veröffentlichte 2013, dass DYRK1B auch im Ovarialkarzinom überexprimiert wird. DYRK1B reduziert das intrazelluläre Level an antioxidativen Spezies und erhält somit die Viabilität von Tumoren in der Ruhephase¹⁶.

DYRK2 ist über sein Substrat, das Tumorsupressorprotein p53, an der Initiierung der Apoptose beteiligt. Aus diesem Grund wird bei Magen- und Lungen-Karzinom einer Überexpression an DYRK2 eine verbesserte Prognose zugeschrieben¹⁷. Daneben wird vermutet, dass DYRK2 an der Regulation von Neurogenese, Zellproliferation und Zelldifferenzierung beteiligt ist⁷. Desweiteren initiiert DYRK2 auch den Abbau von Proteinen durch das Ubiquitin-Proteasom-System⁸.

DYRK3 beeinflusst die Differenzierung hämatopoetischer Stammzellen der Erythrozytenlinie. Zudem wird auch diskutiert, ob eine Expression von DYRK3 die Apoptose von Zellen modulieren kann⁷.

Im Gegensatz zu den anderen Kinasen wurde bisher die Funktion von DYRK4 nur sehr wenig untersucht. Möglicherweise spielt DYRK4 eine Rolle bei der Spermatogenese⁷.

Die Entwicklung niedermolekularer Inhibitoren mit hoher Subtypenspezifität würde weitere Erkenntnisse über die Biologie der DYRK-Isoformen und die Möglichkeit des Einsatzes als Medikamente liefern.

1.2.2. DYRK1A-Inhibitoren

In der vorliegenden Arbeit stand die Entwicklung von Inhibitoren der DYRK1A im Vordergrund. Deswegen wird im Folgenden eine Auswahl an Inhibitoren der DYRK1A vorgestellt, die DYRK1A im submikromolaren Bereich hemmen und/oder

neue Stoffklassen darstellen. Fast alle bis jetzt publizierten Inhibitoren verhalten sich ATP-kompetitiv¹⁸. Bisher ist Harmin (**1**) der selektivste und potenteste DYRK1A-Inhibitor.

Da ein Einsatz von Harmin (**1**) in der Therapie durch seine inhibitorische Aktivität auf die MAO-A und auch die Hemmung der CLK und Haspin-Kinase, die phylogenetisch mit DYRK1A verwandt sind, eingeschränkt wird, werde ich bei der Vorstellung der bisher publizierten Inhibitoren auch jeweils anmerken, ob sie die MAO-A und die beiden vorher genannten Kinasen hemmen.

Epigallocatechingallat (EGCg2) (**2**) ist ein natürliches Polyphenol und ein Hauptbestandteil des grünen Tees. 2003 wurde es von Bain et al.¹⁹ als DYRK1A-Inhibitor mit einem IC₅₀-Wert von 330 nM identifiziert. Die Inhibition erfolgt hier nicht-kompetitiv. Daneben besitzt EGCg2 (**2**) eine ganze Bandbreite an biologischen Aktivitäten wie zum Bsp. antibakterielle, antifungale, antioxidative, antivirale Aktivitäten und hemmt die Topoisomerasen I/II¹⁸. Bei diesem Screening wurde von Bain et al.¹⁹ auch Purlavanol A (**3**) als DYRK1A-Inhibitor mit einem IC₅₀-Wert von 300 nM entdeckt. Die Hemmung der CDK2 erfolgt jedoch noch potenter als die der DYRK1A mit einem IC₅₀-Wert von 100 nM. Auf Inhibition von MAO-A und Haspin wurde nicht getestet. Ein weiterer Inhibitor von DYRK1A ist der Naturstoff Benzocoumarin (dNBC) (**4**) mit einem IC₅₀-Wert von 600 nM¹⁸. Aus der Klasse der Indolocarbazole, die von Actinomyceten produziert werden, wurde Staurosporin (**5**) als DYRK1A-Inhibitor mit einem IC₅₀-Wert von 19 nM identifiziert. Staurosporin ist zwar ein potenter, aber äußerst unspezifischer Proteinkinase-Inhibitor¹⁸ (Abb.2). 2007 wurde von Bain et al.²⁰ in einem Screening herausgefunden, dass Harmin (**1**) ein sehr potenter und selektiver Inhibitor der DYRK1A ist. In der Literatur werden folgende IC₅₀-Werte gefunden: 33 nM, 75 nM bzw 80 nM²¹ (Abb. 2). Aber Harmin ist auch schon seit langem als potenter Hemmstoff der MAO-A (IC₅₀ 5 nM) bekannt²². Die Anwendung von Harmin (**1**) wird trotz hoher Selektivität für die DYRK1A durch die ausgeprägte Hemmung der MAO-A eingeschränkt. In der Arbeitsgruppe von Prof. Becker wurde auch die Selektivität von Harmin für die DYRK1A gegenüber DYRK4 und der nahe verwandten Kinase DYRK1B gezeigt²³. Der IC₅₀-Wert bei DYRK1B liegt bei 165 nM und bei DYRK4 bei 80 µM. Die Hemmung von DYRK2 und 3 erfolgt im geringeren Maße, die IC₅₀-Werte liegen für DYRK2 bei 1.9²³ und für DYRK3 bei 0.8 µM¹⁸.

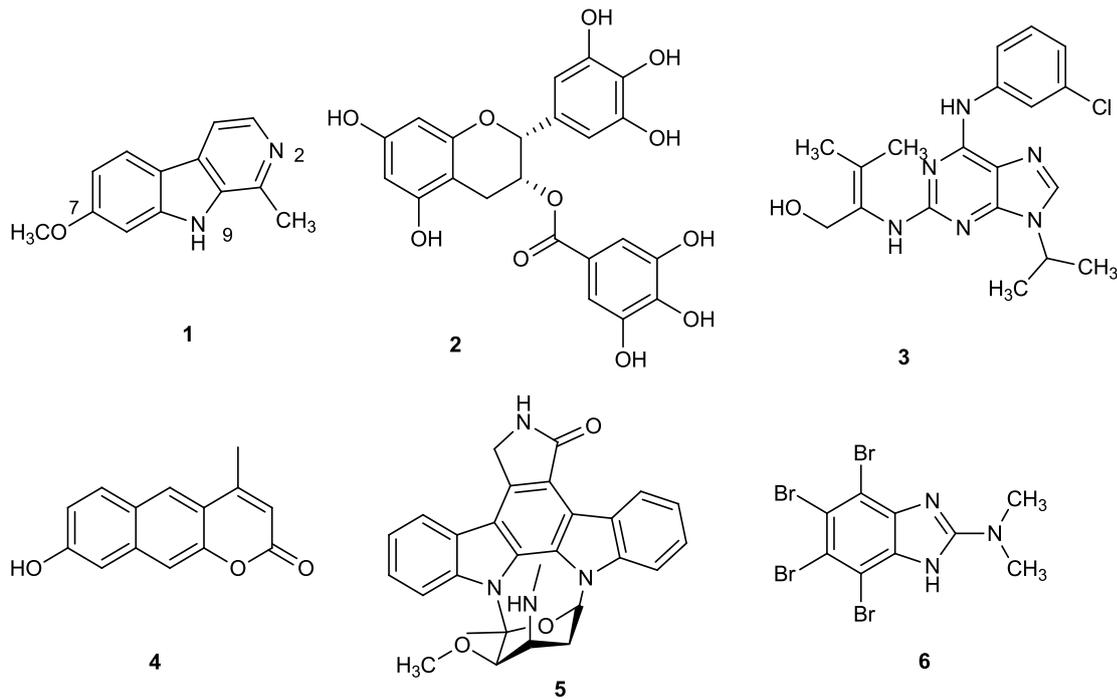


Abb. 2 Harmin (1), EGCg2 (2), Purlavanol (3), dNBC (4), Staurosporin (5) und DMAT 6

Harmin (1) ist ein β -Carboline-Alkaloid, welches aus der syrischen Steppenraute *Peganum harmala* und aus der südamerikanischen Liane *Banisteriopsis caapi* isoliert wurde (Abb. 3). *Banisteriopsis caapi* ist ein Bestandteil von Ayahuasca, einem Sud aus Pflanzenextrakten, welcher halluzinogene Wirkung besitzt und bei schamanischen Ritualen eingesetzt wird. Durch die inhibitorische Aktivität von Harmin (1) auf die MAO-A wird der First-Pass Metabolismus von *N,N*-Dimethyltryptamin, das ebenfalls Bestandteil von Ayahuasca ist, vermindert und somit kann dieses seine halluzinogene Wirkung ausüben. Anahuasca und Pharmahuasca basieren auf dem selben Prinzip²⁴. Hierbei werden MAO-A Inhibitoren wie zum Bsp. synthetische β -Carboline mit halluzinogenen Tryptaminen aus *Viola*-Spezies kombiniert. Anahuasca besteht aus pflanzlichen Komponenten und Pharmahuasca enthält synthetische Komponenten²⁴. Die Effekte von Harmin (1) auf andere Kinasen oder Targets erfolgen erst in höheren Konzentrationen. CDK1/cyclin B, CDK2/cyclin A und CDK5/p25²⁵ werden von Harmin im mikromolaren Bereich gehemmt, mit IC_{50} -Werten zwischen 17 und 33 μ M. Die Haspin-Kinase (Serin-Threonin Kinase) wird von Harmin (1) moderat mit einem IC_{50} -Wert von 590 nM²⁶ und die CLK1 mit einem IC_{50} -Wert von 27 nM gehemmt²⁷. In der Literatur wird auch die Zytotoxizität von Harmin (1) und Derivaten beschrieben²⁸. Göckler et al.²³ konnten mit Viabilitätsassays an HeLa- und HEK293 Zellen zeigen,

dass Harmin (**1**) in Konzentrationen bis zu 1 μM nur minimale Toxizität hervorruft. Eine Konzentration an Harmin, welche die DYRK1A nahezu komplett hemmen würde, würde die Zellviabilität in vitro nicht beeinflussen. Toxische Effekte wurden erst bei Konzentrationen über 3 μM nach 12-15 stündiger Exposition beobachtet.



Abb. 3 *Peganum harmala*²⁹ (links) und *Banisteriopsis caapi*³⁰ (rechts)

Aktuelle Ergebnisse von Cao et al.³¹ beschreiben, dass die Zytotoxizität von Harminderivaten von dem Substitutionsmuster abhängig ist. Sie haben verschiedene Variationen an den Positionen 2, 7 und 9 durchgeführt und diese auch kombiniert. Alle Verbindungen wurden an mehreren humanen Tumorzelllinien getestet. Ein Austausch der Methoxygruppe in Position 7 durch sterisch anspruchsvollere Alkoxyreste erniedrigt die Zytotoxizität. Eine Substitution an allen 3 Positionen führte zu einer Steigerung der zytotoxischen Aktivität.

2008 wurde von Pagano et al.³² die inhibitorische Aktivität eines Brombenzimidazolderivates DMAT (**6**) berichtet. Der IC_{50} -Wert von DMAT (**6**) liegt bei 400 nM. In einem Screening wurde herausgefunden, dass auch DYRK2 (IC_{50} -Wert 350 nM) und DYRK3 (IC_{50} -Wert 1.75 μM) gehemmt werden. Zusätzlich werden auch PIM 1 (IC_{50} -Wert 148 nM) und PIM 2 (IC_{50} -Wert 1.6 μM) gehemmt. Auf Inhibition von MAO-A und Haspin wurde nicht getestet (Abb. 2).

2009 veröffentlichten Kyung et al.³³ Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Pyrazolidin-3,5-dionen als Inhibitoren der DYRK1A. Leitstruktur für ihre Arbeit war HCD160 (**7**) mit einem IC_{50} -Wert von 2.5 μM , welches in einem Screening als Hit identifiziert wurde. Die Interaktionsstellen zur DYRK1A sind markiert. In einer ersten Serie wurde der 3-Methoxy-4-hydroxybenzyliden-Rest durch andere Reste ersetzt. In einer zweiten Serie wurden der 3-Methoxy-4-hydroxybenzyliden-Rest und der 3,4-

Dichlorphenylrest variiert. Die IC_{50} -Werte von beiden Serien lagen zwischen 0.6 und 2.5 μ M. Die besten Inhibitoren **8** und **9** aus beiden Serien sind in Abb. 4 dargestellt und besitzen jeweils einen IC_{50} -Wert von 0.6 μ M. Beide Verbindungen wurden auch noch auf inhibitorische Aktivität auf andere Kinasen getestet, wie zum Bsp. DYRK2 und CLK3. Die 3-Nitro-4-hydroxybenzylidenverbindung **8** hemmte im Gegensatz zur Verbindung **9** auch die DYRK2. Ob diese Verbindungen auch die MAO-A oder Haspin-Kinase inhibieren, wurde nicht beschrieben.

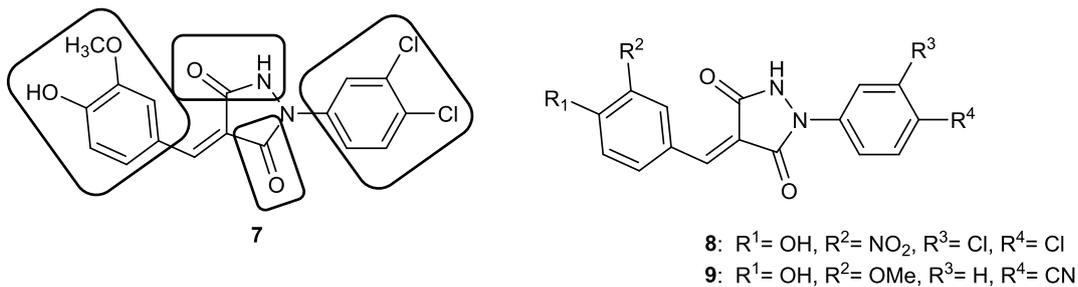
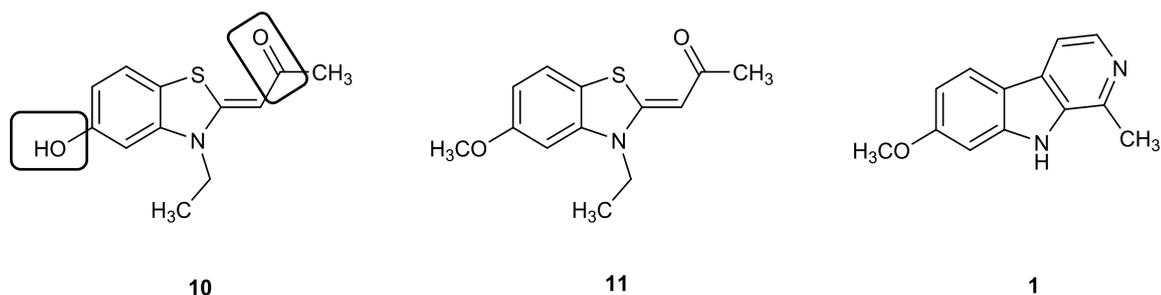


Abb. 4 Pyrazolidin-3,5-dion HCD160 (**7**) und Derivate

2010 wurde von Ogawa et al.³⁴ die Charakterisierung eines neuen Benzothiazol-Inhibitors, INDY (**10**) (Inhibitor für DYRK1A), mit einem IC_{50} -Wert von 240 nM berichtet. Die Interaktionsstellen von INDY (**10**) mit DYRK1A sind in Abb. 5 markiert. Harmin (**1**) interagiert mit DYRK1A an der selben Bindungsstelle wie INDY (**10**). Obwohl INDY (**10**) genauso wie seine Synthesevorstufe, der bekannte CLK2-Inhibitor TG003 (**11**), einen Benzothiazolgrundkörper besitzt, wird DYRK1A durch INDY (**10**) stärker inhibiert als durch TG003 mit einem IC_{50} -Wert von 0.93 μ M. DYRK1B wird von INDY (**10**) mit einem IC_{50} -Wert von 0.23 μ M gehemmt. DYRK 2 und 3, die CLK1 und CLK2 werden von INDY (**10**) in gleicher Weise wie von Harmin (**1**) gehemmt. Im Gegensatz zu Harmin (**1**) zeigte INDY (**10**) aber keine inhibitorische Aktivität auf die MAO-A. Ein Dockingmodell von MAO-A und INDY (**10**) zeigte, dass INDY zu groß für die Interaktion mit der MAO-A ist und dass die Methylgruppe des Propanonylidens das Netz aus Wassermolekül-vermittelten Wasserstoffbrückenbindungen stört³⁴. Ob auch Haspin von INDY (**10**) gehemmt wird, wurde nicht getestet (Abb. 5).

Abb. 5 INDY (**10**), TG003 (**11**) und Harmin (**1**)

2011 wurden von Rosenthal et al.³⁵ Chinazolinderivate als neue DYRK1A-Inhibitoren vorgestellt. Die IC₅₀-Werte liegen bei 206 nM für **12**, 14 nM für **13** und 93 nM für **14**. Die Analyse von Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigte, dass für die Aktivität eine Substitution des Chinazolin-Grundkörpers an Position 6 mit einem Benzodioxolrest und die Einführung von 5-gliedrigen Heterocyclen entscheidend ist. Alle drei Verbindungen sind auch Inhibitoren der CLK4. CLK2 und DYRK1B werden von der Thiazolverbindung **13** gehemmt. CLK1 wird von den Thiazolderivaten **12** und **13** inhibiert. Ob auch MAO-A oder Haspin inhibiert werden, wurde in dieser Veröffentlichung nicht beschrieben (Abb. 6).

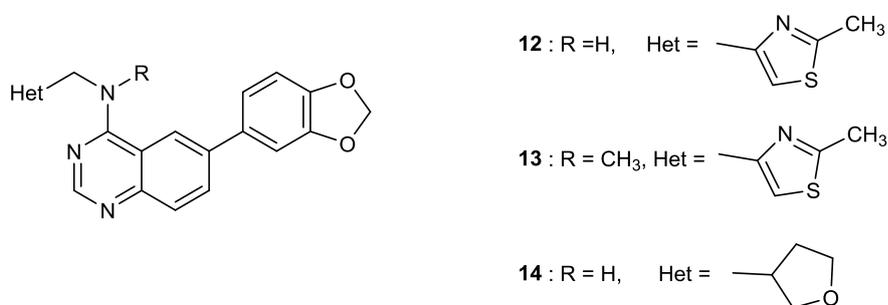


Abb. 6 Chinazolin-Derivate

Im gleichen Jahr wurden Analoga des Alkaloids Meridianin als neue DYRK1A-Inhibitoren publiziert³⁶. Diese zeigen IC₅₀-Werte unter 100 nM für DYRK1A. Aber es konnte keine Selektivität gegenüber der CLK1 erzielt werden. Die beste Verbindung **15** besitzt einen IC₅₀-Wert von 34 nM für DYRK1A, aber auch einen IC₅₀-Wert von 700 nM für CLK1. Ob auch auf Inhibition der MAO-A und der Haspin-Kinase getestet wurde, wurde nicht berichtet (Abb. 7).

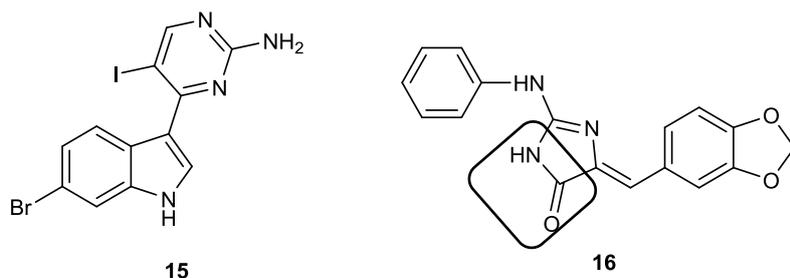


Abb. 7 Meridianin-Analogen **15** und Leucettin-Derivat L41 (**16**)

Debdab et al.³⁷ beschreiben die inhibitorische Aktivität von Leucettinen, Derivaten von Leucettamin, auf DYRK1A und CLK1. Eine Studie zur Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigte, dass das Aminoimidazolone L41 (**16**) (siehe Abb. 7) die DYRK1A mit einem IC₅₀-Wert von 40 nM hemmt. DYRK2 wird ähnlich stark gehemmt und CLK1 mit einem IC₅₀-Wert von 15 nM. Die Interaktion mit DYRK1A erfolgt über die NH-Funktion und den Carbonylsauerstoff des Imidazolons, in Abb. 7 markiert.

2011 und 2012 wurden von Merour et al.^{38,39} drei neue Klassen von DYRK1A-Inhibitoren vorgestellt. Hydroxyindolylpyridine, Hydroxyindolylpyrazine und Chromenoindol-Derivate (Lamellarin D-Analoga). In Abb. 8 werden die besten Inhibitoren aus diesen Klassen dargestellt. Das Pyrazinderivat **17** besitzt einen IC₅₀-Wert von 340 nM, das Pyridinderivat **18** einen Wert von 60 nM und das Chromenoindolderivat **19** einen Wert von 67 nM. Das Chromenoindol **19** zeigte in einem Dockingmodell einen ähnlichen Bindungsmodus wie Harmin (**1**). Die Interaktion erfolgt über den Sauerstoff des Lactons und die Hydroxyfunktion des Indols, in Abb. 8 markiert. Neben DYRK1A wurde in beiden Arbeiten nur auf CDK5 und GSK3-Inhibition getestet.

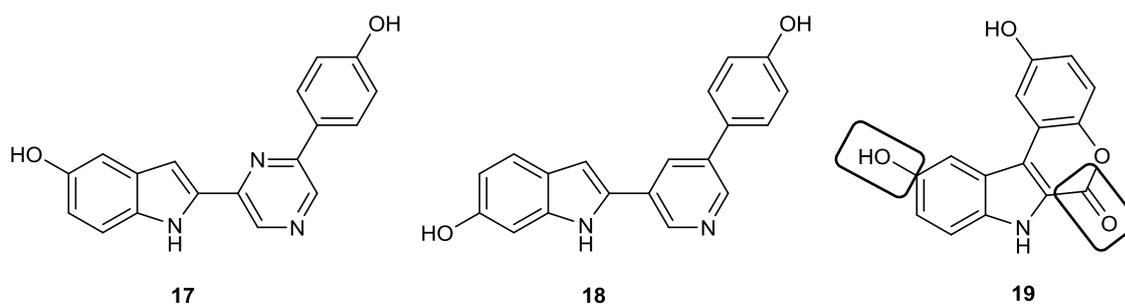


Abb. 8 Pyrazinderivat **17**, Hydroxyindolylpyridin **18** und Chromenoindolderivat **19**

2012 wurden von Cuny et al.²⁶ inhibitorische Aktivitäten von Harmin-Analoga beschrieben. Die Autoren modifizierten Harmin (**1**) an der Methyl- und der Methoxygruppe und führten *N*-Alkylierungen am Pyrrol-Stickstoff durch. Neben Hemmung der Haspin-Kinase wurde auch auf Inhibition der DYRK2 getestet. Die beste Verbindung **20** mit einem Trifluormethylrest an Position 1 (Abb. 9), wurde auch gegen eine Auswahl an über 250 Kinasen getestet. Dabei zeigte sich, dass diese Verbindung DYRK1A, DYRK1B, DYRK2 und DYRK3 im gleichen Maße wie Haspin inhibiert. Ob auch die MAO inhibiert wird, wurde nicht getestet.

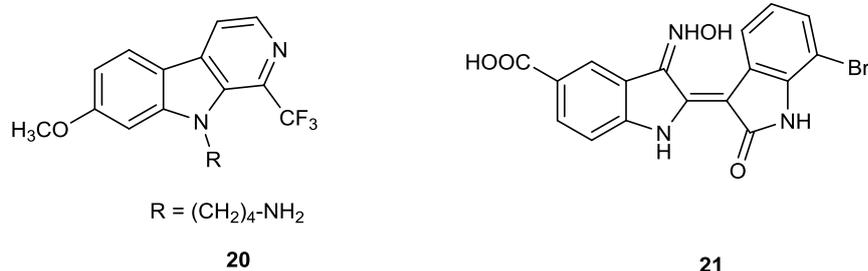


Abb. 9 Vom Harmin abgeleitete Trifluormethylverbindung **20** und Indirubin-Analogon **21**

Myrianthopoulos et al.⁴⁰ beschrieben 2013 die inhibitorische Aktivität von Indirubin-Analoga auf DYRKs. Der Fokus ihrer Arbeit lag auf der Entwicklung eines DYRK2-Inhibitors. Alle hergestellten Verbindungen wurden an DYRK1A und DYRK2, CK1, GSK3 und CDK5 getestet. Durch Strukturvariationen konnte zwar eine Selektivität für CK1, GSK3 und CDK5 erzielt werden, aber die Autoren konnten keinen selektiven DYRK2-Inhibitor entwickeln, der die DYRK1A nur noch im geringen Maße hemmt. Die beste Verbindung aus ihrer Arbeit, das Oximderivat **21**, ist in Abb. 9 dargestellt. Der IC₅₀-Wert für DYRK2 liegt bei 130 nM und für DYRK1A bei 210 nM. Die Verbindung **21** wurde auch noch an anderen Kinasen getestet, Haspin war jedoch nicht dabei. Ob auch die Inhibition von MAO-A getestet wurde, wurde nicht beschrieben.

Loidreau et al.⁴¹ beschäftigen sich mit der Synthese von *N,S*- bzw. *O,N*-haltigen Heterocyclen, mit denen sie die Aktivität von Kinasen modulieren wollen. Inspiriert von Harmin (**1**) entwickelten sie Synthesen von *N*-Arylbenzo[*b*]furo[3,2-*d*]pyrimidin-4-aminen und *N*-Arylbenzo[*b*]thieno[3,2-*d*]pyrimidin-4-aminen, die beide in Anlehnung an Harmin (**1**) an Position 7 einen Methoxysubstituenten tragen. Beide Strukturtypen besitzen die selbe planare Struktur wie Harmin, allerdings ist anstelle eines Pyridins

bei diesen neuen Stoffklassen ein Pyrimidinring anelliert. Alle Verbindungen wurden auf CDK5-, CK1-, CLK1-, DYRK1A- und GSK3-Inhibition getestet. Es zeigte sich, dass die Verbindungen mit einer Benzothiophengrundstruktur eine höhere inhibitorische Aktivität als die Benzofuranderivate besitzen. Die IC_{50} -Werte an DYRK1A der besten Verbindungen **22** und **23** liegen bei 500 nM. Harmin (**1**) ist somit immer noch um den Faktor 10 potenter. Auch konnten Loidreau et al. mit diesen Verbindungen keine Selektivität gegenüber der CLK1 erreichen, beide Verbindungen hemmen dieses Enzym im selben Ausmaß. Durch die Einführung der Methoxyfunktion konnten sie jedoch eine Erhöhung der inhibitorischen Aktivität auf die DYRK1A erzielen⁴². Die zu Verbindung **22** analoge Verbindung ohne Methoxygruppe zeigt keine Inhibition der DYRK1A (Abb. 10).

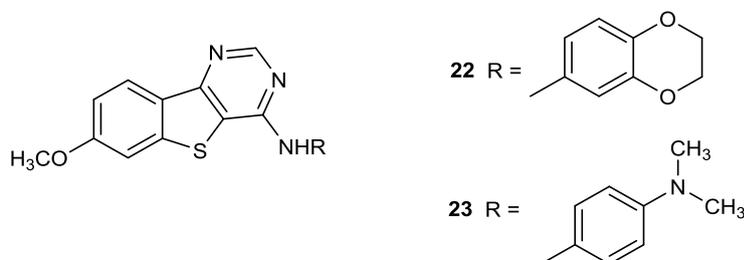


Abb. 10 Dihydrobenzodioxinderivat **22** und Dimethylaminophenylderivat **23**

Harmin (**1**) ist somit nach wie vor einer der selektivsten und potentesten Inhibitoren der DYRK1A. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, auf Basis der bekannten Harmin-DYRK1A-Kristallstruktur und von Dockingstudien neue Inhibitoren von DYRK1A mit Harmin (**1**) als Leitstruktur zu entwickeln.

1.2.3. CLKs und Inhibitoren

CLK steht für CDC2 (cell division cycle)-like Kinase. Die Familie der CLKs besteht aus 4 Isoformen: CLK 1-4. CLKs zeichnen sich wie DYRKs durch eine duale Spezifität aus. Sie phosphorylieren ihre Substrate an Serin- und Threoninresten, ihre Autophosphorylierung findet an Serin-, Threonin- oder Tyrosin-Resten statt⁴³. CLKs spielen eine Rolle beim alternativen Splicing⁴³. Eine Missregulierung des alternativen Splicings ist an der Pathogenese von Krebs und anderen Erkrankungen beteiligt. Desweiteren regulieren CLKs das alternative Splicing von Tau-Protein und spielen somit eine Rolle bei Morbus Parkinson⁴⁴. SR-Proteine gehören zu den

Schlüsselfaktoren des alternativen Splicings. Es handelt sich dabei um Serin/Argininreiche Strukturen, die am Aufbau und der Regulation des Spliceosom-Komplexes beteiligt sind⁴⁵. Sie sind Substrate der CLKs⁴³ und werden über den Phosphorylierungsgrad in ihrer Aktivität und Lokalisierung in der Zelle beeinflusst^{46,47}. Auf Grund der ausgeprägten Homologie zwischen DYRKs und CLKs zeigen zahlreiche CLK-Inhibitoren auch eine signifikante Aktivität gegenüber DYRKs. Bekannte CLK-Inhibitoren sind in Abb. 11 dargestellt. TG003 (**11**), ein Benzothiazolderivat ist ein potenter CLK1-(IC₅₀-Wert 119 nM) und CLK4- (IC₅₀-Wert 30 nM) Inhibitor. Der IC₅₀-Wert für DYRK1A liegt bei 156 nM. Kürzlich wurde das in unserem Arbeitskreis von Huber⁴⁸ hergestellte Enaminonitril KH-CB19 (**24**) als potenter Inhibitor der CLK1, mit einer guten Selektivität gegen CLK3, vorgestellt. KH-CB19 (**24**) ist ein ATP-kompetitiver Inhibitor mit einem IC₅₀-Wert von 20 nM. Eine Kokristallstruktur von KH-CB19 (**24**) mit der CLK1 zeigt, dass der Chlorsubstituent an Position 6 von **24** mit der Hinge-Region des Zielproteins interagiert (siehe 2.1.3). In einem Screening wurde herausgefunden, dass **24** auch ein potenter Inhibitor der DYRK1A mit einem IC₅₀-Wert von 55 nM ist (Abb. 11).

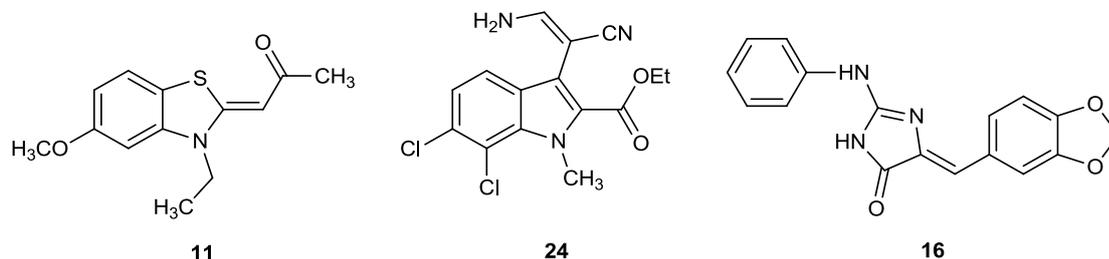


Abb. 11 TG003 (**11**), KH-CB19 (**24**) und LC41 (**16**)

Wie schon im Kapitel 1.2.2. beschrieben ist L41³⁷ (**16**), ein *N*-Phenylderivat von Leucettin, auch ein potenter Inhibitor der CLK1 mit einem IC₅₀-Wert von 15 nM (Abb. 11). Rosenthal et al.³⁵ gelang es durch Variation eines von Mott et al.⁴⁹ publizierten CLK1- und CLK4-Inhibitors vom Chinazolintyp **25** eine Steigerung der Aktivität gegenüber den CLKs zu erreichen. Die zwei potentesten Verbindungen aus dieser Reihe sind in Abb. 12 dargestellt. Die Autoren beschreiben einen IC₅₀-Wert für CLK1 von 11 nM, für das Thienylderivat **26** und 20 nM für das Thiazolylderivat **13**. CLK4 wird vergleichbar zur CLK1 gehemmt. Aber alle drei Verbindungen hemmen auch die DYRKs.

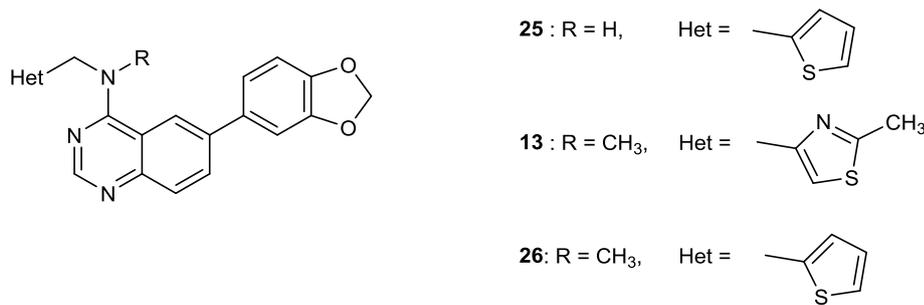
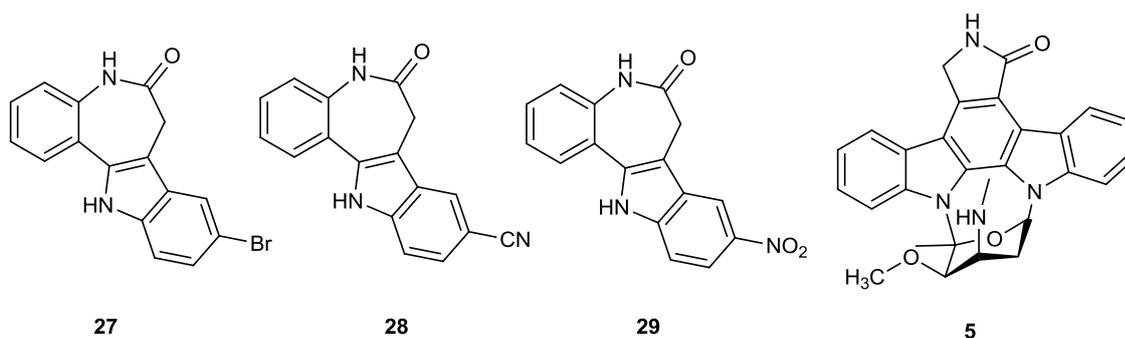


Abb. 12 CLK-Inhibitoren vom Chinazolintyp

1.2.4. CDKs und Inhibitoren

Cyclin-abhängige Kinasen (CDK) bestehen aus einer regulatorischen Einheit (dem Cyclin) und einer katalytischen Einheit, der Kinase. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Kontrolle des Zellzyklus. Bis jetzt wurden 11 humane CDKs identifiziert. CDK-Inhibitoren spielen eine wichtige Rolle in der Tumorthherapie. Der Wirkmechanismus beruht auf der Verdrängung von ATP aus der Bindungstasche. Im Folgenden werden einige dieser Inhibitoren vorgestellt.

Die Substanzklasse der Paullone, erhielt ihren Namen in Andenken an Dr. Ken Paull. Dr. Ken Paull war an der Entwicklung des COMPARE-Algorithmus des Human Tumor Cell Line Screens im National Cancer Institute beteiligt. In einem Screening wurde Kenpaullon (**27**) als CDK-Inhibitor entdeckt^{50,52}. Weiterentwicklungen stellen das Cyanopaullon (**28**) und das Alsterpaullon (**29**) dar (Arbeitskreis Prof. Kunick, Braunschweig). Alsterpaullon zeigt Aktivitäten bei CDK1 und CDK5 im nanomolaren Bereich (Abb. 13)^{51,52}. Der Naturstoff Staurosporin (**5**) zeigt Aktivitäten im nanomolaren Bereich, ist aber nicht selektiv und inhibiert sehr viele Kinasen⁵³. Dazu besitzt es auch noch eine ausgeprägte Zytotoxizität. Ein auffälliges Strukturmerkmal ist hier die Bisindolylstruktur.

Abb. 13 Kenpaullon (**27**), Cyanopaullon (**28**), Alsterpaullon (**29**) und Staurosporin (**5**)

In unserer Arbeitsgruppe wurde in Kooperation mit Dr. Laurent Meijer (Roscoff) in einem Screening herausgefunden, dass die Alkaloide Annomontin (**30**) und Bauerin C (**31**) potente Inhibitoren der CDK1 mit IC_{50} -Werten von jeweils $1 \mu\text{M}$ sind (Abb. 14). Beide Verbindungen wurden in unserem Arbeitskreis totalsynthetisch hergestellt. Annomontin (**30**) ist ein Naturstoff, der aus *Annona reticulata* und *Annona montana* isoliert wurde. Bauerin C wurde aus der Blaualge *Dichotrix baueriana* isoliert (Abb.15). Die Synthesevorstufe von Bauerin C (**31**), das 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) weist sogar noch eine etwas höhere inhibitorische Aktivität auf (Abb. 14). Der IC_{50} -Wert liegt bei $0.9 \mu\text{M}$. Beide Verbindungen wurden in unserem Arbeitskreis strukturell modifiziert, die Ergebnisse werden in Kapitel 2.1.1. und 2.1.2. dargelegt.

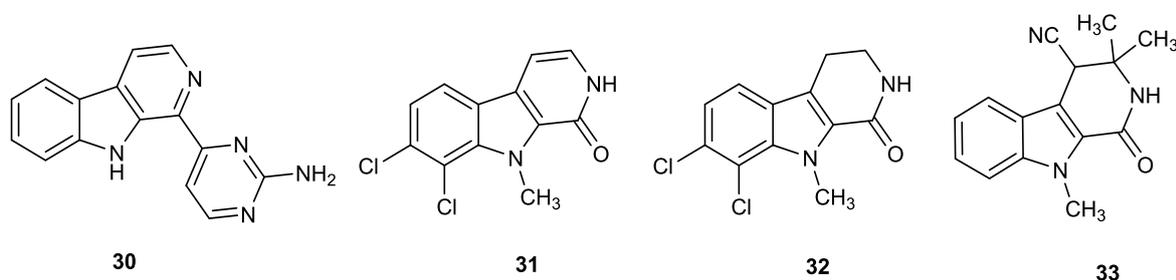


Abb. 14 Annomontin (**30**), Bauerin C (**31**), 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) und Cyano-Bauerin C (**33**)

Bei der Modifikation von Bauerin C (**31**) wurde zufällig noch ein neuer Inhibitor der CDK1 mit einem IC_{50} -Wert von $1 \mu\text{M}$ entdeckt, das Cyano-Bauerin C **33**. Strukturelle Modifikationen zeigten, dass eine Methylierung des Lactam-Stickstoffs aktivitätsmindernd ist, dass kleine Reste an Position 3 für die Aktivität entscheidend sind und dass die Methylierung des Indol-Stickstoffs essenziell ist.



Abb. 15 *Annona reticulata*⁵⁴ und *Dichotrix baueriana* (Photo von Peter York)

1.3. Monoaminoxidase A (MAO-A)

Die Monoaminoxidase ist ein Flavoenzym, welches in zwei Isoformen auftritt: A und B. Diese Enzyme katalysieren sowohl in der Peripherie als auch im zentralen Nervensystem die oxidative Desaminierung von Aminen zu Aldehyden. Trotz struktureller Ähnlichkeit im aktiven Zentrum unterscheiden sie sich in ihrer Substrat- und Inhibitorspezifität. MAO-A katalysiert die Desaminierung von Serotonin, Adrenalin und Noradrenalin. Ein bekannter Inhibitor ist Moclobemid. MAO-B katalysiert die Desaminierung von β -Phenylethylamin und Benzylamin. Ein Inhibitor ist zum Bsp. Selegilin. Therapeutisch eingesetzt werden MAO-A-Inhibitoren bei der Behandlung von Angstzuständen und Depression, MAO-B-Inhibitoren werden bei der Parkinsontherapie eingesetzt. Harmin (**1**) inhibiert selektiv nur MAO-A⁵⁵. Weitere potente Inhibitoren der MAO-A aus dem Bereich der β -Carboline sind auch Harmol (**34**), Harman (**35**), Tetrahydroharmin (**36**) und Harmalin (**37**)⁵⁶ (Abb. 16).

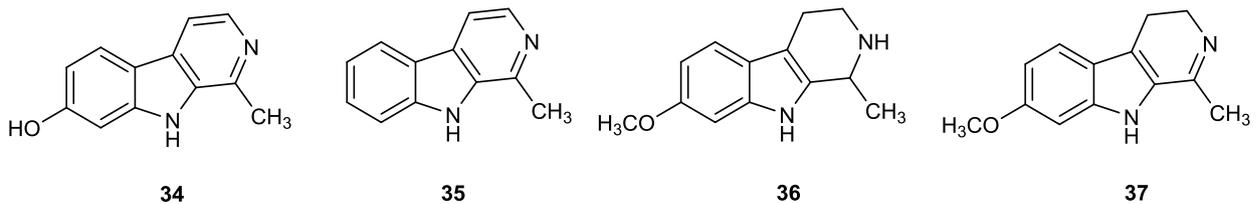


Abb. 16 Harmol (**34**), Harman (**35**), Tetrahydroharmin (**36**) und Harmalin (**37**)

2. Themenstellung und Syntheseplanung

2.1. Themenstellung

Die Themenstellung ist in 3 Themengebiete gegliedert.

2.1.1. 3,4-Dihydro-Bauerin C (32) und 1,2,4,5-Tetrahydro-3-oxo- γ -carbolin (38) als Leitstrukturen

In unserem Arbeitskreis wurde von Pohl et al.⁵⁷ eine Totalsynthese von Bauerin C (31) entwickelt. In einem Screening stellte sich heraus, dass auch die Synthesevorstufe, das 3,4-Dihydro-Derivat von Bauerin C (32), eine starke inhibitorische Aktivität auf die CDKs aufweist, die die des Naturstoffs sogar noch leicht übertrifft. Bauerin C (31) besitzt einen IC_{50} -Wert von 1.0 μ M und im Vergleich dazu 3,4-Dihydro-Bauerin C (32) einen Wert von 0.9 μ M (Abb. 17). Zudem ist 32 deutlich besser löslich als das Alkaloid 31.

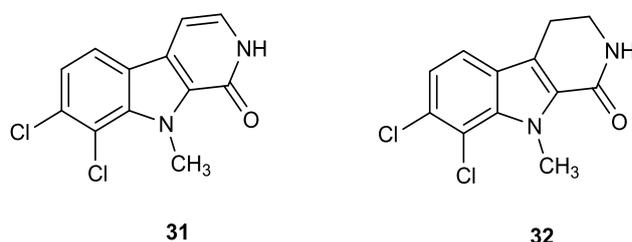


Abb. 17 Bauerin C (31) und 3,4-Dihydro-Bauerin C (32)

Um Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufstellen zu können, wurden beide Strukturen in unserem Arbeitskreis von Pohl⁵⁸, Ritter⁵⁹ und Huber⁶⁰ strukturell modifiziert. Dabei stellte sich heraus, dass folgende Strukturelemente essenziell sind:

A, Eine Methylierung des Indol-Stickstoffs. Größere Reste wie zum Bsp. Ethyl führten bereits zu einer Senkung der inhibitorischen Aktivität und das nicht methylierte Derivat zeigte praktisch keine Hemmung mehr.

B, Eine Methylierung des Lactam-Stickstoffs wirkte sich aktivitätmindernd aus.

C, Lipophile Reste am Ring C wie Methyl und Chlor führten zu einer Steigerung, hydrophile Reste wie Methoxy führten zu einer Senkung der inhibitorischen Aktivität. Chlorsubstituenten an Positionen 7 und 8 erwiesen sich dabei als optimal für die

inhibitorische Aktivität auf die CDKs, das unchlorierte Analogon von Bauerin C (**31**) zeigte keine Hemmung der CDKs mehr. Ein Vergleich mit dem bekannten PIM1-Inhibitor K00135 aus der Klasse der Imidazol[2,1-b]pyridazine legte folgenden Bindungsmodus des 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) an der CDK nahe. Die beiden Chlorsubstituenten sind in Richtung der Hinge-Region ausgerichtet. Zusätzlich bildet der Lactam-Ring noch Wasserstoffbrücken mit Lysin 67 und Aspartat 186 (Abb. 18)⁶⁰.

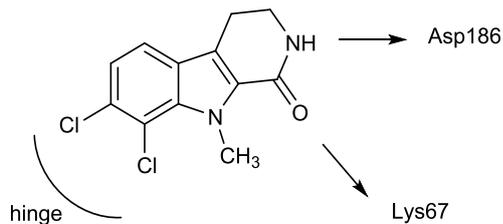


Abb. 18 Bindungsmodus von Dihydro-Bauerin C (**32**), SGC-Dockingstudie

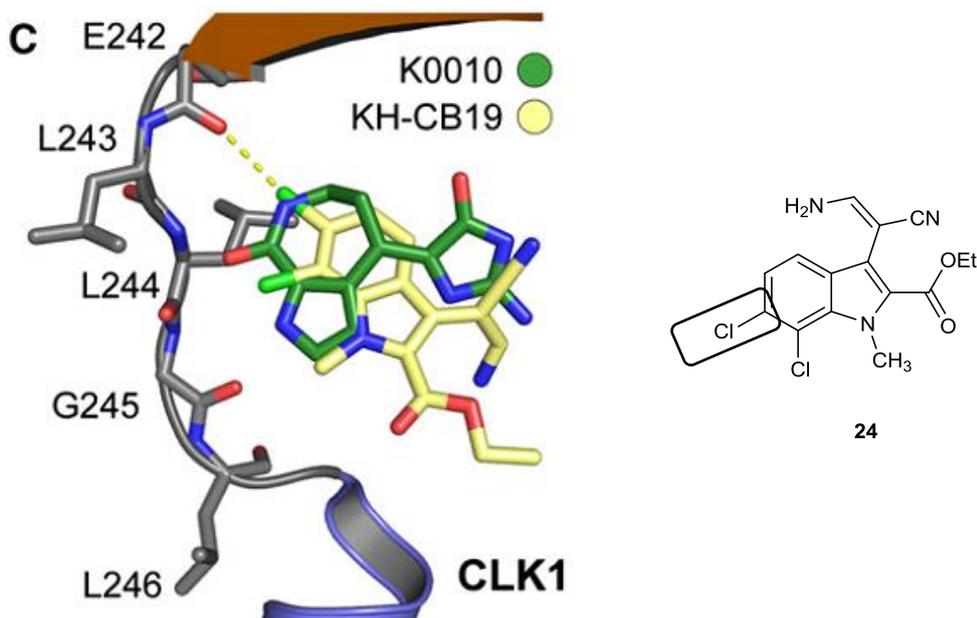


Abb. 19 Chlorbrücke von KH-CB19 (**24**) zum Carbonyl-Rückgrat der Hingeregion der CLK1⁴⁸

Eine Kokristallstruktur der CLK1 mit KH-CB19 (**24**) zeigt, dass ein bislang unbekannter Bindungsmodus mit der Hingeregion vorliegt. Der Chlorsubstituent an Position 6 interagiert anstelle eines Wasserstoffbrückendonors mit dem Amidgrundgerüst der Hinge-Region und imitiert damit die NH₂-Funktion des natürlichen Substrats ATP⁴⁸ (Abb. 19).

In einer anderen Arbeit aus unserem Arbeitskreis wurde untersucht, welchen Einfluss die Lage der Lactam-Partialstruktur auf die inhibitorische Aktivität hat. Die Bindung von **32** zur CDK erfolgt, wie schon oben erwähnt, auch über den Lactam-Ring. Wollein⁶¹ stellte isomere γ -Carboline her, bei denen die Carboxamidstruktur von der 1,2- in die 2,3-Position des Tricyclus verschoben ist. Zielstruktur war ein 1,2,4,5-Tetrahydro-3-oxo- γ -carbolin (**38**), bei dem der Indol-Stickstoff wie bei 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) methyliert vorliegt (Abb. 20). Die biologische Testung zeigte, dass diese Verbindung keine nennenswerte Inhibition von Kinasen aufweist. Ziel der vorliegenden Arbeit war es nun, ein dichloriertes 1,2,4,5-Tetrahydro-3-oxo- γ -carbolin (**39**) herzustellen. Damit sollte geprüft werden, ob die für die biologische Aktivität der 1-Oxo- β -carboline essenzielle Dichlorphenyl-Partialstruktur auch bei Oxo- γ -carbolen zu einer Erhöhung der inhibitorischen Aktivität führt.

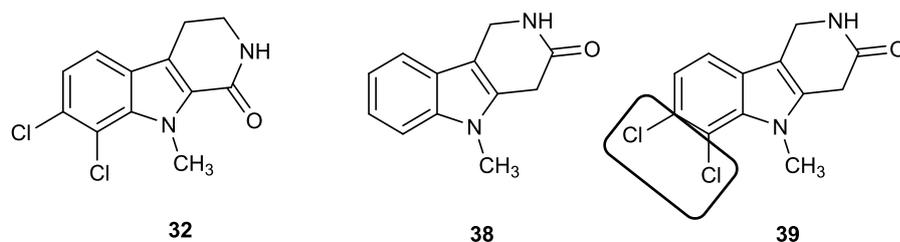


Abb. 20 Leitstrukturen 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) und 1,2,4,5-Tetrahydro-3-oxo- γ -carbolin (**38**)⁶¹, sowie Zielstruktur **39**

2.1.2. Annonotin (**30**) als Leitstruktur

Annonotin (**30**) ist schon seit langem als ein potenter Inhibitor der CDK1 mit einem IC_{50} -Wert von 1 μ M bekannt. Kast⁶² führte im Rahmen seiner Promotion viele Modifikationen an Annonotin (**30**) durch. Variationen des Aminopyrimidinrings zeigten, dass andere heterocyclische Reste aktivitätsmindernd sind. Eine zusätzliche Substitution des Heteroarylrestes oder die Einführung eines Aminoimidazolylrestes, welches ein um ein C-Atom ringverengtes Annonotin-Analogon darstellt, führten zur Senkung der inhibitorischen Aktivität. Als entscheidend für die Aktivität erwiesen sich auch die Verknüpfung des Aminopyrimidinrings mit dem β -Carbolin-Grundgerüst und eine unsubstituierte Aminogruppe. Ein Regioisomer, bei dem der heterocyclische Substituent um 60° zum Grundgerüst gedreht ist, zeigte keine inhibitorische Aktivität

mehr. Im Gegensatz zu Bauerin C (**31**) führte hier eine Methylierung des Pyrrol-Stickstoffs nicht zur Steigerung der inhibitorischen Aktivität (Abb. 21).

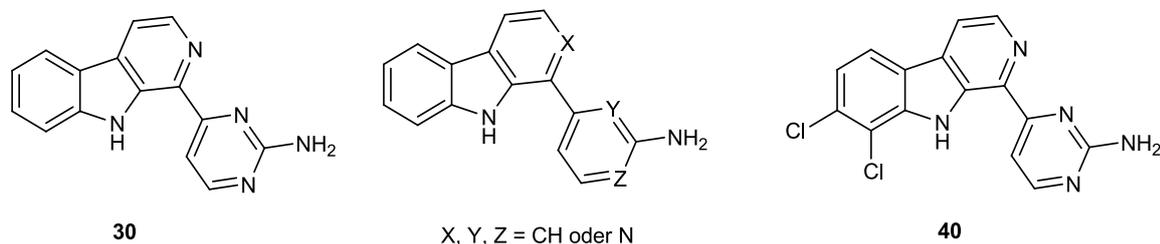


Abb. 21 Leitstruktur Annomontin (**30**), Zielstrukturen von Strödke und Dichlorannomontin (**40**)

Aufgabe von Strödke⁶³ war es herauszufinden, inwieweit die Stickstoffatome im Pyrimidin- bzw. Pyridinring als mögliche Wasserstoffbrückenakzeptoren für die Aktivität eine Rolle spielen. Die Testung der von Strödke hergestellten Verbindungen zeigte, dass das zu Annomontin (**30**) analoge Carbazolderivat (mit X = CH, Y = Z = N) eine leicht abgeschwächte inhibitorische Aktivität gegenüber CDK1 (IC_{50} -Wert = 2 μ M, Annomontin: 1 μ M) aufweist, während die Entfernung von Stickstoff-Atomen aus dem Pyrimidinring zum vollständigen Verlust der Kinase-inhibitorischen Aktivität führte. Vorausgehende Arbeiten aus unserem Arbeitskreis^{60,58,59} (siehe Kapitel 2.1.1.) hatten gezeigt, dass durch die Einführung von Chlorsubstituenten an den Positionen 6 und 7 bzw. 7 und 8 die Kinase-inhibitorische Aktivität von Indolderivaten signifikant erhöht werden kann. Diese Strategie sollte nun auch auf Annomontin (**30**) angewendet werden, um den Einfluss der Chlorsubstituenten auf die biologische Aktivität untersuchen zu können. Zielverbindung dieses Teilprojekts war somit die Dichlor-Verbindung **40** (Abb. 21).

2.1.3. Harmin (**1**) als Leitstruktur

Harmin (**1**) ist seit langem als potenter Hemmstoff der MAO-A bekannt mit einem IC_{50} -Wert von 5 nM. In einem späteren Screening wurde herausgefunden, dass Harmin (**1**) auch ein potenter und selektiver Hemmstoff der DYRK1A ist. DYRK1B und DYRK4 werden nicht gehemmt. Eine Hemmung der DYRK1A geht meistens einher mit einer Hemmung von CLKs, da diese Kinasen phylogenetisch eng verwandt sind. Die Hemmung der MAO-A schränkt jedoch die Verwendbarkeit von Harmin als Hemmstoff der DYRK1A im Tierversuch oder therapeutischen Einsatz

ein. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein Analogon von Harmin zu entwickeln, welches eine höhere bzw. ausschließliche Selektivität für die DYRK1A besitzt. Dabei sollte die MAO-A nicht mehr oder in einem geringeren Maße als wie durch Harmin gehemmt werden. Eine gleichzeitige Senkung der CLK-Inhibition war zwar erwünscht, stand aber nicht im Fokus der Arbeit. Gleichzeitig sollten alle Verbindungen auch auf Zytotoxizität getestet werden, da zytotoxische Aktivitäten von Harmin-Derivaten literaturbekannt³¹ sind.

Harmin (**1**) interagiert mit der ATP-Bindungstasche von DYRK1A über die Methoxygruppe und dem Pyridin-Stickstoff (in Abb. 22 rot markiert). Die Interaktion erfolgt über zwei Wasserstoffbrücken, eine zu der hinge-Region über das NH von M240 und die andere zu K188. Ein Dockingmodell von Sippl und eine bekannte Kristallstruktur des Harmin-DYRK1A-Komplexes zeigen übereinstimmend, dass in der ATP-Bindungstasche von DYRK1A noch Platz für weitere Substituenten am β -Carbolin-Nukleus ist (Abb. 22)^{21,34}.

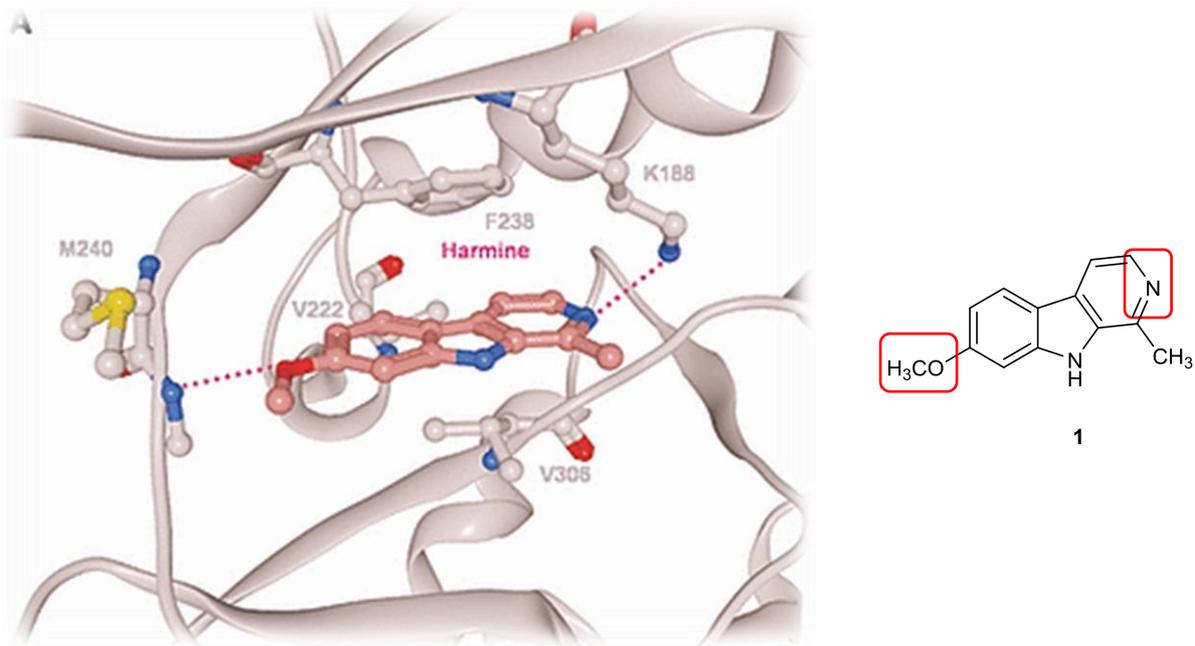


Abb. 22 ATP-Bindungstasche mit gedocktem Harmin von Prof. Sippl²¹ und Leitstruktur Harmin (**1**)

Durch Einführung von diversen Resten erhofften wir uns eine Erhöhung der Affinität zur DYRK1A bzw. eine Verminderung der MAO-A-Inhibition.

1. Modifikationen an Harmin (**1**), bei denen der β -Carbolin-Grundkörper des Harmins erhalten bleiben sollte

Es sollten einfache Alkylreste wie zum Bsp. Methyl oder n-Butyl oder größere Reste wie Benzyl am Pyrrolstickstoff eingeführt werden, da ein Dockingmodell von Prof. Sippl aus Halle postulierte, dass durch diese Modifikation die Affinität zur DYRK1A erhöht werden sollte. Ein Dockingmodell eines MAO-A/Harmin-Komplexes von Reniers et al.⁶⁴ ließ ferner erwarten, dass dadurch die MAO-A-Inhibition abgeschwächt wird, da die Interaktion von Harmin (**1**) mit der MAO-A über den Pyridin- und den Indol-Stickstoff erfolgt (Abb. 23). An dieser Interaktion sind auch konservierte Wassermoleküle beteiligt.

Unser Arbeitskreis hatte bisher bereits gute Erfahrungen mit *N*-Methylierungen an Indol-Derivaten im Hinblick auf Erhöhung der Aktivität gemacht (siehe 2.1.1.). Durch die Einführung von basischen Gruppen (zum Bsp. mit einer *N,N*-Dimethylaminoalkylfunktion) erhofften wir uns eine Senkung der Affinität zur CLK (Docking Prof. Sippl) und eine Erhöhung der Affinität zur DYRK1A. Die Aminofunktion liegt bei einem physiologischen pH protoniert vor und könnte als Wasserstoffbrückendonator fungieren und somit eine zusätzliche Interaktionsstelle darstellen. Desweiteren sollten am Pyrrol-Stickstoff auch andere polare Reste (zum Bsp. Carbonsäuren, Ester, Nitrile, Amide) eingeführt werden, um zusätzliche Interaktionsstellen zur Verfügung zu stellen (Abb. 23).

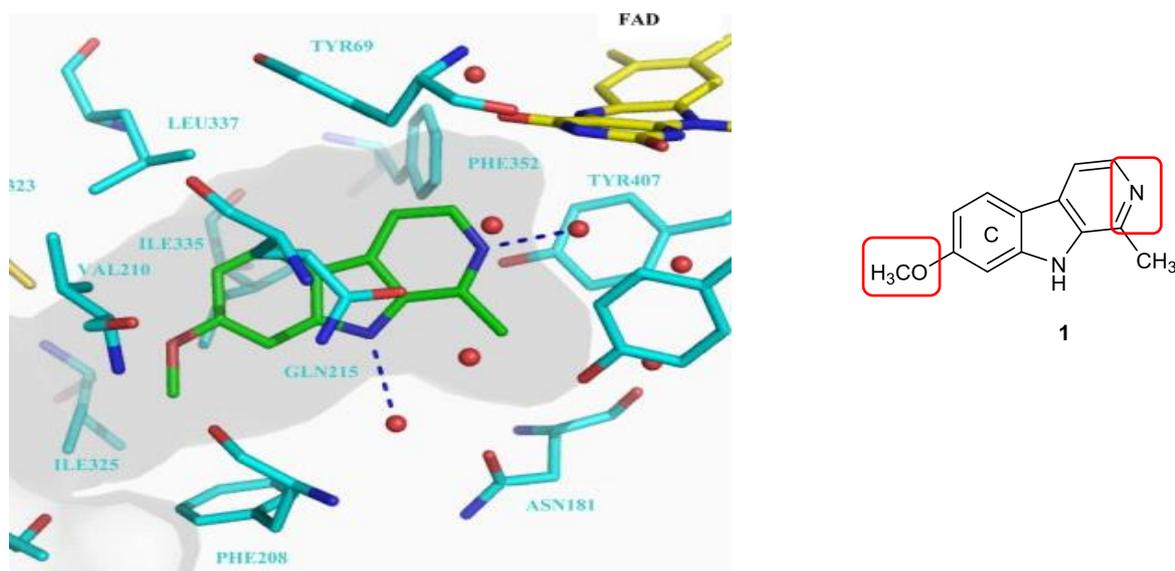
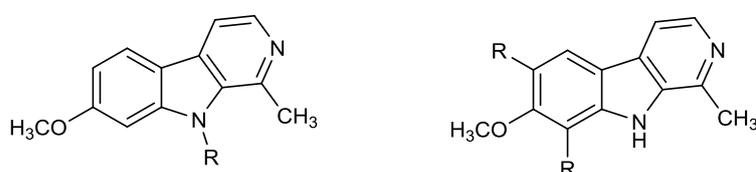


Abb. 23 MAO-A Bindungstasche mit gedocktem Harmin (**1**) nach Reniers et al.⁶⁴

Ferner sollten Brom- und Chlorsubstituenten am Ring C in den Positionen 6 bzw./und 8 eingeführt werden. Vorarbeiten aus unserem Arbeitskreis hatten gezeigt, dass durch die Einführung von Chlorsubstituenten am Carbocyclus von Indolen bzw. β -Carbolinen eine Steigerung der Kinase-inhibitorischen Aktivität erzielt werden kann (siehe 2.1.1.). Zudem könnten die Halogenreste auch ähnlich wie bei KH-CB19 (**24**) eine weitere Interaktionsstelle zur DYRK1A darstellen und vielleicht eine Chlor- oder Brombrücke ausbilden (siehe 2.1.1.). Ein Dockingmodell von Prof. Sippl postulierte, dass durch die Einführung von Resten mit großem Raumbedarf wie Chlor oder Brom die Affinität zur MAO-A gesenkt werden könnte (Abb. 24).



R = Alkyl, Benzyl, $\text{CH}_2\text{-X}$ (X= Ester, Amid, Nitril)

R = Br, Cl

Abb. 24 Geplante Modifikationen am Harmin (**1**)

Als nächstes sollten am Ring A Modifikationen durchgeführt werden. Dockingexperimente von Prof. Sippl, in denen in DYRK1A Harmin (**1**) mit dem bekannten DYRK1A-Inhibitor DJM2005 (**41**) überlagert wurde, zeigten, dass Harmin (**1**) eine von dem Benzopyrazol DJM2005⁶ in dem Kokristall durch einen m-Chlorphenylrest belegte Tasche nicht abdeckt. Die Interaktionsstellen von DJM2005 mit DYRK1A sind in Abb. 25 markiert. Idee war nun, diesen Raum durch Aryliden-Verbindungen zu füllen, die sich durch Umsetzung von Harmin (**1**) mit aromatischen Aldehyden wie zum Bsp. Benzaldehyd herstellen lassen sollten (Abb. 25).

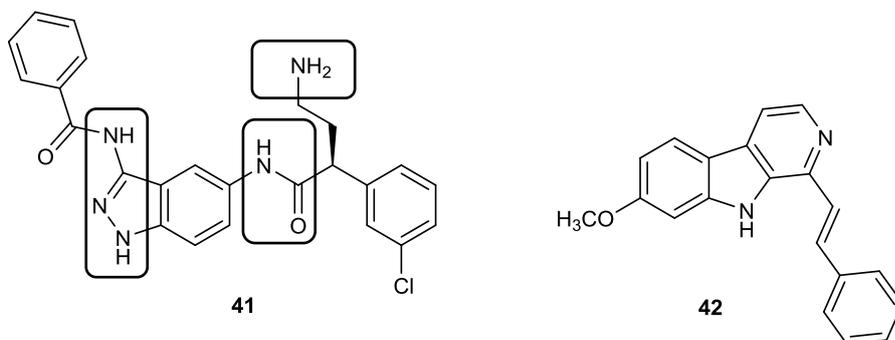


Abb. 25 DJM2005 (**41**) und Zielstruktur Benzylidenharmin (**42**)

2. Tetracyclen mit einer Überbrückung von Ring A mit N-9

Neben den oben genannten Variationen sollte auch ein Tetracyclus mit einer Naphthyridinon-Struktur aufgebaut werden (Abb. 26). Das cyclische Keton sollte dann mit verschiedenen Wittig- oder Grignard-Reagenzien funktionalisiert werden. Durch die Rigidisierung des Systems erhoffen wir uns eine verbesserte Selektivität hervorzurufen. Docking-Experimente von Prof. Sippl ließen erwarten, dass durch sperrige Substituenten die Affinität zur MAO-A gesenkt wird. Zu beachten ist hier aber die hohe Lipophilie der Substanzen und damit auch mögliche Löslichkeitsprobleme. Aus diesem Grund sollten auch Tetracyclen mit einer Aminalstruktur aufgebaut werden. Dieses Strukturelement würde den Tetracyclus polarer machen und der Stickstoff, der unter physiologischen Bedingungen protoniert vorliegen könnte, könnte als Wasserbrückendonator fungieren und somit eine neue Interaktionsstelle für die ATP-Bindungstasche darstellen (Abb. 26).

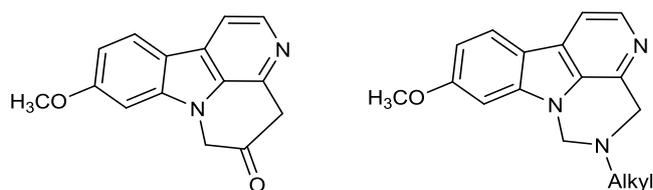


Abb. 26 Geplante Tetracyclen

3. Modifikationen, bei denen der β -Carbolin-Grundkörper neu aufgebaut werden sollte

A. Desaza-Analoga

Durch die Herstellung von Desaza-Analoga von Harmin (**1**), d.h. Austausch des Stickstoffs an Position 9 bzw. 2 durch Kohlenstoff, sollten die Dockingmodelle von Reniers et al.⁶⁴ und Sippl (siehe Abb. 21) überprüft werden. Die Interaktion von Harmin (**1**) mit der DYRK1A bzw. der MAO-A erfolgt laut Sippl und Reniers unter anderem über den Pyridin-Stickstoff. Durch Ersetzen dieses Stickstoffs durch Kohlenstoff sollte an beiden Enzymen ein Verlust an inhibitorischer Aktivität beobachtet werden können (siehe Verbindung **43** Abb. 27). Laut Reniers et al. erfolgt die Interaktion von Harmin mit der MAO-A unter anderem über die NH-Funktion des

Pyrrols. Ein Ersetzen der NH-Funktion an Position 9 durch andere Reste sollte somit zu einer Verminderung der Inhibition der MAO-A führen. Die Synthese des Azafluorens **44** sollte zudem zeigen, ob diese Verbindung, die die gleiche Koplanarität wie Harmin (**1**) besitzt, auch die DYRK1A hemmt. Ob auch räumliche Aspekte eine Rolle spielen bei der Interaktion mit DYRK1A bzw. MAO-A, sollte durch die Herstellung von Azafluoren-Derivaten gezeigt werden, die folgende Substitutionen an Position 9 aufweisen sollten (Abb. 27).

1. Ein Carbinol **45** ist ebenso wie die NH-Funktion von Harmin (**1**) ein Wasserstoffbrückendonator, aber das Proton ist weiter vom Grundgerüst entfernt. Ferner sind hier die 2 Aromaten nicht mehr koplanar.

2. Azafluoren **46**: Die Interaktion von Harmin (**1**) mit DYRK1A erfolgt nur über den Pyridin-Stickstoff und die Methoxygruppe. Durch das Ersetzen der NH-Funktion durch eine Methylengruppe, sollte überprüft werden, wie wichtig die koplanare Ausrichtung des Aromaten ist. Zusätzlich sollte durch das Ersetzen der NH-Funktion eine Senkung der inhibitorischen Aktivität auf die MAO-A beobachtet werden, da die Interaktion von Harmin mit der MAO-A über den Pyridin-Stickstoff und die NH-Gruppe erfolgt.

3. Ausgehend vom Azafluoren **44** war die Einführung verschiedener Reste an Position 9 mit einem CH-R'- Motiv **47** durch Wittig-Reaktionen geplant.

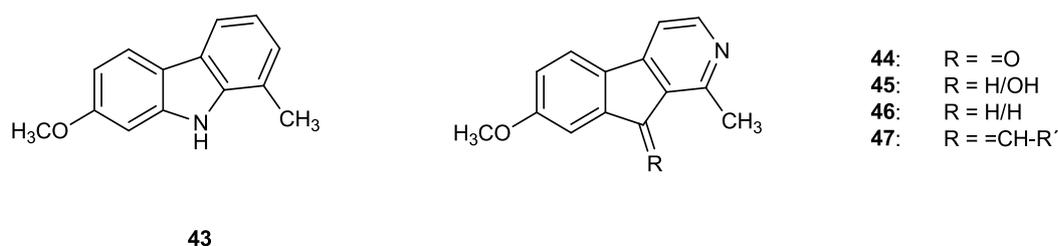


Abb. 27 Geplante Desaza-Analoga von Harmin (**1**)

B. Variationen an C-1

Neben den Arylidenharminen sollten auch noch weitere Variationen an C-1 durchgeführt werden. In unserem Arbeitskreis wurden einige Methoden für die Synthese von 1-Halogen- β -carbolinen und für deren Pd-katalysierte Funktionalisierung entwickelt (siehe 2.2.3 und 3.3.1). In Anlehnung an diese Vorschriften sollten auch entsprechende 1-Halogen-7-methoxy- β -carboline

hergestellt und eine Pd-katalysierte Funktionalisierung mit Trialkylboranen bzw. Trialkylaluminiumverbindungen durchgeführt werden, um zu Homologen des Harmins zu gelangen (Abb. 28).

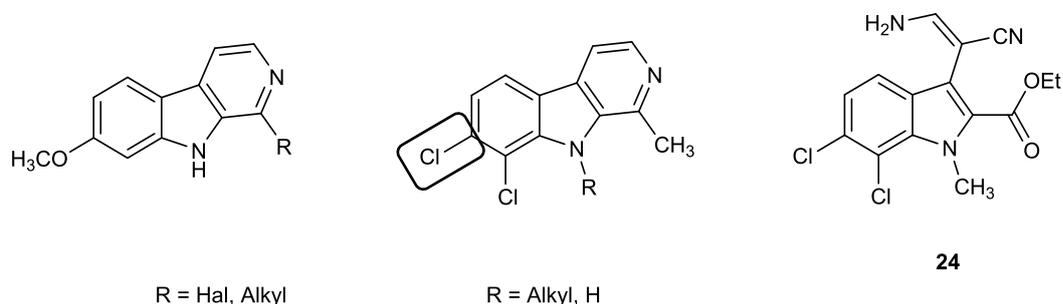


Abb. 28 Zielverbindungen: 1-Halogen- und 1-Alkyl-Analoga von Harmin (**1**) (links), Hybride aus Harmin und Bauerin C (Mitte) und zum Vergleich der CLK1-Inhibitor KH-CB19 (**24**)

C. Hybride aus Harmin und Bauerin-C

In Vorarbeiten aus unserem Arbeitskreis wurde gezeigt, dass durch die Einführung von Chlorsubstituenten, wie sie im Alkaloid Bauerin C (**28**) zu finden sind, die Kinase-inhibitorische Aktivität gesteigert werden kann (siehe 2.1.1.). Diese Strategie sollte auch bei diesem Projekt angewendet werden. Genauso wie bei Harmin (**1**) sollte auch hier in der weiteren Folge eine Alkylierung des Indol-Stickstoffs mit geeigneten Resten erfolgen. Zu beachten ist hier natürlich, dass die für die Interaktion mit DYRK1A nötige Methoxyfunktion durch einen Chlorsubstituenten ersetzt wird. Damit sollte überprüft werden, ob der Chlorsubstituent an Position 7 ähnlich, wie bei KH-CB19 (**24**) an der CLK1 eine Chlorbrücke zur ATP-Bindungstasche ausbilden kann⁴⁸ (Abb. 28 und siehe 2.1.1.).

2.2. Synthesepanung

An dieser Stelle werden die einzelnen Synthesepanungen nur kurz skizziert, da die detaillierten Panungen am Beginn der jeweiligen Kapitel beschrieben werden.

2.2.1. Synthese des γ -Carbolin-Isomers **39** von Dihydro-Bauerin C (**32**)

Für die Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **39** boten sich verschiedene Wegen an. In meiner Diplomarbeit⁶⁵ habe ich das entsprechende chlorierte 3-Oxo- γ -carbolin **48** bereits erfolgreich in Zusammenarbeit mit Uwe Wolle⁶¹ synthetisiert. Es fehlte nur noch die *N*-Methylierung (Abb. 29). Ziel meiner Arbeit war es, den bislang wenig effektiven letzten Schritt, die Cyclisierung zu **48** zu verbessern und die noch fehlende regioselektive *N*-Methylierung am Pyrrolstickstoff durchzuführen.

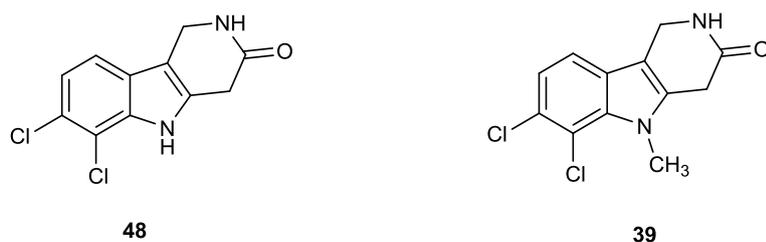
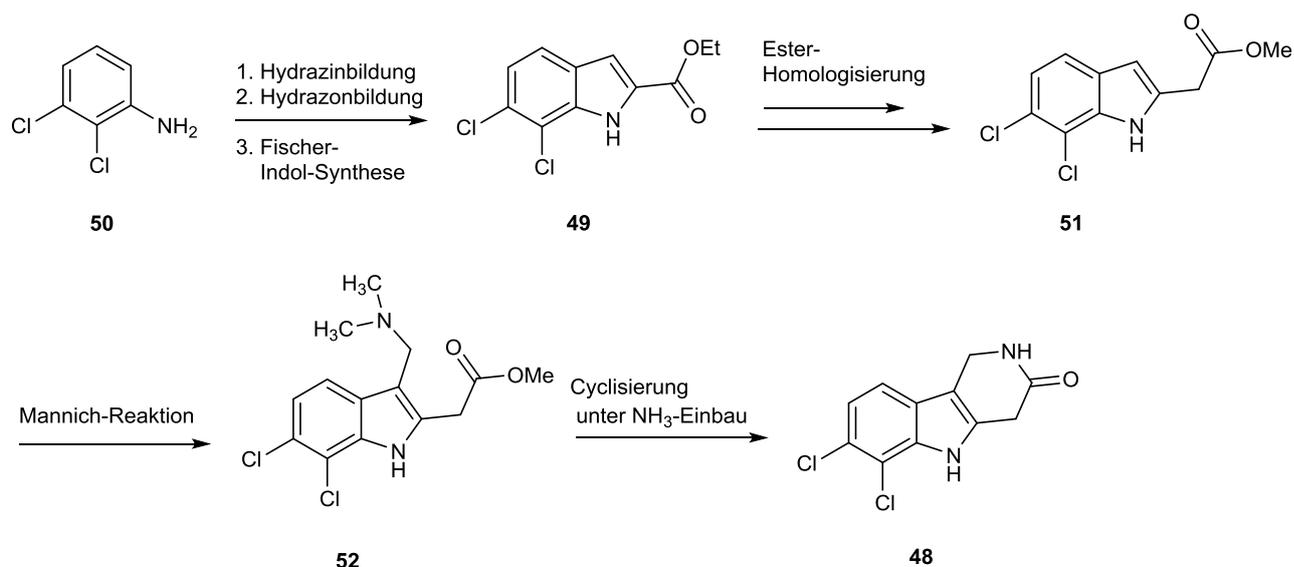


Abb. 29 Zielstrukturen: 3-Oxo- γ -carboline **48** und **39**

48 wurde über die zentrale literaturbekannte Zwischenstufe, den Ethylester **49**⁶⁰ hergestellt. Der Ethylester **49** konnte in mehreren Schritten (Hydrazin-, Hydrazonbildung und Fischer-Indol-Synthese) ausgehend von 2,3-Dichloranilin (**50**) synthetisiert werden. Anschließend erfolgte über mehrere Stufen die Homologisierung zur Methoxycarbonylmethylverbindung **51**, dann eine Mannich-Reaktion zu einem Graminderivat **52** und am Schluss die Cyclisierung unter Einbau von Ammoniak zum 3-Oxo- γ -carbolin **48** (Abb. 30).

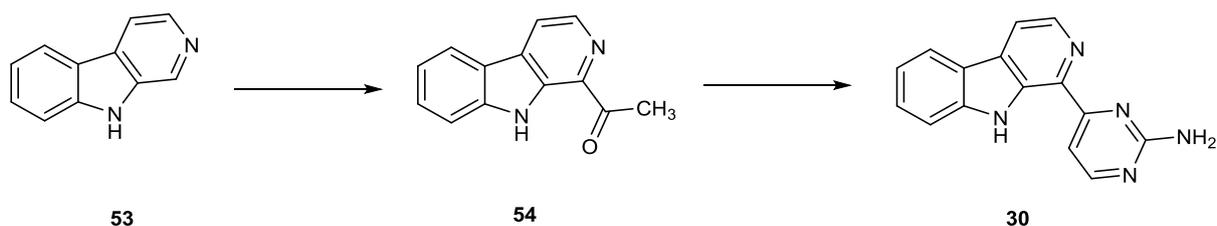
Abb. 30 Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **48**

Die noch fehlende *N*-Monomethylierung an N-5 sollte auf folgenden Wegen versucht werden:

1. Direkte *N*-Methylierung von **48**
2. Einführung einer Schutzgruppe an N-2, dann Methylierung an N-5 und Entschützung
3. Entwickeln eines neuen Zugangs zum Grundkörper des 3-Oxo- γ -carbolins unter frühzeitigem Einbau der *N*-Methylgruppe durch Aufbau des Ringes A ausgehend von 6,7-Dichlor-1*H*-indol

2.2.2. Synthese eines Dichlor-Analogen von Annomontin (**40**)

Die Synthese von Dichlorannomontin (**40**) sollte in Anlehnung an die Synthese von Annomontin⁶⁶ (**30**) (Abb. 31), die in unserem Arbeitskreis etabliert wurde, erfolgen.

Abb. 31 Synthese von Annomontin (**30**)

Kommerziell erhältliches Norharman (**53**) wurde dabei über eine Minisci-Reaktion an C-1 acetyliert und im nächsten Schritt wurde in einem Arbeitsgang der Aminopyrimidinring aufgebaut. Diese elegante Synthesestrategie sollte auch bei meiner Synthese Anwendung finden. Mein erstes Syntheseziel sollte somit die zentrale Zwischenverbindung **56** sein. Da 7,8-Dichlornorharman kommerziell nicht erhältlich ist, musste ein komplett neuer Zugang zum Methylketon **56** entwickelt werden (Abb. 32). Als Vorstufe für das Methylketon bot sich ein entsprechendes 1-Halogen- β -carbolin (**55**) an.

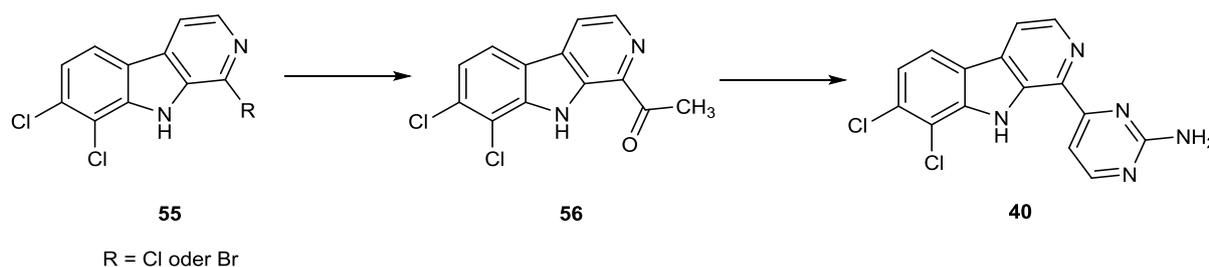


Abb. 32 Geplante Synthese von Dichlorannomontin (**40**)

2.2.3. Entwicklung eines selektiven DYRK1A-Inhibitors ausgehend von Harmin

Um die erwünschte DYRK-Inhibition von der unerwünschten MAO-A-Inhibition zu trennen, sollte Harmin (**1**) auf verschiedene Arten modifiziert werden. Dabei sollte wahlweise direkt von Harmin als Grundkörper ausgegangen oder der Grundkörper (β -Carbolin, Azafluoren) neu aufgebaut werden. Folgende Variationen sollten durchgeführt werden.

1. Strukturvariationen am Ring C

Es sollten elektrophile aromatische Substitutionen an Harmin (**1**) mit Brom und Chlor in Anlehnung an literaturbekannte Synthesen durchgeführt werden (Abb. 33).

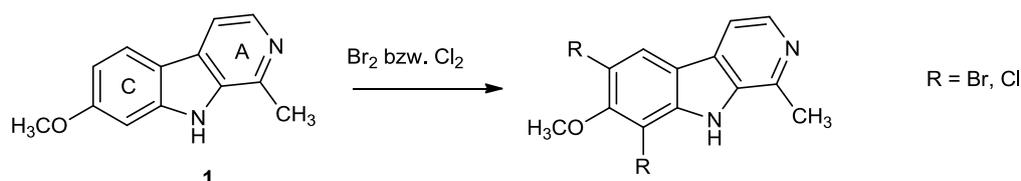


Abb. 33 Geplante Strukturvariationen am Ring C

2. Strukturvariationen am Ring B

A. N-Alkylierung von Harmin (1)

Harmin (1) sollte mit diversen Alkylhalogeniden nach Deprotonierung mit einer starken Base am Pyrrol-Stickstoff alkyliert werden (Abb. 34).

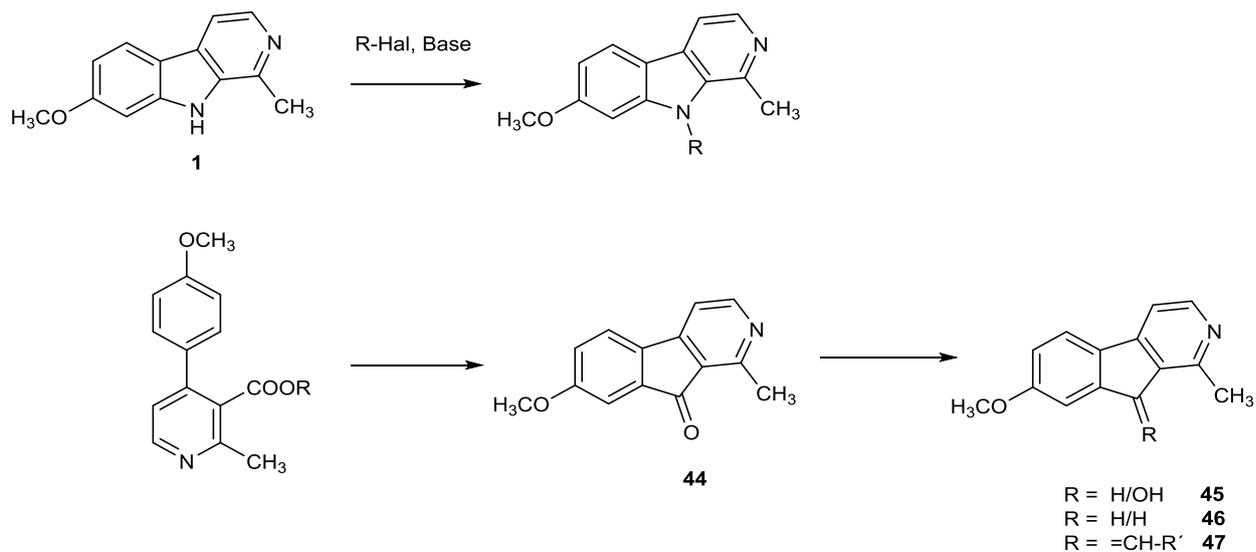


Abb. 34 Geplante Strukturvariationen am Ring B

B. Synthese von 9-Desaza-Analoga von Harmin

Die zentrale Zwischenstufe **44**, sollte durch sauer katalysierte Cyclisierung eines geeignet substituierten 4-Arylnicotinsäureesters zugänglich sein (Abb. 34). Die weiteren Zielverbindungen sollten durch Abwandlung der Ketogruppe zugänglich sein.

3. Variationen am Ring A

A. Kondensationsreaktionen an der Methylgruppe an Position 1

In Anlehnung an literaturbekannte Umsetzungen sollten Kondensationsreaktionen an der Methylgruppe an Position 1 mit aromatischen Aldehyden ausgehend von Harmin (1) durchgeführt werden (Abb. 35).

B. Überbrückung von Ring A mit N-9 ausgehend von Harmin (1)

Ausgehend von Harmin (1) sollte über eine *N*-Alkylierung des Pyrrols eine entsprechende Alkoxy-carbonylmethylverbindung hergestellt werden, die über eine Claisen-artige Reaktion in das cyclische Keton **57** überführt werden sollte. In einem nächsten Schritt sollte das Keton **57** mit verschiedenen Wittig-Reagenzien oder Grignard-Reagenzien umgesetzt werden. Die Synthese von Tetracyclen mit einer Aminalstruktur **58** sollte über die zentrale Stufe eines Aldehyds erfolgen. Der Aldehyd sollte ausgehend von Harmin (1) über eine Oxidation der Methylgruppe hergestellt werden. Im nächsten Schritt sollten die entsprechenden Alkylamine über eine reduktive Aminierung hergestellt und dann diverse Aldehyde einkondensiert werden (Abb. 35).

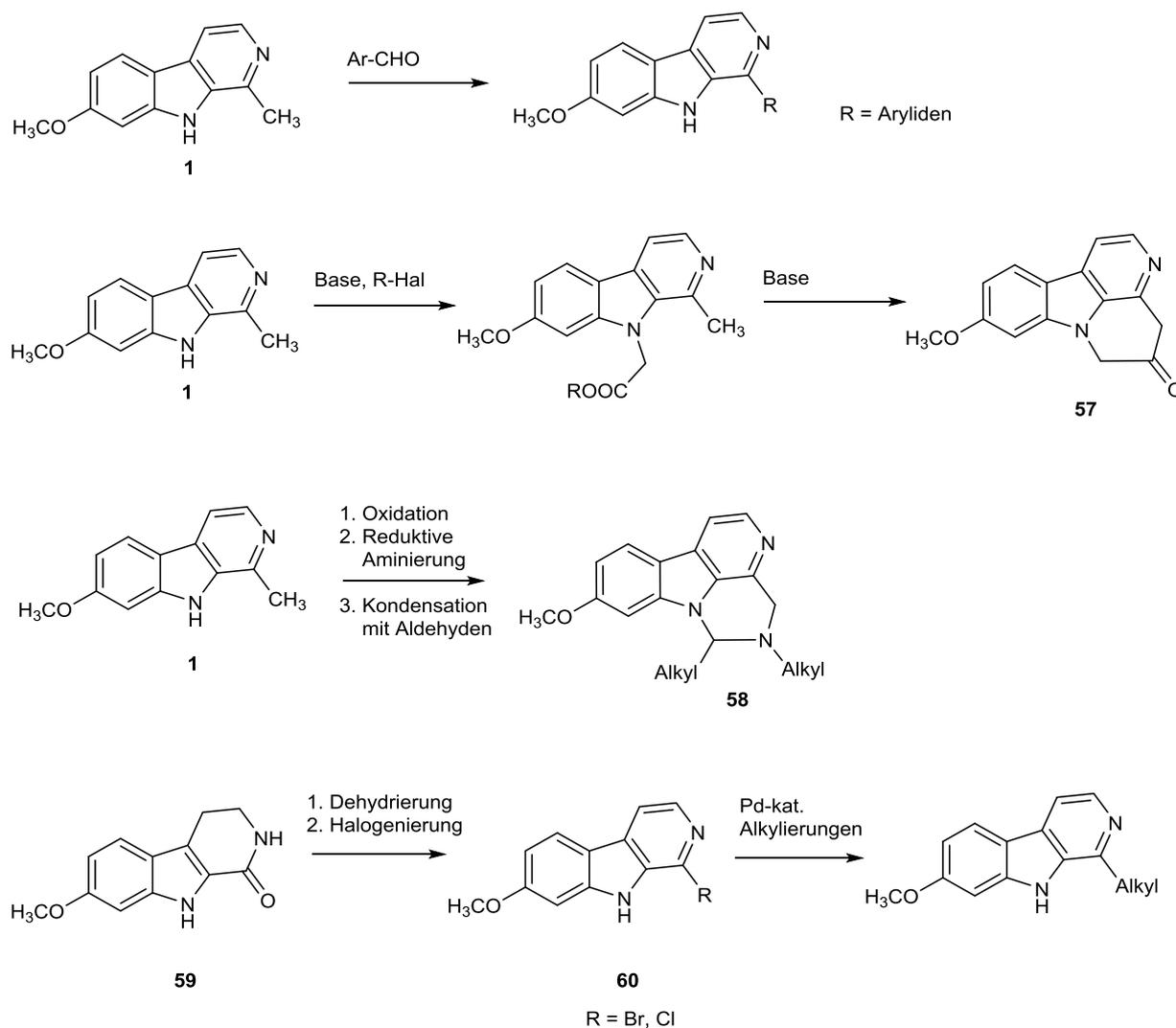


Abb. 35 Geplante Strukturvariationen am Ring A

C. Flexible Variationen an C-1 über Pd-katalysierte Kupplungen ausgehend von einem

1-Halogen- β -carbolin (**60**)

Verbindung **60** sollte ausgehend vom literaturbekannten Harmalacidin (**59**) über eine Dehydrierung und Halogenierung dargestellt werden (Abb. 35). Im nächsten Schritt sollte an C-1 unter Katalyse von Pd zu Homologen von Harmin alkyliert werden.

4. Harmin-Bauerin C-Hybride

Ausgehend von 1-Halogen- β -carbolinen **55** (Synthese siehe 2.2.2.) sollte eine Pd-katalysierte Methylierung an Position 1 erfolgen, ferner sollte der Pyrrol-Stickstoff mit verschiedenen Resten alkyliert werden (Abb. 36).

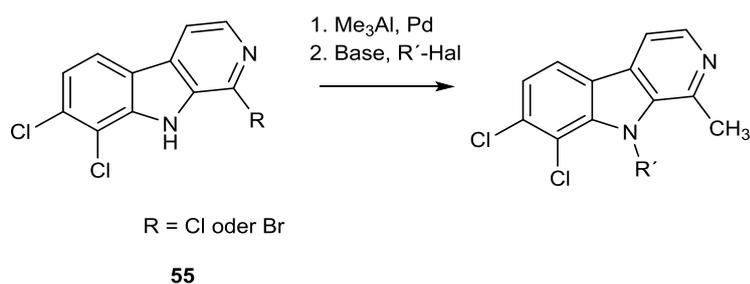


Abb. 36 Angestrebte Harmin-Bauerin C-Hybride

3. Synthesen

Der Syntheseteil ist in drei Themengebiete aufgegliedert.

1. Synthese des γ -Carbolin-Isomers **39** von 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**)
2. Synthese eines Dichlor-Analogen von Annomontin (**30**)
3. Synthese von Analoga von Harmin (**1**) als DYRK1A-Inhibitoren

Vor der Beschreibung der einzelnen Synthesen wird vor jedem der 3 Themengebiete die jeweilige Syntheseplanung beschrieben.

3.1. Synthese des γ -Carbolin-Isomers **39** von 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**)

3.1.1. Syntheseplanung

Im Rahmen meiner Diplomarbeit⁶⁵ habe ich in Zusammenarbeit mit meinem Kollegen Uwe Wollein⁶¹ schon erfolgreich die Synthese des 3-Oxo- γ -Carbolins **48** durchgeführt. Als letzter Schritt fehlte nur noch die selektive *N*-Methylierung des Pyrrolstickstoffs (Abb. 37).

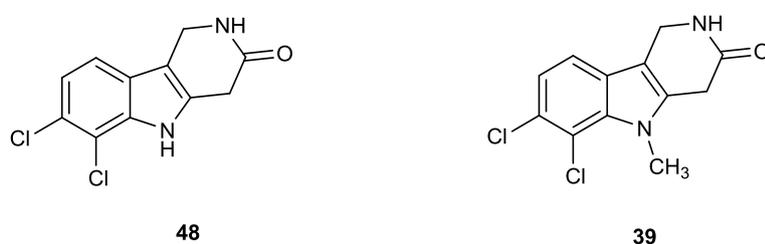


Abb. 37 3-Oxo- γ -carbolin **48** und Zielstruktur **39**

Für die Synthese von 6,7-Dichlor-5-methyl-1,2,4,5-tetrahydro-3*H*-pyrido[4,3-*b*]indol-3-on (**39**) sollten folgende drei Wege besprochen werden.

1. Direkte *N*-Methylierung des 3-Oxo- γ -carbolins **48**

Das 3-Oxo- γ -carbolin **48** sollte mit gängigen *N*-Alkylierungskomponenten umgesetzt werden. Als Basen boten sich dabei Natriumhydrid und Kalium-*tert*-butanolat an. Als Alkylans sollte Methyljodid verwendet werden (Abb. 38). Problematisch bei dieser Reaktion ist, dass ohne vorherige Deprotonierung mangels Nucleophilie des

Stickstoffatoms keine *N*-Alkylierung zu erwarten war, in Gegenwart einer starken Base aber nicht nur der Indol-Stickstoff sondern auch zwei weitere acide Stellen im Molekül alkyliert werden könnten. Sowohl der Lactam-Stickstoff als auch die acide Methylengruppe an C-4 könnten je nach Reaktionsbedingungen auch methyliert werden. Es sollte somit eine Methode entwickelt werden, bei der nur oder zumindest überwiegend der Indol-Stickstoff methyliert wird, was sich als sehr schwierig gestalten könnte und auch fraglich war, ob die Reaktionsbedingungen so eingestellt werden können.

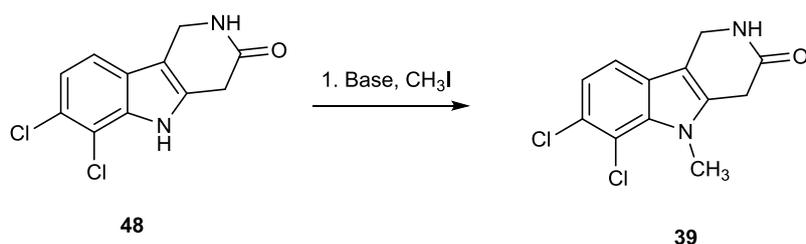


Abb. 38 Geplante direkte *N*-Methylierung des 3-Oxo- γ -carbolins **48**

2. Verwendung einer Schutzgruppe für N-2 (Lactam)

Als Alternative für die direkte *N*-Methylierung sollte versucht werden, den Lactam-Stickstoff durch die Einführung einer Schutzgruppe für die *N*-Methylierung zu blockieren. Es gibt hier zwei Möglichkeiten für die Einführung der Schutzgruppe. Die erste ist die Schützung des Lactam-Stickstoffs von **48** (Variante 1). Im nächsten Schritt sollte dann an N-5 methyliert und am Schluss die Schutzgruppe wieder abgespalten werden (Abb. 39). Wichtig hierbei ist eine Schutzgruppe zu finden, die selektiv am Lactam und nicht am Indol eingeführt wird. Die 2. Möglichkeit könnte sein, dass bereits die Cyclisierung zum Lactam mit der Schutzgruppe erfolgt, d.h. der Baustein für die Schutzgruppe müsste eine primäre Aminofunktion besitzen (Variante 2). Dann sollte *N*-methyliert und die Schutzgruppe wieder abgespalten werden (Abb. 40). Da die Cyclisierung zu 3-Oxo- γ -carbolin **48** in nur sehr mäßigen Ausbeuten erfolgt und die Synthese bis dahin 9 Stufen umfasst, sollte als erstes die zweite Variante getestet werden. Die Palette an dafür geeigneten Schutzgruppen ist aber leider nicht sehr groß.

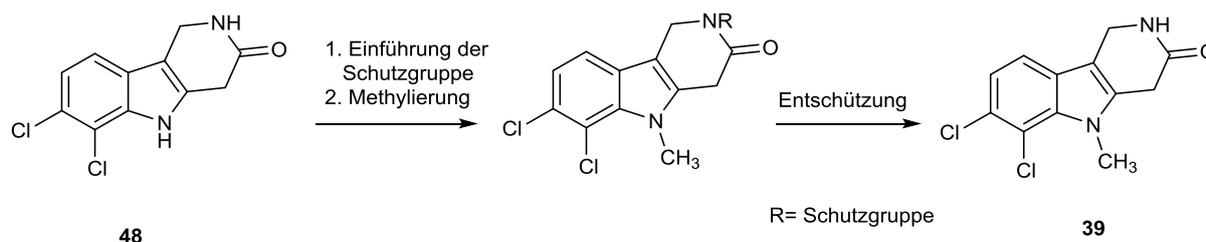


Abb. 39 Variante 1

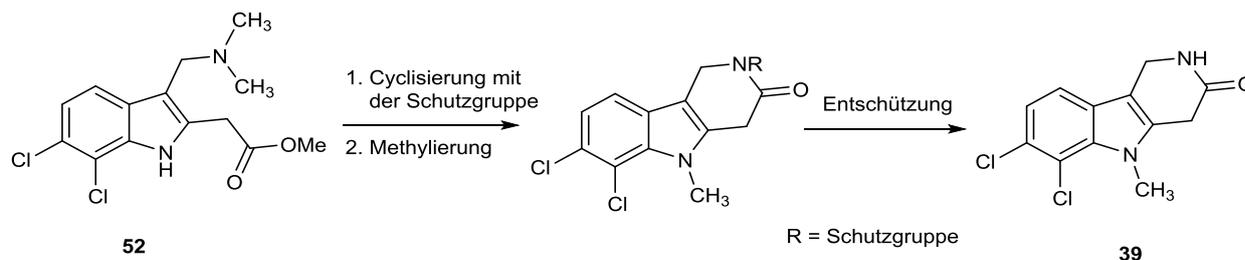


Abb. 40 Variante 2

3. Aufbau des Ringes A ausgehend von 6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol (**61**) über eine Pummerer-Reaktion oder über eine Minisci-artige Reaktion

Sollten die beiden oben angeführten Synthesestrategien nicht erfolgreich sein, sollte als alternative Möglichkeit der Aufbau des Ringes A über das bereits *N*-methylierte Indol **61** (siehe Abb. 44) erfolgen. Im Unterschied zu den beiden anderen Methoden sollte die Methylgruppe am Indol-Stickstoff schon zu Beginn der Synthese eingeführt werden und nicht erst am Schluss. Hiermit könnte die Schutzgruppenchemie vermieden werden, die nicht immer erfolgsversprechend ist, da die Auswahl an geeigneten Lactam-Schutzgruppen eher begrenzt ist. Auch die Problematik mit der selektiven Methylierung des Indol-Stickstoffs neben zwei anderen aciden Stellen könnte somit vermieden werden. Aus Vorarbeiten aus unserem Arbeitskreis war bekannt, dass die Cyclisierung ausgehend von dem nicht-chlorierten *N*-methylierten Gramin-Derivat nicht funktioniert (Abb. 41). Uwe Wollein⁶¹ hatte dies beim Versuch zur Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **38** ausgehend von tertiärem Amin **62** schon versucht.

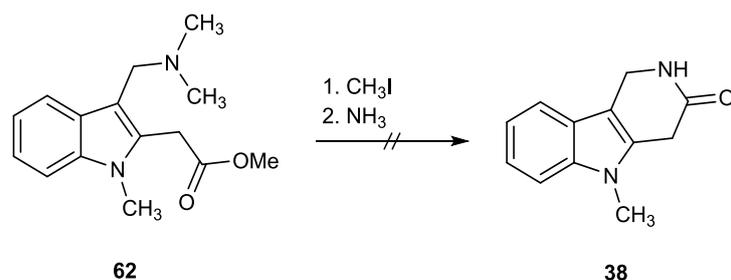


Abb. 41 Versuch zur Cyclisierung von **38**

Da meine Verbindung das dichlorierte Analogon von **38** darstellt, wurde dieser oben skizzierte Weg nicht mehr eingeschlagen. Somit musste ein neuer Zugang zum 3-Oxo- γ -carbolin entwickelt werden, bei dem die Methylgruppe schon in den ersten Syntheseschritten eingeführt wird. Hierbei sollten zwei Wege beschriftet werden, bei denen der Ring A ausgehend von den entsprechenden Indol-Derivaten aufgebaut werden sollte. Weg A sollte über eine Pummerer-Umlagerung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung erfolgen und Weg B über eine Minisci-artige Reaktion.

A, Pummerer-Cyclisierung/Umlagerung

6,7-Dichlorindol (**63**), das in einer Bartoli-Synthese hergestellt werden kann, sollte in Anlehnung an eine Vorschrift von Huber⁶⁰ mit Methyljodid in Gegenwart von Natriumhydrid als Base methyliert und mit dem Vilsmeier-Reagenz an C-3 formyliert werden. Als nächstes sollte der dabei entstehende Aldehyd reaktiv aminiert werden. Als gängige Reduktionsmittel sollten dabei Natriumborhydrid oder Natriumcyanoborhydrid verwendet werden. In der Literatur findet man nur sehr wenige Beispiele, bei denen reduktive Aminierungen mit Ammoniak an Indolaldehyden durchgeführt werden. Vorschriften zur reduktiven Aminierung von chlorierten Indolderivaten mit Ammoniak/Reduktionsmittel sind bisher noch nicht publiziert worden. Yamada et al.⁶⁷ haben eine Vorschrift zur reduktiven Aminierung mit NaCNBH_3 von Indolcarbaldehyden entwickelt, die jedoch nur in schlechter Ausbeute funktioniert. Nach Rafelson⁶⁸ wird als Reduktionsmittel LiAlH_4 verwendet. In dieser Vorschrift wird zuerst aus Indolcarbaldehyd und Hydroxylamin das Oxim gebildet, welches dann im nächsten Schritt zum primären Amin reduziert wird. Die Ausbeute dieser Reaktion liegt bei 90 %. Ausgehend vom dem primären Amin **64** sollte dann in der Folge eine Pummerer-Reaktion bzw. eine Friedel-Crafts-artige

Cyclisierung nach Tamura et al.⁶⁹ und eine reduktive Entschwefelung zu Verbindung **39** führen (Abb. 42).

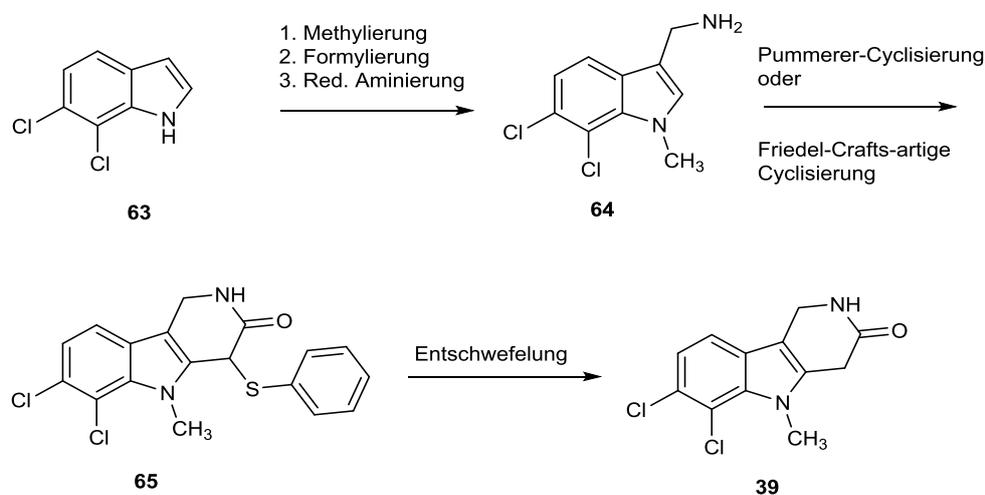
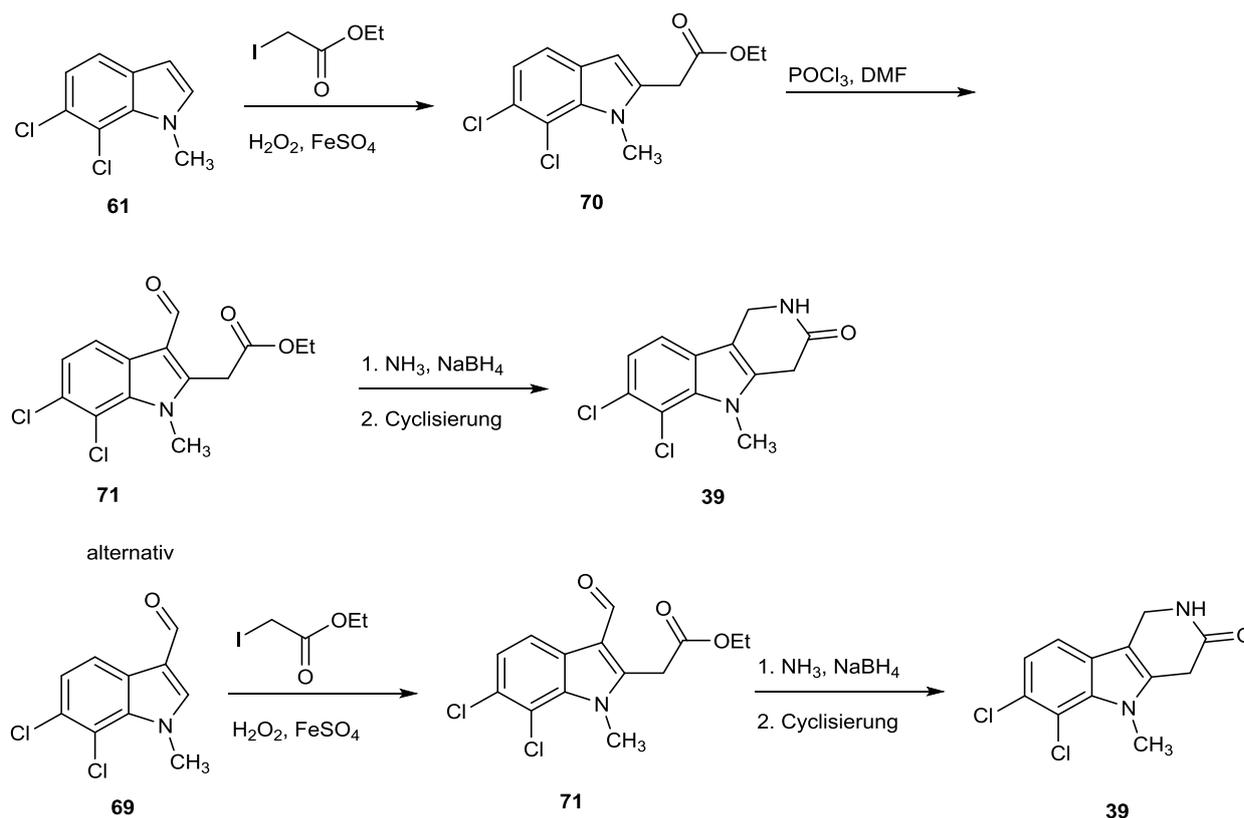


Abb. 42 Geplante Synthese von **39** über eine Pummerer-artige Cyclisierung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung

B. Aufbau von Ring A über eine Minisci-artige Radikalreaktion

In unserem Arbeitskreis wurde von Wollein⁶¹ schon eine Methode für die Synthese der Methoxycarbonylmethylverbindung **66** entwickelt. Hier konnte auf einem eleganten Weg die für die Cyclisierung nötige Esterfunktion ausgehend von käuflichem Indol in einem Schritt eingeführt werden. Nach einer Vorschrift von Baciocchi et al.⁷⁰ wurde Indol (**68**) mit Iodessigsäuremethylester, Eisen(II)sulfat und Wasserstoffperoxid in DMSO in einer Minisci-artigen Radikalreaktion zur Methoxycarbonylmethylverbindung **66** umgesetzt. Anschließend wurde in einer Mannich-artigen Reaktion mit Böhme-Salz das Graminderivat **62** gebildet und im vorletzten Schritt mit Methyljodid und konz. wässriger Ammoniaklösung cyclisiert. Hierbei wird das tertiäre Amin **62** durch Methyljodid in ein quartäres Ammoniumsalz überführt. In einer nukleophilen Substitutionsreaktion wird dann die Abgangsgruppe Trimethylamin abgespalten und das dabei gebildete Carbeniumion reagiert mit Ammoniak zum primären Amin. Dieses cyclisierte bei Wollein spontan mit der Estergruppe intramolekular zum 3-Oxo- γ -carbolin **67**. Im Anschluss erfolgte dann noch die Methylierung des Indol-Stickstoffs in Gegenwart von Kalium-*tert*-butylat und Methyljodid in DMSO (Abb. 43).

Abb. 44 Geplante Synthese des 3-Oxo- γ -carboline 39

3.1.2 Synthese des γ -Carboline-Isomers von 3,4-Dihydro-Bauerin C (39)

Im Rahmen meiner Diplomarbeit⁶⁵ habe ich in Zusammenarbeit mit meinem Kollegen Uwe Wollein⁶¹ schon erfolgreich die Synthese des 3-Oxo- γ -Carboline 48 durchgeführt. Als letzter Schritt fehlte nur noch die selektive *N*-Methylierung des Pyrrolstickstoffs. Da die Vorarbeiten meiner Diplomarbeit die Basis meiner Doktorarbeit bilden, werde ich die einzelnen Synthesen noch einmal kurz darstellen. Zudem wurde im Rahmen dieser Arbeit von mir auch der finale Schritt der Cyclisierung zu 48 verbessert. Mit dieser kurzen Zusammenstellung meiner Synthesen aus der Diplomarbeit will ich zusammen mit meinen neu entwickelten Synthesen einen Überblick über die von mir entwickelten Zugänge zum 3-Oxo- γ -carboline-Grundkörper liefern. Die *N*-Methylierungsversuche (siehe Kapitel 3.1.3.) wurden in Zusammenarbeit mit meinem Kollegen Uwe Wollein durchgeführt.

3.1.2.1. Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **48**

Die literaturbekannte Verbindung **49** wurde nach Huber⁶⁰ ausgehend von 6,7-Dichlorphenylhydrazin synthetisiert. Die Homologisierung zur Methoxycarbonylmethyl-Verbindung **51** erfolgte über 4 Stufen. Der Ester **49** wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol **72** reduziert und durch Umsetzung mit Benzoylchlorid in den Benzoesäureester **73** überführt. **73** wurde mit Kaliumcyanid in das Cyanomethylderivat **74** überführt. Durch saure Hydrolyse in Methanol entsteht in einer Pinner-artigen Reaktion die Methoxycarbonylmethylverbindung **51**. Die Dimethylaminomethylfunktion wurde in einer Mannich-artigen Reaktion eingefügt. Die Cyclisierung zu **48** erfolgte durch Umsetzung mit Methyljodid und wässrigem Ammoniak bei Raumtemperatur. Im ersten Schritt wurde dabei das tertiäre Amin **52** durch Methyljodid in ein quartäres Ammoniumsalz überführt und dann in wässriger konzentrierter Ammoniaklösung aufgenommen und bei Raumtemperatur im offenen Gefäß gerührt. Das hierbei gebildete primäre Amin lactamisierte in situ zum 3-Oxo- γ -carbolin **48**. Die Gesamtausbeute liegt bei 0.4 % (Abb. 45).

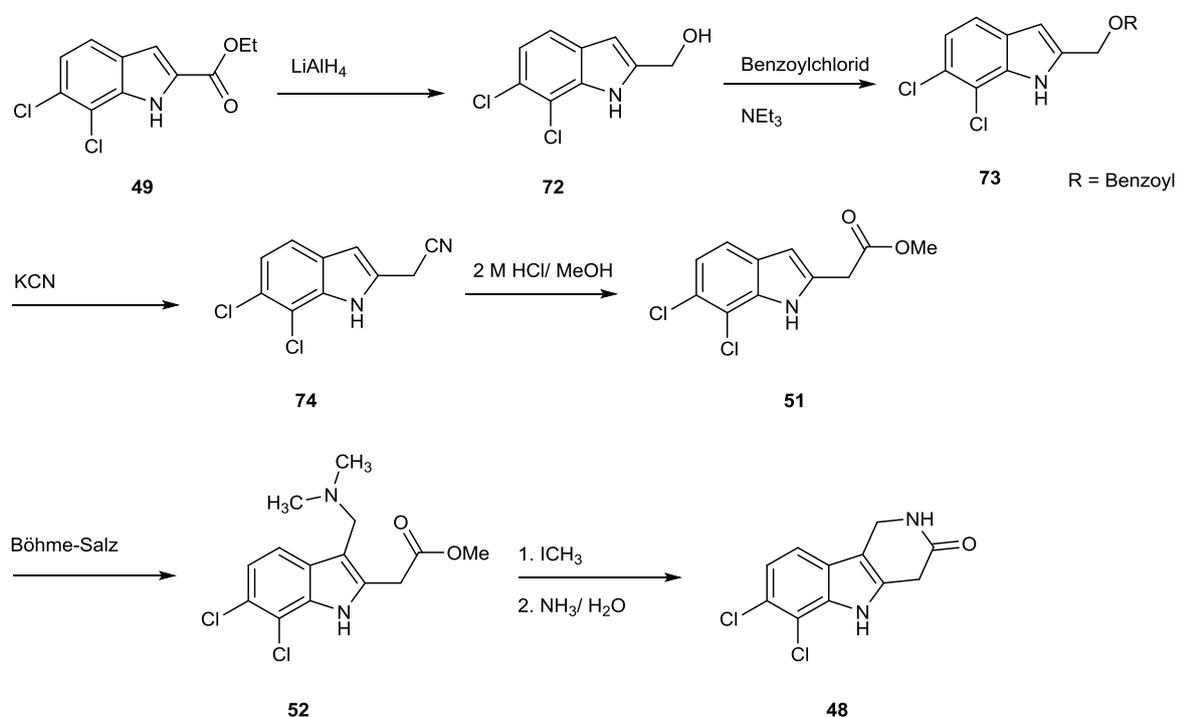


Abb. 45 Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **48**

Im Rahmen meiner Doktorarbeit habe ich versucht den finalen Schritt der Synthese zu **48** zu optimieren. Die Cyclisierung mit wässrigem konzentriertem Ammoniak bei Raumtemperatur hatte zu einer Ausbeute von nur 15 % geführt.

In unserem Arbeitskreis wurde von Kast⁶² eine Methode für Cyclisierungen unter Aufbau von Pyridonen bzw. Lactamen unter Ammoniakeinbau entwickelt, die von Huber⁶⁰ noch verbessert wurde. Verschiedene Indol-Derivate wurden in einer Glashülse mit 2 Äquivalenten Ammoniumchlorid versetzt und auf – 60°C abgekühlt. Dann wurde Ammoniakgas einkondensiert. Die Cyclisierungen wurden dann bei 100 °C im Autoklaven bei 20-25 bar durchgeführt. Huber konnte mit dieser Methode zum Bsp. Amino-Bauerin C (**76**) ausgehend vom Nitril **75** herstellen (Abb. 46).

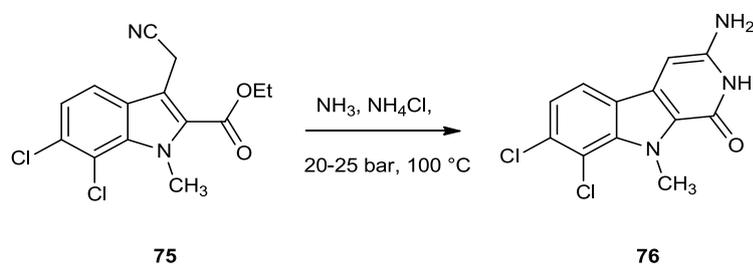


Abb. 46 Synthese von Amino-Bauerin C(**76**) nach Huber⁶⁰

In Anlehnung an diese Methode wurde die Dimethylaminomethylverbindung **52** unter N₂-Atmosphäre mit Methyljodid in THF versetzt. Dann wurde der Reaktionsansatz zur Trockene eingeeengt, in THF aufgenommen, in eine Glashülse überführt und mit 2 Äquivalenten Ammoniumchlorid versetzt. Der Ansatz wurde bei – 60 °C gekühlt und gasförmiger Ammoniak eingeleitet, bis ca. 10 mL verflüssigt war. Anschließend wurde der Ansatz 15 h bei 100 °C und einem Druck von 20-25 bar im Autoklaven gerührt. Das 3-Oxo-γ-carbolin **48** war zwar laut DC-Kontrolle entstanden, aber es waren auch zwei weitere Verbindungen entstanden, die auf Grund der Schwerlöslichkeit aller 3 Verbindungen nicht abgetrennt werden konnten.

Eine nächste Idee war, die Cyclisierung ebenfalls mit gasförmigen Ammoniak aber ohne Druck und ohne Erhitzen durchzuführen, um somit die Entstehung von Nebenprodukten zu verhindern. In Anlehnung an meine Diplomarbeit⁶⁵ wurde das Gramin-Derivat **52** unter N₂-Atmosphäre mit Methyljodid und THF bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde der Ansatz im Vakuum eingeeengt und in THF und konzentriertem wässrigem Ammoniak aufgenommen. Es wurde solange

gasförmiger Ammoniak eingeleitet bis sich die Lösung entfärbte. Anschließend wurde der mit Ammoniak gesättigte Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Mittels Umkristallisation aus Methanol konnte das 3-Oxo- γ -carbolin **48** in einer Ausbeute von 30 % erhalten werden. Die Ausbeute bei der Cyclisierung konnte somit im Vergleich zu meiner Diplomarbeit verdoppelt werden (Abb. 47). Die Gesamtausbeute der Synthese von **48** liegt nun bei 0.7 %.

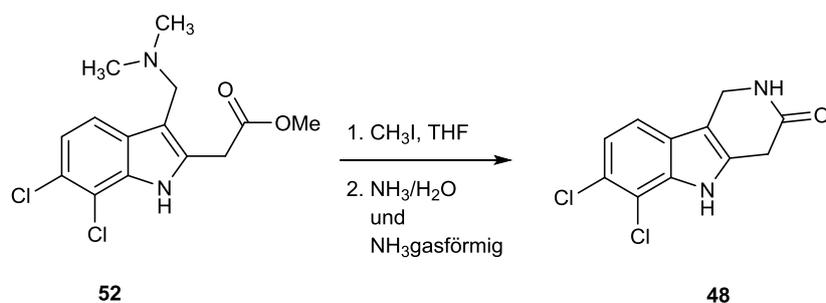


Abb. 47 Cyclisierung des Graminderivats **52**

3.1.3. Versuche zur selektiven Methylierung an N-5

Als letztes fehlte bisher nur noch die *N*-Methylierung von Position 5, um das 3-Oxo- γ -carbolin-Analogon **39** von 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) zu erhalten (Abb. 48). Die Versuche zur *N*-Methylierung wurde in Zusammenarbeit mit Uwe Wollein⁶¹ durchgeführt.

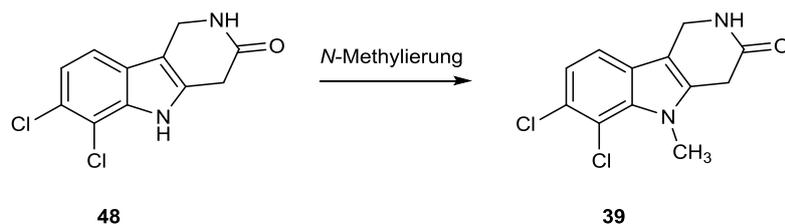


Abb. 48 Angestrebte *N*-Methylierung von **48**

In einem ersten Versuch wurde nach einer Vorschrift von Dubey⁷¹ gearbeitet. Hier werden Benzimidazolderivate unter Bedingungen der Phasentransferkatalyse selektiv *N*-methyliert. Das 3-Oxo- γ -carbolin **48** wurde mit Kaliumcarbonat, Benzyltriethylammoniumchlorid und Dimethylsulfat in Acetonitril versetzt. Unter diesen Bedingungen wurde keine *N*-Methylierung beobachtet. Nach Aufarbeitung des Reaktionsansatzes konnte nur Edukt isoliert werden. Genauso war es auch

Wollein⁶¹ ergangen, der versucht hatte das entsprechende nicht chlorierte 3-Oxo- γ -carbolin nach dieser Methode umzusetzen.

Als nächstes wurde eine vom Pohl⁵⁸ entwickelte Methode angewandt. Mit dieser konnte er etliche β -Carbolinderivate am Indol-Stickstoff alkylieren. Als Base verwendete er Kalium-*tert*-butylat, als Alkylierungsreagenz Methyljodid und als Lösungsmittel DMSO. Es wurde bei 80 °C gerührt. Es kam hier zwar zu einer Umsetzung, aber nach einer GC-MS-Kontrolle stellte sich heraus, dass neben der gewünschten Einfach-Methylierung auch eine doppelte Methylierung stattgefunden hat. Auch durch mehrmalige Umkristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln und säulenchromatographische Aufreinigung sowohl mit Kieselgel als auch mit RP-Phase konnte das Substanzgemisch nicht aufgetrennt werden. Ob in meinem Fall die Einfach-Methylierung am N-5 oder N-2 stattgefunden hat, konnte somit nicht nachgewiesen werden. Uwe Wollein⁶¹ konnte mit dieser Methode sein 3-Oxo- γ -carbolin **67** am Indol-Stickstoff methylieren, allerdings auch nur in schlechten Ausbeuten und es kam hier auch zur Mehrfach-Methylierung.

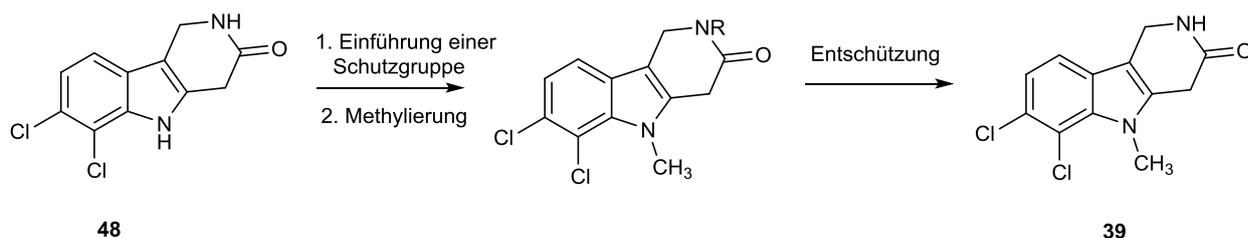
Auf Grund dieser Ergebnisse wurde die Route der direkten *N*-Methylierung verlassen. Da die direkte Methylierung nicht selektiv funktioniert hatte, sollte nun als nächstes versucht werden mit Hilfe einer Schutzgruppe den Lactam-Stickstoff zu blockieren und somit eine selektive *N*-Methylierung an N-5 zu erreichen.

3.1.4. Einführung einer Schutzgruppe an N-2

Voraussetzung war hier eine Schutzgruppe zu finden, die selektiv nachträglich am Lactam-Stickstoff des Tricyclus eingebracht werden kann (Variante 1) oder die im Zuge des Ringschlusses eingeführt werden kann, d.h. der Baustein für die Schutzgruppe müsste eine primäre Aminogruppe tragen (Variante 2). Des Weiteren sollte die Schutzgruppe möglichst unter milden Bedingungen und quantitativ wieder abgespalten werden können. Zu beachten sind hier auch die beiden Chlorsubstituenten, die die Auswahl einer geeigneten Schutzgruppe auf Grund ihrer Sensibilität gegenüber Abspaltungen mit Pd/C und Wasserstoff (da hierbei die beiden Chlorsubstituenten hydrogenolytisch abgespalten werden können) einschränken. Dies engt die Anzahl der wenigen geeigneten Schutzgruppen noch weiter ein. Zusätzlich sollte die Schutzgruppe auch die noch sich anschließende *N*-Methylierung nicht beeinflussen. Die von mir entwickelte Synthese von **48** geht über

9 Stufen. Da die Gesamtausbeute dieser Synthese nur bei 0.7 % liegt, erschien es attraktiver, die Variante 2 zu wählen und eine Schutzgruppe zu verwenden mit der auch der Cyclisierungsschritt durchgeführt werden kann, vielleicht sogar mit besseren Ausbeuten. Somit könnte das γ -Carbolin-Isomer von 3,4-Dihydro-Bauerin C (**39**) über einen Weg synthetisiert werden, der einen Schritt kürzer wäre (Abb. 49).

Variante 1:



Variante 2:

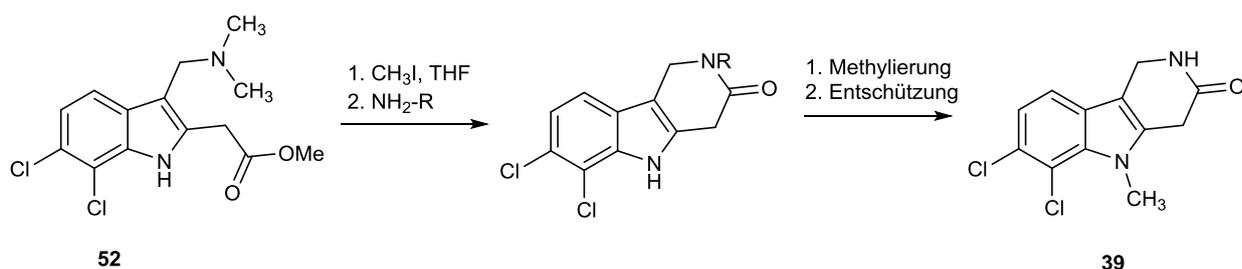


Abb. 49 Varianten 1 und 2 unter Verwendung einer Schutzgruppe (R) an N-2

Für die Variante 2 bieten sich folgende Schutzgruppen für Lactame⁷² an: 4-Methoxybenzyl, 2,4-Dimethoxybenzyl, Benzyl, Allyl, *tert*-Butyl oder eine Triphenylmethylgruppe.

Als erstes wurde die 4-Methoxybenzylgruppe gewählt, da von Wollein⁶¹ schon eine Methode für die Einführung dieser Gruppe an 1,2,4,5-Tetrahydro[3,4-b]indol-3-on (**67**) entwickelt wurde (Abb. 50). Um zu testen, ob sich diese Gruppe wieder glatt abspalten lässt bzw. welche Bedingungen dafür nötig sind, wurde zuerst versucht beim 3-Oxo- γ -carbolin-Derivat **77** die 4-Methoxybenzylgruppe abzuspalten. Diese Verbindung wurde mir freundlicherweise von Uwe Wollein zur Verfügung gestellt.

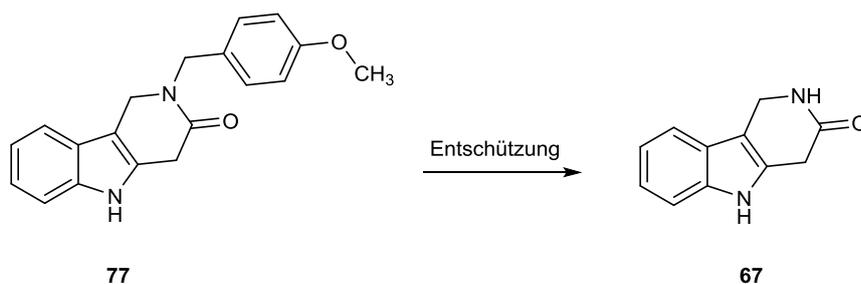


Abb. 50 Versuche zur Entschützung der Methoxybenzylverbindung **77**

Die Abspaltung wurde mit verschiedenen Reagenzien versucht.

1. Oxidative Abspaltung mit Cerammoniumnitrat

Hierbei wurde in Anlehnung an mehrere Literaturvorschriften gearbeitet^{73,74,75}, die sich in den eingesetzten Äquivalenten, Temperaturen und Lösungsmitteln unterscheiden. Hier wurden Methoxybenzylgruppen an ähnlichen Strukturen abgespalten. Mit keiner der gewählten Versuchsbedingungen konnte die Methoxybenzylgruppe abgespalten werden.

2. Abspaltung unter milden Bedingungen mit Aluminiumchlorid in Anisol

Akiyama et al.^{76,77} konnten eine Methode entwickeln für die Abspaltung einer 4-Methoxybenzylgruppe von Fluorouridin-Derivaten. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde Verbindung **77** mit Aluminiumchlorid in Anisol versetzt. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. Auch durch Abänderung der Reaktionsbedingungen (Äquivalente und Temperatur) konnte keine Abspaltung erzielt werden.

3. Abspaltung mit Trifluoressigsäure

Es wurde hier in Anlehnung an eine Vorschrift von Brook et al.⁷⁸ gearbeitet. Hier sollte die Abspaltung mit Trifluoressigsäure bei 80 °C erfolgen. Auch hier konnte nur Edukt zurückgewonnen werden.

4. Abspaltung mit Trifluoressigsäure in Anisol

Die Umsetzung wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Schmidt et al.⁷⁹ durchgeführt. Anisol sollte hier das gebildete Benzylkation abfangen. Auch hier konnte die Schutzgruppe nicht abgespalten werden.

5. Hydrogenolytische Abspaltung mit H₂ und Pd/C

Die Abspaltung unter diesen Bedingungen wurde nicht versucht, da meine eigentliche Verbindung 2 Chlorsubstituenten besitzt, die mit diesen Bedingungen nicht kompatibel sind.

Da in keinem der Versuche die Gruppe abgespalten werden konnte, wurde dieser Weg verlassen. Eine andere mögliche Schutzgruppe wäre die 2,4-Dimethoxybenzylgruppe. Da sich diese Gruppe unter ähnlichen Bedingungen wie die 4-Methoxybenzylgruppe abspalten lässt, wurde diese Gruppe nicht eingesetzt. Zudem konnte in der Literatur kein Hinweis dafür gefunden werden, dass diese Schutzgruppe besser geeignet sei als die 4-Methoxybenzylgruppe.

Die Benzylgruppe kann hier nicht verwendet werden, da sie üblicherweise hydrogenolytisch abgespalten wird. Unter diesen Bedingungen würden auch die beiden Chlorsubstituenten entfernt werden. Neben der hydrogenolytischen Abspaltung gibt es noch weitere Reagenzien⁷² für die Abspaltung der Benzylgruppe, aber da die Abspaltung der Methoxybenzylgruppe, die leichter abgespalten werden sollte, schon nicht funktioniert hatte, wurden keine weiteren Versuche mehr durchgeführt.

Als nächstes wurde die *tert*-Butylschutzgruppe ausgewählt. Earle et al.⁸⁰ haben bei der Synthese von Carbamaten *tert*-Butylamin als Stickstoff-Quelle verwendet und konnten die *tert*-Butylgruppe unter Katalyse von Trifluoressigsäure als Isobuten wieder abspalten. Das Dimethylaminomethylderivat **52** wurde mit Methyljodid in THF und anschließend nach Entfernung des restlichen Methyljodids mit *tert*-Butylamin versetzt. Auch durch Änderung der Reaktionsbedingungen (Äquivalente, Temperatur) und durch Zugabe von Base konnte keine Umsetzung zum Lactam **77** erzielt werden (Abb. 51). Auf die Verwendung von Triphenylmethylamin zur Einführung einer Trityl-Schutzgruppe wurde daraufhin verzichtet, da diese Gruppe bei der Cyclisierung auf Grund ihrer Größe vermutlich die gleichen Probleme verursacht hätte⁸¹.

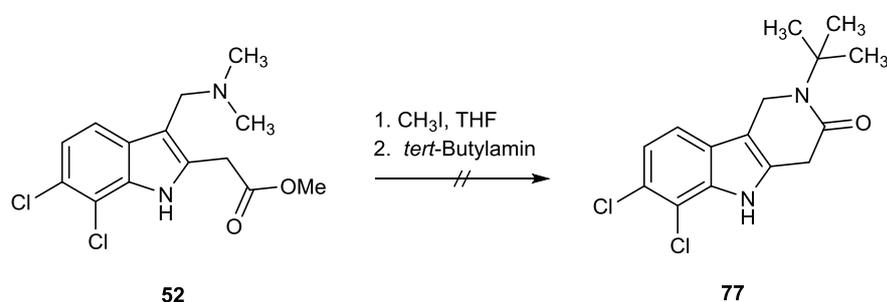


Abb. 51 Versuch zur Cyclisierung des Graminderivats **52** mit *tert*-Butylamin

Als letzte Schutzgruppe für Variante B wurde noch die Einführung einer *N*-Allylgruppe versucht. In der Literatur wird die Allylgruppe häufig als Schutzgruppe für

Lactame eingesetzt. Das Dimethylaminomethylderivat **52** wurde mit Methyljodid in THF und nach Entfernung des restlichen Methyljodids mit Allylamin versetzt. Das *N*-Allylderivat **78** konnte in einer Ausbeute von 30 % gewonnen werden. Im nächsten Schritt wurde an N-5 methyliert. Als Methylierungsreagenz wurde Dimethylsulfat, als Lösungsmittel Acetonitril, als Base Kaliumcarbonat und als Phasentransferkatalysator Benzyltrimethylammoniumchlorid verwendet. Es wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Dubey⁷¹ gearbeitet, die noch hinsichtlich der eingesetzten Äquivalente modifiziert wurde. Das *N*-methylierte Allylderivat **79** konnte in einer Ausbeute von 55 % erhalten werden (Abb. 52).

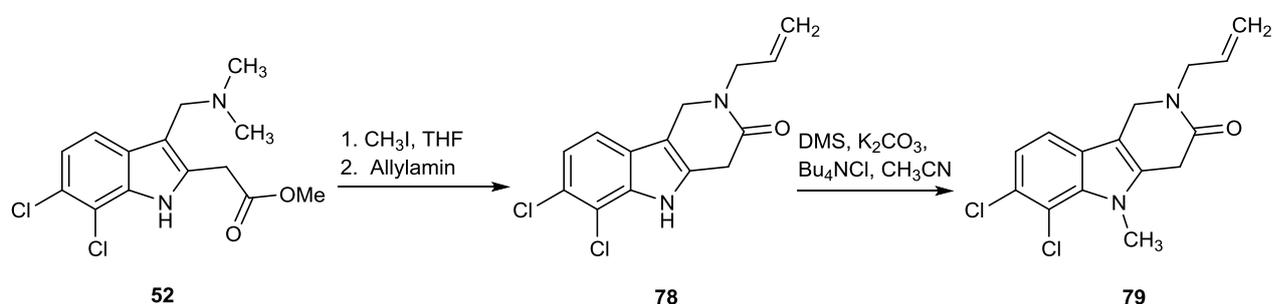


Abb. 52 Synthese der *N*-Allylverbindung **79**

In der Literatur findet man einige Beispiele für die Abspaltung von Allylgruppen von Amiden. Bei den klassischen Methoden wird die Allylgruppe zuerst zur 1-Propenylgruppe isomerisiert und dann oxidativ als Formylrest abgespalten. Alternativ wird das Enamid auch unter Katalyse von Säure hydrolytisch gespalten. Yu et al.⁸² stellen einige dieser Methoden in ihrer Veröffentlichung aus dem Jahre 1998 vor. Es fanden sich auch Veröffentlichungen, bei denen zur Abspaltung der Schutzgruppe Nickel⁸³ oder Osmiumtetroxid⁸⁴ verwendet wurden. Nach diesen beiden Methoden wurde aber auf Grund ihrer Giftigkeit nicht vorgegangen.

Alcaide et al.⁸⁵ verwendeten für die Isomerisierung von *N*-Allyllactamen Grubbs-Carben-Katalysator der 1. Generation und für die oxidative Abspaltung Ruthenium(III)chlorid und Natriumperodat. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde zunächst vorgegangen (Abb. 53). Verbindung **78** wurde unter N₂-Atmosphäre in Toluol gelöst, dann wurde eine Lösung von Grubbs-Carben⁸⁶ in Toluol zugetropft. Es wurde so lange zum Rückfluss erhitzt bis das Edukt komplett umgesetzt war (laut DC-Kontrolle). Auf der DC konnten zwei Flecke beobachtet werden, die knapp über bzw. unter dem Edukt laufen. Auch im GC-Lauf konnten zwei Signale mit identischen

Molekülmassen (m/z 308) beobachtet werden. Beides waren Hinweise dafür, dass die Isomerisierung funktioniert hatte. Dieses (vermutliche) E/Z-Gemisch wurde im nächsten Schritt mit Ruthenium(III)chlorid und Natriumperdoat in Toluol versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte nur das Enamid **80** zurückgewonnen werden. Die Isomerisierung zum Enamid hatte zwar laut GC-MS funktioniert, aber der anschließende Abspaltungsschritt nicht mehr.

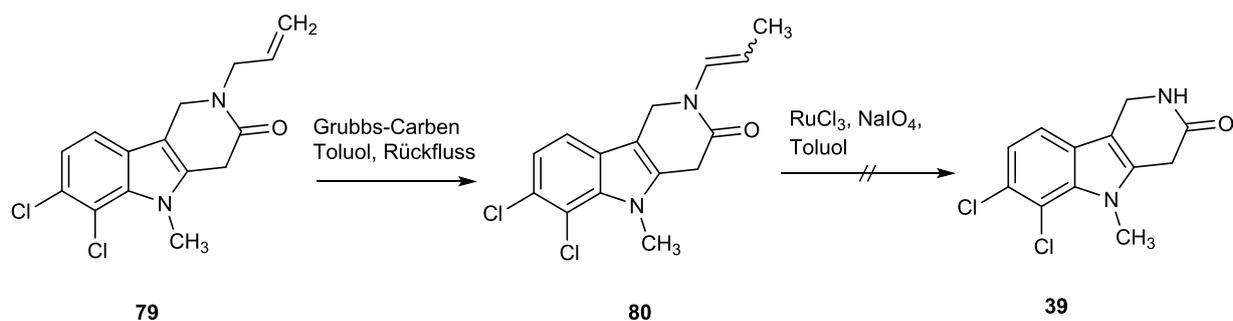


Abb. 53 Versuch zur Abspaltung der Allylgruppe

Kajihara et al.⁸⁷ verwendeten für die Isomerisierung $\text{Ru}(\text{CO})\text{HCl}(\text{PPh}_3)_4$ ⁸⁶ und für die oxidative Abspaltung Ozon. In Anlehnung an diese Veröffentlichung wurde das *N*-Allylderivat **79** unter Argon-Atmosphäre mit dem Ru-Katalysator in Toluol suspendiert und zum Rückfluss erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde in Dichlormethan gelöst und Ozon eingeleitet. Nach reduktiver Aufarbeitung mit Dimethylsulfid, konnte nur noch eine Zersetzung der Probe beobachtet werden. Eine DC-Kontrolle vor dem Einleiten mit Ozon hatte auch schon gezeigt, dass neben dem isomerisierten Produkt noch weitere Verbindungen entstanden waren. Ob die Isomerisierung abgelaufen war, wurde hier nicht mit der GC/MS-Analyse untersucht. In einem letzten Versuch wurden beide Methoden kombiniert, d.h. für die Isomerisierung wurde der Grubbs-Katalysator und für die Abspaltung Ozon verwendet. Hier konnte nur das isomerisierte E/Z-Gemisch **80** zurückgewonnen werden.

Zuletzt wurde dann auch noch der Weg über Variante 1 verfolgt. Nachträglich am Lactam-Stickstoff einföhrbare Schutzgruppen sind laut Literatur: Lactimether, SEM und Triphenylmethylgruppe.

Die SEM-Schutzgruppe ist nicht selektiv für den Lactam-Stickstoff, sondern würde nach Erfahrungen aus unserem Arbeitskreis auch am Indol-Stickstoff eingeföhrt werden. Somit scheidet diese Gruppe aus.

Poschenrieder⁸⁸ und Ritter⁸⁹ hatten eine Methode entwickelt, mit der aus 1-Oxo- β -carbolinen die entsprechenden Lactimether hergestellt werden. In der Literatur finden sich einige Beispiele bei denen Lactimether⁹⁰ als Schutzgruppen für Lactame verwendet werden^{91,92,93,94}. Die Regenerierung der Lactame erfolgte sauer oder basenkatalysiert. In Anlehnung an Ritter und Poschenrieder wurde das 3-Oxo- γ -carbolin **48** mit Triethyloxoniumtetrafluorborat (Meerwein-Salz) in Dimethoxyethan gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Es kam hier zwar zu einer Umsetzung und ein Massenspektrum des Rohproduktes gab auch Hinweise darauf, dass der Lactimether **81** entstanden war, aber die Umsetzung war sehr gering und die Verbindung konnte nicht vollständig aufgereinigt werden (Abb. 54). Eine Charakterisierung der Substanz mit Hilfe der NMR-Spektroskopie konnte somit nicht durchgeführt werden. Ab diesen Punkt hätte die komplette 9-stufige Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **48** wiederholt werden müssen, d.h. ausgehend von 2,3-Dichloranilin (**50**). Dann müsste die Synthese des Lactimethers **81** noch optimiert werden, damit **81** vollständig charakterisiert werden kann. Anschließend müsste noch *N*-methyliert und das Lactam sauer oder basenkatalysiert regeneriert werden. Die Synthese des γ -Carbolin-Isomers von 3,4-Dihydro-Bauerin C würde über 12 Stufen erfolgen. Da die Synthese bis zu **48** in einer Ausbeute von nur 0.7 % erfolgt, wurde darauf verzichtet, die komplette Synthese zu wiederholen.

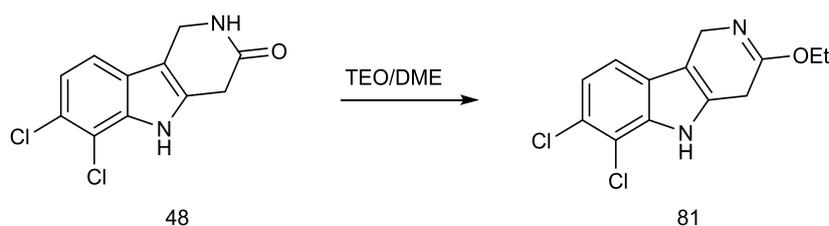


Abb. 54 Darstellung des Lactimethers **81**

Somit ist es zwar gelungen die Allylgruppe einzuführen, aber diese Schutzgruppe konnte nicht mehr abgespalten werden. Da sich in Kapitel 3.1.3. und 3.1.4. gezeigt hatte, dass die gewünschte *N*-Methylierung über den Weg, den ich in meiner Diplomarbeit entwickelt hatte, nicht erzielt werden konnte, musste nun ein neuer Zugang zum 3-Oxo- γ -carbolin gefunden werden.

3.1.5. Synthese ausgehend von 6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol (**61**) über eine Pummerer-Cyclisierung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung

3.1.5.1. Bartoli-Indol-Synthese

Die Synthese von 6,7-Dichlorindol (**63**) über eine Bartoli-Indolsynthese wurde in der Literatur schon öfters beschrieben^{95,96}. Die Bartoli-Synthese⁹⁷ wurde 1989 von G. Bartoli und Kollegen entwickelt. Ortho-substituierte Nitrobenzolderivate werden dabei mit drei Äquivalenten Vinyl-Grignard-Reagenz zu Indolen umgesetzt. Die Reaktion wurde in Anlehnung an Barth et al.⁹⁶ ausgehend von 2,3-Dichlornitrobenzol (**82**) in wasserfreiem THF mit kommerziell erhältlichen Vinylmagnesiumbromid in THF durchgeführt und lieferte das gewünschte Indol **63** in einer Ausbeute von 70 % (Abb. 55).

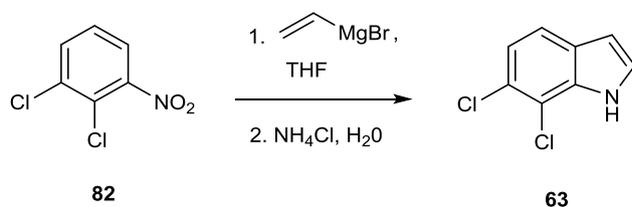


Abb. 55 Synthese von 6,7-Dichlorindol (**63**)

3.1.5.2. *N*-Methylierung von 6,7-Dichlorindol (**63**)

Die Synthese von **61** erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von Huber⁶⁰. 6,7-Dichlorindol (**63**) wurde mit Natriumhydrid in DMF versetzt und 1 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde Methyljodid zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Das methylierte Dichlorindol (**61**) wurde in einer Ausbeute von 69 % erhalten (Abb. 56).

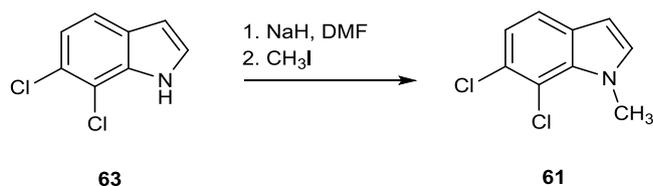


Abb. 56 Darstellung des methylierten Dichlorindols (**61**)

3.1.5.3. Vilsmeier-Haack-Formylierung

In Vorarbeiten aus unserem Arbeitskreis wurde von Huber⁶⁰ eine Synthese entwickelt, in der 6,7-Dichlorindol-2-carbonsäureethylester an C-3 formyliert wurde. Hierbei wurden die Bedingungen einer klassischen Vilsmeier-Haack-Formylierung⁹⁸ gewählt. Bezeichnend ist hier, dass diese Reaktion auch bei den elektronenärmeren Dichlorindolen funktioniert. Aus DMF und Phosphoroxychlorid wird ein Formylierungsreagenz, ein Iminiumsalz, gebildet, welches an Position 3 des Indols angreift. Analog zu dieser Vorschrift wurde das *N*-methylierte Indol **61** in DMF gelöst und eine Lösung von Phosphoroxychlorid in DMF zugetropft. Der Ansatz wurde bei 60 °C gerührt. Der Aldehyd **69** wurde in einer Ausbeute von 62 % gewonnen (Abb. 57).

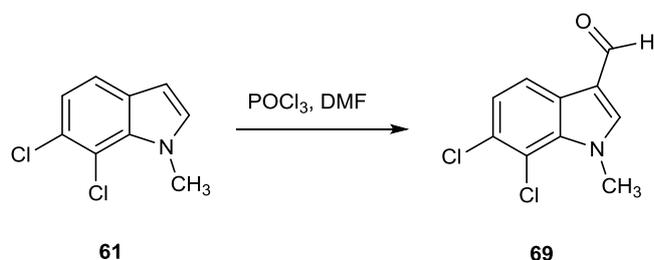


Abb. 57 Synthese des Formyl-Derivats **69**

3.1.5.4. Reduktive Aminierung

In der Literatur finden sich zwei Wege für die reduktive Aminierung von Indolaldehyden zu primären Aminen. Die direkte reduktive Aminierung mit Ammoniak und die reduktive Aminierung über die Stufe des Oxims. Bei den direkten reduktiven Aminierungen sollte beachtet werden, dass die primären Amine mit einem weiteren Äquivalent des Indol-3-aldehyds zum symmetrischen sekundären Amin reagieren können. Bei der Oxim-Route treten diese Nebenreaktionen nicht auf. Zudem entstehen auch je nach Reaktionsbedingungen die entsprechenden Alkohole⁶⁷. Neben den klassischen Methoden finden sich reduktive Aminierungen unter Katalyse von Iridium(III)-Katalysatoren⁹⁹ oder mit Aminoboranen¹⁰⁰. Soledade et al.¹⁰¹ und Rafelson et al.⁶⁸ verfolgen beide den Weg der reduktiven Aminierung über die Stufe des Oxims. Indol-3-carbaldehyde wurden hier mit Hydroxylamin in das entsprechende Oxim umgewandelt und mit einem Reduktionsmittel reduziert. In

Anlehnung an die Vorschrift von Soledade¹⁰¹ wurde der Aldehyd **69** in Ethanol gelöst und dann wurde eine Lösung von Hydroxylamin und Natriumcarbonat zugetropft. Der Ansatz wurde solange zum Rückfluss erhitzt, bis das Edukt vollständig umgesetzt war (DC-Kontrolle). Eine GC/MS-Analyse zeigte, dass das entsprechende Oxim entstanden war. Im nächsten Schritt wurde reduziert. Das Oxim **83** wurde unter Eiskühlung mit Natriumcyanoborhydrid, Ammoniumacetat und Titan(III)chlorid in Methanol gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte nur das Oxim **83** zurückgewonnen werden. Als nächstes wurde nach der Vorschrift von Rafelson⁶⁸ vorgegangen. Dieser verfolgte auch die Variante der reduktiven Aminierung über die Stufe des Oxims, verwendete aber ein anderes Reduktionsmittel. Das Oxim **83**, welches nach Soledade¹⁰¹ synthetisiert wurde, wurde unter N₂-Atmosphäre in THF gelöst und bei - 40 °C mit einer Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in THF versetzt. Auch hier kam es zu keiner Umsetzung und es konnte nur das Oxim **83** wieder zurückgewonnen werden (Abb. 58).

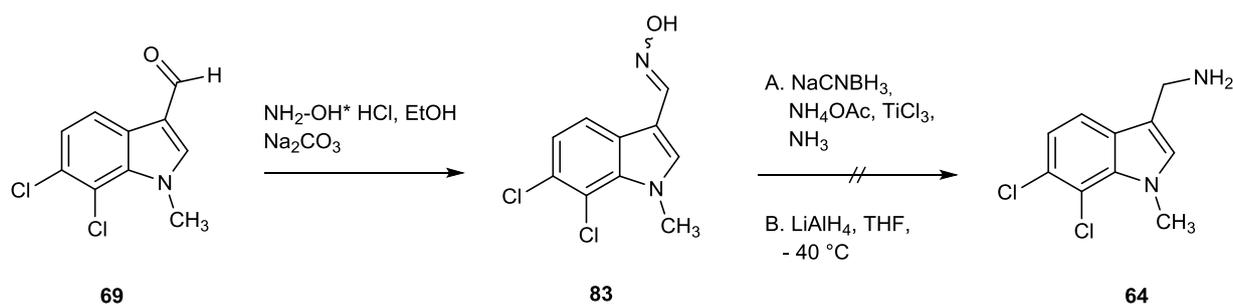


Abb. 58 Versuch zur reduktiven Aminierung des Aldehyds **69** über das Oxim **83**

Dangerfield et al.¹⁰² haben 2010 eine Methode für die direkte reduktive Aminierung von maskierten Aldehyden (Hemiacetale) und Aldehyden entwickelt. In Analogie zu dieser Vorschrift wurde der Aldehyd **69** und Natriumcyanoborhydrid in absolutem Ethanol (gesättigt mit Ammoniumacetat) gelöst. Dann wurde konzentrierte Ammoniaklösung zugegeben und zum Rückfluss erhitzt. Es kam zu keiner Umsetzung zum gewünschten Produkt. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden.

Als nächstes wurde eine Methode für die direkte Aminierung nach Feng et al.¹⁰³ verwendet, die ich noch modifiziert habe. In dieser Veröffentlichung wurden Derivate des Benzaldehyds zu den entsprechenden Benzylaminen reduktiv aminiert. Der Aldehyd **69** und Ammoniumacetat (Modifikation) wurden in Methanol gelöst. Dann wurde konzentrierte Ammoniaklösung und Natriumborhydrid zugegeben. Es wurde

so lange gerührt, bis der Aldehyd nahezu vollständig umgesetzt war (DC-Kontrolle). Das Amin **64** konnte in einer Ausbeute von 93 % gewonnen werden (Abb. 59). Es zeigte sich somit, dass sich das Amin **64** nur über eine direkte reduktive Aminierung in sehr guter Ausbeute herstellen lässt.

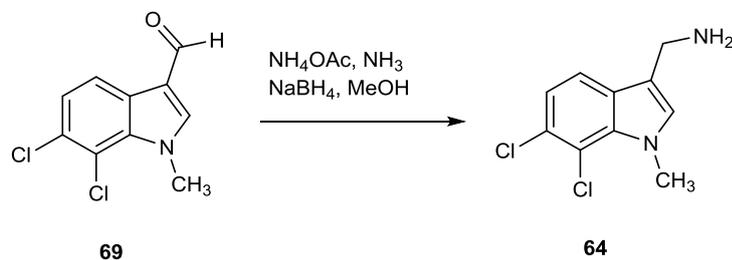
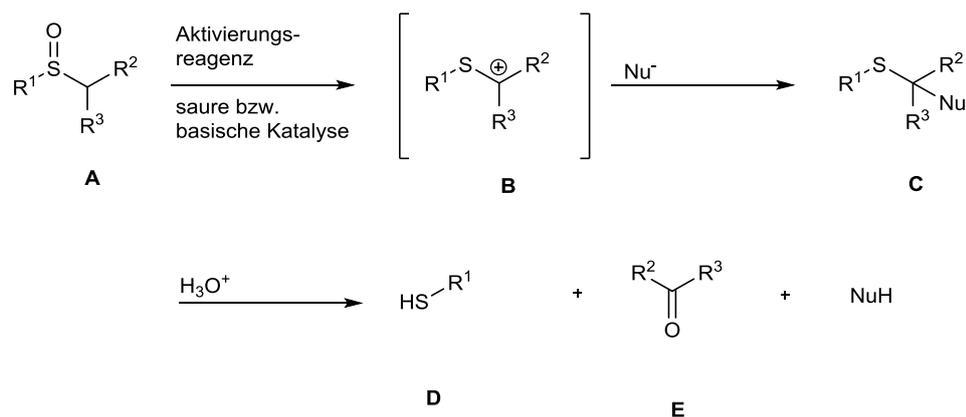


Abb. 59 Reduktive Aminierung des Aldehyds **69**

3.1.5.5. Synthese der Vorstufe für die Pummerer-artige Cyclisierung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung

In diesem Schritt sollte die für die darauffolgende Pummerer-Reaktion bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung wichtige Phenylthioacetylgruppe eingeführt werden, um im nächsten Schritt den Ring A aufbauen zu können.

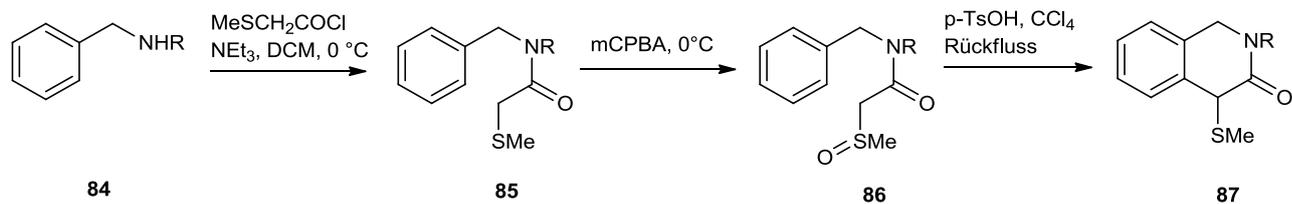
Mit Hilfe der Pummerer-Umlagerung können α -Acyloxysulfide hergestellt werden, die synthetische Äquivalente von Carbonylverbindungen darstellen. Somit können zum Bsp. Indolylacetaldehyde hergestellt werden, die auf anderem Wege auf Grund ihrer Instabilität nicht so leicht zugänglich sind. Substrate dieser Reaktion sind Sulfoxide¹⁰⁴. Entscheidend ist hier, dass die Verbindung am α -C-Atom ein Proton besitzt. Im ersten Schritt wird das Sulfoxid (**A**) zu einem Acyloxysulfonium-Salz acyliert. Typische Aktivierungsreagenzien sind hier Acetanhydrid und Trifluoressigsäureanhydrid. Als gängige Co-Katalysatoren werden Essigsäure, Toluolsulfonsäure oder Trifluoressigsäure eingesetzt. Durch Abgabe eines Protons bildet sich ein Acylsulfonium-Ylid. Nach Spaltung der S-O-Bindung bildet sich ein S-substituiertes Carbokation (**B**), an dem ein Nukleophil (zum Bsp. ein Carboxylat) angreifen kann. Anschließend kommt es durch säurekatalysierte Hydrolyse zur Abspaltung eines Thiols (**D**) und die Carbonylverbindung (**E**) wird freigesetzt (Abb. 60).

Abb. 60 Pummerer-Umlagerung¹⁰⁴

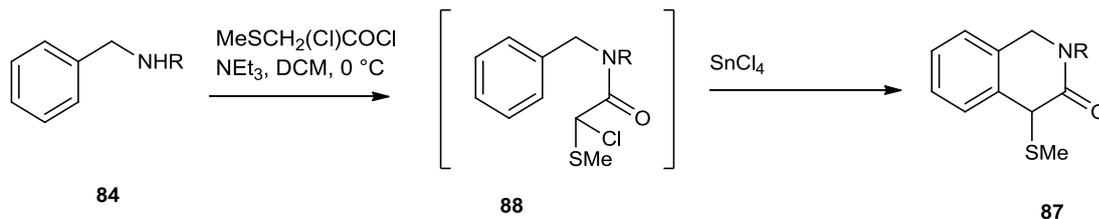
Über eine Pummerer-Umlagerung konnten schon einige Heterocyclen aufgebaut^{105,106,107,108,109,110} und einige Naturstoffe synthetisiert werden, indem ein elektronenreicher Aromat im Molekül als Nucleophil dient. Kennedy et al.¹¹¹ und Tamura et al.⁶⁹ haben die Pummerer-Umlagerung auf die Synthese von Vorstufen von tetracyclischen Acridinen bzw. auf die Cyclisierung zu 3-Oxo-1,2,3,4-tetrahydroisochinolinen ausgehend von Benzylaminderivaten (R= H oder Me) angewendet. Zusätzlich haben beide diese Synthesen auch über eine Friedel-Crafts-artige Cyclisierung durchgeführt. Im Folgenden werden diese Synthesestrategien am Bsp. der Synthese von 3-Oxo-1,2,3,4-tetrahydroisochinolinen nach Tamura et al.⁶⁹ dargelegt (Abb. 61). Bei der Cyclisierung über eine Pummerer-Umlagerung wird das Benzylaminderivat **84** mit 2-(Methylthio)acetylchlorid zum Methylthioacetamid **85** umgesetzt. Das Sulfid **85** wird mit meta-Chlorperbenzoesäure in das entsprechende Sulfoxid **86** überführt, welches dann unter Säurekatalyse zum Lactam **87** cyclisiert wird. Das intermediär gebildete Carbeniumion (Vergleich B in Abb. 60) greift hierbei elektrophil am Aromaten an.

Bei der alternativen Friedel-Crafts-artigen Cyclisierung wird im ersten Schritt ein Benzylaminderivat (R = H oder Me) **84** mit 2-Chlor-2-(methylthio)acetylchlorid zum entsprechenden α -Chlor- α -methylthioacetamid (**88**) umgesetzt. Im nächsten Schritt wird unter Katalyse der Lewissäure SnCl₄ zu **87** cyclisiert. In beiden Fällen lässt sich im finalen Schritt die Thioethergruppe reaktiv entfernen (Verbindung **89**).

Pummerer-Umlagerung/Cyclisierung:



Friedel-Crafts-Alkylierung:



Entschwefelung:

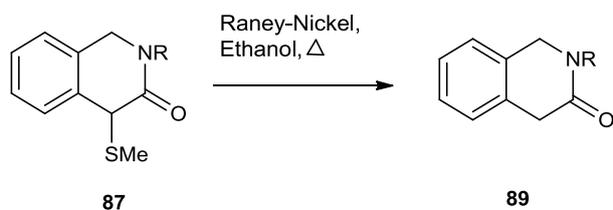


Abb. 61 Pummerer-Umlagerung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung nach Tamura et al.⁶⁹ und Entschwefelung (R = Me oder H)

Diese beiden Varianten sollten nun auf meine Synthese übertragen werden. Anstelle des 2-(Methylthio)acetylchlorids wurde hier das kommerziell erhältliche 2-(Phenylthio)acetylchlorid verwendet. Das primäre Amin **64** wurde in Dichlormethan gelöst und Triethylamin wurde zugegeben. Bei 0 °C wurde eine Lösung von 2-(Phenylthio)acetylchlorid in Dichlormethan zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Das gewünschte Amid **90** wurde in einer Ausbeute von 42 % erhalten (Abb. 62).

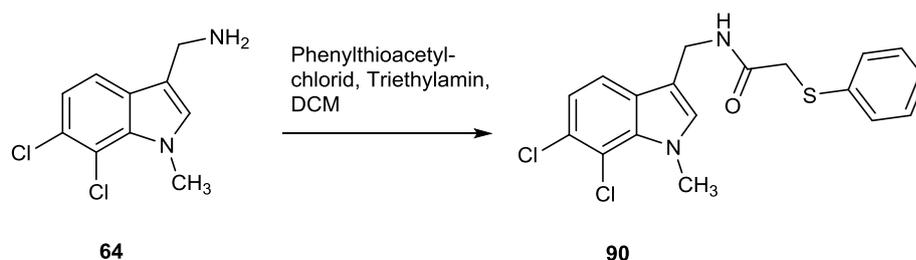


Abb. 62 Darstellung des Amids **90**

3.1.5.6. Versuch zur Friedel-Crafts-artigen Cyclisierung

In Analogie zu Kennedy¹¹¹ wurde das Amid **90** in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und dann *N*-Chlorsuccinimid zugegeben. Es wurde bei Raumtemperatur gerührt, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Dabei sollte die Position neben der Carbonylverbindung chloriert werden (Verbindung **91**). Im Anschluss wurde der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und Zinn(IV)-chlorid zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Mit Hilfe der NMR- und Massenspektroskopie konnte die entstandene Verbindung nicht eindeutig identifiziert werden. Problematisch war auch, dass die Probe instabil war und sich langsam zersetzte. Deswegen konnte kein NMR-Spektrum aufgenommen werden, bei dem man die Signale eindeutig zuordnen hätte können (Abb. 63).

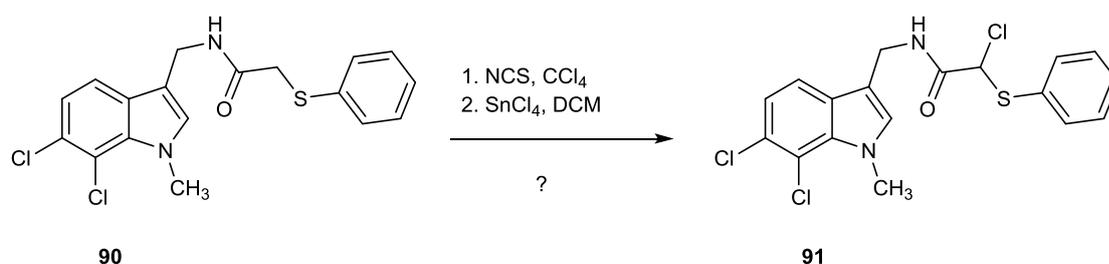


Abb. 63 Versuch zur Cyclisierung des Amids **90** nach Friedel-Crafts

Tobias Hauke¹¹² hatte in seiner Masterarbeit ein sehr ähnliches Problem. Seine Aufgabe war es, das entsprechende nicht chlorierte Analogon auf diesem Weg herzustellen (Verbindung **92** Abb. 64). Da sich seine Verbindung nicht so schnell zersetzte, konnte er mit Hilfe der NMR- und Massenspektroskopie eindeutig nachweisen, dass die Chlorierung an Position 2 des Indolrings stattgefunden hat und nicht in der Seitenkette (Verbindung **93**). Vermutlich ist bei meiner Synthese auch an dieser Position chloriert worden, so dass der Versuch zur anschließenden Friedel-Crafts-artigen Cyclisierung aussichtslos war.

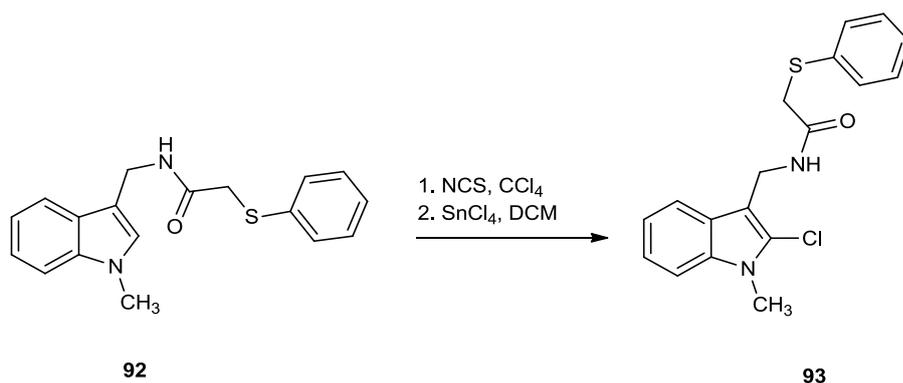


Abb. 64 Darstellung von **93** nach Hauke

Als nächstes hatte Hauke in Anlehnung an Kennedy¹¹¹ versucht, aus 2-Chlor-2-(phenylthio)acetylchlorid und 3-(Aminomethyl)indol das entsprechende Amid zu bilden und mit Zinn(IV)-chlorid zu cyclisieren. Es konnte aber hierbei keine Umsetzung zum Amid erzielt werden. Aus diesem Grunde habe ich auf die entsprechenden Versuche verzichtet.

3.1.5.7. Versuch zur Cyclisierung über eine Pummerer-artige Reaktion

Als erstes musste das Sulfid **90** in das entsprechende Sulfoxid **94** umgesetzt werden. Es wurde auch hier in Anlehnung an Tamura et al.⁶⁹ gearbeitet. Das Sulfid **90** wurde bei 0 °C in Dichlormethan gelöst und innerhalb von 10 min wurde meta-Chlorperbenzoesäure zugegeben. Nach wässriger Aufarbeitung wurde der Ansatz im Vakuum eingeeengt. In diesem Schritt sollte das Sulfoxid hergestellt werden. Im Anschluss wurde in Schwefelsäure und Essigsäure gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Es kam hier zwar zu einer Umsetzung, aber auch hier konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden, ob das cyclisierte Derivat **65** entstanden ist, da sich die Probe in Lösung sehr schnell zersetzte (Abb. 65). Hauke konnte bei seiner Verbindung nachweisen, dass es zur Spaltung des Amids gekommen ist. Auf Grund der Ähnlichkeit unserer Strukturen liegt es nahe, dass dies auch bei meiner Verbindung passiert ist. Es könnte natürlich auch sein, dass der Schritt der Sulfoxidbildung bei der Eintopf-Synthese nicht funktioniert hat. Hauke hatte in seiner Masterarbeit zur Cyclisierung noch andere Säuren verwendet und auch andere Methoden für die Bildung des Sulfoxids. In keinem der Fälle konnte er eine Umsetzung zum

cyclisierten unchlorierten Analogon von **65** erzielen. Aus diesem Grund habe ich nach dieser Synthese keine weiteren Syntheseveruche mehr durchgeführt.

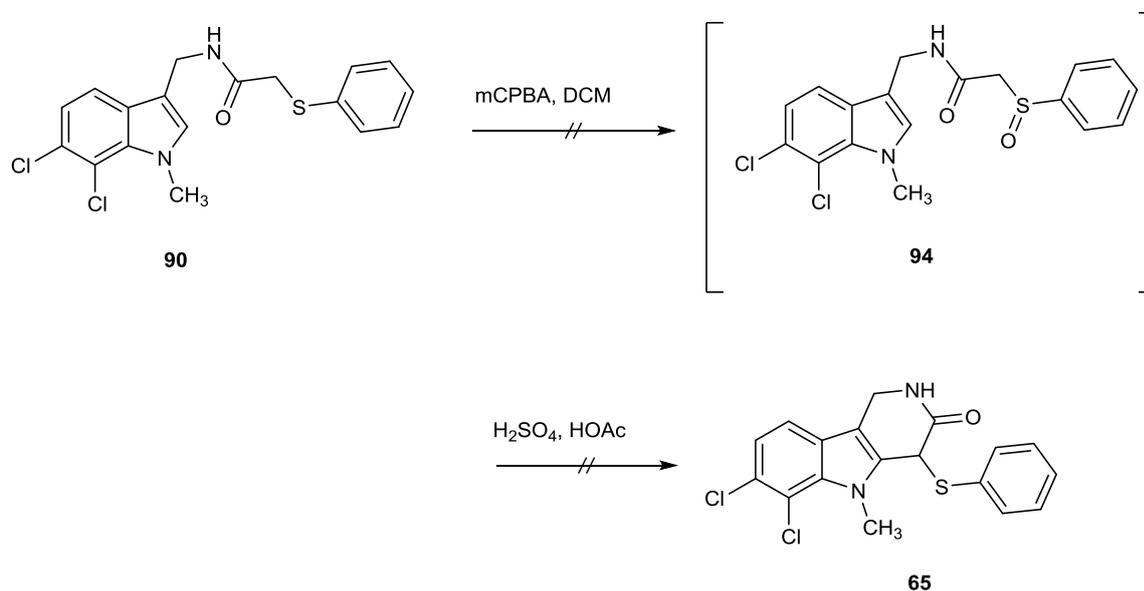
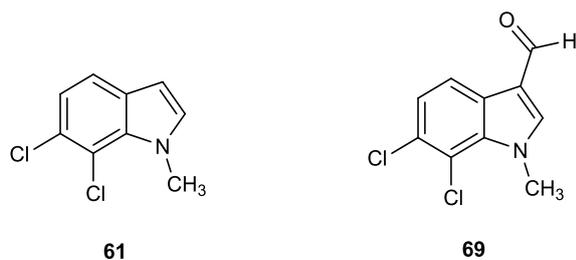


Abb. 65 Versuch zur Synthese von **65** über eine Pummerer-artige Cyclisierung

Ziel war es nun, einen anderen Zugang für die Synthese des 3-Oxo-γ-carbolins zu finden.

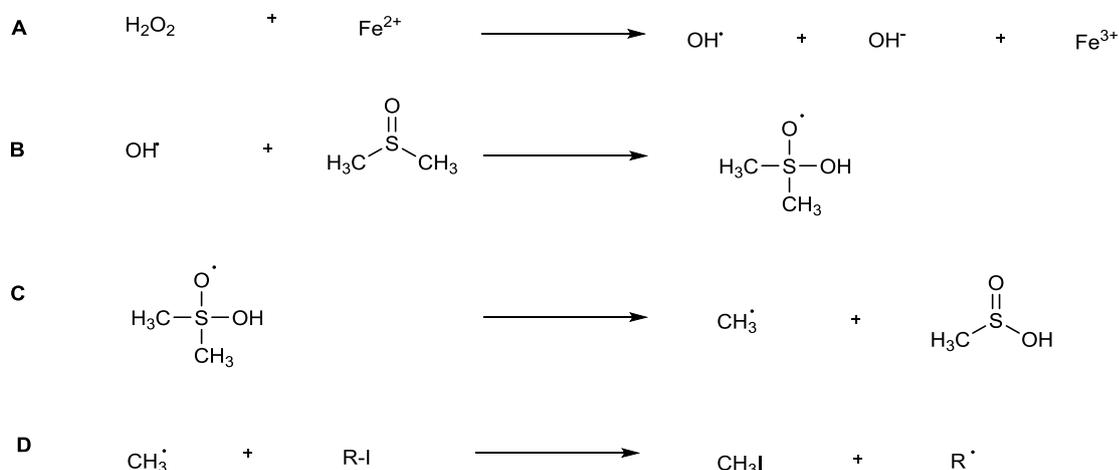
3.1.6. Synthese des γ-Carbolin-Isomers **39** ausgehend von 6,7-Dichlor-1-methylindol (**61**) über eine Minisci-artige Reaktion

Bei Wollein⁶¹ hatte sich schon herausgestellt, dass sich die Ethoxycarbonylmethylfunktion an Position 2 des Indols nur in sehr schlechten Ausbeuten einführen lässt. Ziel war es nun, die Ausbeute dieser Reaktion zu optimieren oder, sollte dies nicht möglich sein, die Essigesterfunktion möglichst spät in der Synthese des γ-Carbolin-Isomers von 3,4-Dihydro-Bauerin C einzuführen. Die Funktionalisierung an C-2 sollte somit entweder beim methylierten Indolderivat **61** oder Aldehyd **69** durchgeführt werden (Abb. 66). Die Synthesen von **61** und **69** wurden schon in Kapitel 3.1.5. beschrieben.

Abb. 66 Methylindol **61** und Aldehyd **69**

3.1.6.1. Versuch zur Funktionalisierung an C-2 des Aldehyds **69**

Baciocchi et al.⁷⁰ haben 1992 eine Methode entwickelt, mit der sie Pyrrole, Indole und Furane radikalisch an Position 2 funktionalisieren können. Das Radikal wird aus Wasserstoffperoxid, Eisen(II)-sulfat und dem entsprechendem Alkyljodid in DMSO gebildet. Im nächsten Schritt greift das Radikal den Heteroaromaten an und es erfolgt eine homolytische Substitution an Position 2. Um einen zusätzlichen an C-3 stattfindenden Angriff des Radikals zu verhindern, wird der Heteroaromat im Überschuss eingesetzt (Abb. 67).

Abb. 67 Mechanismus der Radikalbildung nach Baciocchi⁷⁰

In Anlehnung an diese Vorschrift wurde zunächst vorgegangen. Anstelle von Iodessigsäuremethylester wurde der kommerziell erhältliche Iodessigsäureethylester verwendet. Der Aldehyd **69** und Iodessigsäureethylester wurden in DMSO vorgelegt. Unter Eiskühlung wurde Eisen(II)sulfat-Heptahydrat und Wasserstoffperoxid-Lösung

zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Unter diesen Bedingungen kam es im Gegensatz zur Synthese der analogen nicht chlorierten Verbindung durch Wollein⁶¹ zu keiner Umsetzung. Erst durch Änderung der Äquivalente, der Temperatur und durch zweimalige Zugabe der Radikalbildner (mehrmalige Zugabe hat keine bessere Umsetzung zur Folge), kam es zu einer sehr geringen Umsetzung (DC), aber es konnte nicht nachgewiesen werden, ob der Essigester **71** entstanden war (Abb. 68).

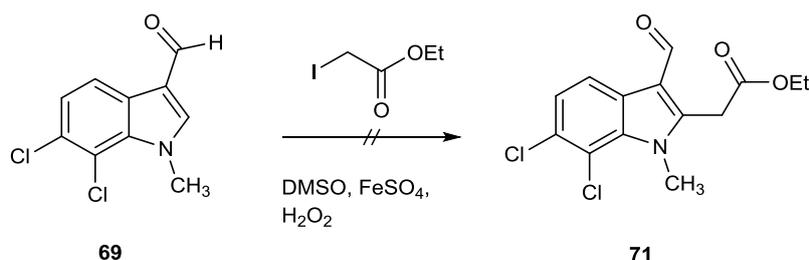


Abb. 68 Versuch zur Synthese des Essigesters **71**

3.1.6.2. Funktionalisierung an C-2 des Methylindols **61**

Da die Funktionalisierung an C-2 des Indol-3-aldehydes **69** nicht funktioniert hatte, wurde als nächstes versucht, das an C-3 unsubstituierte Indol **61** an C-2 zu funktionalisieren (Abb. 69). Hier zeigte sich auch, dass die Methode von Wollein⁶¹ und Baciocchi⁷⁰ modifiziert werden musste. Die Äquivalente wurden soweit geändert, dass vom Methylindol **61** 1, von Iodessigsäureethylester 1.2, von Eisen(II)sulfat-Heptahydrat und Wasserstoffperoxid jeweils 2 Äquivalente eingesetzt wurden. Zur Steigerung der Ausbeute wurde die Temperatur auch noch auf 60 °C erhöht. Die einzelnen Versuche hatten auch gezeigt, dass durch eine 2. Zugabe der Radikalbildner mit jeweils 1 Äquivalent die Ausbeute noch gesteigert werden kann. Mehrmalige Zugabe bewirkte keine weitere Steigerung der Ausbeute. Der Essigester **70** wurde in einer Ausbeute von 26 % gewonnen. Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie wurde eindeutig nachgewiesen, dass das Hauptprodukt an C-2 funktionalisiert ist. Als Nebenprodukt war vermutlich noch das an C-3 substituierte Derivat entstanden. Im Datensatz der GC/MS-Analyse wurde noch ein weiteres Signal mit m/z 285 entdeckt, welches aber zu einem sehr geringen Prozentsatz entstanden war (Abb. 70 und Abb. 71). Das Massenspektrum zeigte dasselbe Fragmentierungsmuster wie bei Verbindung **70** (m/z 285 \rightarrow 212 unter Abspaltung eines

Ameisensäureethylesterrestes). Mit Hilfe der FSC konnte dieses Nebenprodukt abgetrennt werden.

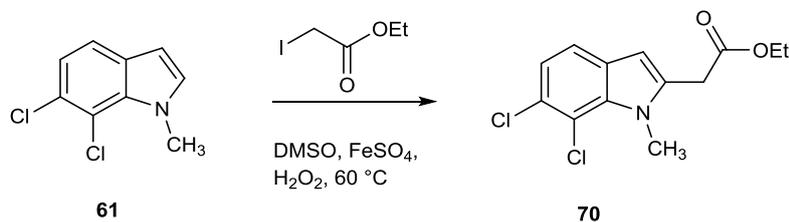


Abb. 69 Synthese des Essigesters **70**

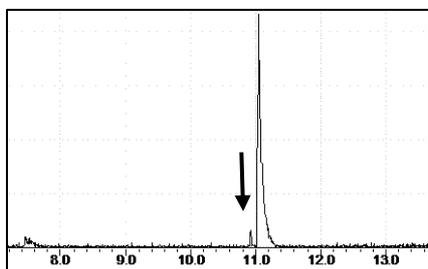


Abb. 70 GC-Analyse von **70**, der Pfeil zeigt den Peak des Nebenproduktes an

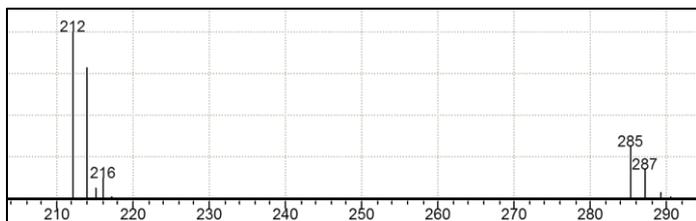
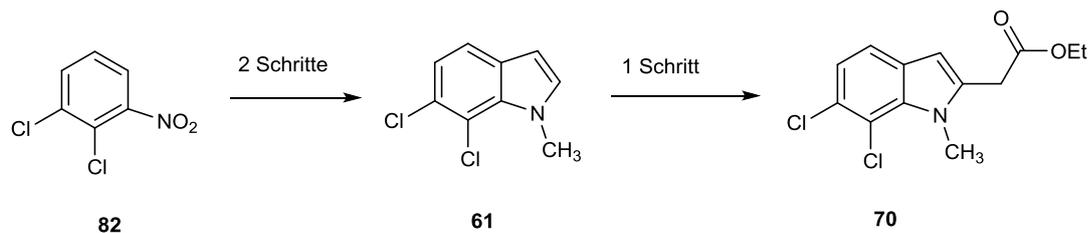


Abb. 71 MS-Analyse des Nebenproduktes

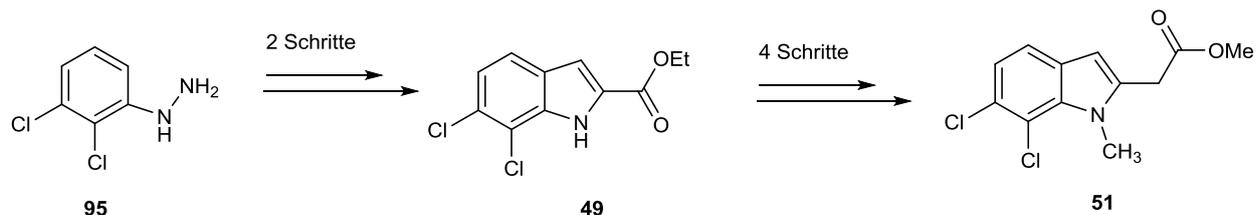
Durch Anwendung dieser Methode konnte ich im Vergleich zu meiner Diplomarbeit einen deutlich eleganteren Weg für die Funktionalisierung an C-2 entwickeln. Der Essigester **70** konnte über 3 Stufen ausgehend von 2,3-Dichlornitrobenzol (**82**) in einer Gesamtausbeute von 13 % hergestellt werden. In meiner Diplomarbeit hatte ich die Methoxycarbonylmethylverbindung **51** über 6 Schritte ausgehend von 2,3-Dichlorphenylhydrazin (**95**) in einer Gesamtausbeute von nur 9 % erhalten (Abb. 72).

Doktorarbeit



Gesamtausbeute: 13 %

Diplomarbeit:



Gesamtausbeute: 9 %

Abb. 72 Vergleich Doktorarbeit mit Diplomarbeit

3.1.6.3 Formylierung der Ethoxycarbonylmethylverbindung 70

Bei der Formylierung von **70** wurde die selbe Methode wie bei der Synthese des Aldehyds **69** angewandt. Der Essigester **70** wurde in DMF gelöst, zu dieser Lösung wurde bei 0 °C eine Lösung von Phosphoroxychlorid in DMF gegeben und dann bei 60 °C gerührt. Der Aldehyd **71** wurde in einer Ausbeute von 45 % gewonnen (Abb. 73).

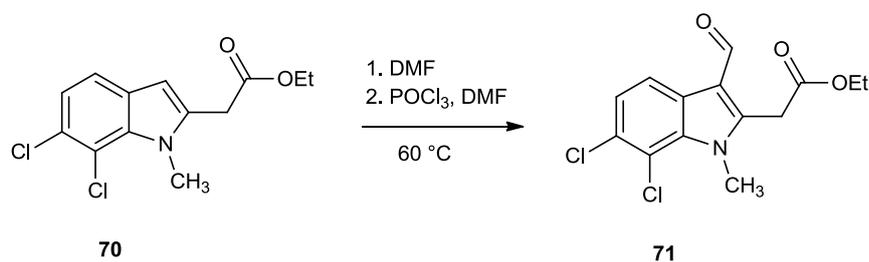


Abb. 73 Synthese des Aldehyds 71

3.1.6.3. Versuch zur Synthese des γ -Carbolin-Isomers von 3,4-Dihydro-Bauerin C (39)

Die reduktive Aminierung erfolgte in Anlehnung an die reduktive Aminierung des primären Amins **64** (3.1.5.4.). Der Aldehyd **71** und Ammoniumacetat wurden in Methanol gelöst. Dann wurde konzentrierte Ammoniaklösung und Natriumborhydrid zugegeben. Es wurde solange gerührt, bis der Aldehyd nahezu vollständig umgesetzt war (DC-Kontrolle). Eine Charakterisierung der entstandenen Verbindung mit Hilfe der NMR- und Massenspektroskopie zeigte jedoch, dass es nicht zu der erwarteten spontanen Cyclisierung gekommen war. Die Synthese war auf der Stufe des primären Amins **96** stehen geblieben. **96** konnte in einer Ausbeute von 25 % erhalten werden (Abb. 74).

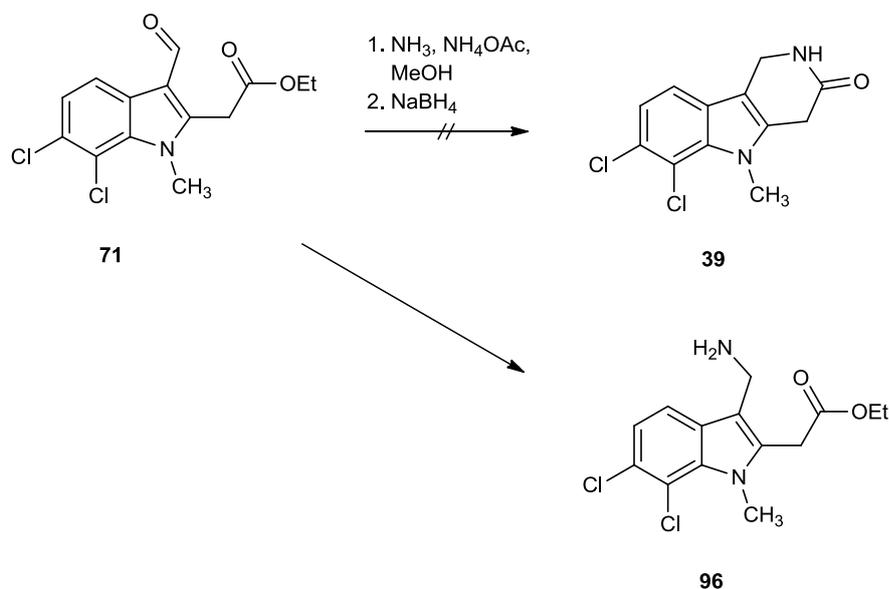


Abb. 74 Angestrebte Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **39**

Weitere Versuche, den Ringschluss unter Erhöhung der Reaktionstemperatur zu erzielen, führten nicht zum Erfolg und es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. Als Lösungsmittel wurden Dioxan und Toluol verwendet. Auch ein Versuch zur mikrowellen-unterstützten Cyclisierung mit Dioxan als Lösungsmittel führte nicht zum Erfolg. Ein weiterer Versuch den Ringschluss unter Zugabe von Base zu erzielen, führte zwar zu einer Umsetzung, aber laut GC/MS-Analyse und NMR-Spektroskopie war **39** nicht entstanden, was genau entstanden war, wurde nicht weiter verfolgt. Es wurde in Anlehnung an Furukawa et al.¹¹³ mit 6 N Natronlauge gearbeitet.

Als nächstes wurde versucht, den Ringschluss zum Lactam nach Weinreb et al.¹¹⁴ durchzuführen. Prinzip des Verfahrens ist die Reaktion von Trimethylaluminium mit Ammoniak, primären Aminen und sekundären Aminen zu sehr reaktiven Dimethylaluminiumamiden, die schnell mit verschiedenen Estern zu entsprechenden Amiden reagieren (Abb. 75). In der Literatur^{115,116} wird beschrieben, dass diese Methode auch zum Aufbau von Lactamen angewendet werden kann.

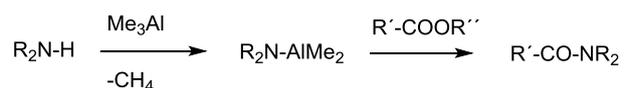


Abb. 75 Prinzip der Weinreb-Amidsynthese¹¹⁵

Es wurde in Anlehnung an Weinreb et al.¹¹⁴ und Toyooka et al.¹¹⁶ gearbeitet. Zuerst wurde das primäre Amin **96** hergestellt und ohne weitere Aufreinigung unter N₂-Atmosphäre in Toluol gelöst. Nach Zugabe von Trimethylaluminium (2 M in Hexan) wurde zum Rückfluss erhitzt. Eine GC/MS-Analyse des Rohproduktes zeigte, dass die Cyclisierung zum 3-Oxo-γ-carbolin **39** nicht stattgefunden hat. Der Ansatz konnte für eine vollständige Charakterisierung des Nebenproduktes nicht mehr wiederholt werden, da die komplette Synthese ausgehend von 2,3-Dichlornitrobenzol durchgeführt werden müsste und im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr möglich war.

3.2. Synthese eines Dichlor-Analogen von Annomontin

3.2.1. Syntheseplanung

Die Synthese von Dichlorannomontin (**40**) sollte in Anlehnung an die Synthese von Annomontin (**30**) (Abb. 76) von Hildebrand und Bracher⁶⁶ über die zentrale Zwischenstufe 1-Acetyl-7,8-dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**56**) erfolgen, da aus dieser Verbindung analog zu 1-Acetyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**54**) durch Kondensation mit Bredericks Reagenz (**97**) zum Canthin-4-on und anschließende Ringtransformation mit Guanidiniumcarbonat in einem Arbeitsgang **40** hergestellt werden könnte (Abb. 76). Für die Darstellung von 1-Acyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indolen wurden in unserem Arbeitskreis schon einige Methoden entwickelt. Dazu gehören die Stille-Kupplung eines stannylierten Enolethers mit 1-Brom-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol⁶⁶, die Umsetzung von 1,9-dimetallierten β -Carbolinen mit Elektrophilen¹¹⁷, die homolytische Acylierung von Norharman (**53**) (Minisci-Reaktion)^{118,119} und die Grignard-Addition an 1-Cyano-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol¹²⁰. Auf Grund der besseren Zugänglichkeit der Edukte wurde die Syntheseroute über die Pd-katalysierte Kupplungsreaktion zum 1-Acetyl-7,8-dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**56**) gewählt.

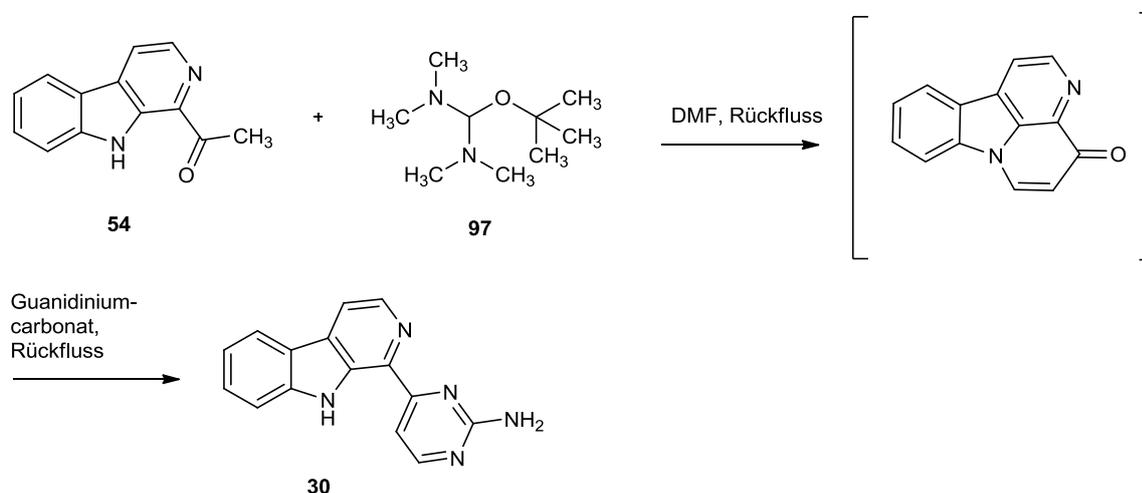


Abb. 76 Synthese von Annomontin (**30**) über 1-Acetyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**54**)⁶⁶

Als Edukt sollte dabei das 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolin **98**, das bereits von Pohl⁵⁷ ausgehend von 2,3-Dichloranilin (**50**) in einer Japp-Klingemann-Reaktion synthetisiert wurde, verwendet werden. Im nächsten Schritt sollte in Anlehnung an die Arbeiten von Pohl, der für die Dehydrierung des *N*-Methylderivates von **98** bereits eine Methode entwickelt hat, mit DDQ zum 1-Oxo- β -carbolin **104** dehydriert werden.

Der Bromierungsschritt sollte in Anlehnung an eine Vorschrift von Hildebrand¹¹⁷ mit Phosphoroxobromid in Anisol erfolgen (Verbindung **99**). Die darauffolgende Acetylierung sollte analog zur Synthese von Annomontin⁶⁶ (**30**) über eine Stille-Kupplung erfolgen. Dabei sollte das 1-Brom- β -carbolin (**99**) mit Tributyl(1-ethoxyvinyl)stannan unter Pd-Katalyse und anschließender saurer Hydrolyse des gebildeten Enoethers in die Acetylverbindung **56** überführt werden. Die anschließende Umsetzung mit Brederecks Reagenz (**97**) und Cyclisierung zu **40** sollte auch in Anlehnung an die Synthese von Annomontin (**30**) erfolgen (Abb. 77).

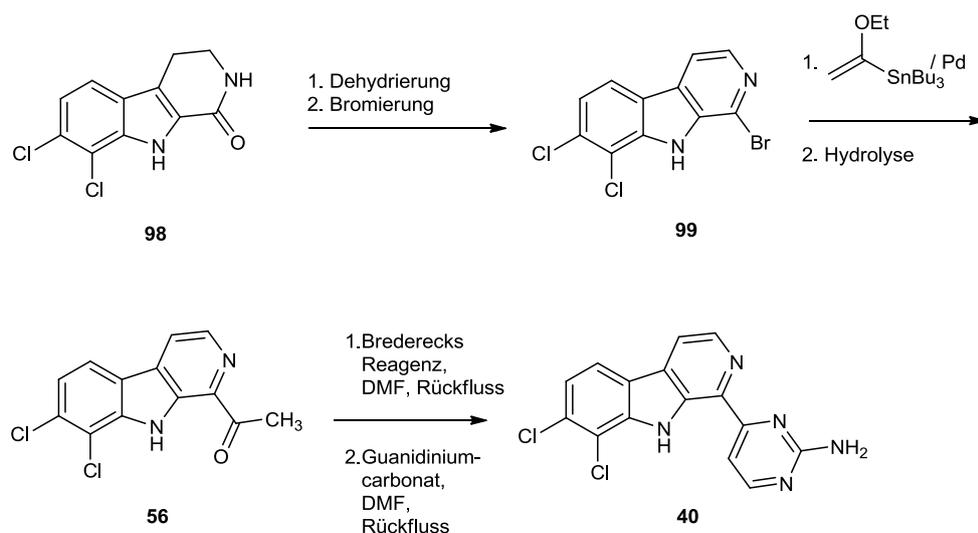


Abb. 77 Geplante Synthese von Dichlorannomontin (**40**)

3.2.2. Darstellung des dichlorierten 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolins (**98**)

Die Darstellung von **98** ist in unserem Arbeitskreis von Pohl⁵⁷ schon durchgeführt worden, bei der Totalsynthese von Bauerin C (**31**)⁵⁷. Das 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolin **98** wurde dabei ausgehend von 2,3-Dichloranilin (**50**) und verseiftem 3-Ethoxycarbonyl-2-piperidon (**100**) in einer Japp-Klingemann Reaktion¹²¹ hergestellt. Eine andere Methode für die Synthese von Tetrahydro-1-oxo- β -carbolinen, die in unserem Arbeitskreis auch Anwendung gefunden hat, konnte hier leider nicht eingesetzt werden, weil die entsprechenden chlorierten Tryptamine kommerziell nicht verfügbar sind^{122,123}. Die hier verwendete Variante der Japp-Klingemann-Reaktion wurde von Shapiro und Abromowitch^{124,125} 1956 entwickelt und in unserem Arbeitskreis schon mehrmals zur Darstellung von an Ring C substituierten Tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-onen eingesetzt^{58,59}. Die Japp-Klingemann-

Reaktion ist neben der Fischer-Indolsynthese die bekannteste und meist eingesetzte Methode zur Herstellung von Indolen. Ein Vorteil dieser Methode ist im vorliegenden Fall der Einsatz von Anilinen, die in unterschiedlichsten Substitutionsmustern kommerziell erhältlich sind. Damit ist diese Methode breiter anwendbar als die Synthese über die entsprechenden Tryptamine, die z.T. kommerziell nicht erhältlich oder aber sehr teuer sind. Zu beachten bei dieser Reaktion ist die Einhaltung der Temperatur und des pH-Wertes. Im ersten Schritt wurde 2,3-Dichloranilin (**50**) in salzsaurer Lösung unter Eiskühlung mit Natriumnitrit diazotiert. Die entstehenden Diazoniumionen **101** sind instabil und um eine Phenolverkochung zu vermeiden, muss die Temperatur unter 5 °C gehalten werden. Gleichzeitig wurde 3-Ethoxycarbonyl-2-piperidon mit Hilfe von KOH zum Carboxylat **100** verseift und langsam zur Lösung des diazotierten 2,3-Dichloranilins **101** gegeben. Dabei greift das Aryldiazoniumion elektrophil an das auch an C-3 deprotonierte Lactam an und unter Decarboxylierung kommt es zu Bildung des Hydrazons **102**. Bei diesem Schritt war der pH-Wert des Ansatzes entscheidend. Er sollte unter 4 liegen, weil es sonst bei höheren pH-Werten zu Polymerisationen kommen kann, die zu teerartigen Ablagerungen führen. Im nächsten Schritt wurde das chlorierte Phenylhydrazon **102** mit wasserfreier Ameisensäure in einer Fischer-Cyclisierung¹²⁶ zu **98** umgesetzt. Mittels Umkristallisation aus Aceton wurde das 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolin **98** in einer Ausbeute von 55 % erhalten (Abb. 78). Ein alternativer Weg zum Ringschluss wäre die Umsetzung mit Polyphosphorsäure unter mikrowellengestützten Bedingungen, mit dem Huber auch gute Ausbeuten erzielen konnte¹²⁷.

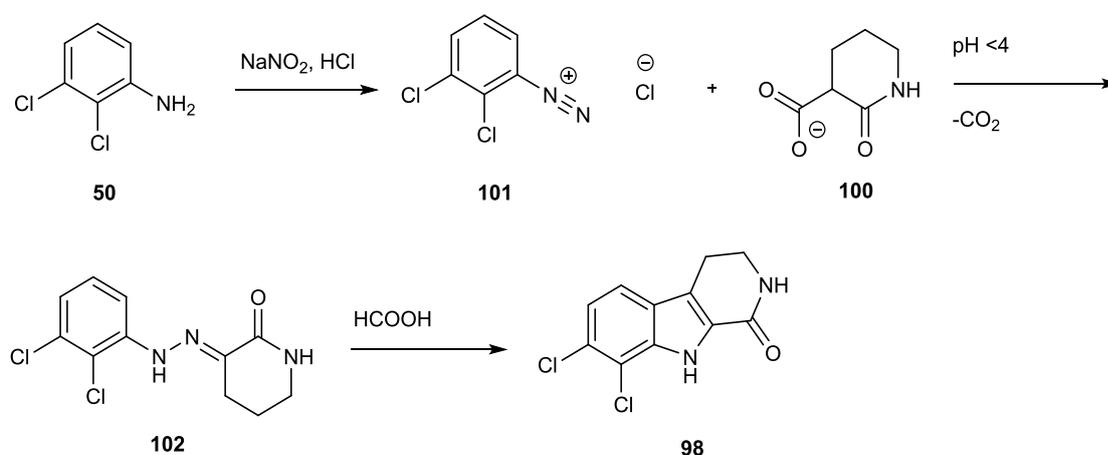


Abb. 78 Synthese des 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolins **98** nach Pohl⁵⁷

3.2.3. Dehydrierung des 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolins **98**

Die Dehydrierung von Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-onen kann auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. Gängige Dehydrierungsmittel sind Pd/Kohle^{122,128} DDQ⁵⁷, *p*-Chloranil¹²⁹ oder Schwefel¹³⁰. Die Dehydrierung eines *N*-Methyl-Analogons von **98** wurde in unserem Arbeitskreis schon mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) (**103**)⁵⁷ erfolgreich durchgeführt, nachdem die Dehydrierung mit Pd/Kohle fehlgeschlagen war. **98** wurde mit DDQ in THF zum Rückfluss erhitzt. **104** wurde in einer Ausbeute von 67 % isoliert. Das bei der Reaktion in stöchiometrischer Menge anfallende Hydrochinon (**105**) ließ sich säulenchromatographisch gut entfernen (Abb. 79).

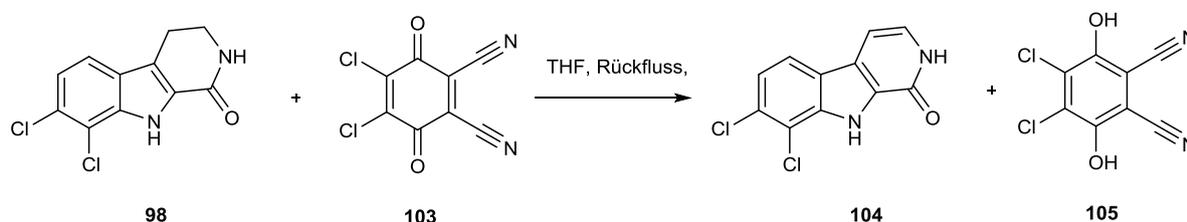


Abb. 79 Dehydrierung von **98** zum 1-Oxo- β -carbolin **104**

3.2.4. Bromierung des 1-Oxo- β -carbolins **104**

Für eine spätere Pd-katalysierte Funktionalisierung an C-1 musste im nächsten Schritt ein Halogen an Position 1 eingeführt werden. 1-Halogenierte β -Carboline sind wichtige Bausteine für Pd-katalysierte C-C-Knüpfungsreaktionen mit geeigneten metallorganischen Verbindungen. Neben Stannanen, Grignard-, Organozink- und Organoaluminium-verbindungen gibt es auch eine Vielzahl von Boranen und Boronsäuren, die als Kupplungspartner eingesetzt werden können. Vorteil dieser Reaktionen sind ihre hohen Ausbeuten, dass viele Funktionalitäten toleriert werden und somit auch auf Schutzgruppentechnik verzichtet werden kann¹²². Eine Vielzahl von Alkaloiden konnte auf diesem Weg in unserem Arbeitskreis synthetisiert werden, wie zum Bsp. 1-Ethyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**106**)¹³¹, Annomontin (**30**)⁶⁶ und Komaroin (**107**)¹²² (Abb. 80).

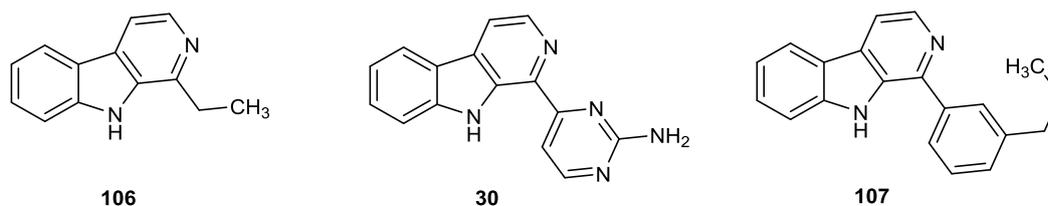
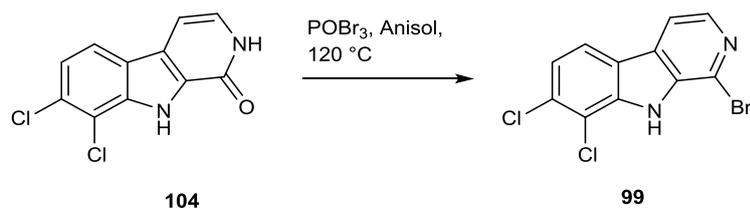
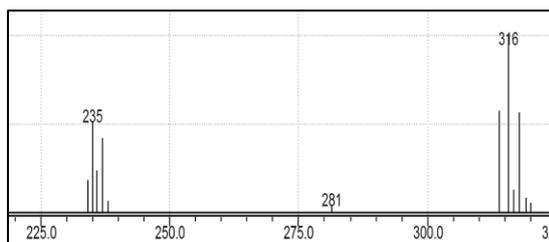


Abb. 80 Alkaloide 1-Ethyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (**106**)¹³¹, Annomontin (**30**)⁶⁶ und Komaroin (**107**)

Die Reaktivität von Halogenen als Abgangsgruppen bei Pd-katalysierten Kupplungsreaktionen nimmt in der Reihe von Cl<Br<I zu. Mit Iodaromaten und Bromaromaten gelangen diese Reaktionen meist in sehr guten Ausbeuten, aber auch chlorierte Azaaromaten (wie zum Bsp. Pyridine)¹²² sind gute Kupplungspartner. In unserem Arbeitskreis wurden sowohl für die Bromierung als auch für die Chlorierung von 1-Oxo- β -carbolinen Methoden entwickelt^{122,128,117}. Da Verbindung **104** schon 2 Chlorsubstituenten besitzt, habe ich mich auf Grund möglicher Selektivitätsprobleme bei der späteren Kupplungsreaktion für die Bromierung des 1-Oxo- β -carbolins **104** entschieden. Als gängige Bromierungsmittel für Pyridone werden POBr₃ und PBr₅ eingesetzt. Da in unserem Arbeitskreis schon eine Methode für die Bromierung von 1-Oxo- β -carbolinen mit Phosphoroxybromid (POBr₃) etabliert wurde, wurde als erstes nach dieser Vorschrift vorgegangen¹¹⁷. **104** wurde dazu mit POBr₃ in Anisol auf 120 °C erhitzt. Alkalische Aufarbeitung und Aufreinigung mit FSC lieferte das 1-Brom- β -carbolin (**99**) in einer Ausbeute von 80 % (Abb. 81). Die Verbindung konnte mittels NMR-, IR- und Massenspektroskopie identifiziert werden. Dabei zeigte das Massenspektrum (Abb. 82) die typischen Isotopenverhältnisse und Abspaltungsmuster für Verbindungen mit zwei Chlor- und einem Bromsubstituenten (m/z: 320/318/316/314 mit den relativen Isotopenverhältnissen 6:60:100:60). Nach Abspaltung des Bromsubstituenten konnte das für Verbindungen mit zwei Chlorsubstituenten typische Isotopenverhältnis (m/z: 239/237/235 mit den relativen Isotopenverhältnissen 100:60:10) beobachtet werden. Auf Grund der Instabilität von POBr₃ in der Hitze muss Anisol als Lösungsmittel verwendet werden, um eine elektrophile Halogenierung des Aromaten zu verhindern, wie von Bracher und Hildebrand beschrieben¹¹⁷. Anisol fängt hier als elektronenreicher Aromat das bei thermischer Zersetzung von POBr₃ entstehende Brom ab. Die beiden Chlorsubstituenten im Ring C, die diesen Ring elektronenärmer machen, setzen die Reaktivität von **99** für eine elektrophile Halogenierung am Ring C noch weiter herab.

Abb. 81 Bromierung des 1-Oxo- β -carbolins **104**Abb. 82 Massenspektrum von **99**

3.2.5. Stille-Kupplung

Die Synthese des 1-Acetyl- β -carbolins (**56**) erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von Bracher und Hildebrand⁶⁶, bei der 1-Chlor- β -carboline mit Tributyl-1-(ethoxyvinyl)stannan unter Pd-Katalyse und anschließender saurer Hydrolyse zu 1-Acetyl- β -carboline umgesetzt wird. Eine andere Möglichkeit neben der Stille-Kupplung wäre die Acetylierung über eine Mitsunobu-Reaktion, wie in der Annomontin-Synthese beschrieben. Da aber das hierfür erforderliche 7,8-Dichlornorharman kommerziell nicht erhältlich ist und die Synthese einen Schritt länger wäre als der eingeschlagene Weg, (der Bromsubstituent von 1-Brom- β -carboline (**99**) müsste noch hydrogenolytisch abgespalten werden) wurde diese Syntheseroute nicht eingeschlagen. Ein zusätzliches Problem bei dieser Route wären hier noch die Chlorsubstituenten, die je nach den eingestellten Bedingungen auch hydrogenolytisch abgespalten werden könnten. Rocca und Marsais¹³² haben in ihrer Synthese von Bauerin B auch eine Synthese von 7,8-Dichlornorharman ausgehend von 2,3-Dichloranilin beschrieben, die jedoch aus 4 Schritten besteht. Die Synthese unserer Vorstufe **99** für die Acylierung verläuft in 3 Stufen, was natürlich eleganter ist. Im ersten Schritt wurde in einer Stille-Kupplung **99** der stannylierte Enolether und Bis(triphenylphosphan)palladium(II)-chlorid in Toluol unter N_2 -Atmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Der sich dabei bildende Enolether **108** wurde mit 2 M HCl sauer

hydrolysiert und mittels mehrmaliger Aufreinigung mit der FSC wurde das 1-Acetyl- β -carbolin (**56**) in einer Ausbeute von 22 % gewonnen. Auf Grund der schlechten Trennbarkeit von Edukt und Produkt und der schlechten Umsetzung wurde eine mikrowellenunterstützte Methode entwickelt, mit der die Ausbeute auf 40 % gesteigert werden konnte. Die Reaktionskomponenten wurden in einem druckstabilen Mikrowellenvial in Dioxan gelöst und 20 min bei 150 W und 7 bar auf 130 °C erhitzt. Nach DC-Kontrolle wird der Vorgang für weitere 20 min bei 140 °C, 200 W und 9 bar wiederholt und anschließend sauer hydrolysiert (Abb. 83).

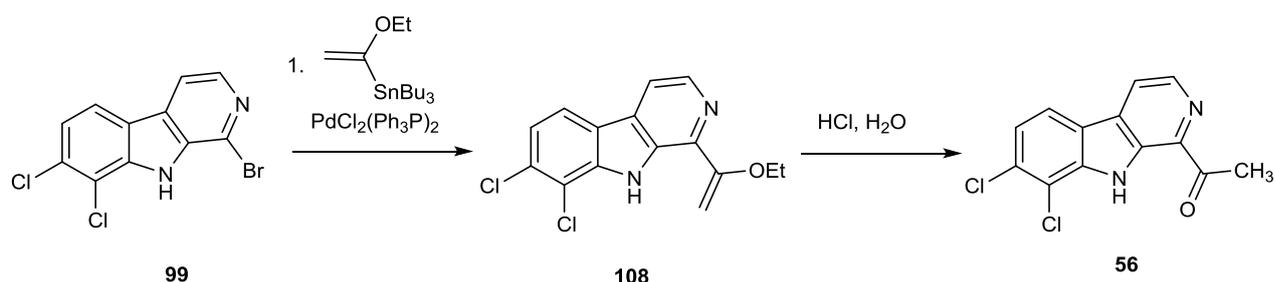


Abb. 83 Synthese des 1-Acetyl- β -carbolin **56**

Die Stille-Kupplung¹³³ ist eine elegante Methode für C-C-Knüpfungsreaktionen. Ein Vorteil dieser Methode ist die Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen. Einziger Nachteil dieser Reaktion ist die Giftigkeit der eingesetzten Stannane. Prinzip ist die Kupplung einer Organozinnverbindung mit einem Kohlenstoffelektrophil¹³⁴. Als Elektrophile werden hierfür v.a. Aryl- bzw. Vinylbromide, -iodide, -triflate oder -chloride eingesetzt. Bei den Stannanen können v.a. Vinyl-, Allyl-, Aryl- und Benzylgruppen Verwendung finden. Der allgemeine Mechanismus lässt sich durch einen katalytischen Zyklus beschreiben (Abb. 84).

1. Oxidative Addition. Hierbei wird das Kohlenstoffelektrophil mit $\text{Pd}(0)$ unter Bildung eines $\text{Pd}(\text{II})$ -Komplexes umgesetzt.
2. Transmetallierung. In diesem Schritt wird eine $\text{Pd}(\text{II})$ -Spezies generiert, die beide zu verknüpfende Reste enthält.
3. Reduktive Eliminierung. Das Substitutionsprodukt wird unter Regeneration des Katalysators eliminiert.

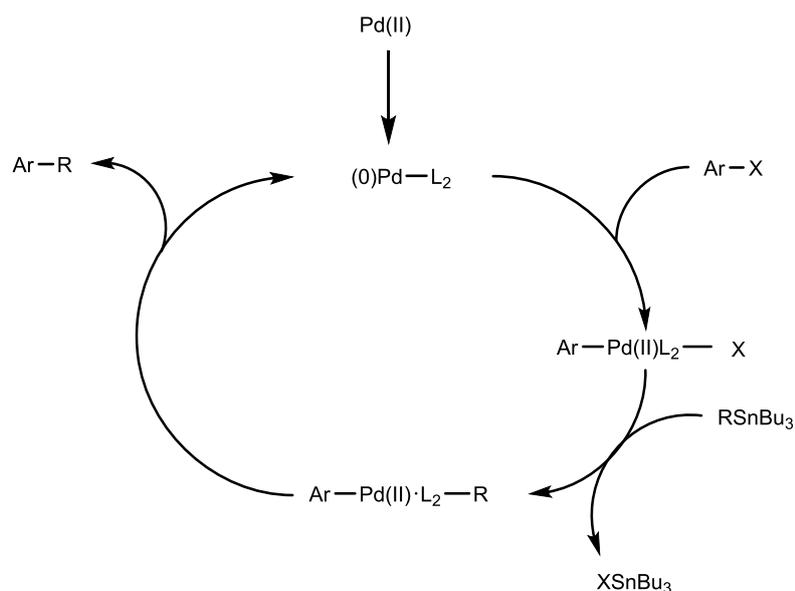


Abb. 84 Mechanismus der Stille-Kupplung

3.2.6. Synthese von Dichlorannomontin (**40**)

Im letzten Schritt sollte in einem Arbeitsschritt das Dichlorannomontin (**40**) aus dem Methylketon **56** hergestellt werden. Es wurde in Analogie zur Synthese von Annomontin (**30**)⁶⁶ gearbeitet. **56** wurde mit Brederecks Reagenz (**97**) unter N₂-Atmosphäre in DMF zum Rückfluss erhitzt. Nach einer Stunde wurde Guanidiniumcarbonat zugegeben und wieder zum Rückfluss erhitzt. Alkalische Aufarbeitung und säulenchromatographische Aufreinigung lieferte **40** in einer Ausbeute von 39 %. Brederecks Reagenz (**97**) unterliegt in der Hitze einer thermischen heterolytischen Spaltung zu *tert*-Butanolat (**109**) und einem mesomeriestabilisiertem Kation **110** (Abb. 85). Die CH-azide Methylgruppe von **56** wird vom *tert*-Butanolat deprotoniert, das gebildete Carbanion kuppelt mit dem oben genannten Kation und unter nachfolgender β -Eliminierung von Dimethylamin entsteht das Enaminoketon **111** (Abb. 86). Untersuchungen in unserem Arbeitskreis haben gezeigt, dass ähnliche Enaminoketone direkt zu Canthin-4-onen cyclisieren^{62,135}. Katalytische Mengen Base, die in der thermolytischen Spaltung von Brederecks Reagenz gebildet werden, reichen aus um das azide Proton des Indol-Stickstoffs abzuspalten. Anschließend erfolgt eine intramolekulare nukleophile Addition und Elimination von Dimethylamin zum Canthin-4-on. Durch Umsetzung mit dem starken Bis-Nukleophil Guanidiniumcarbonat unter Rückflussbedingungen wird der Ring wieder aufgebrochen. Ob auch bei dem chlorierten Analogon die Cyclisierung zum

Canthin-4-on erfolgt, oder ob direkt das offenkettige Enaminoketon mit dem Guanidin zum Aminopyrimidin reagiert, wurde in dieser Arbeit nicht untersucht. Deswegen wird im Formelbild das entsprechende chlorierte Canthin-4-on (**112**) nur als nicht isolierte Zwischenverbindung dargestellt.

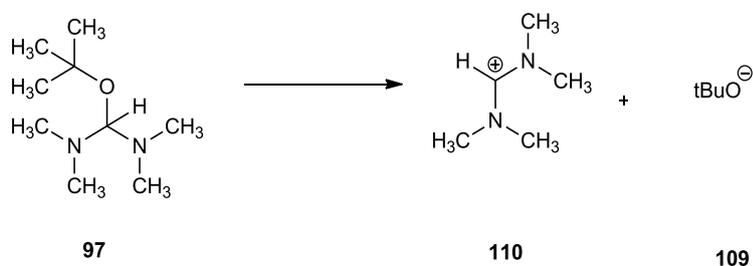


Abb. 85 Thermolytische Spaltung von Bredericks Reagenz (**97**)

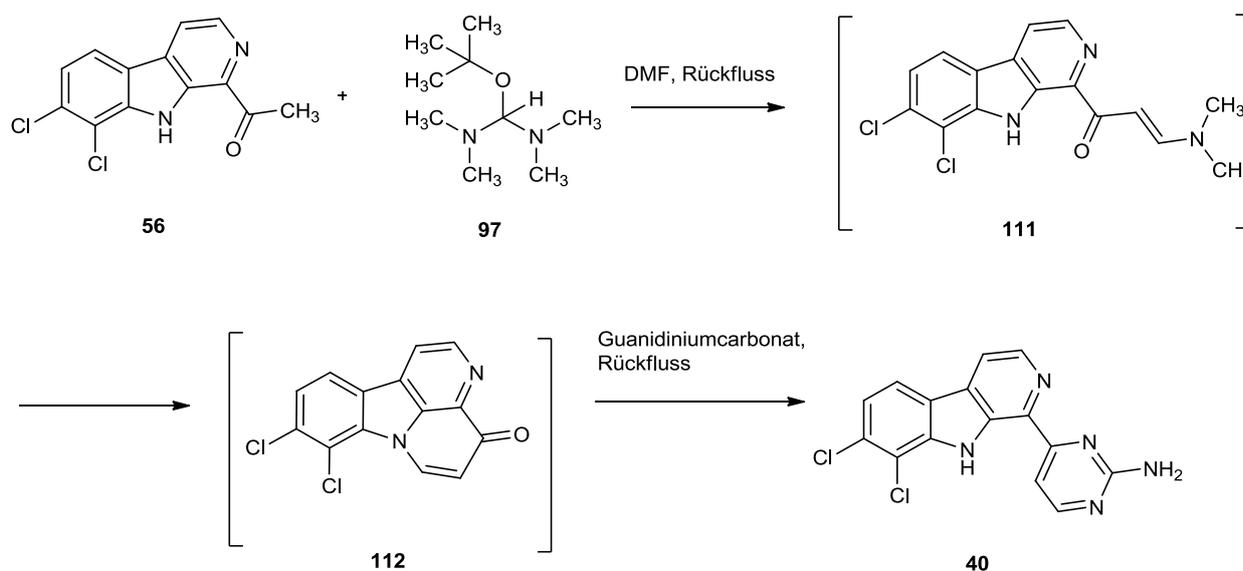


Abb. 86 Synthese von Dichlorannomontin (**40**)

Somit ist es gelungen, ausgehend von 2,3-Dichloranilin (**50**) die Zielverbindung 7,8-Dichlorannomontin (**40**) in 5 Arbeitsgängen in einer Gesamtausbeute von 5 % herzustellen (Abb. 86).

3.3. Synthese von Analoga von Harmin (1)

Durch eine jeweils zeitnahe Testung neuer Syntheseprodukte bei Prof. Becker in Aachen sollte, geleitet durch die jeweiligen Testergebnisse, eine kurzfristige Anpassung der Syntheseziele erfolgen, mit dem Ziel möglichst rasch die zielführenden Strukturabwandlungen zu identifizieren. Aus diesem Grund wurden manche Routen frühzeitig verlassen, bevor ihre Synthesen zu Ende geführt oder optimiert wurden. Begleitend wurden auch Modelling-Untersuchungen von Prof. Sippl in Halle durchgeführt, um auf Basis dieser Daten weitere Strukturoptimierungen erzielen zu können. Die folgenden Kapitel werden nicht chronologisch verfasst. Zu besserer Übersichtlichkeit werden die einzelnen Synthesen nach den Orten der Variationen am Ringsystem gegliedert. Deswegen werden in manchen Kapiteln Strukturabwandlungen bzw. Anpassungen der Syntheseziele vorweggenommen, deren Erarbeitung in späteren Kapiteln beschrieben wird.

3.3.1. Syntheseplanung

Die Modifikation meiner Leitstruktur Harmin (1) sollte auf verschiedenen Wegen erfolgen. Diese sollten entweder von Harmin als Grundkörper ausgehen oder der Grundkörper sollte neu aufgebaut werden. Folgende Variationen sollten durchgeführt werden.

3.3.1.1. Variationen am Ring C

Elektrophile aromatische Substitution von Harmin (1) mit Brom und Chlor

Hier sollte nach Vorschriften von Bonce et al.^{136,137} gearbeitet werden, die schon eine Methode für die Chlorierung und Bromierung von Harmin (1) entwickelt haben. Es sollte das 6- und 8-Bromharmin, das 6,8-Dibromharmin und die jeweiligen chlorierten Harminderivate hergestellt werden. Die elektrophilen aromatischen Substitutionen sollten mit *N*-Bromsuccinimid bzw. *N*-Chlorsuccinimid erfolgen (Abb. 87).

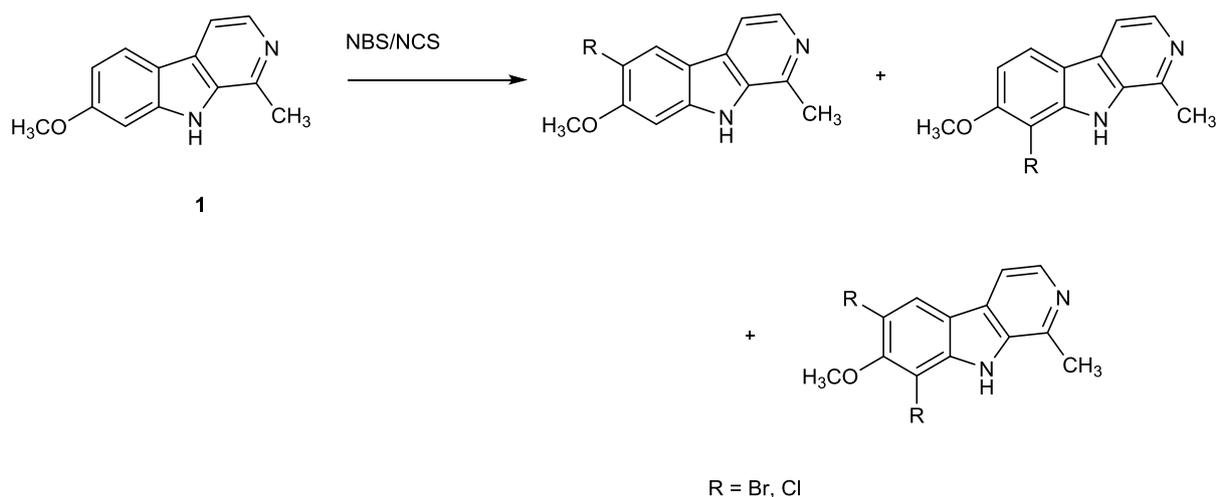


Abb. 87 Bromierung und Chlorierung von Harmin (**1**) nach Bonce et al.^{136,137}

3.3.1.2. Variationen am Ring B

1. Synthese von 9-Desaza-Analoga von Harmin

Zur Darstellung der 9-Desaza-Analoga musste der tricyclische Grundkörper neu aufgebaut werden. Ausgehend von Ethyl-3-aminocrotonat (**113**) und trans-4-Methoxyzimtaldehyd (**114**) sollte in Anlehnung an Guiliani et al.¹³⁸ und Weller et al.¹³⁹ in einer Hantzsch-artigen Synthese das Pyridin **115** hergestellt werden. Anschließend sollte das Pyridin **115** mit Polyphosphorsäure zu **44** cyclisiert werden (Abb. 88). Auf ähnliche Weise hatte Bracher¹⁴⁰ schon isomere Azafluorene hergestellt.

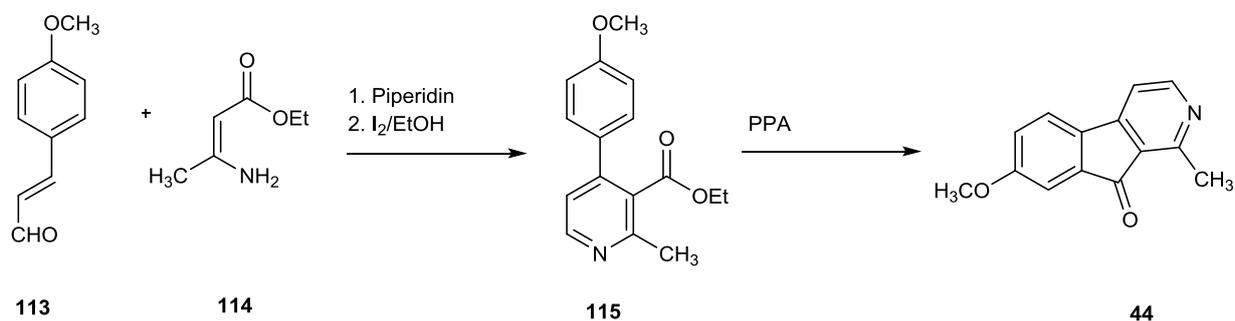


Abb. 88 Geplante Synthese des Azafluorenon **44**

Ausgehend vom Keton **44** sollten verschiedene Variationen am Ring B durchgeführt werden. Analog zur Literatur¹⁴¹ sollte das Keton **44** mit Natriumborhydrid zum Alkohol **45** reduziert werden. **45** sollte im nächsten Schritt über eine ionische Hydrierung mit

Triethylsilan und Trifluoressigsäure¹⁴² zum Azafluoren **46** reduziert werden. Als weitere Variation sollten am Keton **44** verschiedene Reste über eine Wittig-Reaktion eingeführt werden (Abb. 89).

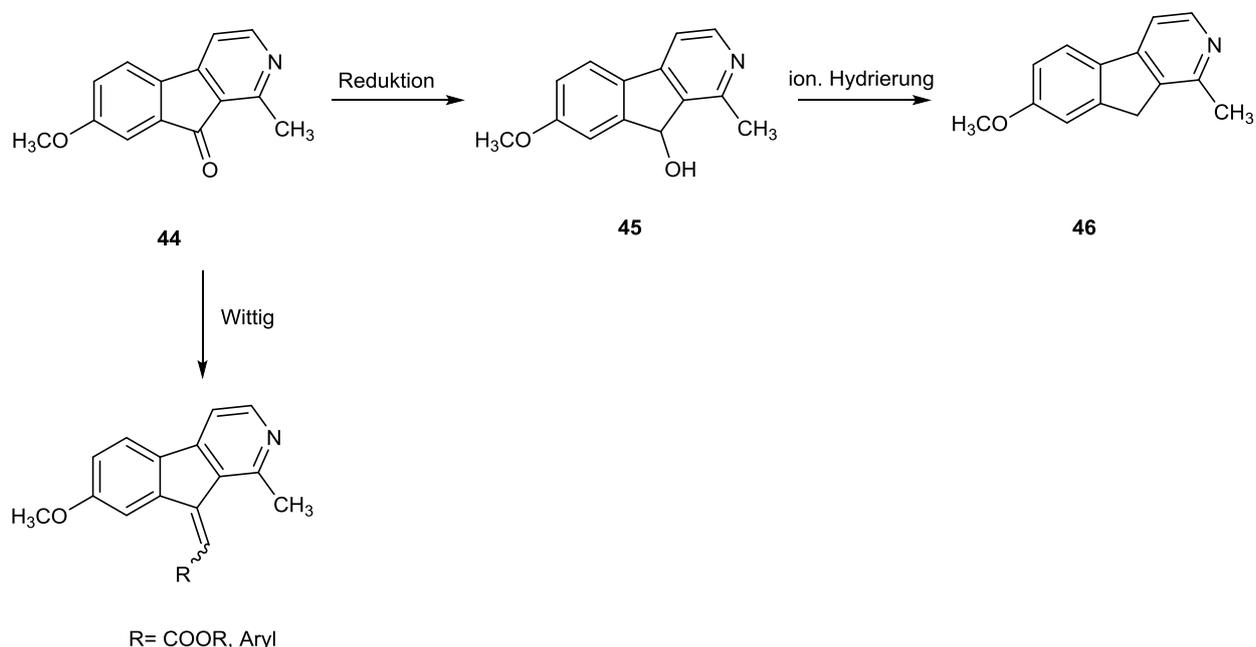


Abb. 89 Weitere Variationen des Ketons **44**

2. Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs von Harmin (**1**)

Harmin sollte mit verschiedenen Resten am Pyrrol-Stickstoff alkyliert werden. Als Basen sollten Natriumhydrid, Kalium-*tert*-butylat oder Caesiumcarbonat verwendet werden. Als Reste sollten neben einfachen Alkyl-, Benzyl- und Allylresten auch polare Reste eingeführt werden mit einem $-\text{CH}_2\text{-R}$ Motiv, dabei sollte R zum Bsp. für Ester, Amide, Nitrile und deren Homologe stehen. Des Weiteren sollten auch Aminoalkylreste mit dem Motiv $-(\text{CH}_2)_n\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ eingeführt werden (Abb. 90).

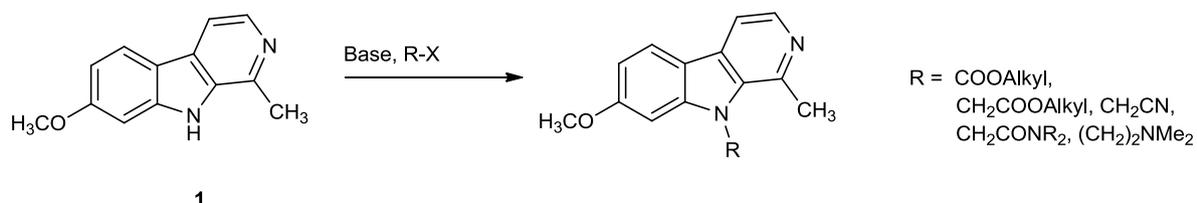


Abb. 90 Synthese von *N*-alkylierten Harmin-Derivaten

3.3.1.3 Variationen am Ring A

1. Kondensations-Reaktionen an der Methylgruppe an Position 1

Die Kondensationsreaktionen sollten zunächst mit Harmin (**1**) durchgeführt werden. Als erstes sollte das literaturbekannte Benzylidenharmin¹⁴³ (**42**) synthetisiert und in Aachen getestet werden. Dann sollte noch eine Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs mit verschiedenen Resten, die sich bis zu diesem Zeitpunkt als erfolgsversprechend erwiesen haben, erfolgen (Abb. 91).

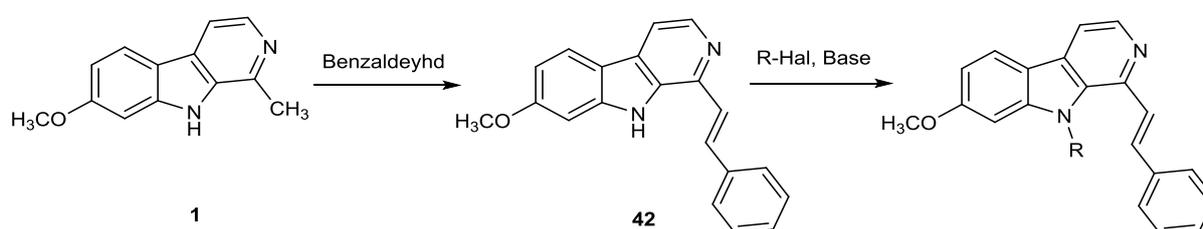


Abb. 91 Synthese von Benzylidenharmin (**42**)

Nach dem selben Schema sollten auch weitere Kondensationsreaktionen mit einer Auswahl an anderen Aldehyden durchgeführt und die Produkte N-alkyliert werden.

2. Synthese von Tetracyclen mit einer Überbrückung von Ring A mit N-9

Es sollten zwei Tetracyclen mit einem β -Carbolin Grundgerüst aufgebaut werden. Der Ring A von Harmin sollte über ein Keton bzw. über eine Aminalstruktur mit dem Indol-Stickstoff verbrückt werden. (Abb. 92).

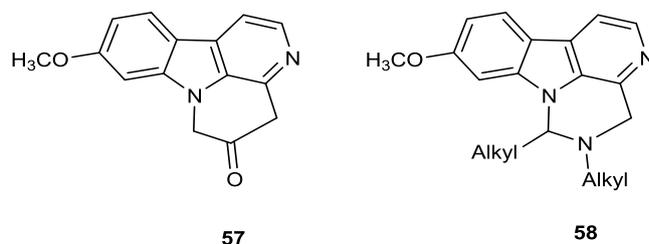


Abb. 92 Geplante Tetracyclen

Die Synthese des Tetracyclus mit einer Ketonstruktur **57** sollte über die literaturbekannte Ethoxycarbonylmethyl-Verbindung **116**¹⁴⁴ erfolgen. In einer intramolekularen Claisen-artigen Reaktion sollte **116** basenkatalysiert zum Keton **57** umgesetzt werden (Abb. 93). In einem nächsten Schritt sollte das cyclische Keton mit diversen Wittig-Reagenzien oder Grignard-Reagenzien umgesetzt werden.

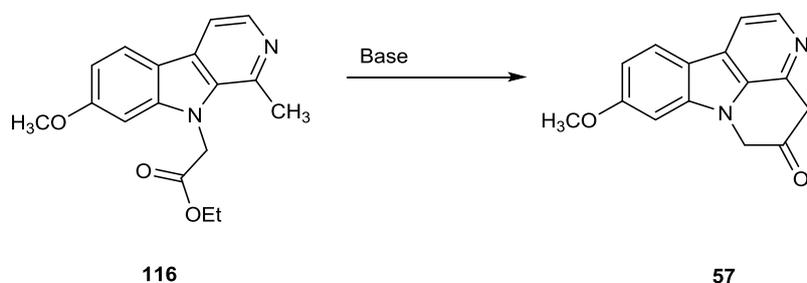


Abb. 93 Geplante Synthese vom cyclischen Keton **57**

Die Synthese des Tetracyclus mit einer Aminalstruktur sollte in Anlehnung an Giudice et al.¹⁴⁵ erfolgen. Eine zentrale Verbindung für die Synthese ist der Aldehyd **117**. Nach Zhong-Ze et al.¹⁴⁶ wird Harmin (**1**) mit Selendioxid zu **117** oxidiert. Der Aldehyd **117** sollte dann in einem Schritt mit einer Aminkomponente zum Imin kondensiert und mit Natriumborhydrid zum Amin reduziert werden. Durch Kondensation mit verschiedenen Aldehyden sollte dann die Aminalstruktur aufgebaut werden (Abb. 94). Über diese Route könnten diverse Tetracyclen mit einer Aminalstruktur **58** hergestellt werden.

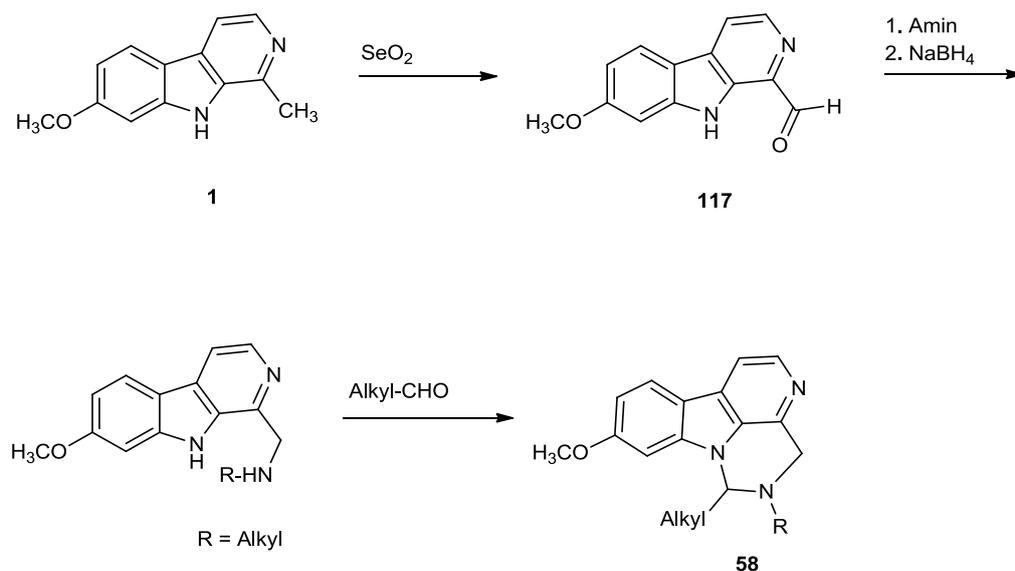


Abb. 94 Geplante Synthese von Tetracyclen mit einer Aminalstruktur **58**

Auf Grund der Giftigkeit von Selendioxid sollte auch ein neuer Weg entwickelt werden, **117** ausgehend von Harmin herzustellen.

3. Flexible Variationen an C-1: Pd-katalysierte Kupplungsreaktionen

Um die Substituenten an Position 1 flexibel variieren zu können, sollte eine Synthese für ein Analogon von Harmin mit einem Halogen- (Br, Cl oder I) oder Triflat-Rest an Position 1 entwickelt werden.

Aus m-Anisidin (**118**) sollte in einer Japp-Klingemann-Reaktion das literaturbekannte Harmalacidin (**58**) hergestellt werden¹⁴⁷. Im nächsten Schritt sollte mit gängigen Dehydrierungsmitteln wie Pd/C oder DDQ das 1-Oxo- β -carbolin **119** hergestellt werden. Die Chlorierung oder auch Bromierung sollte nach einer Vorschrift aus unserem Arbeitskreis erfolgen^{122,117}. Das 1-Chlor- bzw. -Bromderivat sollte dann als Edukt für Pd-katalysierte Kupplungsreaktionen verwendet werden (Abb. 95). Für Pd-katalysierte Kupplungsreaktionen wurden in unserem Arbeitskreis mehrere Methoden etabliert. Eine davon ist die Pd-katalysierte Alkylierung mit Trialkylboranen bzw. -aluminiumverbindungen, die auch hier angewendet werden sollte.

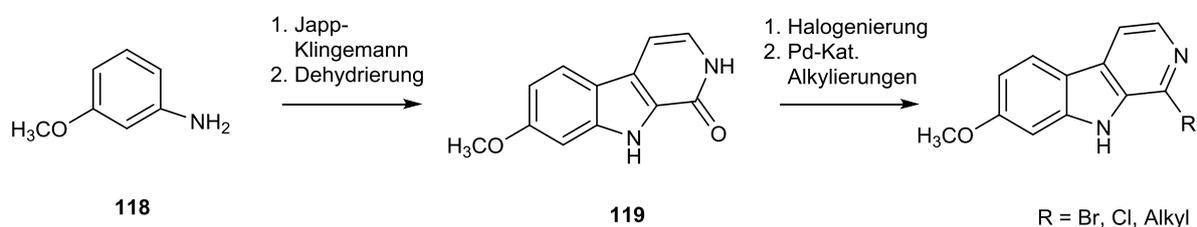


Abb. 95 Geplante Synthese von 1-Halogen- und 1-Alkyl-Analoga von Harmin (**1**)

4. Harmin-Bauerin C-Hybride

Das schon für die Synthese von Dichlorannomontin (**40**) verwendete 1-Brom-7,8-pyrido[3,4-b]indol (**99**) sollte unter Pd-Katalyse mit Trimethylaluminium¹³¹ zum Dichlor-Analogon von Harmin **120** umgesetzt werden. **120** sollte dann mit den Resten, die sich bis zu diesem Zeitpunkt als erfolgsversprechend erwiesen haben, am Pyrrol-Stickstoff alkyliert werden (Abb. 96).

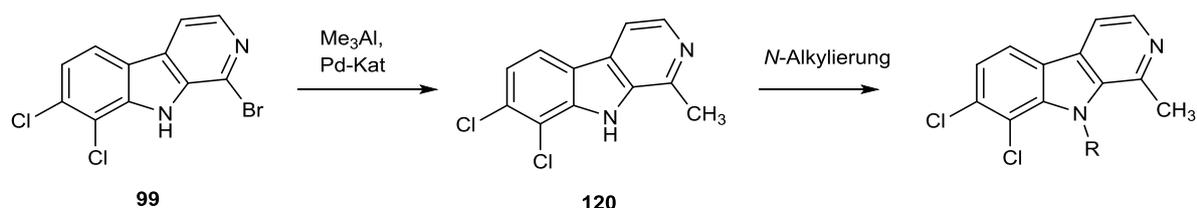


Abb. 96 Geplante Synthese von Harmin-Bauerin C-Hybrids

3.3.2. Variationen am Ring C

3.3.2.1. Elektrophile aromatische Substitutionen am Harmin (1) und Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs

Die Bromierung bzw. Chlorierung von Harmin (**1**) erfolgte nach Vorschriften von Bonce et al.^{136,137}. Je nach eingesetztem Verhältnis der Äquivalente von Harmin zu Halogenierungsmittel werden einfach, zweifach und dreifach halogenierte Verbindungen erhalten. Bei der Bromierung wurde ein Stoffmengenverhältnis von Harmin zu *N*-Bromsuccinimid (NBS) von 1:1 gewählt. Harmin und Kieselgel wurden in Dichlormethan suspendiert. Eine Lösung von NBS in Dichlormethan wurde langsam zugegeben. Es wurde bei Raumtemperatur unter Ausschluss von Licht gerührt. 6-Bromharmin (**121**) wurde unter diesen Bedingungen in einer Ausbeute von 33% erhalten. 8-Bromharmin (**122**) bzw. 6,8-Dibromharmin (**123**) wurden in Ausbeuten von 24 % bzw. 4 % erhalten. Durch eine Abänderung der Stoffmengenverhältnisse von Harmin zu NBS (Modifikation der Vorschrift) auf 1:5 wurde auch 3,6,8-Tribromharmin (**124**) in einer Ausbeute von 4 % erhalten (Abb. 97). Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie und durch Vergleich mit der Literatur¹³⁶ konnte nachgewiesen werden, dass C-3 bromiert wurde, da im ¹H-NMR-Spektrum bei einer chemischen Verschiebung von 8.4 ppm das Signal für das Proton an Position 3 fehlt und 4-H bei 7.7 ppm als Singulett erscheint.

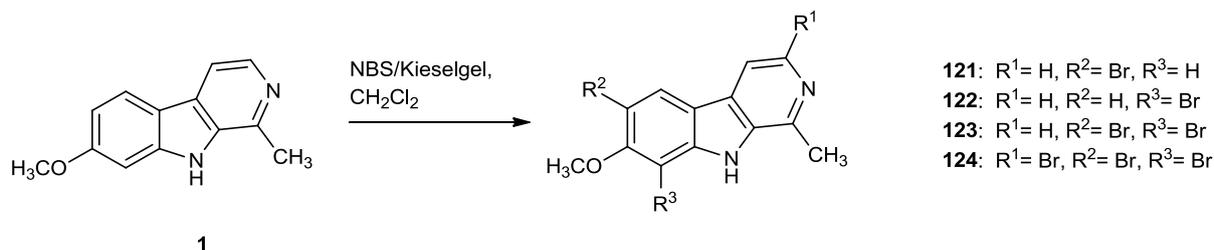


Abb. 97 Bromierung von Harmin (1)

Bei der Chlorierung von Harmin (**1**) wurde die Vorschrift nach Bonce et al.¹³⁷ modifiziert. Es wurde ein Stoffmengenverhältnis von Harmin zu *N*-Chlorsuccinimid (NCS) von 1:2 gewählt und in Anlehnung an die Bromierung nach Bonce et al.¹³⁶ auch Kieselgel eingesetzt. Harmin (**1**) und Kieselgel wurden in Ethylacetat suspendiert. Eine Lösung von NCS in Dichlormethan wurde langsam zugeben. Es wurde bei Raumtemperatur unter Ausschluss von Licht gerührt. 6-Chlorharmin (**125**) und 8-Chlorharmin (**126**) wurden in Ausbeuten von 30 % bzw. 19 % erhalten, 6,8-Dichlorharmin (**127**) in einer Ausbeute von 5 % (Abb. 98).

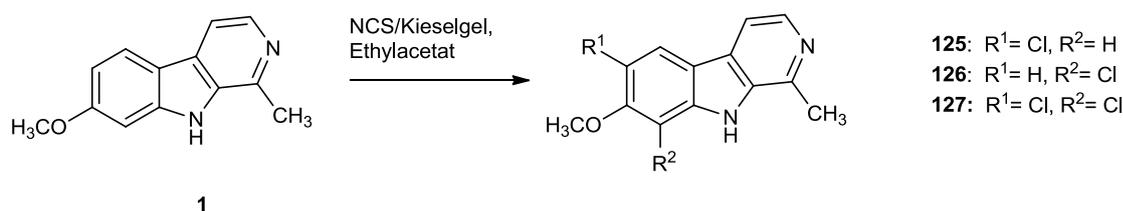


Abb. 98 Chlorierung von Harmin (**1**)

Als nächstes wurde am Pyrrol-Stickstoff der Halogenharmine mit *n*-Butyliodid alkyliert. Es wurde nach einer Vorschrift vorgegangen, die unserem Arbeitskreis von Pohl⁵⁸ und Ritter⁵⁹ für Indolderivate etabliert wurde. Die Brom- und Chlorharmin-Derivate wurden mit Kalium-*tert*-butylat in Dimethylsulfoxid bei 80 °C gerührt. Dann wurde *n*-Butyliodid zugegeben und weiter bei 80 °C gerührt. Nach dieser Vorschrift wurden 8-Bromharmin (**122**), 6- und 8-Chlorharmin (**125** und **126**) am Pyrrol-Stickstoff alkyliert. Das 8-Bromderivat **128** wurde in einer Ausbeute von 60 %, das 6-Chlorderivat **129** in einer Ausbeute von 54 % und das 8-Chlorderivat **130** in einer Ausbeute von 53 % isoliert (Abb. 99).

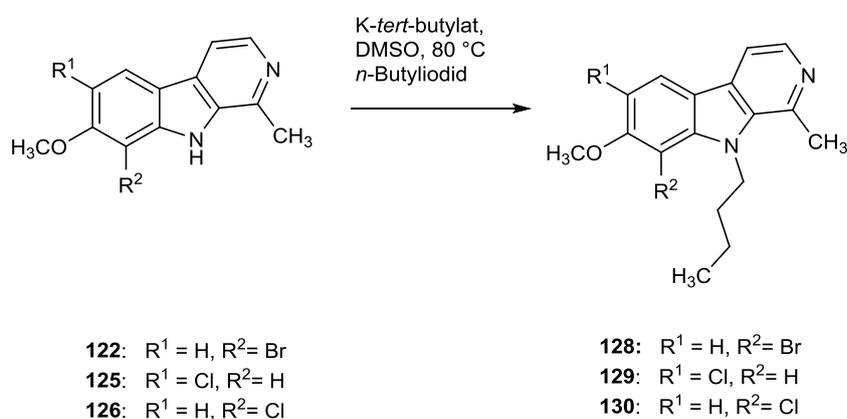


Abb. 99 *N*-Butylierung von Halogenharminen

Auf die Synthese weiterer *N*-alkylierter Derivate von am Ring C halogenierten Harmin-Derivaten wurde verzichtet, da die biologische Testung von 9-Butylharmin (**131**) (siehe Kapitel 3.3.3.2.1.) und der Halogenharmine (**124-130**) gezeigt hatte, dass durch diese Modifikation der Harminstruktur keine Selektivität zu Gunsten von DYRK1A erreicht werden kann. Durch die Halogenierung hatte Harmin sogar seine inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A verloren. Auf eine Iodierung des Aromaten von Harmin wurde aus diesem Grund auch verzichtet.

3.3.2.2. Variation der Methoxygruppe

Eine weitere Variationsmöglichkeit neben der Halogenierung am Ring C ist die Modifikation der Methoxygruppe. Reniers et al.⁶⁴ beschreiben in ihrer Veröffentlichung aus dem Jahr 2011, dass durch Variation der Methoxygruppe die inhibitorische Aktivität von Harmin (**1**) auf die MAO-A beeinflusst wird. Lipophile O-Alkyl-Reste erhöhen die inhibitorische Aktivität und hydrophile Gruppen senken die inhibitorische Aktivität im Vergleich zu Harmin (**1**). Durch O-Alkylierung mit einem Dimethylaminoethylrest konnten Reniers et al. die inhibitorische Aktivität von Harmin (**1**) auf die MAO-A am stärksten absenken. Diese Verbindung sollte daher synthetisiert werden und dann auf inhibitorische Aktivität auf DYRK1A in Aachen getestet werden. In einem weiteren Schritt sollte an diesem Aminoalkylether noch eine Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs mit den Resten, die sich bis zu diesem Zeitpunkt als erfolgsversprechend herausgestellt hatten, erfolgen, um die Affinität zur DYRK1A zu erhöhen. Im ersten Schritt wurde der Methylether gespalten. Harmin (**1**) wurde in Eisessig und Bromwasserstoff (48% in Wasser) zum Rückfluss erhitzt. Das dabei gebildete Harmol wurde im nächsten Schritt O-alkyliert. Als Base wurde Caesiumcarbonat und als Alkylierungsreagenz *N,N*-Dimethyl-3-chlorethylamin-Hydrochlorid verwendet. Es wurde bei 100 °C gerührt. Die O-alkylierte Verbindung **132** wurde in einer Ausbeute von 28 % gewonnen (Abb. 100).

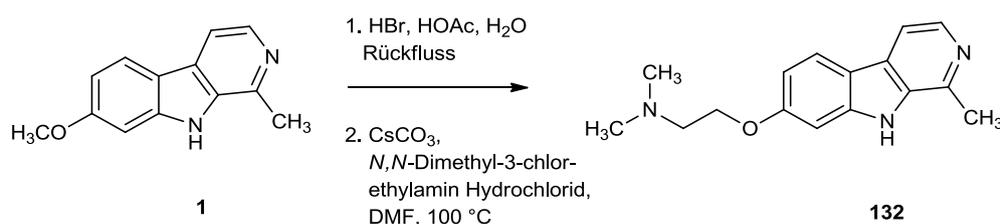


Abb. 100 Synthese von **132** nach Reniers et al.⁶⁴

Im nächsten Schritt wurde *N*-alkyliert. Es sollten ein Cyanomethyl- und ein Propargylrest eingeführt werden. Biologische Testungen von Harminderivaten hatten zuvor gezeigt, dass der Propargylrest neben dem Cyanomethylrest die Selektivität für die DYRK1A im Vergleich zur MAO erhöht (siehe Kapitel 3.3.3.2.3.).

Es wurde zuerst nach Nielsch et al.¹⁴⁴ vorgegangen. Das Dimethylaminoethoxyderivat **132** und Natriumhydrid wurden in DMF suspendiert. Nach Zugabe von Bromacetonitril wurde bei 40 °C gerührt. Auch durch weitere Reagenzienzugabe wurde keine Umsetzung beobachtet, es wurde nur Edukt zurückgewonnen. Die Einführung des Propargylrestes wurde nach Reniers et al.⁶⁴ versucht. **132** und Caesiumcarbonat wurden in DMF suspendiert und Propargylbromid (70 % Lösung in Toluol) wurde zugegeben. Es wurde bei 80 °C gerührt. Es kam zu keiner Umsetzung und nur Edukt wurde wieder zurückgewonnen (Abb. 101).

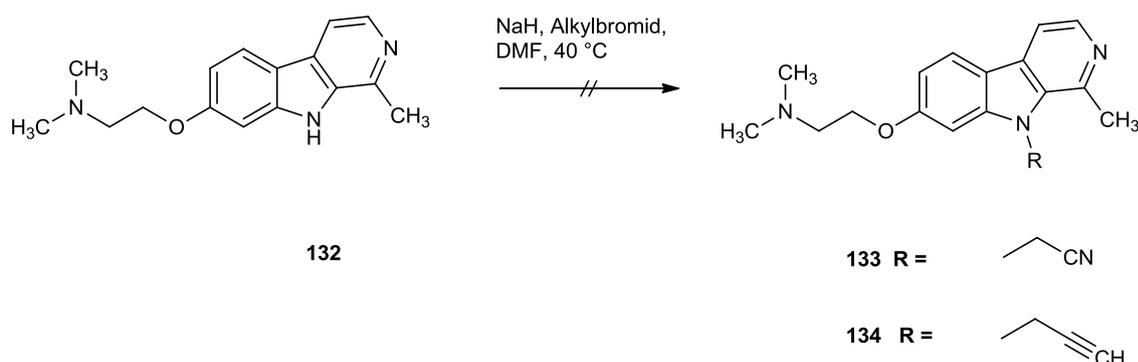


Abb. 101 Versuche zur *N*-Alkylierung von **132** mit Bromacetonitril bzw. Propargylbromid

Da weder der Propargyl- noch der Cyanomethylrest an **132** eingeführt werden konnte, sollte als nächstes vom *N*-alkylierten Harminderivat ausgegangen werden. Bei diesem sollte dann der Ether gespalten und das gebildete Phenol wieder *O*-alkyliert werden. Das 9-Propargylharmin (**135**) (siehe Kapitel 3.3.3.2.3.) wurde nach Reniers et al.⁶⁴ in Essigsäure und 48 %iger Bromwasserstoffsäure zum Rückfluss erhitzt und alkalisch aufgearbeitet. Laut DC war **135** vollständig umgesetzt. Dann wurde mit Caesiumcarbonat und *N,N*-Dimethyl-3-chlorethylamin-Hydrochlorid versetzt und bei 100 °C gerührt. Es kam hier zu einer Umsetzung, aber die Reaktion wurde auf Grund zu geringer Umsetzung nicht weiter verfolgt (Abb. 102).

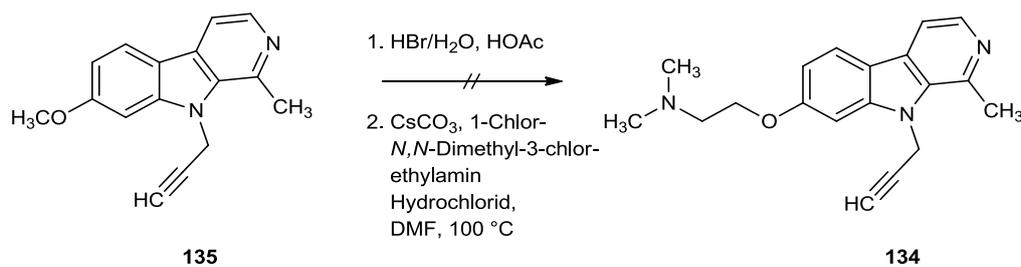


Abb. 102 Versuch zur Demethylierung und O-Alkylierung von **135**

Das entsprechende 9-Cyanomethylharmin (**136**) konnte auf Grund der sauren Bedingungen bei der Etherspaltung für diese Route nicht verwendet werden.

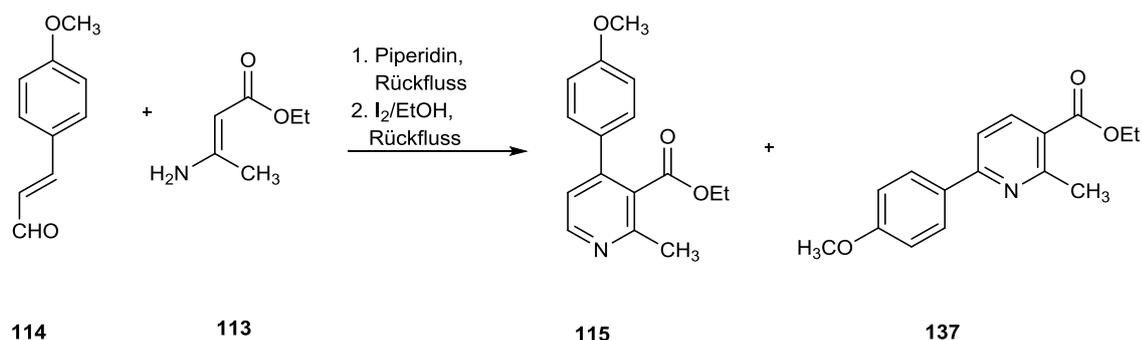
Auf weitere Versuche, das Dimethylaminoethoxyderivat **132** am Pyrrol-Stickstoff zu alkylieren oder andere *N*-alkylierte Harmin-Derivate an der Ethergruppe zu modifizieren, wurde verzichtet, da zwischenzeitlich biologische Testergebnisse gezeigt hatten, dass **132** keine inhibitorische Aktivität mehr auf die DYRK1A aufweist.

3.3.3. Variationen am Ring B

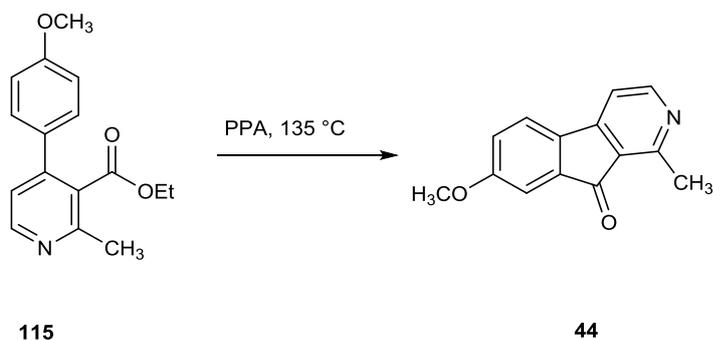
3.3.3.1. Synthese von 9-Desazaharminen

3.3.3.1.1. Synthese des Grundkörpers

Zur Darstellung von 9-Desazaharminen musste der Grundkörper neu aufgebaut werden. Dies erfolgte über zwei Schritte. Als erstes wurde in einer Hantzsch-artigen Synthese der 4-Arylnicotinsäureester **115** in Anlehnung an Vorschriften von Guilliani et al.¹³⁸ und Weller et al.¹³⁹ hergestellt. Ethyl-3-aminocrotonat (**113**), trans-4-Methoxyzimtaldehyd (**114**) und katalytischen Mengen an Piperidin wurden in Ethanol zum Rückfluss erhitzt. Im nächsten Schritt wurde die gebildete Dihydropyridinverbindung mit Iod zum Pyridinderivat **115** oxidiert. **115** wurde in einer Ausbeute von 16 % isoliert. Neben **115** wurde auch noch das Regioisomer **137** in einer Ausbeute von 11 % erhalten (Abb. 103).

Abb. 103 Hantzsch-artige Synthese der Pyridine **115** und **137**

Im zweiten Schritt der Synthese des Grundkörpers wurde **115** in das Azafluorenon **44** überführt. Dies sollte über eine intramolekulare Acylierung erfolgen. Für die Synthese von Azafluorenonen ausgehend von 2-Arylnicotinsäuren bzw. deren Estern ist in unserem Arbeitskreis schon eine Methode entwickelt worden. Bracher^{140,148} führte die intramolekulare Acylierung unter Katalyse von Polyphosphorsäure (PPA) durch. **44** wurde in Anlehnung an die Synthesen von Bracher mit Polyphosphorsäure bei 135 °C gerührt. Das Azafluorenon **44** wurde in einer Ausbeute von 17 % erhalten (Abb. 104). Durch Änderung der Menge an PPA und Erhöhung der Temperatur konnte die Ausbeute nicht gesteigert werden.

Abb. 104 Intramolekulare Acylierung von **115** zu Azafluorenon **44**

Als nächstes wurde in Anlehnung an Bracher¹⁴⁸ die Esterfunktion von **115** mit Kaliumhydroxid verseift. Bracher konnte bei der Synthese von 8-Methoxyonichin durch Verseifung des Arylnicotinsäureesters zur Carbonsäure und anschließende Cyclisierung mit PPA die Ausbeute erhöhen. **115** wurde mit Kaliumhydroxid in Ethanol und Wasser zum Rückfluss erhitzt. Nach wässriger Aufarbeitung wurde mit

Polyphosphorsäure bei 140 ° C gerührt. **44** wurde in einer Ausbeute von nur 4 % isoliert. Neben Verbindung **44** wurde noch der Ethylester **115** zurückgewonnen. Eine DC der wässrigen Phase zeigte einen noch polarerer Fleck, was für nicht umgesetzte Säure sprechen würde. Um die Ausbeute der Cyclisierung zu steigern, wurde als nächstes eine stärkere Säure eingesetzt. Fox et al.¹⁴⁹ verwenden für die Cyclisierung des Dicarbonsäureesters **138** zum Azafluorenon **139** konz. Schwefelsäure (Abb. 105).

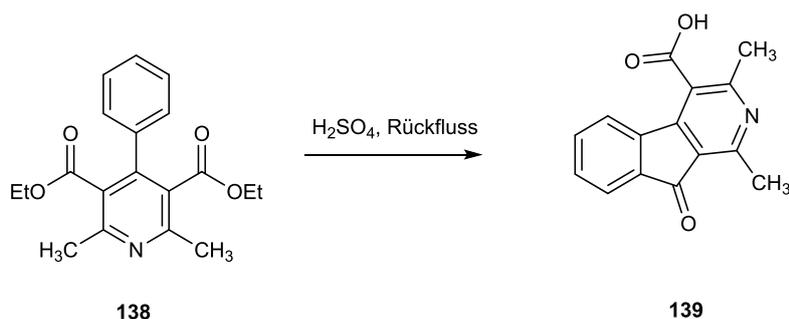


Abb. 105 Intramolekulare Acylierung mit konz. Schwefelsäure nach Fox et al.¹⁴⁹

Der Ester **115** wurde in Anlehnung an diese Vorschrift mit konz. Schwefelsäure zum Rückfluss erhitzt. Es konnte eine Umsetzung beobachtet werden, aber diese war zu gering, um die entstandene Verbindung identifizieren zu können. Auf der DC konnte neben dem Edukt noch ein weiterer Fleck mit einem kleineren R_f -Wert beobachtet werden, der aber nicht dem gewünschten Produkt entsprach. Eine GC/MS-Analyse des Rohproduktes lieferte nur das Signal des Edukts. Die Cyclisierung wurde auch mit Trifluormethansulfonsäure versucht. Trifluormethansulfonsäure ist eine Supersäure und aktiviert Elektrophile für den Angriff auf Nukleophile. Hwang et al.¹⁵⁰ führten Friedel-Crafts-artige Acylierungen am Aromaten mit Trifluormethansulfonsäure durch. Sie konnten zeigen, dass durch Trifluormethansulfonsäure aktivierte Benzoessäuremethylester mit Phenylderivaten in guten bis sehr guten Ausbeuten reagieren. In Anlehnung an Hwang et al. wurde **115** unter N_2 -Atmosphäre in Trifluormethansulfonsäure bei 85 °C gerührt. Im 1H -NMR-Spektrum des Produkts konnten entsprechende Signale und Kopplungskonstanten für den Azafluorenon-Grundkörper zwar beobachtet werden, aber im NMR-Spektrum fehlte das Singulett-Signal für die Methoxygruppe bei einer chemischen Verschiebung von 3.86 ppm. Stattdessen wurde ein Singulett-Signal bei einer chemischen Verschiebung von 10.40 ppm beobachtet, welches dafür spricht, dass eine

phenolische Struktur entstanden sein muss. Die Massenspektroskopie bestätigte dies, da eine Verbindung mit einem Molekulargewicht von 211 g/mol entstanden war, d.h. 14 weniger als die gewünschte Verbindung **44** mit einem Molekulargewicht von 225 g/mol. Neben der Cyclisierung ist es auch zu einer Spaltung des Ethers gekommen. Das Phenol **140** wurde in einer Ausbeute von 46 % isoliert (Abb. 106).

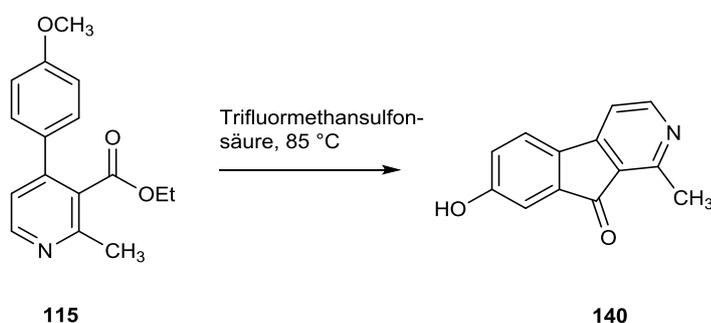
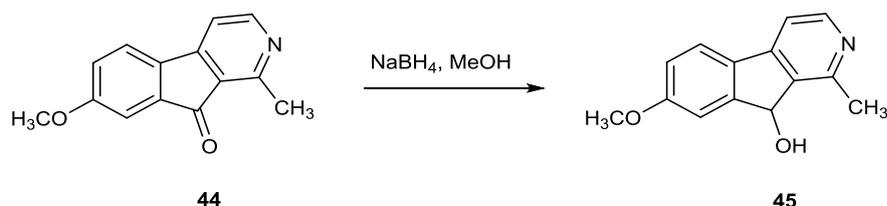


Abb. 106 Intramolekulare Acylierung und Etherspaltung zum Phenol **140**

Das Azafluorenon **44** konnte über eine intramolekulare Acylierung ausgehend vom Ester **115** hergestellt werden. Die bisherigen Versuche haben gezeigt, dass PPA als Säure für die Cyclisierung benötigt wird. Auf die weitere Optimierung der intramolekularen Acylierung von **115** zu **44** wurde verzichtet, da zwischenzeitlich biologische Testergebnisse der Desaza-Analoga von Harmin (Synthesen siehe Kapitel 3.3.3.1.2. bis 3.3.3.1.4.) gezeigt hatten, dass durch das Ersetzen des Pyrrol-Stickstoffs durch kohlenstoffhaltige Reste die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A gesenkt wird. Ausgehend von **44** wurden noch weitere Modifikation am Ring B durchgeführt.

3.3.3.1.2. Reduktion des Azafluorenons **44** zum Alkohol **45**

Im nächsten Schritt wurde das Keton **44** in Anlehnung an Rentzea et al.¹⁴¹ reduziert. Das Keton **44** wurde in Methanol gelöst, unter Eiskühlung Natriumborhydrid zugegeben und dann bei Raumtemperatur gerührt. Der Alkohol **45** entstand als Racemat in einer Ausbeute von 49% (Abb. 107).

Abb. 107 Reduktion zum Alkohol **45**

3.3.3.1.3. Versuch zur Synthese des Indeno[2,1-c]pyridins **46**

Für die reduktive Desoxygenierung von Alkoholen gibt es verschiedene Methoden. Als erstes wurde unter milden Bedingungen gearbeitet. Ionische Hydrierungen¹⁵¹ sind nicht-katalytische Hydrierungen, die häufig noch unter milderer Bedingungen als die katalytischen Hydrierungen ablaufen. Mit dieser Methode können C=C, C=O, C=N- Doppelbindungen und auch C-OH-Bindungen formal hydriert werden. Prinzip ist die Bildung eines Carbeniumions durch Protonierung einer Doppelbindung (Weg A) oder die heterolytische Spaltung der C-X Bindung (X = Hydroxyfunktion) und die Reaktion des dabei gebildeten Carbeniumions mit einem Hydridionendonator (Abb. 108).

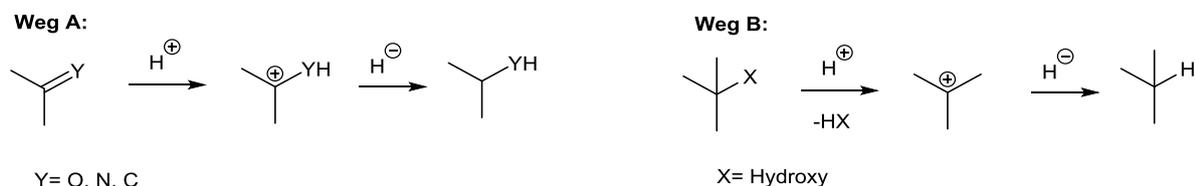


Abb. 108 Ionische Hydrierung

Das eingesetzte Reagenziengemisch besteht aus einem Protonendonator und einem Hydridionendonator. Als Protonendonator wird meistens Trifluoressigsäure und als Hydridionendonatoren Organosilane eingesetzt. Die ionische Hydrierung zeichnet sich durch eine hohe Chemoselektivität aus, da sie eine Möglichkeit zur gezielten Hydrierung bestimmter Bindungen darstellt. Unter geeigneten Bedingungen verlaufen ionische Hydrierungen auch stereoselektiv unter trans-Addition ab.

In Anlehnung an Tagmatarchis et al.¹⁴² wurde der Alkohol **45** und Triethylsilan unter N₂-Atmosphäre in Dichlormethan gelöst. Unter Eiskühlung wurde Trifluoressigsäure zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen

werden. Nach der selben Methode wurde auch versucht, das Keton **44** direkt zum Azafluoren **46** umzusetzen, aber es kam auch hier zu keiner Umsetzung zum gewünschten Produkt. Die ionische Hydrierung sollte über die Stufe des Alkohols erfolgen, der dann weiter zum Azafluoren reduziert werden sollte. Aber auch der Alkohol **45** konnte nicht beobachtet werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden (Abb. 109).

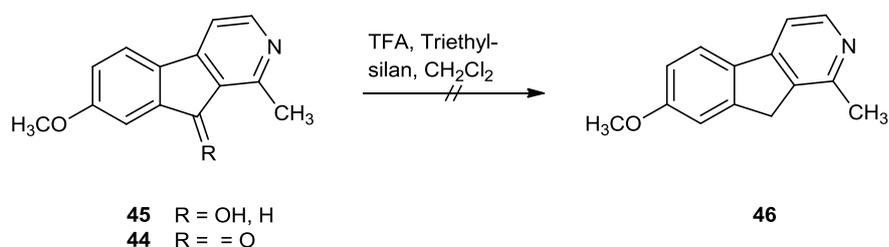


Abb. 109 Versuche zur ionischen Hydrierung des Alkohols **45** und des Ketons **44**

Ono et al.¹⁵² reduzierten Diaryl- und Arylalkylcarbinole mit Natriumborhydrid in Kombination mit wasserfreiem Aluminium(III)chlorid in sehr guten Ausbeuten. In Anlehnung an diese Vorschrift wurden **45**, Aluminiumchlorid und Natriumborhydrid in THF zum Rückfluss erhitzt. Es kam auch hier zu keiner Umsetzung und nur Edukt konnte zurückgewonnen werden (Abb. 110).

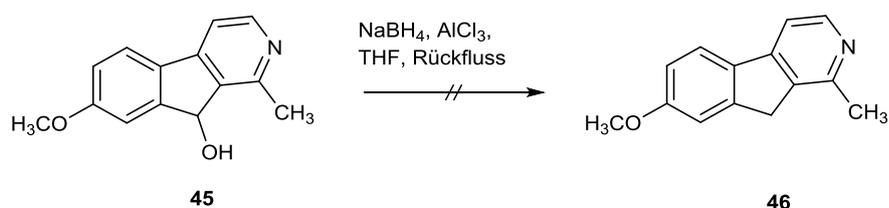


Abb. 110 Versuch zur Reduktion von **45** mit Natriumborhydrid und Aluminiumchlorid

Da mit den oben beschriebenen Methoden keine Umsetzung erzielt werden konnte, wurde in den nächsten Versuchen Methoden verwendet, die unter härteren Bedingungen ablaufen. Versuche zur Hydrogenolyse des Alkohols **45** bzw. des tricyclischen Ketons **44** wurden in Anlehnung an Almeida et al.¹⁵³ und Palackal et al.¹⁵⁴ durchgeführt, die Azafluorenone/ole und Fluorenone mit Wasserstoff und Pd/C zu den entsprechenden (Aza)fluorenen reduzierten. **44** bzw. **45** wurde mit Pd/C in Ethanol vorgelegt, mit Wasserstoff begast und unter Wasserstoffatmosphäre (1013 hPa) gerührt. Eine GC-MS-Analyse des Rohprodukts der Umsetzung von **45** zeigte,

dass neben dem nicht umgesetzten Edukt mit einem Molekulargewicht von 227 g/mol auch eine Verbindung mit einem Molekulargewicht von 229 g/mol entstanden war. Die Verbindung ist um 2 Einheiten schwerer als das Edukt, was dafür spricht, dass am Pyridinring hydriert wurde und nicht der Alkohol abgespalten wurde. Eine weitere Identifizierung mit Hilfe der NMR konnte auf Grund der geringen Umsetzung nicht erfolgen. Die Hydrierung von **44** lieferte den Alkohol **45** in einer Ausbeute von 15% und nicht umgesetztes Edukt. Von einem erneuten Versuch mit Zusatz von Säure, um die Hydrierung zu beschleunigen wurde verzichtet, da schon bei der Hydrierung des Alkohols **45** wahrscheinlich der Pyridinring hydriert wurde und nicht der Alkohol hydrogenolytisch abgespalten wurde (Abb. 111).

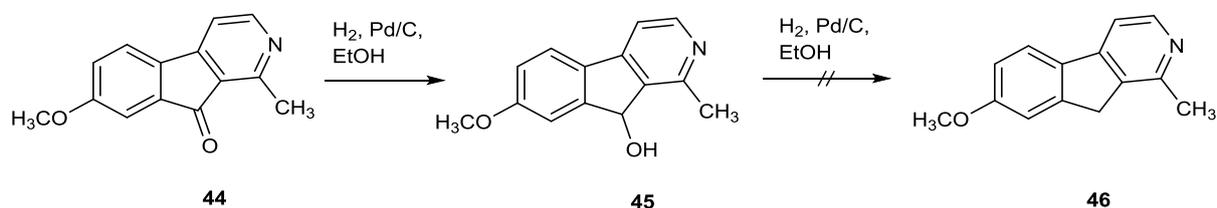


Abb. 111 Versuche zur Hydrogenolyse des Alkohols **45** und des tricyclischen Ketons **44**

Als nächstes wurde eine Wolff-Kishner-Reduktion^{155,156} durchgeführt. Feitelson et al.¹⁵⁷ haben 1952 eine Methode entwickelt, mit der sie Azafluorenone zu den entsprechenden Azafluorenen umsetzen können. Über eine Wolff-Kishner-Reduktion können Aldehyde und Ketone zu den entsprechenden Kohlenwasserstoffen umgesetzt werden. Die Carbonylverbindung **A** wird mit Hydrazin zum Hydrazn **B** umgesetzt. Baseninduziert erfolgt eine Elimination von Stickstoff. Das gebildete Carbanion wird zum Kohlenstoff **C** protoniert¹³⁴ (Abb. 112).

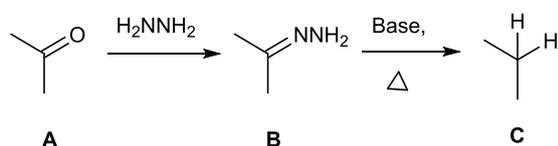


Abb. 112 Wolff-Kishner Reduktion am Beispiel des Acetons¹³⁴

In Anlehnung an die Vorschrift von Feitelson wurde das tricyclische Keton **44** und Kaliumhydroxid in Diethylenglycol suspendiert. Nach Zugabe des Hydrazin-Hydrats

wurde bei 150 °C und dann bei 185 °C gerührt. Es kam hier zur Zersetzung des Edukts.

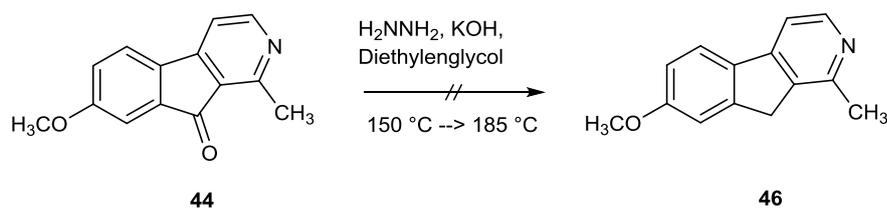


Abb. 113 Versuch zur Reduktion des Ketons **44** nach Wolff-Kishner

Da zwischenzeitlich biologische Testergebnisse der Desaza-Analoga von Harmin zeigten, dass die NH-Funktion des Pyrrols wichtig für die Hemmung der DYRK1A zu sein scheint, wurden keine weiteren Methoden oder Optimierungen der Versuche durchgeführt.

3.3.3.1.4. Wittig-Reaktion

Durch die Einführung einer Cyanomethylgruppe am Pyrrol-Stickstoff des Harmins konnte die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A im Vergleich zu Harmin gesteigert werden (siehe Kapitel 3.3.3.2.3.). Diese Modifikation sollte auch am Keton **44** durchgeführt werden. Als erstes sollte über eine Wittig-Reaktion eine Cyanomethylenfunktion an **44** eingeführt werden. Die Rigidisierung der Cyanomethylgruppe sollte zeigen, ob die freie Drehbarkeit der Cyanomethylgruppe wichtig für die biologische Aktivität ist. **47** sollte dann in Aachen auf inhibitorische Aktivität auf DYRK1A getestet werden. Sollte sich dort zeigen, dass diese Verbindung oder auch die anderen Desaza-Analoga die DYRK1A hemmen, dann sollte im nächsten Schritt versucht werden, über eine ionische Hydrierung die Doppelbindung der Cyanomethylenverbindung zu hydrieren, um somit ein 9-Desaza-Analogon von 9-Cyanomethylharmin (**136**) (Abb. 114) zu erhalten.

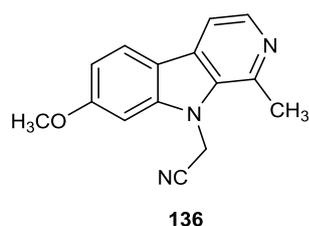


Abb. 114 Cyanomethylverbindung **136**

Als erstes wurde versucht über eine klassische Wittig-Reaktion¹⁵⁸ Verbindung **47** herzustellen. Es wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Epperson et al.¹⁵⁹ gearbeitet. Zur Herstellung des Phosphonium-Ylids wurde Natriumhydrid und (Cyanomethyl)triphenylphosphoniumchlorid in THF bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von **44** in THF zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Da keine Umsetzung stattfand, wurde der Ansatz zum Rückfluss erhitzt. Auch hier kam es zu keiner Umsetzung und nur Edukt konnte zurückgewonnen werden. Vermutlich kam es auf Grund sterischer Hinderung zu keiner Reaktion, da Wittig-Reagenzien mit ihren Phenylresten sterisch sehr anspruchsvoll sind (Abb. 115).

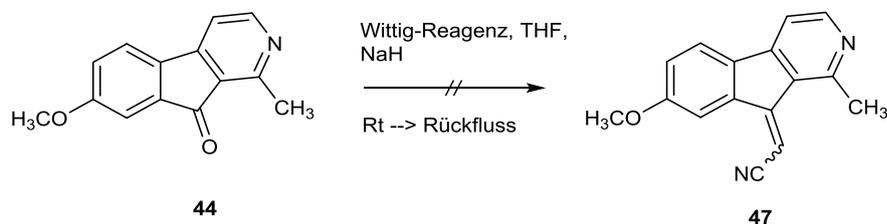


Abb. 115 Geplante Wittig-Reaktion zu **47**

Um den sterischen Effekt zu verringern, wurde als nächstes eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion¹⁶⁰ versucht. Hier werden anstelle von Phosphonium-Yliden Carbanionen eingesetzt. Carbanionen sind nukleophiler als die entsprechenden Phosphonium-Ylide, da die negative Ladung nicht durch das benachbarte Phosphoratom delokalisiert wird. Carbanion **B** wird aus dem Phosphonsäureester **A** durch Reaktion mit einer Base hergestellt¹³⁴. Im nächsten Schritt greift das Carbanion **B** nukleophil den Carbonylkohlenstoff **C** an. Das dabei gebildete Betain **D** reagiert zu einem Oxaphosphetan **E** weiter, welches im nächsten Schritt zum Olefin **F** und einem Phosphorsäureester **G** zerfällt. Triebkraft hierbei ist die Ausbildung einer sehr starken Phosphor-Sauerstoff-Doppelbindung. Der Reaktionsmechanismus wird in Abb. 116 mit Diethylcyanomethylphosphonat dargestellt.

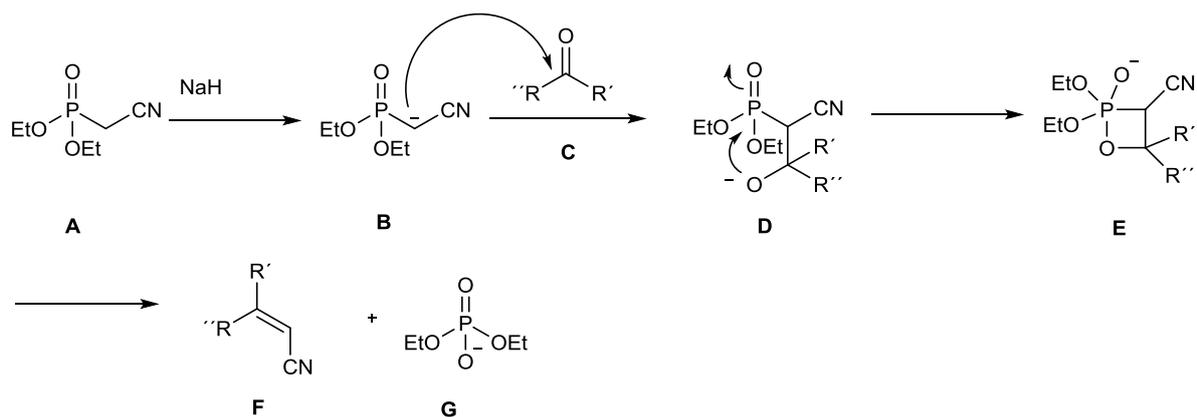
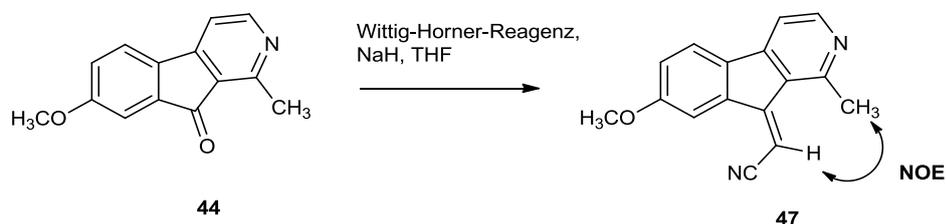


Abb. 116 Reaktionsmechanismus der Wittig-Horner-Reaktion

Die Synthese von **47** erfolgte in Anlehnung an Epperson et al.¹⁵⁹. Natriumhydrid und Diethylcyanomethylphosphonat wurden in THF vorgelegt und bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde eine Lösung des Ketons **44** in THF zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. **47** konnte in einer Ausbeute von 22 % isoliert werden (Abb. 117).

Abb. 117 Wittig-Horner Reaktion zu **47**

Mit Hilfe von NOE-Experimenten wurde nachgewiesen, dass das E-Isomer **47** entstanden war. Es wurde auf das Resonanzsignal der Methylgruppe an C-1 bei 2.75 ppm eingestrahlt. Dabei konnte eine Intensitätserhöhung des Signals von $1'$ -H, welches vorher mit 2-D Spektren sicher zugeordnet werden konnte, beobachtet werden. Der Resonanzeffekt von $1'$ -H bestätigt, dass $1'$ -H und die Methylgruppe an C-1 auf der selben Seite der Doppelbindung liegen. Die Cyanomethylenverbindung **47** liegt somit als E-Isomer vor (Abb. 118).

Die biologische Testung zeigte, dass die Cyanomethylenverbindung **47** die DYRK1A nicht so potent hemmt wie Harmin (**1**). Da auch die anderen synthetisierten Desaza-Analoga die DYRK1A nicht stärker hemmen konnten als Harmin, wurde auf die

Hydrierung von **47** und auf die Synthese weiterer Wittig-Produkte verzichtet. Die bisherigen biologischen Testergebnisse der 9-Desaza-Analoga von Harmin hatten gezeigt, dass der Pyrrol-Stickstoff wichtig für die Interaktion mit der DYRK1A ist. Auf Grund dieser Ergebnisse wurden keine weiteren Derivate der 9-Desaza-Analoga mehr hergestellt.

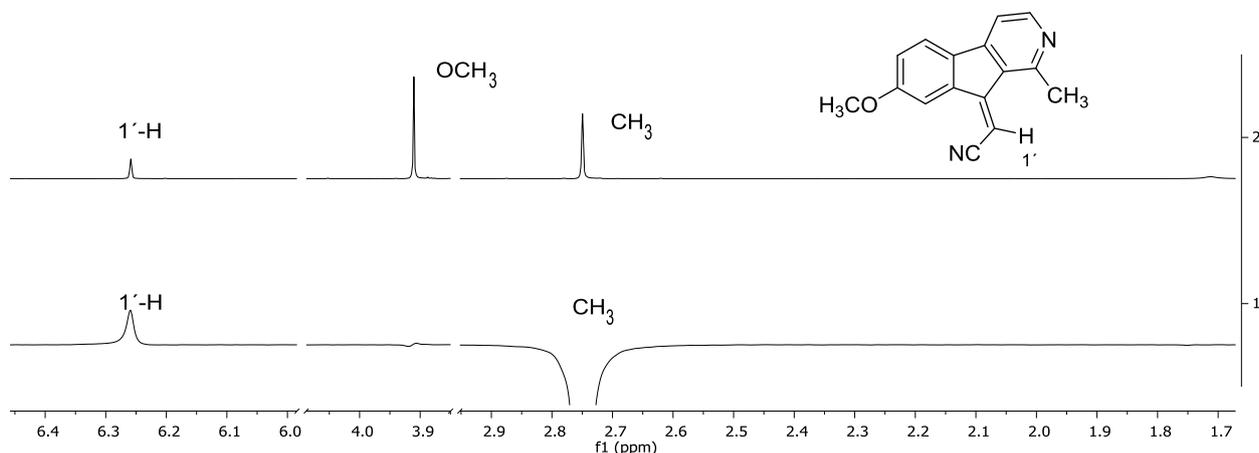


Abb. 118 Ausschnitt aus dem ¹H-NMR-Spektrum (oben) und NOE-Experiment (unten) der Cyanomethylenverbindung **47**

3.3.3.1.5. Synthese von 2-Desaza-Harmin (**43**) im Rahmen einer Masterarbeit

Unter meiner technischen Anleitung wurde in der Masterarbeit von Veronika Hogger¹⁶¹ das 2-Desaza-Harmin (**43**) hergestellt. Ausgehend von der literaturbekannten Verbindung **141**¹⁶² wurde über eine Grignard-Reaktion mit Methylmagnesiumiodid begleitet von spontaner Dehydratisierung und Dehydrierung 2-Desazaharmin (**43**) in einer Ausbeute von 25 % hergestellt¹⁶¹. Die dazugehörige Synthesevorschrift ist in der Masterarbeit von Hogger zu finden (Abb. 119).

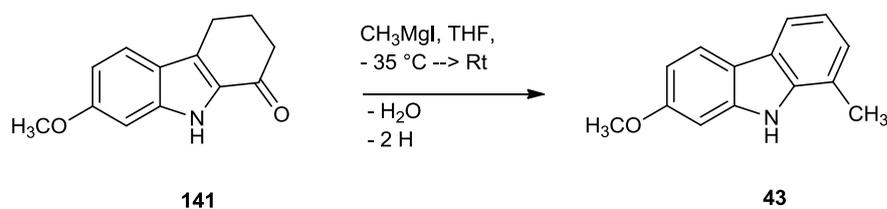


Abb. 119 Synthese von 2-Desaza-Harmin (**43**) von Hogger

3.3.3.2 Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs von Harmin

3.3.3.2.1 Einfache *N*-Alkylderivate

Bei der Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs von Harmin (**1**) wurden unterschiedliche Basen eingesetzt. Die hergestellten Verbindungen werden im Folgenden nicht chronologisch erwähnt, sondern sie werden je nach eingesetzter Base zusammengefasst.

1. *N*-Alkylierung mit Natriumhydrid als Base

Cao et al.¹⁶³ publizierten 2004 eine Methode für die *N*-Methylierung, -Butylierung und -Benzylisierung von Harmin (**1**), die in guten Ausbeuten verläuft. Analog zu dieser Vorschrift wurden Harmin (**1**), das entsprechende Alkylbromid bzw -iodid und Natriumhydrid in einem 1:1 Gemisch von trockenem DMF und THF bei Raumtemperatur gerührt. Bei der Butylierung und Benzylisierung des Pyrrolstickstoffs wurde zum Rückfluss erhitzt. Das methylierte Harmin **142** und das butylierte Harmin **131** konnten nur in Ausbeuten von 9 % bzw. 2 % erhalten werden. Zusätzlich konnte noch Edukt zurückgewonnen werden. Das benzylierte Harmin **143** konnte auf Grund der geringen Umsetzung nicht vollständig aufgereinigt werden. **143** und **131** konnten auch durch Erhöhung der Zahl der Äquivalente nicht in höheren Ausbeuten hergestellt werden und wurden deswegen mit einer anderen Methode dargestellt (Abb. 120).

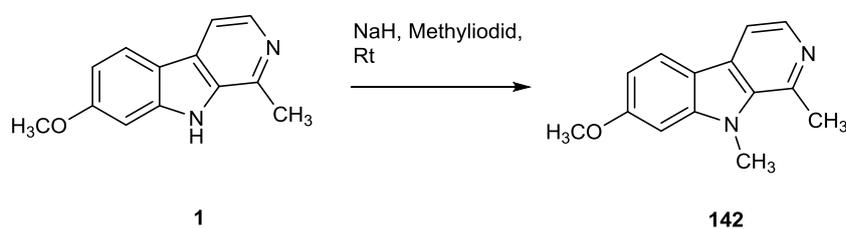


Abb. 120 *N*-Alkylierung von Harmin (**1**) mit Methyljodid

Die folgenden Alkylierungen wurden in Anlehnung an Nielsch et al.¹⁴⁴ durchgeführt. Hier werden Harmin, Base und Alkylierungsreagenz in einem Verhältnis von 1:1:1 eingesetzt. Cao et al.¹⁶³ haben bei ihren *N*-Alkylierungen einen Überschuss an Base und Alkylierungsreagenz eingesetzt, was zur Alkylierung des Harmins (**1**) an N-2 und

N-9 führen könnte. Cao et al.¹⁶⁴ beschreiben in einer Veröffentlichung aus dem Jahr 2005, dass je nach eingestellter Temperatur die Stickstoffe an Position 2 und 9 der Harmanderivate alkyliert werden. Ob dies auch bei der Darstellung von *N*-Methyl-(**142**), Butyl-(**131**) und Benzylharmin (**143**) erfolgte, wurde nicht weiter untersucht. Harmin (**1**) und Natriumhydrid wurden in trockenem DMF bei 40 °C gerührt. Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung wurde das entsprechende Alkylierungsreagenz zugegeben und bei 40 °C gerührt (Abb. 121).

Die auf diesem Weg synthetisierten Verbindungen werden zusammen mit den Ausbeuten in Tabelle 1 dargestellt.

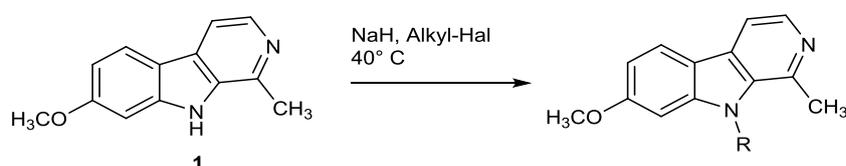


Abb. 121 *N*-Alkylierung von Harmin (**1**) mit NaH als Base

Produkt	Hal	R	Ausbeute in %
144	Br		25
145	Br		13
146	Cl		62
147	Cl		9

Tabelle 1 *N*-Alkylderivate des Harmins (**1**)

Die biologische Testung der Cinnamylverbindung **148** (Synthese siehe unter 2. *N*-Alkylierung mit Kalium-*tert*-butylat als Base) hatte ergeben, dass durch die Einführung eines Cinnamylrestes an Harmin (**1**) die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A erhöht wird. Dieser Effekt sollte durch Modifikation des Cinnamylrestes weiter untersucht werden. Es sollte ein gesättigtes Derivat von **148** und ein Oxa-Analogon (Abb. 122 Struktur Y), bei dem ein Kohlenstoff des Phenylpropylestes

durch einen Sauerstoff ersetzt wird, hergestellt werden. Der Sauerstoff würde eine zusätzliche Interaktionsmöglichkeit für die ATP-Bindungstasche der Kinase bieten. Als weitere Modifikation sollte der Cinnamylrest noch rigidisiert werden (Struktur Z, Naphthyl) bzw. es sollten noch polare Reste wie zum Bsp. Indolyl, Benzofuranyl oder Benzothiophenyl eingeführt werden (Abb. 122, Struktur W).

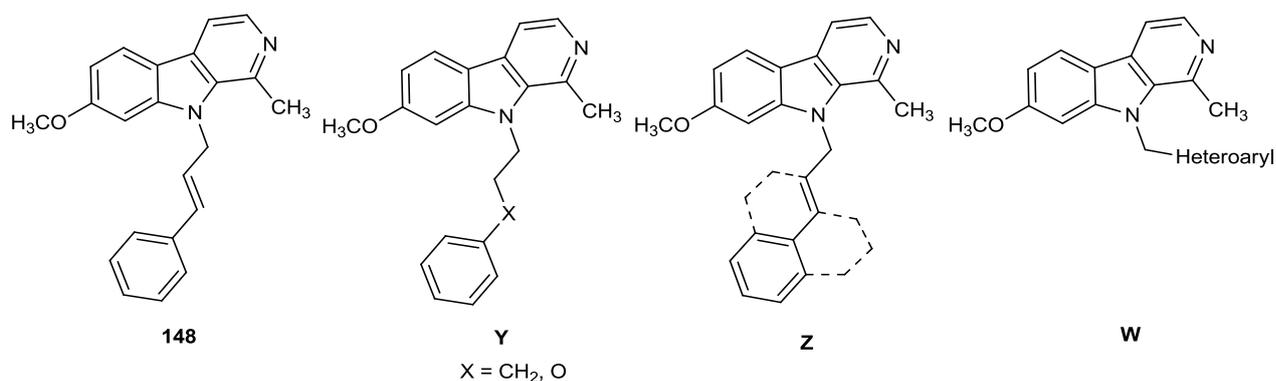
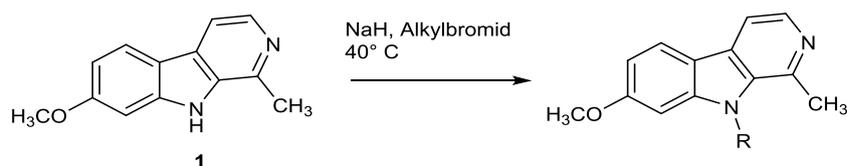


Abb. 122 Geplante Strukturvariationen **Y**, **Z** und **W** des Cinnamylderivates **148**

Die Alkylierungen wurden in Anlehnung an die oben beschriebene Methode von Nielsch et al.¹⁴⁴ durchgeführt (Abb. 123). Die hergestellten Verbindungen und ihre Ausbeuten werden in Tabelle 2 dargestellt. Das Naphthylethylderivat **149** war laut einer GC/MS-Analyse des Rohproduktes entstanden, aber die Umsetzung war zu gering, um eine vollständige Charakterisierung durchführen zu können. Die biologische Testung des Naphthylmethylderivates **150** zeigte, dass durch die Einführung dieser Gruppe die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A verloren ging. Aus diesem Grunde wurden keine weiteren Optimierungsversuche mehr für die Synthese des Naphthylethyderivates **149** durchgeführt. Auch auf die Einführung der polaren Reste wie zum Bsp. Indolyl wurde verzichtet, da die biologische Testung des Phenoxyethylderivates **151** und des Naphthylmethylderivates **150** gezeigt hatte, dass die DYRK1A nicht mehr so stark gehemmt wird. Die Synthese des literaturbekannten Phenylpropylderivates **152**¹⁶³ wurde in Anlehnung an Nielsch et al.¹⁴⁴ durchgeführt. Die Synthese konnte mit der selben Ausbeute unter milderer Bedingungen durchgeführt werden. Da in der Literatur keine vollständige Angabe der analytischen Daten erfolgte, wurde das Phenylpropylderivat **152** in den experimentellen Teil dieser Arbeit mit aufgenommen.

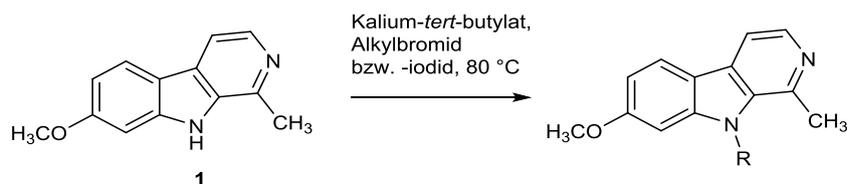
Abb. 123 N-Alkylierung des Harmins (**1**) mit NaH als Base-Teil 2

Produkt	R	Ausbeute in %
152		49
151		31
150		41
149		-

Tabelle 2 Strukturanaloga des Cinnamylderivats **148**

2. N-Alkylierung mit Kalium-*tert*-butylat als Base

Das *N*-Butyl- (**131**) bzw. *N*-Benzylharmin-Derivat (**143**) und die Cinnamylverbindung **148** wurden in Anlehnung an eine Vorschrift, die unserem Arbeitskreis von Ritter⁵⁹ und Pohl⁵⁸ etabliert worden ist, hergestellt. Harmin (**1**) und Kalium-*tert*-butylat wurden in DMSO gelöst und bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde das entsprechende Alkylbromid bzw. -iodid zugegeben und bei 80 °C gerührt (Abb. 124). Die hergestellten Verbindungen werden zusammen mit ihren Ausbeuten in Tabelle 3 dargestellt.

Abb. 124 N-Alkylierung von Harmin (**1**)

Produkt	Halogenid	R	Ausbeute in %
131	I		68
143	Br		25
148	Br		23

Tabelle 3 N-Alkylderivate des Harmins (**1**)

3.3.3.2.2. Aminoalkylderivate des Harmins

Hill et al.¹⁶⁵ haben 2009 eine Methode für die Einführung von Aminoalkylresten an Indolderivate entwickelt. In Anlehnung an diese Vorschrift wurden Harmin (**1**) und Natriumhydrid in THF suspendiert und bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe des entsprechenden Alkylierungsreagenzes wurde zum Rückfluss erhitzt (Abb. 125). Die biologische Testung der Dimethylaminopropylverbindung **153** hatte gezeigt, dass durch die Einführung eines Dimethylaminopropylrestes eine zu Harmin (**1**) vergleichbare Hemmung der DYRK1A erreicht werden kann. Im Gegensatz dazu hemmt die um eine Methyleneinheit kürzere Dimethylaminoethylverbindung **154** die DYRK1A nicht mehr. Um dies noch weiter zu untersuchen, sollten auch noch Aminoalkyl-Reste eingeführt werden, die an der distalen Aminogruppe voluminöser sind. Hierbei wurden kommerziell erhältliche Alkylierungsreagenzien verwendet. Die synthetisierten Verbindungen werden zusammen mit ihren Ausbeuten in Tabelle 4 dargestellt. Das literaturbekannte Dimethylaminopropylderivat **153**¹⁶⁶ wurde nicht analog zur Literatur sondern in Anlehnung an Hill et al.¹⁶⁵ hergestellt. Da in der Literatur keine vollständige Angabe der analytischen Daten erfolgte, wurde das

Dimethylaminopropylderivat **153** in den experimentellen Teil dieser Arbeit mit aufgenommen.

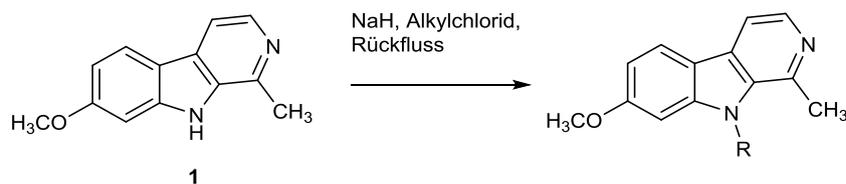


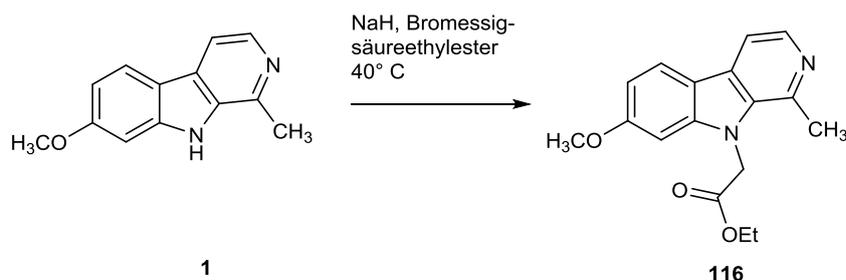
Abb. 125 Synthese von Aminoalkylderivaten des Harmins (**1**)

Produkt	R	Ausbeute in %
153		66
154		36
155		17
156		46
157		33

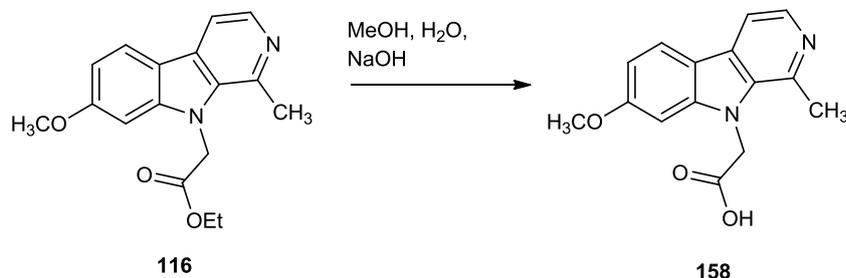
Tabelle 4 Synthetisierte Aminoalkylderivate des Harmins (**1**)

3.3.3.2.3. Einführung von polaren Resten mit einem CH₂-X Motiv

Die Synthese der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** wurde nach Nielsch et al.¹⁴⁴ durchgeführt. Harmin und Natriumhydrid wurden in trockenem DMF suspendiert und bei 40 °C gerührt. Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung wurde Bromessigsäureethylester zugegeben und bei 40 °C gerührt. **116** wurde in einer Ausbeute von 55 % erhalten. Da bei Nielsch et al.¹⁴⁴ nur der Schmelzpunkt angegeben wurde, wurde die Synthese der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** und die Angabe der analytischen Daten im Experimentellen Teil mit aufgenommen (Abb. 126).

Abb. 126 Synthese der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116**

Die biologische Testung der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** zeigte, dass diese Verbindung eine mit Harmin vergleichbare Hemmung der DYRK1A aufweist, aber im Gegensatz zu Harmin nicht mehr die MAO-A hemmt. Um dies noch genauer zu untersuchen bzw. um zusätzlich zur hiermit gewonnenen Selektivität auch eine im Vergleich zu Harmin (**1**) stärkere Hemmung der DYRK1A zu erreichen, sollte die entsprechende Carboxymethylverbindung, andere Ester und deren Homologe, Amide, Ketone und verwandte Verbindungen wie zum Bsp. ein Cyanomethylderivat hergestellt werden. Die Synthese der Carboxymethylverbindung **158** erfolgte in Anlehnung an Ritzeler et al.¹⁶⁷. Der Ethylester **116** wurde in einer 1:1 Mischung aus Methanol und Wasser gelöst. Nach Zugabe von 1 M Natronlauge wurde bei Raumtemperatur gerührt. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte bei einer chemischen Verschiebung von 9.90 ppm ein breites Singulettsignal. In diesem Bereich liegen die Signale für die Hydroxyfunktion der Carbonsäure. Zudem fehlten die Signale der Ethylgruppe des Esters. Das Hydrolyseprodukt konnte in einer Ausbeute von 75 % isoliert werden (Abb. 127).

Abb. 127 Synthese der Carboxymethylverbindung **158**

Die Synthesen der zur Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** homologen Ester erfolgten mit einem Äquivalent Natriumhydrid als Base. Beim Versuch zur

Darstellung der Ethoxycarbonyl ethylverbindung **159** konnte keine Umsetzung erzielt werden. Möglicherweise reagiert 3-Brompropionsäureethylester in einer β -Elimination zu Acrylsäureethylester ab. Für eine anschließende Michael-Addition mit Harmin (**1**) würde dann weitere Base benötigt werden. Durch Erhöhung der Zahl der Äquivalente an Base auf 3 konnte bei der Synthese der Ethoxycarbonyl ethylverbindung **159** eine Umsetzung erzielt werden. Der Ester **159** wurde in einer Ausbeute von 12 % gewonnen (Abb. 128). Die Synthese des um eine Methylengruppe verkürzten Analogons von **116**, des Carbamatderivates **160**, konnte durch Anwendung dieser Methode zwar wahrscheinlich erzielt werden, aber die Verbindung konnte nicht aufgereinigt werden, um eine vollständige Charakterisierung durchführen zu können (Tabelle 5). Eine GC/MS-Analyse des Rohproduktes zeigte ein Signal bei m/z 284, was dem Molekulargewicht der gewünschten Verbindung entsprechen würde. Das Fragmentierungsmuster m/z 284 \rightarrow 211 wurde für die Abspaltung eines Ameisensäureethylesterrests sprechen (Abb. 129). Da es sich bei den weiteren Synthesen und biologischen Testungen herausstellte, dass sich durch Einführung eines Cyanomethylrestes die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A noch weiter steigern lassen konnte, wurde diese Synthese nicht weiter verfolgt.

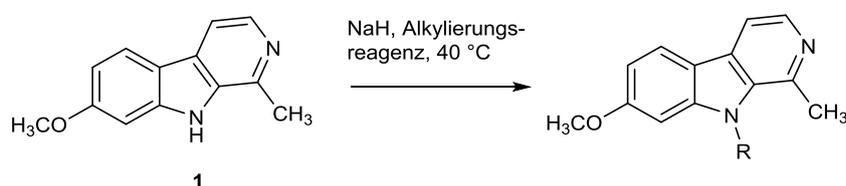


Abb. 128 Synthese der homologen Ester von Harmin (**1**)

	Hal	R	Ausbeute in %
159	Br		12
160	Cl		-

Tabelle 5 Homologe Ethylesterderivate

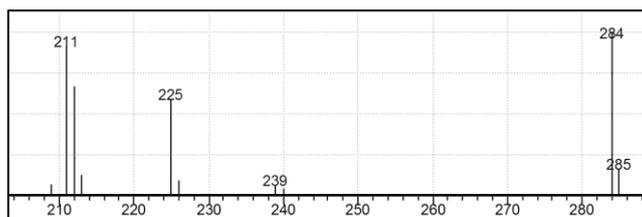


Abb. 129 Massenspektrum des Rohprodukts von **160**

Versuch zur Synthese der Methoxycarbonylmethylverbindung **161** und der Isopropoxy-carbonylmethylverbindung **162** wurden ausgehend von der Ethoxycarbonyl-methylverbindung **116** durchgeführt. Es wurden zwei verschiedene Methoden zur Umesterung verwendet. Bei der ersten Methode wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Hilz¹⁶⁸ gearbeitet. **116** wurde in Methanol bzw. Isopropanol mit konz. Schwefelsäure zum Rückfluss erhitzt. Bei beiden Umsetzungen konnte nur Edukt zurückgewonnen werden (Abb. 130). Remme et al.¹⁶⁹ entwickelten eine Methode für die Umesterung¹⁷⁰ von Ethylestern unter Katalyse der Lewisäure Scandium(III)triflat. Sie konnten diverse Ethylester, darunter auch weniger reaktive aromatische und konjugierte Ester zu den entsprechenden Methyl- bzw. zu den sterisch anspruchsvolleren Isopropylestern umsetzen. In Anlehnung an diese Vorschrift wurden **116** und katalytischen Mengen an Scandiumtriflat in Methanol bzw. Isopropanol zum Rückfluss erhitzt. Eine GC/MS Analyse des Rohprodukts der Synthese des Methylesters **161** zeigte, dass die Umesterung wahrscheinlich funktioniert hatte, aber die Umsetzung war zu gering, um eine weitere Charakterisierung durchführen zu können. Beim Versuch zur Umesterung zum Isopropylester **162** konnte nur Edukt zurückgewonnen werden (Abb. 130). Bei beiden Methoden konnte auf der DC noch ein weiterer, sehr polarer Fleck beobachtet werden, was dafür spricht, dass es nur zur Hydrolyse des Esters gekommen war.

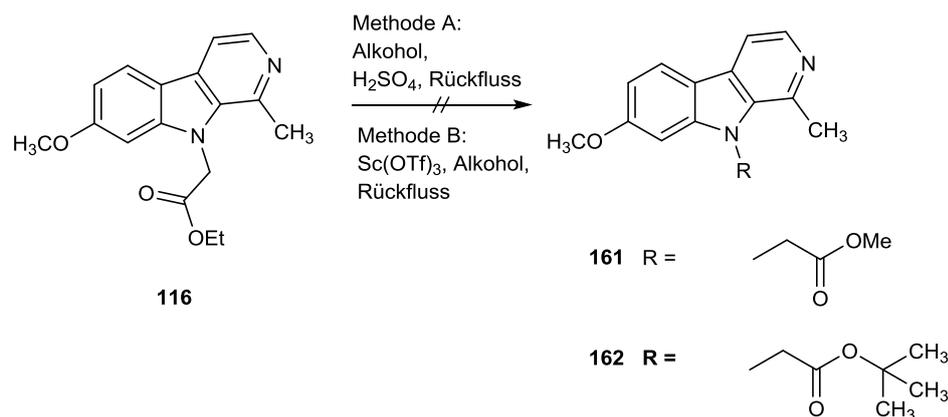
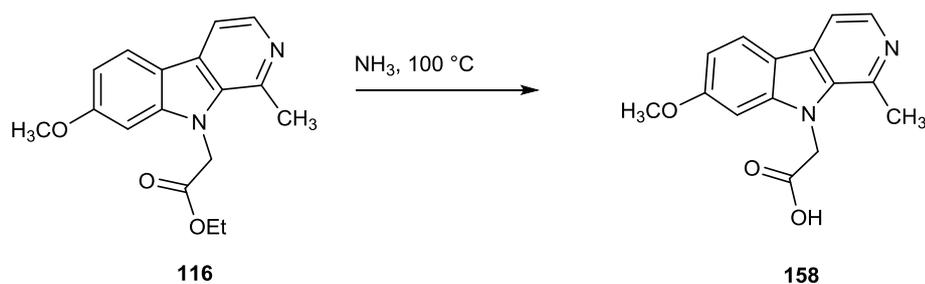


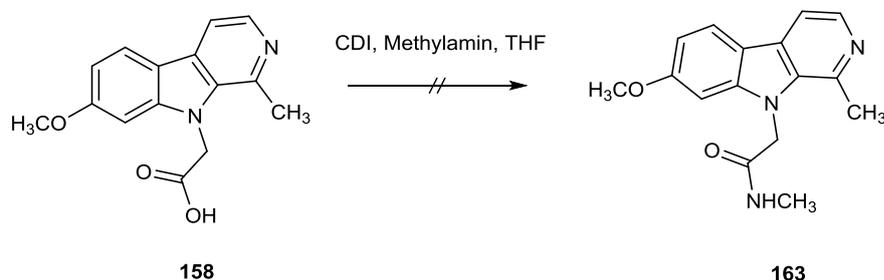
Abb. 130 Versuchte Umesterung des Ethylesters **116**

Da die Versuche zur Umesterung erfolglos verliefen, wurde als nächstes versucht, die beiden gewünschten Esterverbindungen über eine *N*-Alkylierung von Harmin (**1**) mit Natriumhydrid als Base und Bromessigsäuremethylester bzw. Bromessigsäureisopropylester als Alkylierungsreagenz zu erhalten. Der Methylester **161** wurde in einer Ausbeute von 11 % erhalten. Der Isopropylester **162** war laut GC/MS Analyse des Rohproduktes entstanden, die Umsetzung war aber zu gering, um **162** vollständig charakterisieren zu können. Durch Variation von Base und Lösungsmittel konnte Verbindung **162** in einer Ausbeute von 10 % erhalten werden. Harmin (**1**) und Kalium-*tert*-butylat wurden in DMSO vorgelegt und bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde Bromessigsäureisopropylester zugegeben und es wurde bei 80 °C gerührt.

Zur Herstellung von Acetamid-Derivaten wurde zuerst vom Essigester **116** ausgegangen. Hung et al.¹⁷¹ haben 2009 eine Methode für die Aminolyse von Ethylesterderivaten der Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]-indole veröffentlicht. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde **116** in konz. Ammoniaklösung (25 %ig) bei 100 °C gerührt. Mit Hilfe der NMR-, IR- und Massenspektroskopie wurde herausgefunden, dass es hier nur zur Hydrolyse des Esters zur Carbonsäure gekommen war (Abb. 131).

Abb. 131 Basische Hydrolyse des Essigesters **116**

In Anlehnung an eine Vorschrift von Strödke⁶³ wurde die Carboxymethylverbindung **158** mit *N,N*-Carbonyldiimidazol (CDI) und Methylamin in THF bei Raumtemperatur gerührt. CDI, auch Staab-Reagenz¹⁷² genannt, wird hier zur Aktivierung der Carbonsäure eingesetzt. CDI bildet mit der Carbonsäure ein Acylimidazol, welches in seiner Reaktivität den Carbonsäurehalogeniden äquivalent ist. Das gebildete Acylimidazol reagiert im nächsten Schritt unter Abspaltung von Imidazol mit anderen Nukleophilen wie zum Bsp. Aminen. Es kam hier zu keiner Umsetzung und es konnte nur die Carboxymethylverbindung **158** zurückgewonnen werden.

Abb. 132 Versuch zur Darstellung des Carbonsäureamids **163**

Da die Versuche zur Aminolyse des Essigesters **116** erfolglos waren, wurde zur Herstellung der gewünschten Amide von Harmin (**1**) ausgegangen, das mit kommerziell erhältlichen Halogenacetamiden umgesetzt werden sollte. In Anlehnung an Nielsch et al.¹⁴⁴ wurde Harmin mit Natriumhydrid und den entsprechenden Halogenacetamiden umgesetzt (Abb. 133). Die auf diesem Weg hergestellten Derivate von Harmin (**1**) werden zusammen mit ihren Ausbeuten in Tabelle 6 dargestellt. Die experimentellen Daten der *N,N*-Dimethylaminocarbonylmethylverbindung **164** wurden in den experimentellen Teil mit aufgenommen, da Nielsch et al.¹⁴⁴ nur den Schmelzpunkt angeben haben.

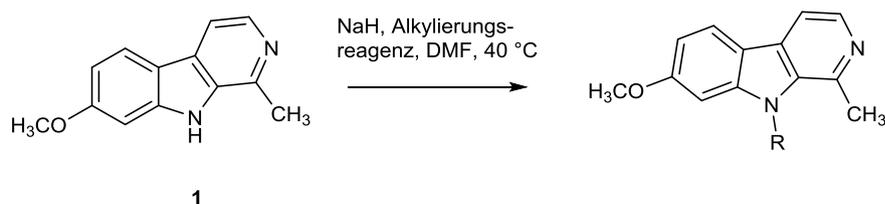


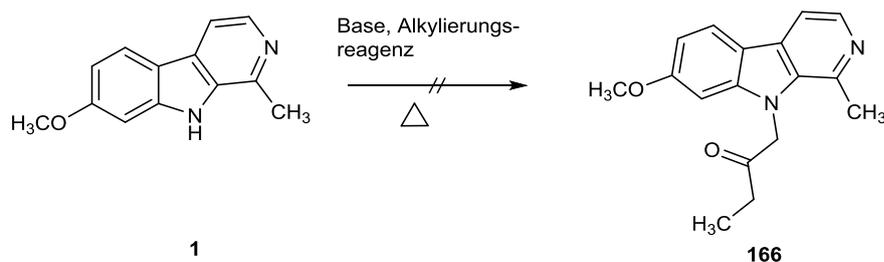
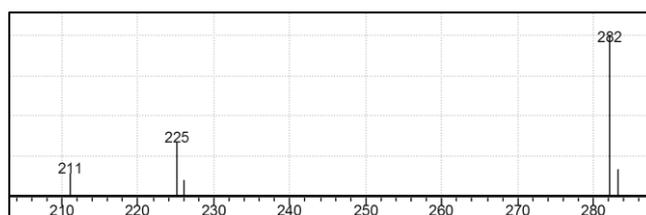
Abb. 133 Synthese der Acetamid-Derivate

Produkt	Hal	R	Ausbeute in %
163	Cl		33
164	Br		14
165	Cl		26

Tabelle 6 Aminocarbonylmethylverbindungen mit Ausbeuten

Neben den Alkoxy-carbonylmethyl- und Aminocarbonylmethyl-Derivaten sollte auch ein Ketonderivat des Harmins (**1**) hergestellt werden. Dazu wurde Harmin (**1**) mit dem kommerziell erhältlichen 1-Brom-2-butanon umgesetzt. Als Base wurde Natriumhydrid verwendet. Auch durch Änderung der Temperatur und Äquivalente kam es hier zu keiner Umsetzung. In Anlehnung an Ritter⁵⁹ wurde Harmin (**1**) und Kalium-*tert*-butylat in DMSO suspendiert und bei 80 °C gerührt. Nach Zugabe von 1-Brom-2-butanon wurde bei 80 °C gerührt (Abb. 134). Ein GC/MS-Analyse des Rohproduktes (Abb. 135)

zeigte ein Signal mit einem Massenpeak von 282 g/mol und auch das Fragmentierungsmuster (282 → 211; Abspaltung des Butanon-Restes) würde dafür sprechen, dass **167** entstanden war, aber die Umsetzung war zu gering, um die Verbindung sauber isolieren zu können.

Abb. 134 Versuch zur Synthese des Ketons **166**Abb. 135 Massenspektrum des Rohprodukts von **166**

Vermutlich reagiert 1-Brom-2-butanon in einer durch Base katalysierten Aldolreaktion ab, bevor es mit Harmin reagieren kann. Da aber die biologischen Testergebnisse gezeigt hatten, dass besonders durch die Einführung eines Cyanomethylrestes die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A gesteigert werden kann, wurde auf die Synthese des Ketons **166** und weitere Analoga bzw. Homologe des Essigesters **116** verzichtet.

Die Synthese der Cyanomethylverbindung **136** wurde nach einer Vorschrift von Nielsch et al.¹⁴⁴ mit Natriumhydrid als Base und Bromacetonitril als Alkylierungsreagenz durchgeführt. Die Cyanomethylverbindung **136** wurde in einer Ausbeute von 16 % erhalten. Eine Erhöhung der Äquivalente an Base führte zu keiner Steigerung der Umsetzung. Anstelle von Natriumhydrid wurde abweichend von Nielsch et al.¹⁴⁴ auch Caesiumcarbonat als Base eingesetzt und die Ausbeute betrug 17 % (Abb. 136). Da Nielsch et al. nur den Schmelzpunkt angegeben haben, wurde im experimentellen Teil die vollständige Analytik von **136** mit aufgenommen.

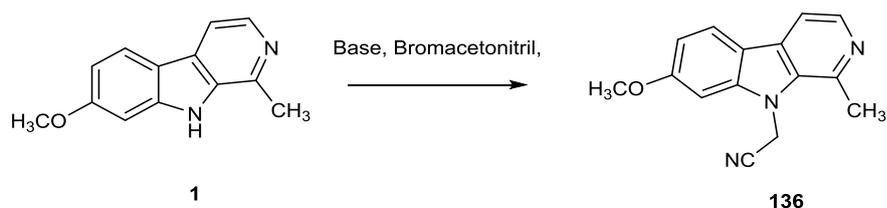


Abb. 136 Synthese der Cyanomethylverbindung **136**

Die biologische Testung der Cyanomethylverbindung **136** hatte ergeben, dass **136** im Vergleich zu Harmin die DYRK1A noch stärker hemmt. Um dies noch weiter zu untersuchen, sollte ein Propargylderivat und die homologe Cyanoethylverbindung hergestellt werden. Da **136** immer noch eine, wenn auch im Vergleich zu Harmin (**1**), geringere inhibitorische Restaktivität auf die MAO-A aufweist, sollte zusätzlich noch eine an der Methylengruppe verzweigte Cyanomethylverbindung hergestellt werden (Verbindung **168**). Durch die Verzweigung sollte die Verbindung ähnlich zum Ethylester **116**, der die MAO-A nicht mehr hemmt, sterisch anspruchsvoller gemacht werden. Die Synthese des Propargylderivates, des homologen und des verzweigten Nitrils wurde mit Natriumhydrid als Base durchgeführt (Abb. 137). **168** entstand als Racemat. Die auf diesem Weg hergestellten Verbindungen werden in Tabelle 7 mit ihren Ausbeuten dargestellt. Bei der Synthese der Propargylverbindung **135** wurde die Umsetzung optimiert, indem 1.3 Äquivalente an Base eingesetzt wurden. Mit einem Äquivalent an Base konnte beim Versuch zur Herstellung der Cyanoethylverbindung **167** keine Umsetzung erzielt werden. Möglicherweise kommt es hier zu einer β -Elimination von 2-Brompropionitril zu Acrylnitril, für einen nukleophilen Angriffs des Pyrrol-Stickstoffs an letzterem würde somit weitere Base benötigt werden. Bei dem Versuch, die Cyanoethylverbindung **167** herzustellen, wurden 2 Äquivalente an Base und bei der Cyanopropylverbindung **169** 2 bzw. 3 Äquivalente an Base eingesetzt. Beide Verbindungen konnten auf diesem Weg nicht hergestellt werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden (Abb. 137).

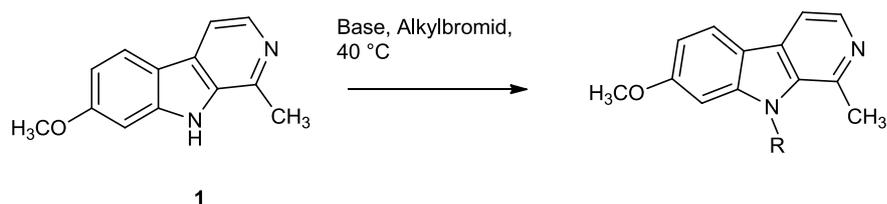


Abb. 137 Synthese der Analoga der Cyanomethylverbindung **136**

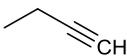
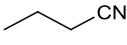
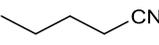
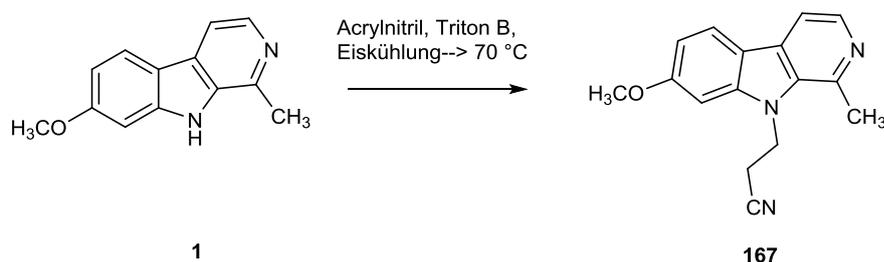
Produkt	R	Ausbeute in %
135		65
167		-
168		21
169		-

Tabelle 7 Propargylverbindung **135** und Nitrile **167**, **168** und **169**

In Anlehnung an Ritter⁵⁹ wurde daher Harmin (**1**) mit 1.1 Äquivalenten an Kalium-*tert*-butylat als Base und 2-Brompropionitril als Alkylierungsreagenz versetzt. Die Cyanoethylverbindung **167** konnte auch mit dieser Methode nicht hergestellt werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. Percec et al.¹⁷³ veröffentlichten 2011 eine Methode, bei der die Cyanoethylgruppe an Carbazol-Derivaten in einer Michael-Addition mit Hilfe der Phasentransferkatalyse eingeführt wird. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde Harmin (**1**) in Acrylnitril gelöst. Unter Eiskühlung wurde Benzyltrimethylammoniumhydroxid (Triton B) zugeben und bei 70 °C gerührt. Die Aufreinigung erfolgte über eine Umkristallisation aus Acetonitril. Die Cyanoethylverbindung **167** wurde so in einer Ausbeute von 27 % erhalten (Abb. 138).

Abb. 138 Synthese der Cyanoethylverbindung **167**

Auf weitere Versuche der Synthese der Cyanopropylverbindung **169** wurde verzichtet, da die biologische Testung der Cyanoethylverbindung **167** zeigte, dass schon durch Verlängerung der Kette um eine Methyleinheit die inhibitorische

Aktivität auf die DYRK1A gesenkt wird. Eine noch längere Kette erschien daher wenig erstrebenswert.

3.3.4. Variationen am Ring A

3.3.4.1. Kondensationen an der Methylgruppe an Position 1

3.3.4.1.1. Synthese von Benzylidenharmin (**42**)

Die Synthese von Benzylidenharmin (**42**) wurde nach Luo et al.¹⁴³ durchgeführt. Harmin (**1**) wurde in Benzaldehyd zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der gelbe Rückstand aus 90 %igen Ethanol umkristallisiert. Benzylidenharmin (**42**) wurde in einer Ausbeute von 30 % erhalten. Li et al.¹⁷⁴ setzen für die Kondensationsreaktion weniger Benzaldehyd ein und reinigen die Substanz durch Waschen mit Ether und Chloroform und durch Umkristallisation mit Methanol auf. Die Ausbeute lag hier bei 41 %. Neben der höheren Ausbeute konnte Benzylidenharmin (**42**) auch nach der Methode von Li et al.¹⁷⁴ leichter aufgereinigt werden (Abb. 139).

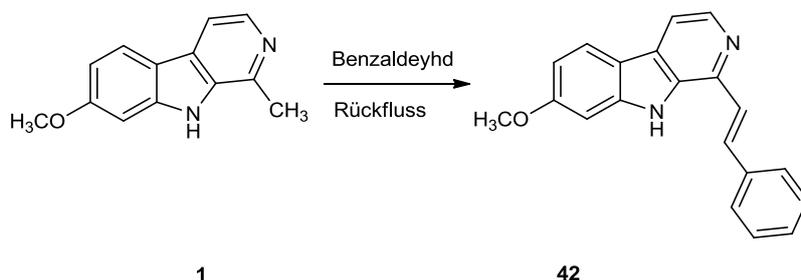


Abb. 139 Synthese von Benzylidenharmin (**42**) nach Li et al.¹⁷⁴

Die biologische Testung von Benzylidenharmin (**42**) zeigte, dass durch die Einführung des Styrylrestes zwar die MAO-A nicht mehr gehemmt wird, aber die DYRK1A wird auch nur noch moderat gehemmt. Idee war nun, die bisher als besonders vorteilhaft identifizierten Alkylreste am Pyrrol-Stickstoff von **42** einzuführen, um somit die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A wieder zu erhöhen. Desweiteren sollte Harmin auch mit weiteren, vor allem aromatischen Aldehyden kondensiert werden. Ziel war es herauszufinden, welches Strukturmotiv an dieser Position für die Selektivität für die DYRK1A und für eine Steigerung der inhibitorischen Aktivität auf die DYRK1A nötig ist. Gegebenfalls sollte dieses

Strukturmotiv in einem nächsten Schritt mit einer Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs kombiniert werden.

3.3.4.1.1. Kondensationsreaktionen am Harmin (1)

Da neben Benzaldehyd auch andere Aldehyde einkondensiert werden sollten, die als Feststoffe vorliegen, wurden als nächstes für die Synthese von Benzylidenharmin (**42**) noch weitere Kondensierungsmethoden unter Verwendung von Reagenzien, die auch als Lösungsmitteln fungieren können, durchgeführt.

Cao et al.¹⁷⁵ haben 2008 eine Methode für die Kondensation für Harman bzw. von am Pyrrol-Stickstoff alkylierten Harman-Derivaten mit diversen aromatischen Aldehyden veröffentlicht. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde Harmin (**1**) in Acetanhydrid und Benzaldehyd zum Rückfluss erhitzt. Es kam hier zu einer Zersetzung der Probe. Der Ansatz wurde unter Mikrowellenbedingungen (150 W, 20 min, 155 °C, 5 bar) wiederholt. Eine GC-MS-Analyse des Rohproduktes zeigte, dass neben Edukt auch eine Verbindung mit einem Molekulargewicht von 254 g/mol entstanden war. Das Molekulargewicht von Benzylidenharmin (**42**) liegt bei 300 g/mol. Das Abspaltungsmuster 254 → 211 mit einer Massendifferenz von 43 würde der Abspaltung eines Acetylrestes entsprechen. Wahrscheinlich wurde der Pyrrol-Stickstoff durch Acetanhydrid acetyliert. Eine Kondensation von Harmin (**1**) mit Piperonal und Acetanhydrid (siehe weiter unten) führte zum selben Ergebnis. Dort wurde die entstandene Verbindung aufgereinigt und mit NMR- und Massenspektroskopie wurde nachgewiesen, dass Harmin lediglich am Pyrrolstickstoff acetyliert wurde.

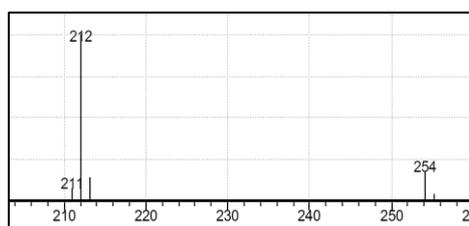


Abb. 140 Massenspektrum des Rohproduktes

Unter den selben Bedingungen wurde auch versucht, *N*-Butylharmin (**131**) mit Benzaldehyd zu kondensieren (Verbindung **170**). Hier wäre der Indol-Stickstoff für

eine Acetylierung blockiert. Es kam zu keiner Umsetzung und nur Edukt konnte zurückgewonnen werden (Abb. 141).

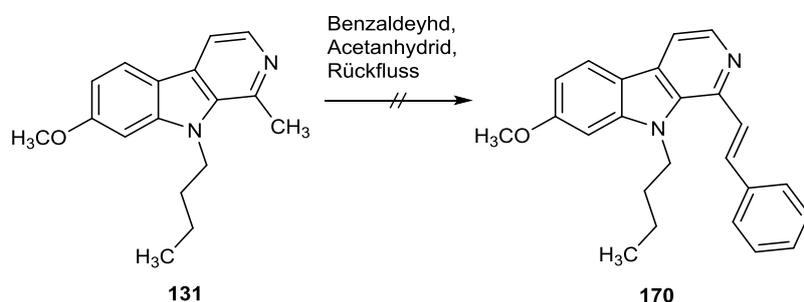


Abb. 141 Geplante Kondensation von *N*-Butylharmin (**131**) mit Benzaldehyd

Als nächstes wurde die Kondensation in Anlehnung an Hussein et al.¹⁷⁶ unter Zusatz von Base durchgeführt. Harmin (**1**), Benzaldehyd und eine äquimolare Menge an Triethylamin wurden in Dioxan zum Rückfluss erhitzt. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden.

Die Einführung eines Alkenylrestes sollte an Harman (**35**) durchgeführt werden. Sollte diese Kondensation bei Harman erfolgreich durchgeführt werden können, dann sollte diese Methode später auch bei Harmin eingesetzt werden. Als Modellreaktion sollte eine mikrowellen-gestützte Methode für die Synthese von Vulcanin (**171**) entwickelt werden. Vulcanin (**171**) ist ein β -Carbolin-Alkaloid, welches aus *Haplophyllum vulcanicum* isoliert wurde¹⁷⁷. Somei et al.¹⁷⁸ haben 2007 eine Synthese von Vulcanin (**171**) über mehrere Schritte ausgehend von Indol entwickelt. Mit unserer Synthese könnte Vulcanin in einem Schritt aus kommerziell erhältlichen Harman hergestellt werden (Abb. 142).

Es wurden mehrere Varianten der Synthese durchgeführt. Die Versuche erfolgten unter folgenden Mikrowellenbedingungen: 70 W, 4 bar, 10 min und 80 °C.

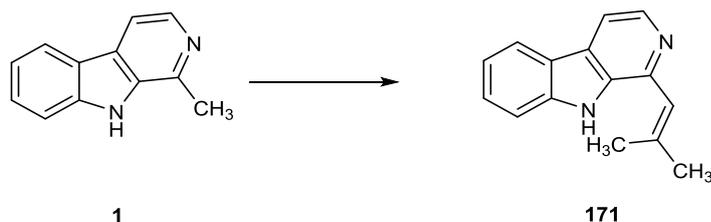


Abb. 142 Angestrebte Synthese von Vulcanin (**171**)

In einem ersten Versuch wurde Harman (**35**) in Acetanhydrid und Aceton dispergiert und unter den oben genannten Mikrowellenbedingungen umgesetzt. Neben dem Edukt konnte noch eine andere Verbindung isoliert werden. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zeigte, dass das Signal für die NH Gruppe fehlte und das Signal für die Methylgruppe an Position 1 noch vorhanden war. Anstelle von Vulcanin (**171**) war *N*-Acetylharman (**172**) in einer Ausbeute von 10 % entstanden (Abb. 143).

Ein Zusatz von katalytischen Mengen an Natriumacetat führte auch bei Wiederholung des Versuchs nur zur Bildung des *N*-Acetylharmans (**172**).

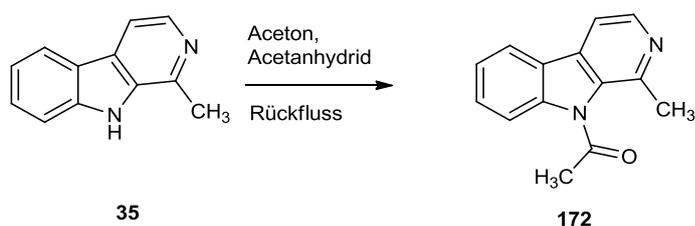


Abb. 143 Synthese von *N*-Acetylharman (**172**)

In einem anderen Ansatz wurde Harman (**35**) mit 2,2-Dimethoxypropan und Aceton unter Mikrowellenbedingungen umgesetzt. 2,2-Dimethoxypropan ist ein Dimethylacetal des Acetons und sollte hierbei als weitere Quelle von Aceton und wasserentziehendes Agens dienen. Es konnte allerdings nur Edukt zurückgewonnen werden. Auch durch Zusatz von Natriumacetat konnte keine Umsetzung erzielt werden. Da die bisherigen Versuche gezeigt hatten, dass Vulcanin (**171**) über eine Kondensation nicht hergestellt werden kann, wurden keine weiteren derartigen Syntheseveruche mit Aceton mehr durchgeführt.

Neben Benzaldehyd sollten auch 4-Cyanobenzaldehyd und Piperonal mit Harmin kondensiert werden. Da mit den bisherigen Versuchen keine allgemeine Methode für die Kondensation mit Aldehyden entwickelt werden konnte, wurden im Folgenden weitere Variationen erprobt. In Anlehnung an Huber⁶⁰ wurden Harmin (**1**), Piperonal bzw. 4-Cyanobenzaldehyd und katalytische Mengen an Piperidin in Ethanol zum Rückfluss erhitzt. Bei beiden Versuchen kam es zu einer geringen Umsetzung und laut GC/MS-Analyse sollten bei beiden Versuchen die jeweiligen Kondensationsprodukte entstanden sein. Aber die Verbindungen konnten auf Grund der geringen Umsetzung nicht weiter charakterisiert werden. Auch durch Erhöhung der Zahl der Äquivalente an Base und Aldehyd und Änderung der Base (anstelle von

Piperidin Caesiumcarbonat) und des Lösungsmittels (anstelle von Ethanol Dioxan) konnte keine nennswerte Umsetzung erzielt werden (Abb. 144).

Eine mikrowellengestützte Synthese führte auch zu keinem Erfolg. Harmin (**1**) wurde dabei mit Caesiumcarbonat und dem jeweiligen Aldehyd in Ethanol unter folgenden Bedingungen umgesetzt: 15 min, 85 °C, 5 bar und 250 W. Laut GC/MS-Analyse des Rohprodukts kam es zu einer geringen Umsetzung zum jeweiligen Arylidenderivat, aber die Verbindungen konnten auf Grund der geringen Umsetzung nicht vollständig charakterisiert werden.

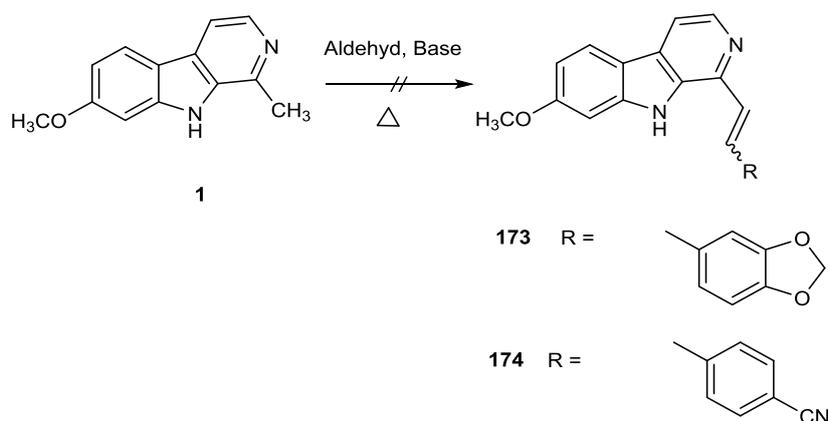


Abb. 144 Geplante Kondensationsreaktionen von Harmin (**1**) mit Piperonal und 4-Cyanobenzaldehyd

Beim Versuch zur Synthese des Benzodioxolvinylderivats **173** wurde auch noch die Variante nach Cao et al.¹⁷⁵ mit Acetanhydrid durchgeführt. Harmin (**1**), Piperonal und Acetanhydrid wurden zum Rückfluss erhitzt. Das NMR-Spektrum zeigte, dass eine Verbindung entstanden war, bei der der Indol-Stickstoff substituiert wurde und dass an der Methylgruppe keine Kondensation stattgefunden hatte. Das *N*-Acetylderivat von Harmin (**175**) war in einer Ausbeute von 31 % entstanden.

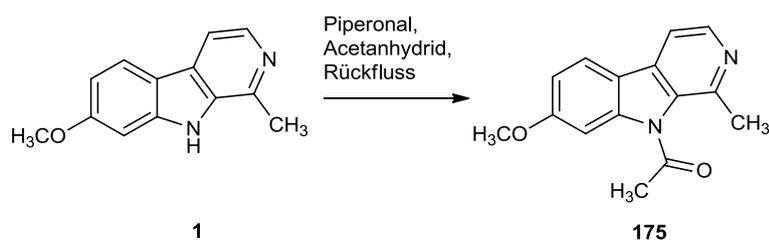


Abb. 145 Synthese des *N*-Acetylderivats **175**

Da zwischenzeitlich biologische Testergebnisse gezeigt hatten, dass andere bisher synthetisierte Verbindungen interessantere Aktivitäten aufweisen, wurde der Fokus auf die Synthese von Strukturanaloga von diesen aktiveren Verbindungen gelegt und die Kondensationsreaktionen wurden nicht mehr weiter verfolgt.

3.3.4.2. *N*-Alkylierung von Benzylidenharmin (**42**)

Die *N*-Alkylierung von Benzylidenharmin (**42**) wurde mit einem Äquivalent Natriumhydrid als Base und den entsprechenden Alkylierungsreagenzien versucht. Die diversen Reste, die eingeführt werden sollten, werden in Tabelle 8 dargestellt. Die Einführung eines 4-Methoxybenzylrestes wurde nach Kelly et al.¹⁷⁹ versucht, die diesen Rest an Harman (**35**) eingeführt hatten. Benzylidenharmin (**42**) wurde zusammen mit Natriumhydrid und 4-Methoxybenzylchlorid in THF gelöst und bei Raumtemperatur gerührt (Abb. 146).

Nur bei der Einführung einer Ethoxycarbonylmethyl- und einer Propargylgruppe konnte laut GC/MS-Analytik des Rohprodukts eine Umsetzung zum gewünschten Produkt beobachtet werden. Aber beide Verbindungen konnten weder durch FSC, Umkristallisation oder mit Hilfe einer präparativen DC aufgereinigt werden, da sich beide Verbindungen langsam zersetzten. Bei den anderen Synthesen konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. In Anlehnung an Puzik¹³⁵ der einen Allylrest an Benzylidenharman eingeführt hatte, wurde Benzylidenharmin (**42**) und Kaliumhydroxid in DMF bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde Bromacetonitril zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte auch hier nur Edukt zurückgewonnen werden (Abb. 146).

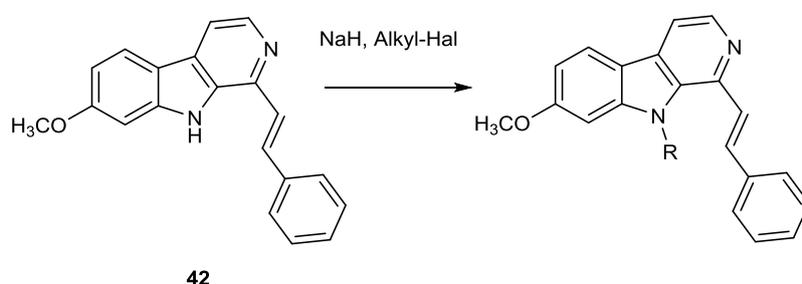


Abb. 146 Geplante *N*-Alklierungen von Benzylidenharmin (**42**)

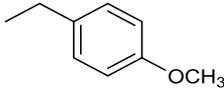
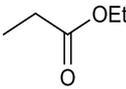
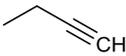
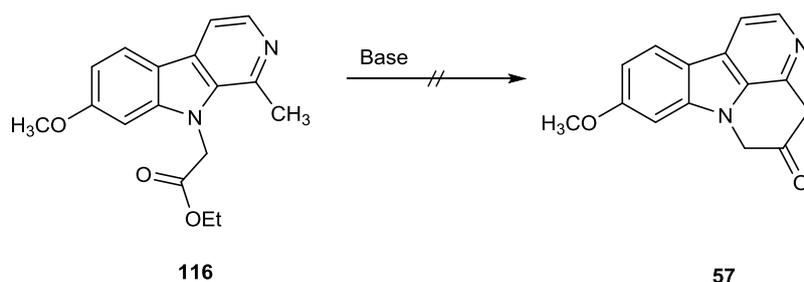
Produkt	Hal	R	Ausbeute in %
176	Cl		-
177	Br		-
178	Br		-
179	Br		-

Tabelle 8 Angestrebte *N*-Alkylderivate des Benzylidenharmins (**42**)

Diese Versuche und auch der erfolglose Versuch zur Kondensation von *N*-Butylharmin (**131**) mit Benzaldehyd (siehe Kapitel 3.3.4.1.1.) haben gezeigt, dass eine gleichzeitige Funktionalisierung an N-9 und 1-CH₃ nicht möglich ist und eine derartige Variation des Harmins (**1**) wurde daher auch nicht mehr weiter verfolgt.

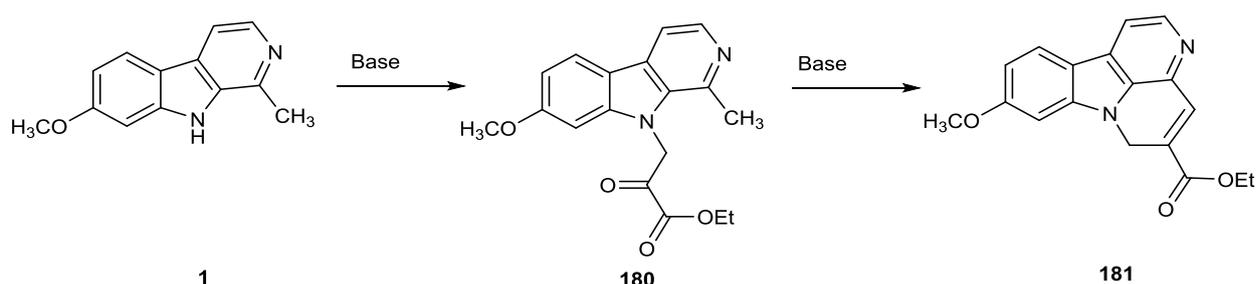
3.3.4.2. Tetracyclen mit einer Überbrückung von Ring A mit N-9

In der Literatur finden sich keine Vorschriften für die Synthese des cyclischen Ketons **57** oder von Analoga davon. Die Synthese des cyclischen Ketons **57** sollte über die zentrale Stufe der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** in einer Claisen-artigen Reaktion erfolgen. Die Synthese des Essigesters **116** wurde im Kapitel 3.3.3.2.3. vorgestellt. Die Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** wurde in Anlehnung an Vorschriften von Lauenroth¹⁸⁰ und Matus et al.¹⁸¹ in Ethanol gelöst. Nach Zugabe eines Überschuss an Natriumethanolat wurde bei 60 °C gerührt. Auch durch Erhöhung der Temperatur konnte keine Umsetzung erzielt werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. In Anlehnung an Nielsch et al.¹⁴⁴ wurde der Essigester **116** in trockenem DMF gelöst und nach Zugabe von Natriumhydrid bei Raumtemperatur gerührt. Auch durch Erhöhung der Temperatur und Erhöhung der Äquivalente an Base konnte keine Umsetzung erzielt werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden (Abb. 147).

Abb. 147 Versuch zur Synthese des cyclischen Ketons **57**

Auch die Umesterungsversuche und Aminolysen der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** waren nicht erfolgreich, was dafür sprechen könnte, dass die Carbonylaktivität dieses Essigesters eher gering ist. Deswegen sollte als nächstes die Cyclisierung unter Katalyse von Base über den vermutlich reaktiveren α -Ketoesters **180** zum Naphthyridinderivat **181** erfolgen (Abb. 148).

Die Synthese von **180** wurde nach unterschiedlichen Vorschriften versucht. In Anlehnung an Ritter⁵⁹ wurde Harmin mit Kalium-*tert*-butylat in DMSO bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde Brombrenztraubensäureethylester zugegeben und bei 80 ° gerührt. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. In Anlehnung an Nielsch et al.¹⁴⁴ wurden Harmin, Natriumhydrid und Brombrenztraubensäureethylester in trockenem DMF bei 40 °C gerührt. Es kam auch hier zu keiner Umsetzung und nur Edukt konnte wieder zurückgewonnen werden.

Abb. 148 Geplante Synthese des Naphthyridinderivates **181**

Ein Docking-Modell von Prof. Sippl hatte gezeigt, dass Tetracyclen mit einer Aminalstruktur möglicherweise eine Selektivität für DYRK1A gegenüber MAO-A und CLK1 hervorrufen können. Zudem hätte man bei diesen Strukturen auf Grund der polaren Aminofunktion wahrscheinlich weniger Probleme mit der Löslichkeit. Aus diesem Grund wurden die Versuche zur Synthese des cyclischen Ketons **57**

eingestellt. Auch weitere Versuche der Synthese zur α -Ketoesterverbindung **180** wurden nicht mehr durchgeführt.

Eine zentrale Zwischenstufe für die Synthese der Tetracyclen mit einer Aminostruktur ist der literaturbekannte Aldehyd **117**¹⁴⁶. Nach der Literaturvorschrift wurden Harmin (**1**) und Selendioxid in Ethanol zum Rückfluss erhitzt. Es kam allerdings zu keiner Umsetzung und es konnte nur Harmin (**1**) zurückgewonnen werden.

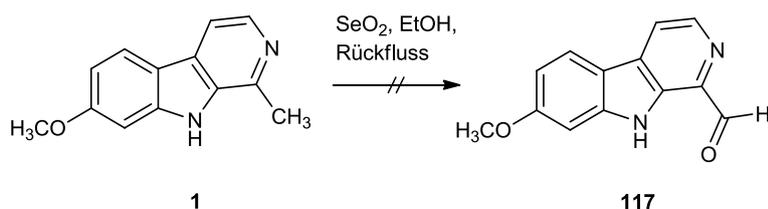


Abb. 149 Versuch der Synthese des Aldehyds **117** nach Zhong-Ze¹⁴⁶

In unserem Arbeitskreis wurde auch schon mehrfach die Erfahrung gemacht, dass Synthesen mit Selendioxid schlecht reproduzierbar sind. Auf Grund der Giftigkeit und der nicht reproduzierbaren Synthese wurde im folgendem versucht eine neue Synthese für den Aldehyd **117** ausgehend von Harmin (**1**) zu entwickeln.

In unserem Arbeitskreis wurde von Dombeck et al.¹⁸² eine Methode für die radikalische Oxidation von Onychin (**182**) zum Aldehyd **183** entwickelt. Die Ausbeute lag hier bei 92 %.

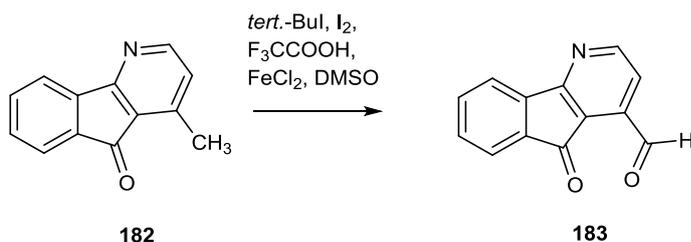


Abb. 150 Synthese des Aldehyds **183** ausgehend von Onychin (**182**) von Dombeck¹⁸²

In Anlehnung an diese Vorschrift wurde Harmin (**1**) in DMSO gelöst. Dann wurden Iod, *tert*-Butyliodid, Eisen(II)chlorid und Trifluoressigsäure zugegeben und bei 90 °C gerührt. Auch durch Änderung der Zahl der Äquivalente konnte keine Umsetzung erzielt werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. Eine andere Möglichkeit Aldehyde herzustellen ist die oxidative Enaminspaltung. In unserem Arbeitskreis wurde diese Methode von Dombeck¹⁸³ erfolgreich bei der Oxidation von

Cleistopholin (**184**) über das Enamin **185** zum Aldehyd **186** durchgeführt. Zur Enaminspaltung verwendete er Natriumperiodat. Diese Vorgehensweise lehnt sich an eine Malaprade-Spaltung an.

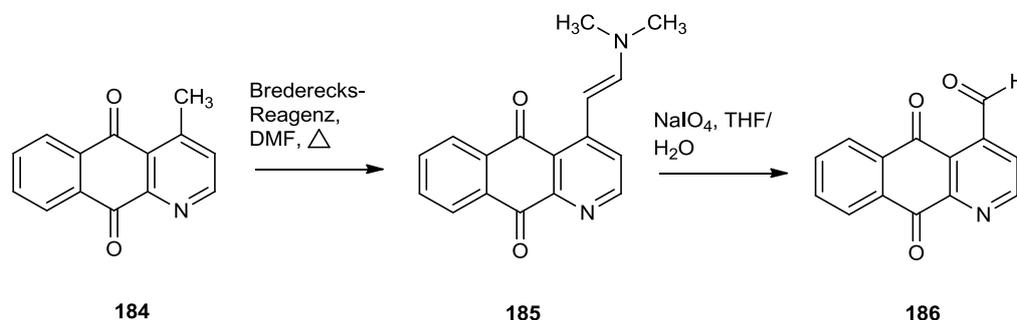


Abb. 151 Synthese des Aldehyds **186** über das Enamin **185** ausgehend von Cleistopholin (**184**) von Dombek¹⁸²

Harmin (**1**) und Bredecks Reagenz wurden unter N₂-Atmosphäre in trockenem DMF bei 100 °C gerührt. Auch durch Erhöhung der Temperatur konnte keine Umsetzung erzielt werden. Es konnte nur Edukt zurückgewonnen werden. Daher wurden die Versuche zu diesem Verfahren eingestellt.

Kelly et al.¹⁷⁹ veröffentlichten 1993 eine Methode für eine ozonolytische Spaltung eines Benzylidenharmans zum Aldehyd. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde Benzylidenharmin (**42**), dessen Synthese im Kapitel 3.3.4.1. vorgestellt wurde, in einem Gemisch aus Methanol und Dichlormethan gelöst. Dann wurde bei -78 °C Ozon eingeleitet, bei -78 °C gerührt und Dimethylsulfid zugegeben. Eine GC/MS-Analyse des Rohproduktes zeigte, dass der Aldehyd **117** entstanden war, aber die Umsetzung war zu gering, um die Substanz vollständig charakterisieren zu können. In einem nächsten Versuch wurde 15 min lang Ozon eingeleitet. Mit Hilfe der NMR- und Massenspektroskopie konnte der Aldehyd **117** eindeutig identifiziert werden. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte bei einer Verschiebung von 10.34 ppm das Signal eines Singulets für den Aldehyd und die Methylgruppe bei einer Verschiebung von ca. 3 ppm war verschwunden. Der Aldehyd konnte in einer Ausbeute von lediglich 3 % isoliert werden. Weitere Optimierungsversuche konnten nicht durchgeführt werden, da der Abzug, in dem der Ozongenerator steht, auf Grund der Abzugsproblematik der LMU München gesperrt wurde.

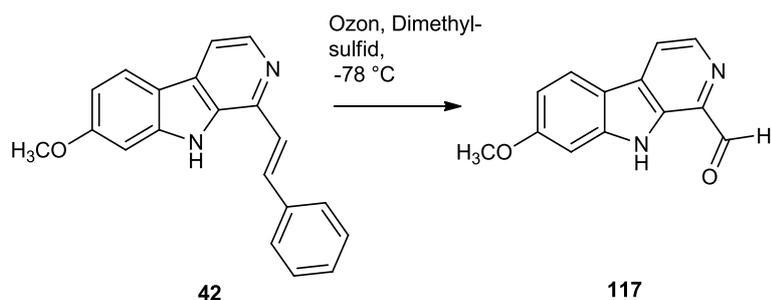


Abb. 152 Synthese des Aldehyds **117** über eine ozonolytische Spaltung von Benzylidenharmin (**42**)

In Anlehnung an Guidice et al.¹⁴⁵ wurde der Aldehyd **117** in Methanol gelöst, bei 0 °C wurde Methylamin zugegeben und dann bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde so lange bei Raumtemperatur gerührt, bis das Edukt vollständig umgesetzt war (DC-Kontrolle). Dann wurde unter Eiskühlung Natriumborhydrid zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Eine GC-MS-Analyse des Rohprodukts der reduktiven Aminierung zu **187** zeigte ein Signal mit einer Masse von 241 g/mol, was dem Molekulargewicht der Methylaminoethylverbindung **187** entspricht. Auch das Fragmentierungsmuster von m/z 241 auf 211 mit einer Massendifferenz von 30 spricht für die Abspaltung eines Ammoniumkations in einer Oniumreaktion und somit für das Methylaminoethylderivat **187** (Abb. 154). Auf Grund der kleinen Ansatzgröße wurde **187** ohne weitere Aufreinigung und Charakterisierung weiter umgesetzt. Im nächsten Schritt wurde das Rohprodukt der reduktiven Aminierung mit Acetaldehyd in Ethanol zum Rückfluss erhitzt (Abb. 153). Eine GC-MS-Analyse des Rohproduktes zeigte ein Signal mit einem Massenpeak von 267 g/mol, was für den Erfolg der Kondensation zum Aminal **188** spricht (Abb. 154). Auch das Abspaltungsmuster 265 \rightarrow 252, das der Abspaltung der Methylgruppe des Amins entsprechen könnte, würde für den Erfolg der Kondensation sprechen. Eine weitere Charakterisierung mit Hilfe der NMR- und Massenspektroskopie konnte nicht durchgeführt werden, da die Substanz weder durch Umkristallisation noch durch FSC oder durch präparative DC aufgereinigt werden konnte. Auf Grund der geringen Ansatzgröße mussten die Aufreinigungsversuche abgebrochen werden. Wie weiter oben schon erwähnt konnte auf Grund der Abzugsproblematik der Aldehyd **117** nicht mehr nach synthetisiert werden und somit die Synthese des Tetracyclus in einem größerem Maßstab nicht mehr wiederholt werden. Auch die Synthese weiterer Tetracylen mit einem anderen Substitutionsmuster konnte aus diesem Grund nicht mehr durchgeführt werden.

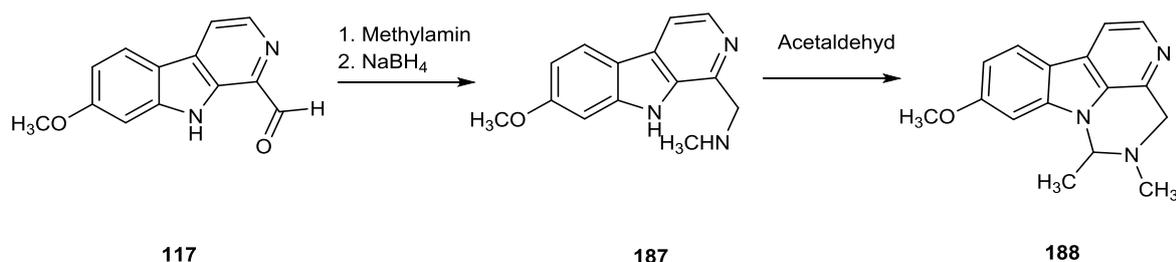
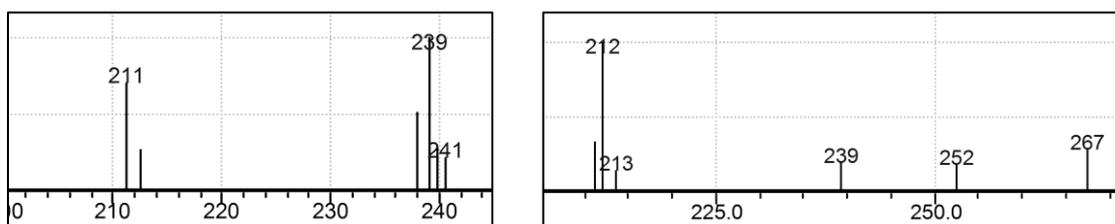


Abb. 153 Synthese eines Tetracyclus mit einer Aminalstruktur

Abb. 154 Massenspektrum der *N*-Methylaminomethylverbindung **187** und des Tetracyclus mit einer Aminalstruktur **188**

3.3.4.3. Flexible Variation an C-1

3.3.4.3.1. Minisci-Reaktionen an Norharman

Im Rahmen der Bachelorarbeit von Tobias Hauke¹⁸⁴ wurde unter meiner technischen Anleitung versucht, mit Hilfe einer Minisci-Reaktion¹⁸⁵ verschiedene Reste an C-1 von Norharman einzuführen. In unserem Arbeitskreis wurden schon früher einige Methoden für Minisci-Reaktionen an β -Carbolen etabliert. Von Daab et al.¹¹⁸ und Puzik et al.¹¹⁹ wurden Methoden für die regioselektive Acylierung von Norharman bzw. Derivaten entwickelt. Puzik et al. konnten auf diesem Weg 1-Butanoylharman und Daab das Alkaloid 1-Acetylharman herstellen. Puzik et al.¹⁸⁶ entwickelten eine Methode für die Methylierung von Norharman zu Harman. 2003 veröffentlichten Kast et al.¹⁸⁷ eine Methode für die Carbamoylierung von Norharman.

Die Aufgabe von Hauke war die Entwicklung einer Methode für die Einführung einer Formyl-, Hydroxymethyl-, Ethylester- und Methylestergruppe an C-1 von Norharman (**53**). Diese Alkaloide fehlten bisher in der Reihe der Alkaloide, die in unserem Arbeitskreis bereits synthetisiert wurden, bzw. auf einem anderen Weg hergestellt wurden. Sollte diese Einführung erfolgreich durchgeführt werden, sollte sie auch auf

die Synthese weiterer Alkaloide aus der Norharminreihe ($R = \text{OCH}_3$) angewendet werden (Abb. 155). Die Synthese von 1-Formylnorharmin über eine Minisci-Reaktion wäre auch ein neuer Zugang für den Aufbau von Tetracyclen mit einer Aminorstruktur (siehe Kapitel 3.3.4.2.). Zusätzlich sollten auch eine Acetylierung, Methylierung und Carbamoylierung von Norharmin (**189**) nach Vorschriften aus unserem Arbeitskreis durchgeführt werden. Im Rahmen dieser Arbeit konnte nur eine Methode für die Einführung einer *N,N*-Dimethylcarbamoylgruppe an Norharman (**53**) entwickelt werden. Die anderen Reste konnten unter den von uns gewählten Bedingungen (siehe Bachelorarbeit Hauke¹⁸⁴) nicht eingeführt werden. Minisci-Reaktionen an Norharmin (**189**) wurden nicht durchgeführt. Auf Grund der begrenzten Zeit einer Bachelorarbeit konnten die Reaktionsbedingungen nicht soweit verändert werden, dass die Synthesen erfolgreich durchgeführt werden konnten. Lin et al.¹⁸⁸ veröffentlichten 2011 die Synthese der noch fehlenden Harmanderivate unter Minisci-Bedingungen mit veränderten Reaktionsbedingungen.

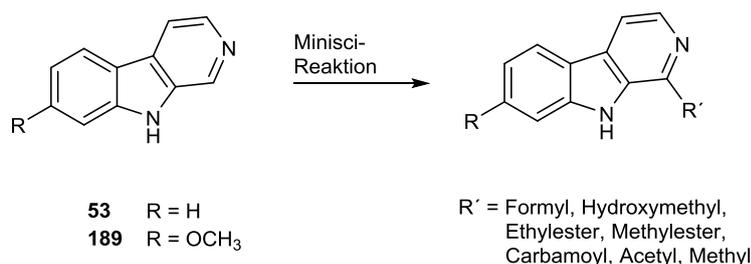


Abb. 155 Geplante Minisci-Reaktionen

Die Methode von Lin et al.¹⁸⁸ wurde nicht mehr auf die Synthese von Alkaloiden aus der Norharminreihe ($R = \text{OCH}_3$) angewandt, da auf Grund des Vorliegens neuer biologischer Testergebnisse der Fokus auf die Synthese anderer Harmin-Analoga gelegt wurde.

3.3.4.3.2. Pd-katalysierte Kupplungen

3.3.4.3.2.1. Synthese von Harmalacidin (**58**)

Harmalacidin (**58**), 7-Methoxy-1-oxo-2,3,4,9-tetrahydro- β -carbolin, ist ein Naturstoff, der aus *Banisteriopsis caapi* und *Peganum harmala* isoliert wurde¹⁸⁹. Für die Synthese von Harmalacidin finden sich in der Literatur einige Beispiele. In unserem

Arbeitskreis wurde von Bracher und Hildebrand¹²³ eine elegante einstufige Synthese von Harmalacidin entwickelt. 6-Methoxytryptamin (**190**) wird mit Triphosgen in ein Isocyanat **191** überführt und unter Katalyse der Lewisäure Aluminiumchlorid erfolgt der Ringschluss nach Friedel-Crafts zu Harmalacidin (**58**) in einer Ausbeute von 60 % (Abb. 156).

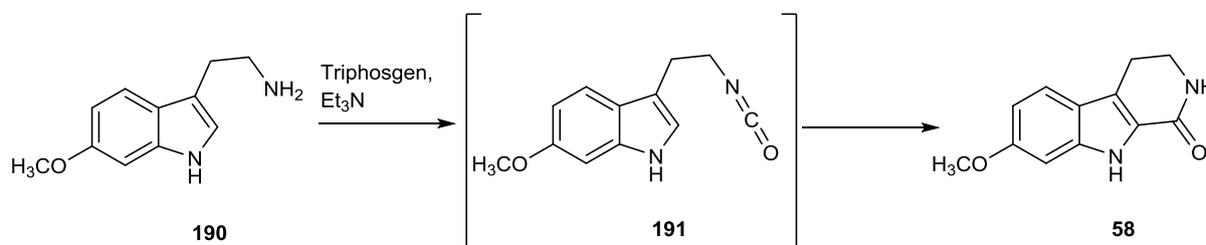


Abb. 156 Synthese von Harmalacidin (**58**) nach Bracher et al.¹²³

Da 6-Methoxytryptamin (**190**) und auch dessen Vorstufe 6-Methoxyindol, über das in 2 Schritten das Tryptamin hergestellt werden kann, sehr teuer sind, sollte im Folgendem die Synthese über eine Japp-Klingemann Reaktion erfolgen. Der Mechanismus wurde bereits in Kapitel 3.2.1 vorgestellt.

Yamada et al.¹⁴⁷ veröffentlichten 1986 eine Methode für eine derartige Synthese von Harmalacidin (**58**). Nach dieser Vorschrift wurde *m*-Anisidin (**118**) mit Natriumnitrit in saurer Lösung unter Eiskühlung diazotiert. Gleichzeitig wurde 3-Ethoxycarbonyl-2-piperidon (**100**) mit 0.5 N Kalilauge verseift, dann mit 6 N HCl neutralisiert und zur Lösung des diazotierten Anilins **192** gegeben. Anschließend wurde der pH-Wert mit Natriumacetat auf 3.5 eingestellt und bei 0 bis -5 °C gerührt. Das ausgefallene Hydrazon **193** wurde abfiltriert, mit 88 % Ameisensäure versetzt und zum Rückfluss erhitzt. Eine GC/MS-Analyse des Rohproduktes ergab, dass neben Harmalacidin (**58**) und seinem Regioisomer **194** (216 g/mol), bei dem die Methoxygruppe an Position 5 sitzt, wahrscheinlich auch ein *N*-Formylderivat mit Ameisensäure (*m/z* 244) entstanden ist. Das Abspaltungsmuster von 244 zu 215 würde für die Abspaltung einer Formylgruppe sprechen (Abb. 157).

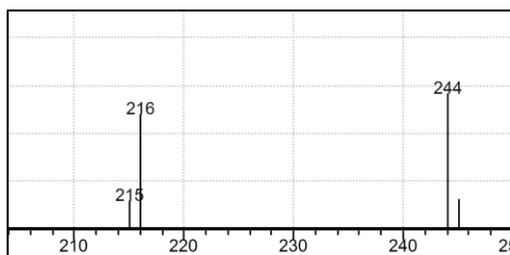
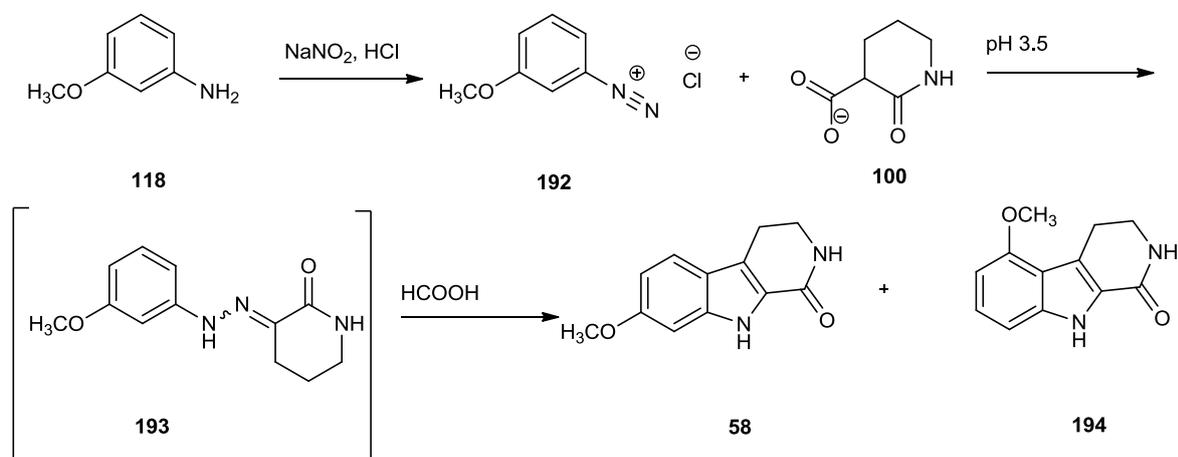


Abb. 157 Massenspektrum des Nebenproduktes

Deswegen wurde abweichend von der Literaturvorschrift eine basische Nachbehandlung des rohen Reaktionsprodukts vorgenommen. Das Rohprodukt wurde mit einem Äquivalent Kaliumhydroxid in Ethanol bei Raumtemperatur gerührt. Mittels mehrmaliger Aufreinigung mit der FSC konnte Harmalacidin (**58**) in einer Ausbeute von 14 % erhalten werden (Abb. 158). Auch Judd et al.¹⁹⁰ beschreiben, dass die bei der Fischer-Cyclisierung von unsymmetrischen Diazonium-Intermediaten entstehenden Isomergemische häufig schwer auftrennbar sind. Da in der weiteren Synthese nur Harmalacidin (**58**) benötigt wurde, wurde das Regioisomer **194** nicht quantifiziert.

Abb. 158 Japp-Klingemann-Reaktion zu Harmalacidin (**58**)

Henecka et al.¹⁹¹ veröffentlichten 1957 eine Methode zur Synthese von Harmalacidin, die ausgehend von m-Anisidin (**118**) in schwach alkalischer Lösung über eine Azoverbindung **195** verläuft. Im Gegensatz dazu verläuft die Japp-Klingemann-Reaktion nach Yamada et al.¹⁴⁷ im schwach sauren Bereich über ein Hydrazone **193**. Henecka et al. beschreiben, dass die Azoverbindung sehr stabil ist

und beim Erwärmen in schwach alkalischer Alkohollösung der Carboxylatrest abgespalten wird und das entsprechende Hydrazon entsteht. Nach dieser Vorschrift wurde m-Anisidin (**118**) im Sauren mit Natriumnitrit diazotiert, dann wurde eine Lösung von 3-Ethoxycarbonyl-2-piperidon (**100**) in Wasser zugegeben, mit gesättigter Natriumacetatlösung der pH auf 3-4 eingestellt und bei 0° C bis 5 °C gerührt. Bei dieser Temperatur wurde langsam der pH-Wert auf 9 eingestellt. Der sich dabei abscheidene Feststoff wurde abfiltriert, in Eisessig und konz. Salzsäure aufgenommen und bei 100 °C gerührt. Harmalacidin (**58**) konnte mittels mehrmaliger FSC in einer Ausbeute von 11 % erhalten werden. Das ebenfalls entstehende Regioisomer **194** wurde nicht quantifiziert (Abb. 159).

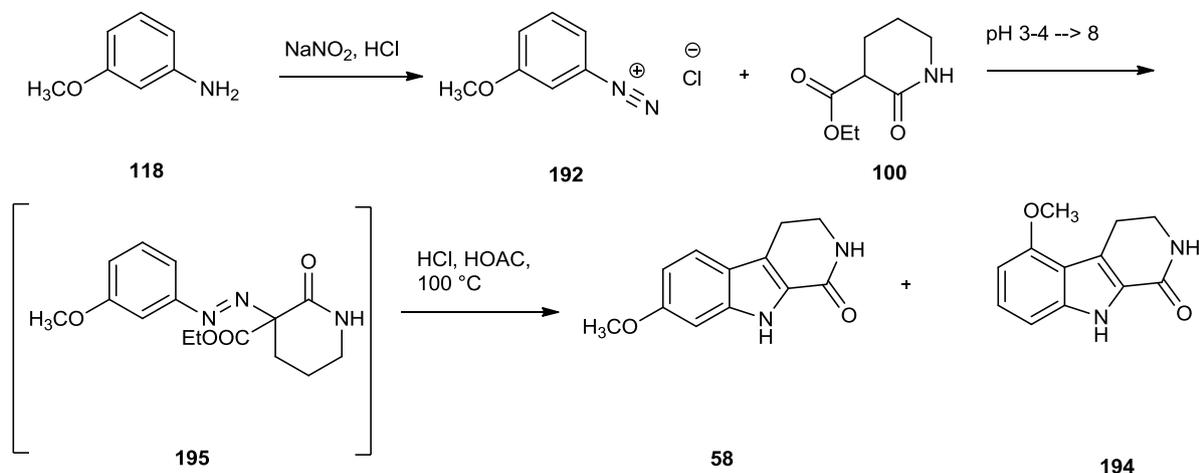


Abb. 159 Synthese von Harmalacidin (**58**) über eine Azoverbindung

Bei größeren Ansätzen konnte diese Ausbeute jedoch nicht reproduziert werden. Ritter⁵⁹ hatte während ihrer Promotion Harmalacidin (**58**) nach der von Pohl⁵⁸ entwickelten Methode dargestellt. Sie konnte Harmalacidin (**58**) in einer Ausbeute von 4 % und das Regioisomer **194** in einer Ausbeute von 1 % isolieren. Deswegen wurde im Folgenden weiter nach der Methode von Yamada et al.¹⁴⁷ gearbeitet.

3.3.4.3.2.2. Dehydrierung von Harmalacidin (**58**)

In Anlehnung an die in Kapitel 3.2.2. beschriebene Dehydrierung wurden Harmalacidin (**58**) und DDQ unter N₂-Atmosphäre in THF gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Das 1-Oxo-β-carbolin **119** konnte in einer Ausbeute von 60 % erhalten

werden. Eine Erhöhung der Zahl der Äquivalente an DDQ (>2) führte dazu, dass **119** schlechter aufreinigbar war. Da mit DDQ als Dehydrierungsmittel keine reproduzierbaren Ergebnisse erhalten wurden und die Aufreinigung aufwändig war, wurde als nächstes nach einer Vorschrift von Nielsch et al.¹⁴⁴ gearbeitet. Dazu wurden Harmalacidin (**58**) und Pd/C in Xylol dispergiert und zum Rückfluss erhitzt. Mittels mehrmaliger FSC konnte das 1-Oxo- β -carbolin **119** vom Edukt abgetrennt werden. Die Ausbeute des 1-Oxo- β -carbolins **119** lag hier bei 30 %. Neben DDQ und Pd/C ist auch p-Chloranil (2,3,5,6-Tetrachlorbenzochinon) ein gängiges Dehydrierungsmittel. In Anlehnung an Barclay et al.¹²⁹ wurde Harmalacidin (**58**) und p-Chloranil in Xylol zum Rückfluss erhitzt. Das 1-Oxo- β -carbolin **119** konnte in einer Ausbeute von 90 % erhalten werden (Abb. 160). Da Nielsch et al.¹⁴⁴ nicht alle analytischen Daten des 1-Oxo- β -carbolins **119** angeführt haben, wird im experimentellen Teil der Arbeit neben der neu entwickelten Methode auch die vollständige Analytik angeführt.

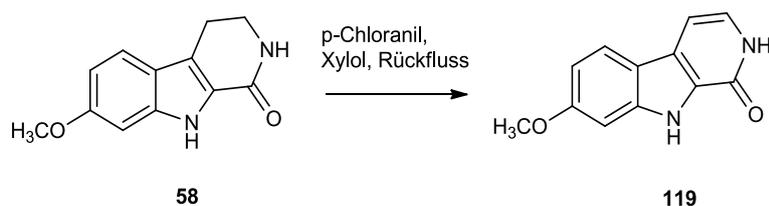
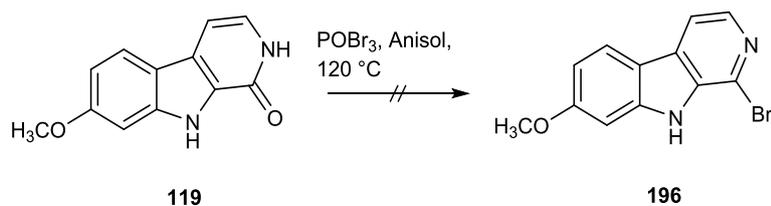


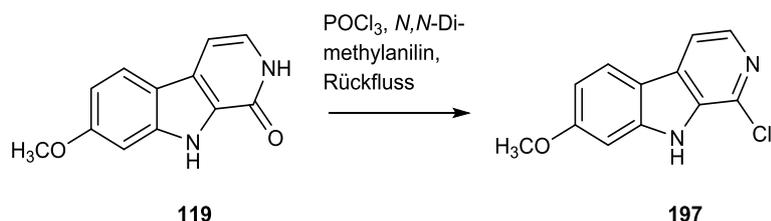
Abb. 160 Dehydrierung von Harmalacidin (**58**)

3.3.4.3.2.3. Halogenierung an C-1 des 1-Oxo- β -carbolins **119**

Für eine nachfolgende Funktionalisierung musste an C-1 des 1-Oxo- β -carbolins **119** ein Halogen (Br, Cl) oder Triflatrest eingeführt werden (siehe auch Kapitel 3.2.3.). Zuerst wurde versucht in Anlehnung an die Bromierung des dichlorierten 1-Oxo- β -carbolins **104** (siehe Kapitel 3.2.3.) ein Bromsubstituent an C-1 einzubringen. Das 1-Oxo- β -carbolin **119** und Phosphoroxybromid wurden in Anisol gelöst und bei 120 °C gerührt (Abb. 161). Eine GC/MS-Analytik des Rohproduktes zeigte, dass das Edukt vollständig umgesetzt war, dass aber das gewünschte Produkt nicht entstanden war. Vermutlich kam es hier trotz Zugabe von Anisol zu einer zusätzlichen Bromierung des elektronenreichen Rings C. Welche Verbindungen entstanden sind, wurde nicht weiter verfolgt.

Abb. 161 Versuche zur Bromierung des 1-Oxo- β -carboline **119**

Da eine Ringbromierung offensichtlich nicht zu unterdrücken war, wurde versucht, einen Chlorsubstituenten an C-1 einzubringen. Daher wurde nach einer Vorschrift von Nielsch et al.¹⁴⁴ gearbeitet und das 1-Oxo- β -carboline **119** mit Phosphoroxychlorid unter Katalyse von *N,N*-Dimethylanilin umgesetzt. Das 1-Chlor- β -carboline (**197**) konnte in einer Ausbeute von 50 % erhalten werden (Abb. 162). Nielsch et al.¹⁴⁴ haben in ihrer Vorschrift die analytischen Daten nicht vollständig angegeben, deswegen wurde die Synthese von **197** im experimentellen Teil mit aufgenommen.

Abb. 162 Synthese des 1-Chlor- β -carboline **197**

Im Folgendem wurde versucht, durch Änderung der Zahl der Äquivalente an Phosphoroxychlorid und Dimethylanilin die Ausbeute zu steigern. Durch Erhöhung der Zahl der Äquivalente an Phosphoroxychlorid auf das 1,5 fache konnte die Ausbeute nicht gesteigert werden. Eine Erhöhung der Äquivalente an *N,N*-Dimethylanilin auf das 10-fache in Anlehnung an eine in unserem Arbeitskreis von Bracher und Hildebrand¹²² entwickelte Methode für die Chlorierung von 1-Oxo- β -carboline führte auch nicht zur Steigerung der Ausbeute. Awuah et al.¹⁹² veröffentlichten 2010 eine Methode, nach der Isochinolone unter Mikrowellengestützten Bedingungen bromiert und chloriert werden. Diese Vorschrift wurde von mir noch modifiziert, anstelle von 4 wurden 3 Äquivalente an Phosphoroxychlorid verwendet und es wurde zusätzlich noch Dichlormethan als Lösungsmittel zugesetzt.

Awuah verwendete kein Lösungsmittel. **119** wurde in Phosphoroxychlorid und Dichlormethan gelöst und unter folgenden Mikrowellenbedingungen umgesetzt: 150 W, 30 min, 120 °C und 4 bar. Es kam zu einer Zersetzung des Edukts. Eine weitere Steigerung der Ausbeute wurde nicht mehr versucht.

3.3.4.3.2.4. *N*-Alkylierung des 1-Chlor- β -carbolins (**197**)

Die biologische Testung des 1-Chlor- β -carbolins (**197**) hatte gezeigt, dass durch die Einführung eines Chlorsubstituenten an C-1 die inhibitorische Aktivität auf die MAO-A reduziert werden konnte. Im Vergleich zu Harmin war die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A erfreulicherweise erhöht. Idee war nun, am Pyrrol-Stickstoff von **197** die bisher besten Alkylreste einzuführen, um zu sehen, ob damit, ähnlich wie bei Harmin selbst (siehe Kapitel 3.3.3.2.), eine weitere Erhöhung der Selektivität auf die DYRK1A erreicht werden kann.

Das 1-Chlor- β -carbolin (**197**) und Natriumhydrid wurden in DMF bei 40 °C gerührt. Nach Beendigung der Gasentwicklung wurde das entsprechende Alkylbromid zugegeben und bei 40 °C gerührt (Abb. 163). In Tabelle 9 werden die hergestellten Verbindungen mit ihren Ausbeuten angegeben. Bei der Synthese der Propargylverbindung **198** wurden 1.3 Äquivalente an Base eingesetzt.

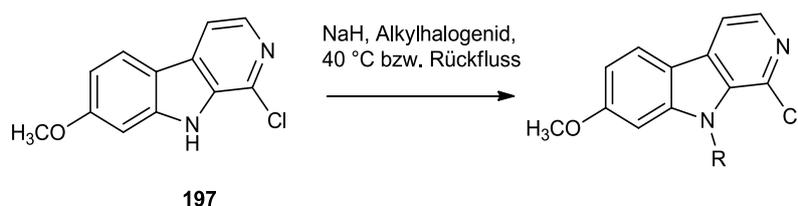


Abb. 163 Synthese der *N*-Alkylderivate des 1-Chlor- β -carbolins (**197**)

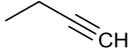
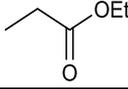
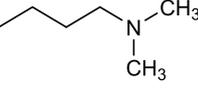
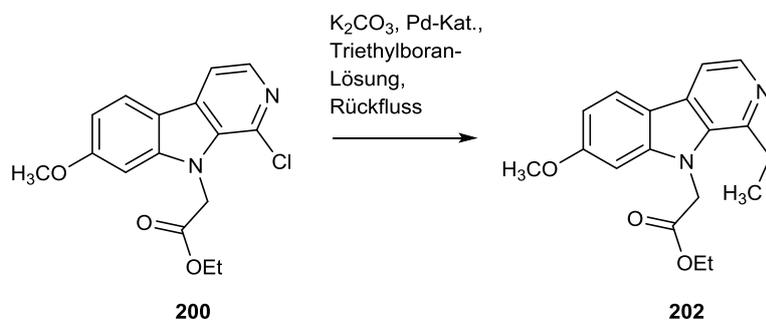
Produkt	Hal	R	Ausbeute in %
198	Br		74
199	Br		63
200	Br		88
201	Cl		20

Tabelle 9 *N*-Alkylderivate von **197**

Die Einführung eines Dimethylaminopropylrestes erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von Hill et al.¹⁶⁵ Das 1-Chlor- β -carbolin (**197**), Natriumhydrid und *N,N*-Dimethyl-3-chlorpropylamin-Hydrochlorid wurden in THF dispergiert und zum Rückfluss erhitzt. Die Dimethylaminopropylverbindung **201** konnte in einer Ausbeute von 20 % erhalten werden (siehe Tabelle 9).

3.3.4.3.2.5. Pd-katalysierte Funktionalisierung an C-1

In unserem Arbeitskreis wurde von Bracher und Hildebrand¹³¹ eine Methode für die Ethylierung des 1-Chlor- β -carbolins entwickelt. In Anlehnung an diese Methode wurden das 1-Chlor-7-methoxy- β -carbolinderivat **200**, Tetrakis(triphenylphosphan)-palladium(0) und Kaliumcarbonat unter N_2 -Atmosphäre in DMF gelöst. Nach Zugabe einer 1 Molaren Lösung von Triethylboran in Hexan wurde zum Rückfluss erhitzt. Das 1-Ethylderivat **202** wurde in einer Ausbeute von 69 % erhalten (Abb. 164).

Abb. 164 Synthese des 1-Ethylderivates **202**

Somit konnte auf diesem Weg ein neuer Zugang für die Synthese der zu den Harmin-Derivaten homologen 1-Ethyl-Analoga entwickelt werden. Ausgehend von *m*-Anisidin (**118**) konnte das 1-Oxo- β -carbolin **119** über eine Japp-Klingemann und anschließende Dehydrierung mit *p*-Chloranil hergestellt werden. Im nächsten Schritt erfolgte eine Chlorierung an C-1 mit Phosphoroxychlorid. Dann wurde eine Alkylierung des Pyrrol-Stickstoffs mit Natriumhydrid als Base und mit Bromessigsäureethylester durchgeführt und unter Pd-Katalyse an Position 1 ethyliert (Abb. 165).

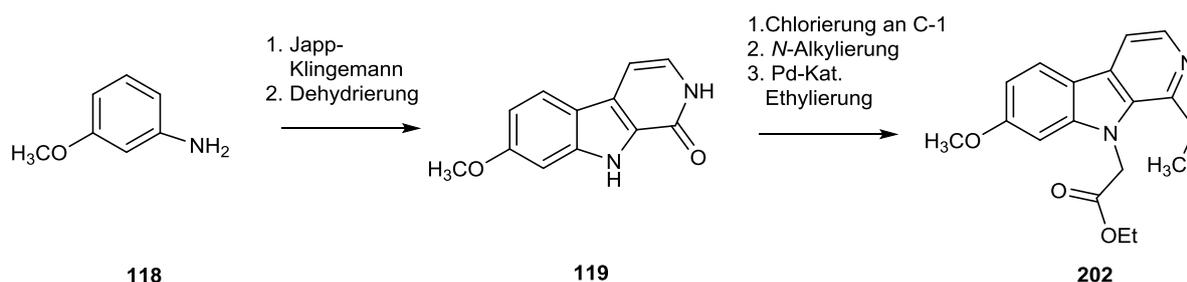


Abb. 165 Syntheseroute zum 1-Ethyl- β -carbolin **202**

Cuny et al.²⁶ veröffentlichten parallel zu meinen Arbeiten 2012 eine Methode, bei der der β -Carbolingrundkörper über eine Pictet-Spengler-Reaktion und anschließende Dehydrierung aufgebaut wird. Ausgehend vom sehr teuren (1 g ca. 300 €) 6-Methoxyindol (**203**) wurde in 2 Schritten das Tryptaminderivat **190** hergestellt. Das Tryptaminderivat **190** wurde mit Propanal über eine Pictet-Spengler-Reaktion cyclisiert und mit Mangandioxid zum 1-Ethyl- β -carbolin dehydriert. Im Anschluss erfolgte dann die Alkylierung zum Aminobutylderivat **204** (Abb. 166).

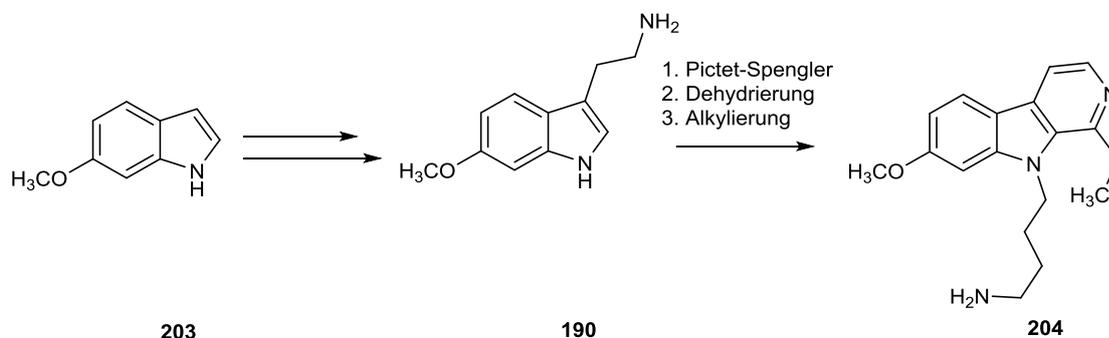


Abb. 166 Syntheseroute zum 1-Ethyl- β -carbolin **204** nach Cuny et al.²⁶

3.3.3. Synthese von Harmin-Bauerin C-Hybriden

3.3.3.1. N-Alkylierung von 1-Brom-7,8-dichlor- β -carbolin (**99**)

Die biologische Testung von 1-Brom-7,8-dichlor- β -carbolin (**99**) (Synthese siehe Kapitel 3.2.3.) hatte gezeigt, dass diese Verbindung die MAO-A nicht mehr hemmt und eine etwas schwächere Hemmung der DYRK1A im Vergleich zu Harmin aufweist. Es sollte die gleiche Strategie wie bei den 1-Chlor-Analoga von Harmin (siehe Kapitel 3.3.4.3.2.4) angewendet werden, da wir uns durch die Einführung von Alkylresten am Pyrrol-Stickstoff eine Erhöhung der inhibitorischen Aktivität auf die DYRK1A erhofften. Die biologische Testung der 1-Chlor-Analoga hatte gezeigt, dass durch die Einführung eines Cyanomethyl- bzw. Propargylrestes die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A erhöht wird.

Zur N-Alkylierung wurden 1-Brom-7,8-dichlor- β -carbolin (**99**) und Natriumhydrid in trockenem DMF bei 40 °C gerührt, nach Beendigung der Gasentwicklung wurde das entsprechende Alkylbromid zugegeben und bei 40 °C gerührt (Abb. 167). Die hergestellten Verbindungen werden in Tabelle 10 dargestellt. Bei der Synthese des Propargylderivates **205** wurden 1.3 Äquivalente an Base eingesetzt.

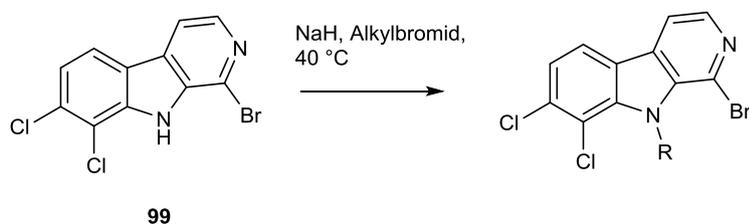


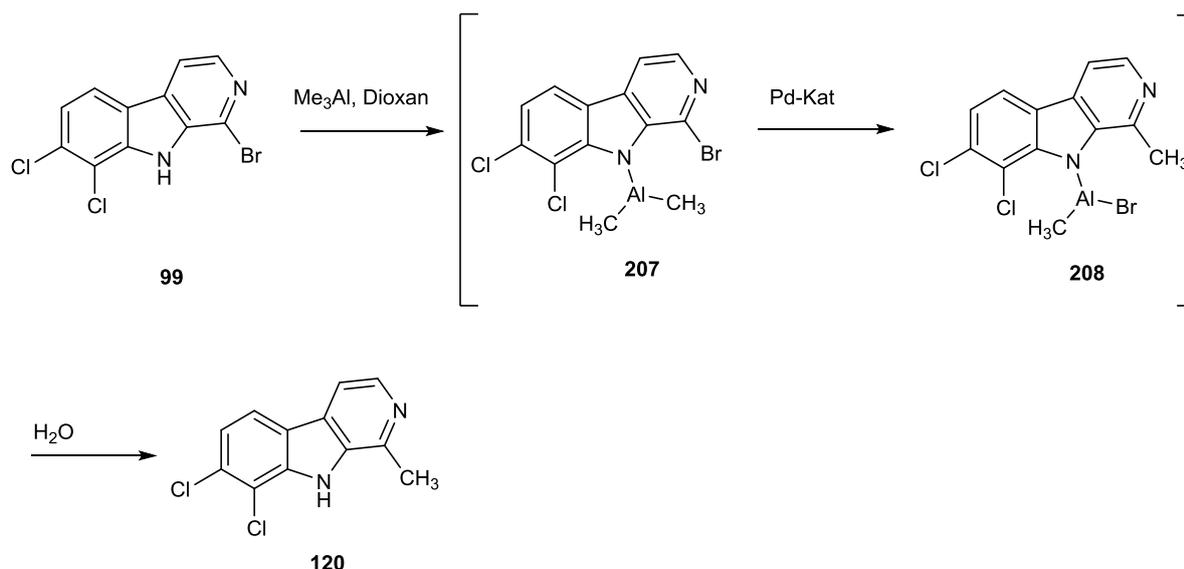
Abb. 167 N-Alkylierung des 1-Brom- β -carbolins **99**

Produkt	R	Ausbeute in %
205		79
206		80

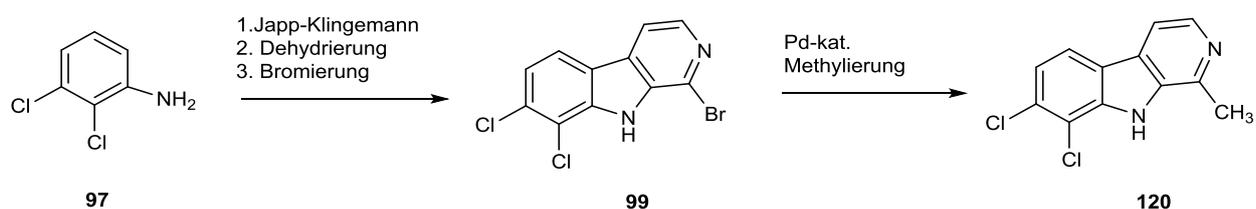
Tabelle 10 N-Alkylderivate des 1-Brom-7,8-dichlor- β -carbolins (**99**)

3.3.3.2. Pd-Katalysierte Funktionalisierung an C-1 von 1-Brom-7,8-dichlor- β -carbolin (**99**)

In unserem Arbeitskreis wurden einige Methoden für Pd-katalysierte Kupplungsreaktionen von 1-Brom- bzw. 1-Chlor- β -carbolinen mit Stannanen, Organoaluminiumverbindungen und Boranen entwickelt (siehe auch Kapitel 3.2.3, 3.2.4. und 3.3.4.3.2.5.). Darunter ist auch die Pd-katalysierte Methylierung von 1-Chlor- β -carbolin zu Harman (**35**) mit Trimethylaluminium als Methylgruppenquelle¹³¹. Trimethylaluminium ist eine Lewissäure, verhält sich aber auch wie eine Organometallverbindung¹¹⁵. In Anlehnung an diese Vorschrift wurde 1-Brom-7,8-dichlor- β -carbolin (**99**) und Tetrakis(triphenylphosphan)palladium(0) unter N₂-Atmosphäre in Dioxan gelöst. Nach Zugabe von einem Äquivalent einer 2 M Lösung von Trimethylaluminium in Hexan wurde zum Rückfluss erhitzt. Das Bauerin C-Harmin-Hybrid **120** wurde in einer Ausbeute von 92 % erhalten. Unter Abspaltung von Methan bildet sich, wie Bracher et al.¹³¹ am Beispiel von 1-Chlor- β -carbolin schon zeigen konnten, aus **99** und Trimethylaluminium spontan ein Dimethylaluminiumamid **207**. Unter Pd-Katalyse erfolgt (intra- oder intermolekular) der Austausch des Bromatoms an C-1 gegen eine Methylgruppe des Aluminiumamids. Eine anschließende Hydrolyse von **208** liefert unter Reprotonierung des Indol-Stickstoffs das Harmin-Bauerin C-Hybrid **120** (Abb. 168). Die gute Ausbeute dieser Reaktion belegt die literaturbekannte deutlich höhere Reaktivität der Bromsubstituenten im Vergleich zum Chlor bei Pd-katalysierten Kupplungsreaktionen.

Abb. 168 Synthese des Bauerin C-Harmin-Hybrides **120**

Hiermit konnte ein Zugang zu einem Harmin-Bauerin C-Hybrid mit einem 7,8-Dichlorsubstitutionsmuster **120** entwickelt werden, das bisher in der Literatur noch nicht beschrieben wurde. In der Literatur finden sich nur Synthesen von Harmin-Derivaten, die an Position 6 bzw./und 8 chloriert sind¹³⁷. Ausgehend von 2,3-Dichloranilin (**50**) konnte das 1-Brom-7,8-dichlor- β -carboline **99** über eine Japp-Klingemann-Reaktion, Dehydrierung und anschließende Bromierung hergestellt werden. Im finalen Schritt wurde das Harmin-Bauerin C-Hybrid über Pd-katalysierte Methylierung an C-1 hergestellt. Die Gesamtausbeute der Synthese liegt bei 27 % (Abb. 169).

Abb. 169 Syntheseroute zum Harmin-BauerinC-Hybrid **120**

3.3.3.3. N-Alkylierung des Bauerin C-Harmin-Hybrides **120**

Die N-Alkylierung erfolgte analog zur N-Alkylierung des 1-Chlor-Analogons von Harmin (siehe Kapitel 3.3.4.3.2.4.) mit Natriumhydrid als Base (Abb. 170). Die auf diesem Weg hergestellten Verbindungen werden zusammen mit ihren Ausbeuten in

Tabelle 11 dargestellt. Die Einführung eines Dimethylaminopropylrestes erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von Hill et al.¹⁶⁵ mit *N,N*-Dimethyl-3-chlorpropylamin-Hydrochlorid als Alkylierungsreagenz und unter Rückfluss.

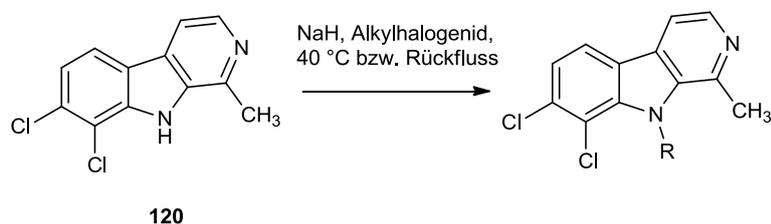


Abb. 170 *N*-Alkylierung des Harmin-Bauerin-C Hybrides **120**

Produkt	Hal	R	Ausbeute in %
209	Br		45
210	Br		15
211	Br		21
212	Cl		28

Tabelle 11 *N*-Alkylderivate des Harmin-Bauerin C-Hybrides **120**

4. Biologische Testung

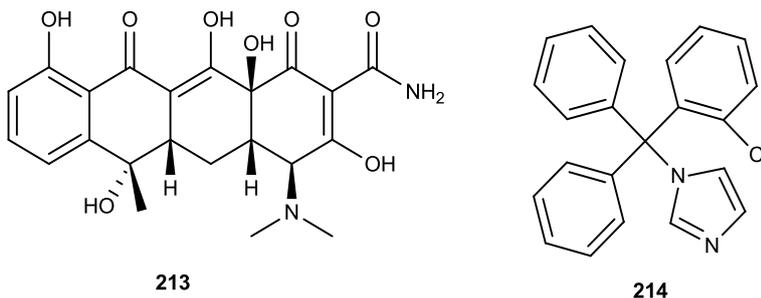
Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Verbindungen wurden in verschiedenen Testverfahren auf ihre biologische Aktivität untersucht. Der Agar-Diffusions-Test und MTT-Assay wurden in unserem Arbeitskreis von Frau Martina Stadler durchgeführt. Die anderen Testungen wurden bei unterschiedlichen, in den entsprechenden Kapiteln konkret benannten, Kooperationspartnern durchgeführt.

4.1. Agar-Diffusionstest

Der Agar-Diffusions-Test ist ein Standardverfahren zur Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität von Substanzen. Dabei werden diverse Modellkeime in Gegenwart der zu untersuchenden Substanz auf Agar-haltigen Nährboden angezüchtet. Angaben zur praktischen Durchführung werden im Kapitel 6.3.1. angeführt. Besitzt eine Verbindung antimikrobielle Eigenschaften, dann können in den entsprechenden Kolonien Hemmhöfe beobachtet werden, deren Durchmesser vermessen werden. Die erhaltenen Daten besitzen allerdings nur begrenzte Aussagekraft bezüglich der Stärke des antimikrobiellen Effekts. Da die Diffusion im wasserhaltigen Nährmedium eine wichtige Rolle bei der Durchführung des Testes besitzt, können die gemessenen Hemmhofdurchmesser nur begrenzt zur Quantifizierung herangezogen werden. Sie dienen daher nur dem grundsätzlichen Erkennen einer Aktivität gegenüber Pilzen und/oder Bakterien. Zur genaueren Bestimmung müssen weitere Untersuchungen folgen. Folgende Modellkeime wurden für die Agar-Diffusions-Testung verwendet (Tabelle 12). Als Referenzsubstanzen wurden Tetracyclin (**213**) für den antibiotischen Effekt sowie Clotrimazol (**214**) als Antimykotikum eingesetzt (Abb. 171).

Mikroorganismus	DSM-Nummer	Art
<i>Escherichia coli</i>	426	gramnegative Bakterien
<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	8361	
<i>Staphylococcus equorum</i>	20675	grampositive Bakterien
<i>Staphylococcus entericus</i>	14446	
<i>Yarrowia lipolytica</i>	1345	Hefen
<i>Candida glabrata</i>	11226	
<i>Aspergillus niger</i>	1988	Schimmelpilz
<i>Hyphopichia burtonii</i>	70663	Dermatophyt

Tabelle 12 Im Agar-Diffusionstest verwendete Modellkeime

Abb. 171 Tetracylin (**213**) und Clotrimazol (**214**)

4.1.1. Testergebnisse

In der nachfolgenden Tabelle 13 sind die ermittelten Hemmhofdurchmesser aller getesteten Verbindungen dargestellt. Die Angabe erfolgt in Millimeter (mm). Zusätzlich wird zwischen totaler Hemmung (TH) und eingeschränkter Wachstumshemmung (WH) unterschieden. Wenn keine Aktivität gegenüber einem bestimmten Mikroorganismus ermittelt werden konnte, wird dies durch Striche (---) gekennzeichnet. K.T. gibt an, dass die Verbindung noch nicht getestet wurde.

140	---	---	---	---	7	---	---	---
142	---	---	---	8	15	---	---	10
143	---	8	8	11	9	---	---	9
144	---	---	---	---	---	10 WH	---	
145	---	---	---	---	10	10 WH	---	15
146	---	---	---	---	---	---	---	---
147	---	---	---	---	---	---	---	---
148	---	---	8	8	---	---	---	---
150	---	---	---	---	---	---	---	---
151	---	---	---	---	---	---	---	---
152	---	---	---	---	---	---	---	---
153	10	8 WH	8	8	---	---	---	---
154	10	13 WH	10	10	---	---	---	---
155	---	----	---	---	---	15 WH	---	---
156	---	---	15	8	---	10 WH	---	---
157	---	---	15	12	10	15 WH	---	---
158	---	---	---	---	---	---	---	---
159	---	10 WH	---	---	---	---	---	---
161	---	---	---	---	---	---	---	---
162	---	---	---	---	---	---	---	---
164	---	---	---	---	---	---	---	---
163	---	---	---	---	---	---	---	---
165	---	---	---	---	---	---	---	---
167	---	---	---	---	---	10 WH	---	---
168	---	---	---	---	10	18 WH	---	---
172	----	----	---	11	11 WH	10	---	12
175	---	---	---	---	12 WH	15 WH	---	15 WH
197	---	---	---	---	---	---	---	---
198	---	---	---	---	---	---	---	---
199	---	---	---	7	---	---	---	---
200	---	---	---	---	---	---	---	---
201	---	---	7	7	---	---	---	---
202	---	---	---	---	---	---	---	---
205	---	---	---	---	---	---	---	---
206	---	---	---	---	---	---	---	---
209	---	---	---	---	---	---	---	---
210	----	----	8	9	---	12	---	---
211	---	---	---	---	---	---	---	---
212	---	---	14	12	10 WH	13	----	10 WH
Tetracyclin	35	32	40	28				
Clotrimazol					25	25	22	30

Tabelle 13 Testergebnisse des Agar-Diffusionstestes

4.1.2. Diskussion der Testergebnisse

Die meisten Verbindungen zeigen keine signifikante antimikrobielle Aktivität, wie man in Tabelle 13 erkennen kann.

Aus dem γ -Carbolin-Projekt zeigt das nicht methylierte 3-Oxo- γ -carbolin **48** zwar ein breites Aktivitätsspektrum, jedoch nur mit geringen Hemmhofdurchmessern. Die Allylderivate **78** und **79** weisen nur moderate antimykotische Aktivität gegen *Candida*

glabrata auf, zeigen aber im Gegensatz zu **48** keine antibiotischen Effekte. Aus dem Dichlorannomontin-Projekt weisen nur das Bromderivat **99** und die Acetylverbindung **56** eine eingeschränkte Wachstumshemmung gegenüber Hefen auf.

Die meisten Verbindungen aus der Reihe der Harmin-Analoga und auch Harmin (**1**) weisen keine antimikrobiellen Eigenschaften auf. Bei den Brom- und Chlorderivaten von Harmin (**1**) zeigen nur die an Position 8 chlorierten bzw. bromierten Derivate **122** und **126** eine moderate Hemmung von *Yarrowia lipolytica* und *Hyphopichia burtonii*. Die am Pyrrol-Stickstoff butylierten Halogenharmine **128**, **129** und **130** besitzen keine nennswerte antimikrobielle Aktivität.

Aus der Reihe der 9-Desaza-Analoga von Harmin kann beim Alkohol **45** und Keton **44** ein breites Aktivitätsspektrum beobachtet werden, jedoch mit mäßiger Wachstumshemmung bei Hefen, Bakterien und Dermatophyten. Im Gegensatz dazu zeigt die Synthesestufe, das Pyridin **115**, eine nennswerte Hemmung von *Aspergillus niger*. Beim Regioisomer **137** kann jedoch keine antimikrobielle Aktivität beobachtet werden. Das Phenol **140** zeigt im Gegensatz zum Azafluoren **44** keine nennswerten antimikrobiellen Effekte. Das 2-Desaza-Harmin **43** besitzt keine antimikrobielle Aktivität.

Aus der Gruppe der Derivate von Harmin (**1**) mit einfachen *N*-Alkyl- bzw. Arylalkylresten weisen nur die Allylderivate **144** und **145**, genauso wie die Allylderivate aus der γ -Carbolin-Reihe **78** und **79**, eine Wachstumshemmung von *Candida glabrata* auf. Das *N*-Butylharmin-Derivat **131** hemmt als einzige Verbindung aus dieser Reihe das Wachstum von *Hyphopichia burtonii* moderat. Durch die Einführung von basischen Gruppen an Harmin (**1**) konnte eine Wachstumshemmung von Bakterien bei der Dimethylaminoethylverbindung **154** und Dimethylaminopropylverbindung **153** beobachtet werden. Sperrige Reste an der distalen Aminogruppe von **155**, **156** und **157** führen jedoch zu einer Hemmung von Hefen. Die Einführung von polaren Resten am Pyrrol-Stickstoff führt nur bei der Ethoxycarbonylverbindung **159** zu einer mäßigen Wachstumshemmung von *Pseudomonas antimicrobia*. Die anderen Ester und Amidverbindungen aus dieser Reihe zeigen keine antimikrobielle Aktivität.

Aus der Reihe der Nitrile weist die Cyanomethylverbindung **136** eine moderate Hemmung von *Pseudomonas antimicrobia* auf. Das entsprechende Propargylderivat **135** zeigt keine nennswerten antimikrobiellen Effekte. Bei dem verzweigten Nitrilderivat **168** und der Cyanoethylverbindung **167** kann im Gegensatz zur

Verbindung **136** eine moderate Hemmung von Hefen beobachtet werden. Die *N*-Acylderivate **172** und **175** besitzen moderate antimykotische Effekte. Das Harminderivat **175** zeigt zusätzlich eine moderate Hemmung eines Dermatophyten. *N*-Alkylierte Harmin-Analoga mit einem Brom- bzw Chlorsubstituenten an Position 1 weisen keine nennenswerten antimikrobiellen Effekte auf. Das 1-Bromanalogon **99** (nicht alkyliert) besitzt jedoch im Gegensatz zum entsprechenden 1-Chlor-Analogon von Harmin **197** eine nennenswerte antimykotische Aktivität. Aus der Reihe der Harmin-Bauerin C-Hybride weist das Harmin-Bauerin C-Hybrid **120**, ähnlich wie das 3-Oxo- γ -carbolin **48**, ein breites Aktivitätsspektrum mit moderater Hemmung auf. Bei den *N*-alkylierten Verbindungen zeigt nur die *N,N*-Dimethylaminopropylverbindung **212** eine moderate antimykotische Aktivität und Hemmung von *Hyphopichia burtonii*. Andere hergestellte Dimethylaminopropylverbindungen zeigen diese Effekte jedoch nicht.

Auf eine genauere Untersuchung von antimikrobiellen Wirkmechanismen wurde auf Grund der nur moderaten Effekte gegenüber den untersuchten Keimen verzichtet.

4.2. MTT-Test

Zur Bestimmung der Zytotoxizität wurde der MTT-Test nach Mosmann¹⁹³ für alle in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen durchgeführt. Diese Testung basiert auf der Reduktion des blassgelben, wasserlöslichen Tetrazoliumsalzes 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) (**215**) in Anwesenheit von Reduktionsäquivalenten und Enzymen des endoplasmatischen Retikulums zu einem schwerlöslichen, tiefblauen Farbstoff mit Formazan-Struktur **216** (Abb. 172). Weitere Angaben zur Testung finden sich in Kapitel 6.3.2. Da diese Reaktion nur in lebenden, metabolisch aktiven Zellen abläuft, kann anhand der Umsetzung in Anwesenheit der zu untersuchenden Probe auf die Viabilität der Zellen geschlossen werden. Die Quantifizierung erfolgt dabei durch photometrische Bestimmung des in den Zellen gebildeten Formazans. Hierbei können Substanzen mit IC₅₀-Werten von < 5 μ M, was dem Wert von Cisplatin entspricht, als nennenswert zytotoxisch eingestuft werden. Für diese Testung wurden humane Leukämiezellen der Linie HL-60 eingesetzt sowie Triton X-100 als Positivkontrolle verwendet. Anhand der Ergebnisse lässt sich zwar auf eine zytotoxische Aktivität der entsprechenden Verbindungen schließen, aber für

genauere Aussagen zum Wirkmechanismus müssten weitergehende Untersuchungen durchgeführt werden.

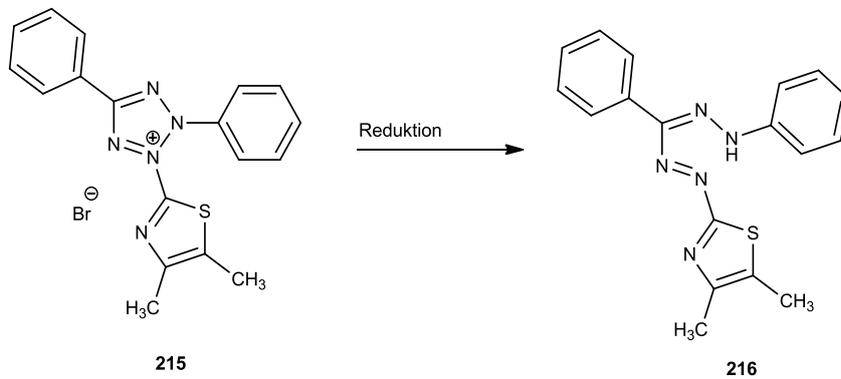


Abb. 172 Farbreaktion beim MTT-Test

4.2.1. Testergebnisse

Die IC_{50} -Werte der getesteten Verbindungen werden in Mikromol je Liter (μM) angegeben (siehe Tabelle 14 und 15).

γ-Carbolin-Projekt		Dichlorannomontin-Projekt	
Substanz	IC_{50} (μM)	Substanz	IC_{50} (μM)
48	2	40	> 50
61	> 50	56	> 50
69	39	99	> 50
70	40	104	> 50
71	46		
78	28		
79	> 50		

Tabelle 14 Testergebnisse des MTT-Tests Teil 1

Harmin-Projekt-1		Harmin-Projekt-2	
Substanz	IC ₅₀ (µM)	Substanz	IC ₅₀ (µM)
42	8	150	18
43	> 50	151	10
44	> 50	152	12
45	> 50	153	> 50
47	> 50	154	> 50
115	47	155	> 50
116	32	156	39
119	> 50	157	> 50
120	20	158	> 50
121	31	159	> 50
122	> 50	161	> 50
123	> 50	162	> 50
124	> 50	163	> 50
125	24	164	> 50
126	> 50	165	> 50
127	> 50	167	> 50
128	10	168	> 50
129	13	172	> 50
130	11	175	> 50
131	16	197	17
132	> 50	198	11
135	28	199	> 50
136	28	200	> 50
137	> 50	201	32
140	> 50	202	> 50
142	> 50	205	> 50
143	15	206	> 50
144	20	209	> 50
145	8	210	> 50
146	23	211	12
147	> 50	212	10
148	15	Harmin (1)	> 50

Tabelle 15 Testergebnisse des MTT-Tests Teil 2

4.2.2. Diskussion der Testergebnisse

Aus der Reihe der γ -Carboline besitzt nur das 3-Oxo- γ -carbolin **48** signifikante Zytotoxizität, der IC₅₀-Wert liegt bei 2 µM. Die entsprechenden *N*-Allyl-derivate **78** und **79** besitzen keine nennenswerte Zytotoxizität. Erwähnenswert ist hier, dass das unchlorierte Analogon von Wollelin **35**⁶¹ kein zytotoxisches Potential aufweist (Abb. 173). Durch die Einführung der Chlorsubstituenten an den Positionen 6 und 7 konnte somit das zytotoxische Potential erheblich gesteigert werden.

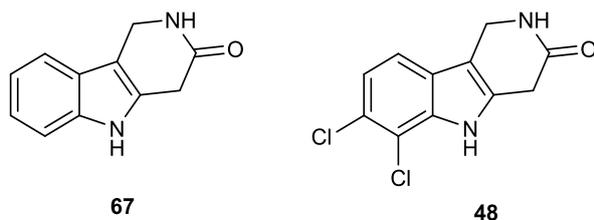


Abb. 173 3-Oxo- γ -carbolin **67** von Wollein⁶¹ und das chlorierte Struktur analogon **48**

Verbindungen aus dem Dichlorannomontin-Projekt zeigen kein zytotoxisches Potential.

Aus der Reihe der Harmin-Analoga zeigt der überwiegende Teil der Verbindungen nur geringe oder keine Zytotoxizität. Diese Ergebnisse entsprechen auch unserer Zielsetzung. Auch Harmin (**1**) besitzt kein zytotoxisches Potential.

Wie schon von Cao et al.³¹ berichtet, hängt das zytotoxische Potential von Harmin-Analoga von Substitutionsmuster ab. Die im Ring C halogenierten Verbindungen **121** bis **127** besitzen keine Zytotoxizität. Nur Verbindungen, die an Position 6 halogeniert sind, zeigen eine geringe Zytotoxizität. Werden die halogenierten Verbindungen jedoch am Pyrrol-Stickstoff butyliert, kommt es zu einer Steigerung der zytotoxischen Aktivität. Das entsprechende, nicht halogenierte, *N*-Butylderivat **131** zeigt ebenfalls moderates zytotoxisches Potential. Das am Ring C modifizierte Harminderivat, das *N,N*-Dimethylaminoethoxyderivat **132** besitzt kein zytotoxisches Potential.

Die 9-Desaza-Analoga von Harmin **44**, **45**, **47** und **140** und die Synthesestufe **115** sind nicht zytotoxisch. Beim 2-Desaza-Harmin **43** wurde ebenfalls keine Zytotoxizität beobachtet.

Aus der Reihe der *N*-9-Alkylderivate von Harmin (**1**) zeigen nur Derivate mit Arylresten eine nennenswerte Zytotoxizität mit IC_{50} -Werten zwischen 8 und 18 μM für die Verbindungen **143**, **146**, **148**, **150**, **151** und **152**. Auch das Benzylidenderivat **42** besitzt moderates zytotoxisches Potential. Es weist aber nicht die Zytotoxizität des literaturbekannten 4-Nitrobenzylidenharmins²⁸ auf. Der IC_{50} -Wert liegt bei 8 μM . Aus der Reihe der *N*-Alkylderivate weisen nur das Butylderivat **131** und die Allylverbindung **144** eine geringe Zytotoxizität mit IC_{50} -Werten von 16 bzw. 20 μM auf. Das Dimethylallylderivat **145** besitzt jedoch eine höhere Zytotoxizität mit einem Wert von 8 μM als das Allylderivat **144** mit einem Wert von 20 μM . Harmin-Derivate mit polaren Resten am Pyrrol-Stickstoff besitzen keine nennenswerte Zytotoxizität.

An Position 1 halogenierte Harmin-Analoga zeigen unterschiedliche zytotoxische Aktivitäten. Das 1-Bromanalogon **99** zeigt im Gegensatz zum 1-Chlor-Analogon **197** keine Zytotoxizität. Das zytotoxische Potential von **197** ist jedoch auch nur gering mit einem IC_{50} -Wert von 17 μ M. Bei den am Pyrrol-Stickstoff alkylierten Derivaten von **99** und **197** zeigt nur das Propargylderivat **198** eine geringe Zytotoxizität, das entsprechende 1-Brom-Analogon **205** weist jedoch keine Zytotoxizität auf.

Bei den Harmin-Bauerin C-Hybriden besitzen nur Verbindung **120** und sein Dimethylaminopropylderivat **212** und das Ethoxycarbonylmethylderivat **211** moderates zytotoxisches Potential.

Jedoch lässt sich an den ermittelten IC_{50} -Werten der Nitril-, Ester-, Propargyl- und Dimethylaminopropyl-Analoga von Harmin (**1**), mit unterschiedlicher Substitution an Position 1, kein Muster erkennen, wann diese Verbindungen zytotoxisches Potential aufweisen.

4.3. High Throughput-Screening an Proteinkinasen

In Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Knapp am *Structural Genomics Consortium* (SGC) der *University of Oxford* wurden einige im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte Verbindungen in einem Hochdurchsatz-Screening auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber einer Vielzahl von Proteinkinasen untersucht.

Diese Testung basiert auf der fluorimetrischen Bestimmung einer Liganden-abhängigen Schmelztemperatur (T_m ; melting temperature). Bindet ein Ligand an eine Kinase, dann kommt es zu einer Erhöhung der Schmelztemperatur des Ligand-Protein-Komplexes im Vergleich zum nativen Protein, wobei eine Änderung der freien Enthalpie zu Grunde liegt. Die Differenz ΔT_m der beiden Schmelztemperaturen ist proportional zur Bindungsaffinität sowie zur Konzentration des Liganden.

Die fluorimetrische Bestimmung der Schmelztemperatur erfolgt mit Hilfe eines Fluoreszenzfarbstoffs. Dieser bindet nur dann an die hydrophoben Domänen, wenn das Protein denaturiert vorliegt, da die zur Interaktion benötigten Domänen im nativen Zustand im Inneren der Kinase liegen. Kommt es zu keiner Bindung, dann wird die Fluoreszenz des Farbstoffs durch Sauerstoff gequencht. Bei Erreichen der Schmelztemperatur hingegen werden die hydrophoben Bereiche exponiert und der Farbstoff bindet an das Enzym. Diese Bindungen rufen daraufhin einen Fluoreszenzanstieg hervor. Diese Daten korrelieren gut mit den Ergebnissen von

alternativen Methoden zur Bestimmung der Bindungsaffinität wie der Isothermal Titration Calorimetry und enzymatischen Tests¹⁹⁴.

Weitere Details zu dieser Methode sowie zur praktischen Durchführung werden in 6.3.4. beschrieben. ΔT_m zwischen 0 und 3 °C sowie negative Werte gelten als nicht signifikant. Bei ΔT_m -Werten zwischen 3 und 6 °C kann von einer moderaten Affinität bzw. einer signifikanten inhibitorischen Aktivität der getesteten Substanzen ausgegangen werden (in den Tabellen gelb unterlegt). Bei Werten über 6 °C handelt es sich um eine hochaffine Verbindung (rot unterlegt). In den nachfolgenden Tabellen 16 und 17 sind die Differenzen der entsprechenden Schmelztemperaturen (ΔT_m) in Grad Celsius [°C] für einige in dieser Arbeit synthetisierte Verbindungen aufgeführt. Leider lagen bis zur Fertigstellung dieser Arbeit für viele Verbindungen keine oder lediglich unvollständige Ergebnisse vor. Deswegen werden im Folgendem nur die Kinasen vorgestellt, bei denen die Verbindungen Aktivitäten gezeigt haben. Sämtliche nicht aktiven oder bislang nicht getesteten Substanzen und Kinasen wurden aus Platzgründen nicht berücksichtigt. Fehlende Messwerte werden durch einen Strich (-) gekennzeichnet. Verbindungen aus meiner Diplomarbeit, zu denen neue Ergebnisse vorliegen, werden auch in die Tabelle mit aufgenommen. Auf die Angabe der Affinitäten zur DYRK1A und 2 aller bisher getesteten Verbindungen aus dem Harmin-Projekt wurde verzichtet, da auf das inhibitorische Potential dieser Verbindungen auf die DYRK1A und 2 im Kapitel 4.4. noch genauer eingegangen wird. Die Testungen an DYRKs fanden im Arbeitskreis von Prof. Becker in Aachen statt. Die Ergebnisse aus Oxford korrelieren aber größenordnungsmäßig mit den Ergebnissen aus Aachen.

4.3.1. Testergebnisse

Verbindung	CLK3A	GSG2A	PIM1A	PIM2A	STK24A	CLK1A	CLK2A
γ-Carbolin-Projekt							
74	1.7		2.56	-	1.95	3.36	3.26
Harmin-Projekt							
158	-	-	-	-	5.99	-	-
142	1.3	5.2	2	1.1	-	-	-
131	1.1	4.3	4.0	2.4	-	-	-
123	1.4	3.6	2.8	1.5	-	-	-
121	4.6	3.8	7.1	6.6	-	-	-
122	1.2	3.9	1.1	1.3	-	-	-
126	0.6	2.6	1.0	-	-	-	-
127	0.9	2.8	2.4	-	-	-	-
125	2.2	4.0	4.1	-	-	-	-
130	2.4	4.3	-	-	-	-	-

Tabelle 16 Ausgewählte Ergebnisse des Kinase-Screenings aus Oxford Teil 1

Verbindung	PIM3A	STK17AA	ATK17BA	AAK1A	ACVR2BA
γ-Carbolin-Projekt					
78	-	-0.02	0.64	3.38	-
74	4.06	3.32	4.42	-	-
Harmin-Projekt					
158	-	0.2	0.56	0.74	8.57
123	-	0.88	-	6.52	-
121	-	3.4	-	4.55	-
122	-	-	-	3.59	-
126	-	-	-	2.57	-
127	-	-	-	5.52	-
124	-	-	-	2.69	-
124	-	-	-	0.59	10.3

Tabelle 17 Ausgewählte Ergebnisse des Kinase-Screenings aus Oxford Teil 2

4.3.2. Diskussion der Testergebnisse

Da nicht alle Verbindungen an den selben Kinasen getestet wurden und bei sehr vielen Verbindungen bis zum Ende dieser Arbeit die Ergebnisse noch ausstehen, v.a. auch an den für unseren Arbeitskreis interessanten Kinasen, ist bisher keine

umfassende Diskussion der inhibitorischen Aktivitäten möglich. Somit können auch keine Aussagen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen gemacht werden.

Desweiteren müssten die aktiven Verbindungen noch in weiteren Kinase-spezifischen, zellulären Assays getestet werden, um genaue Aussagen über ihr inhibitorisches Potential machen zu können.

Aus der Reihe der 3-Oxo- γ -carboline zeigen nur zwei Verbindungen moderate Effekte. Das Nitril **74** (Abb. 45), eine Synthesevorstufe, die ich in meiner Diplomarbeit⁶⁵ synthetisiert habe, zeigt moderate Affinität zu CLK1A (CDK-like kinase), CLK2A, PIM3A (Proto-onkogene Serin/Threonin-Proteinkinase), STK17AA (Serin/Threonin-Kinase) und STK17BA. Das *N*-Allylderivat **78** besitzt moderate Affinität zu AAK1A (AMP-aktivierte Kinase). Leider stehen bisher für die Verbindungen aus dem γ -Carbolin-Projekt die Ergebnisse zur Affinität zu CDK1 noch aus.

Die meisten Verbindungen aus dem Harmin-Projekt, die bisher an GSG2 (Haspin) getestet wurden, zeigen eine moderate Affinität zu dieser Kinase. Auch Harmin (**1**) besitzt eine moderate inhibitorische Aktivität für Haspin mit einem IC₅₀-Wert von 590 nM²⁶. Bisher zeigt sich, dass Harmin-Derivate, die keine nennenswerte Affinität zur DYRK1A besitzen, immer noch moderate Affinität zu Haspin aufweisen. Das Carboxymethylderivat **158** besitzt neben einer moderaten Affinität zur DYRK1A auch eine hochaffine Bindung zu ACVR2BA (Activin A type I receptor) mit einer ΔT_m von 8.6 °C und eine signifikante Affinität zu STK24A. Das Tribromderivat **124** zeigt neben **158** eine noch hochaffinere Bindung zur ACVR2BA mit ΔT_m von 10.3 °C.

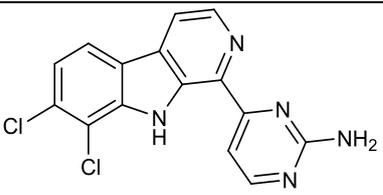
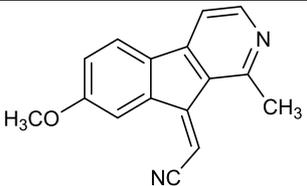
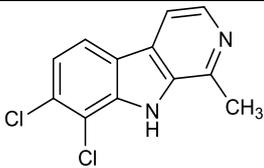
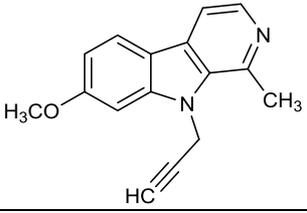
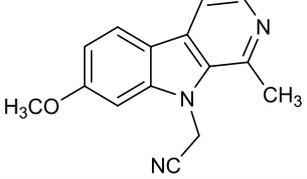
Das *N*-Butylharmin **131** weist neben einer moderaten Affinität zu GSG2 eine moderate Affinität zu PIM1A auf. Aus der Reihe der bromierten und chlorierten Harmin-Derivate zeigen einige Verbindungen hochaffine Bindungen. Das Dibromderivat **123** besitzt aus der Reihe der bromierten Harmine die höchste Affinität zu AAK1A mit einem ΔT_m von 6.5 °C. Aus der Reihe der chlorierten Harmine besitzt nur das Dichlorderivat **127** eine moderate Affinität zu AAK1A. Das 6-Bromderivat **121** weist hochaffine Bindungen zur PIM1A und 2A und moderate Affinitäten zu GSG2, CLK3A und STK17AA auf. Die anderen bromierten Verbindungen aus dieser Reihe zeigen diese Affinitäten nicht, d.h. durch eine Substitution an Position 8 kommt es zu einer Senkung der Affinität. Aus der Reihe der chlorierten Derivate zeigt ebenfalls das 6-Chlorderivat **125** eine moderate Affinität zu PIM1A. Ob auch eine affine Bindung zu PIM2A erfolgt, wurde nicht getestet.

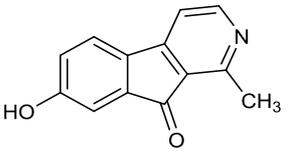
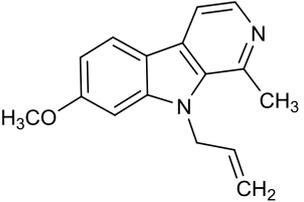
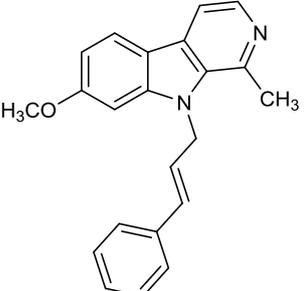
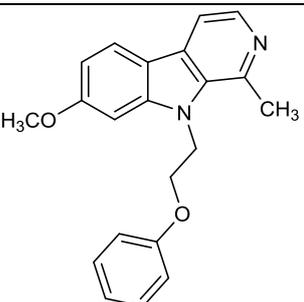
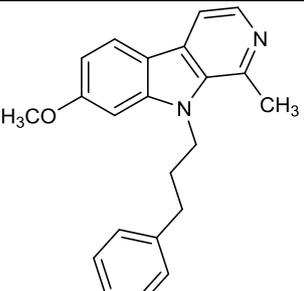
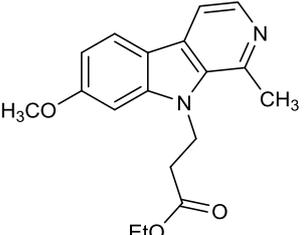
Hierbei anzumerken ist, dass alle bisher genannten Kinasen genauso wie DYRK1A Serin-Threonin Kinasen sind.

4.4. Testung auf Hemmung der CLK1

In einer kurzfristig angefangenen Kooperation mit Dr. Jens von Kries wurde am FMP (Leibniz-Institut für molekulare Pharmakologie) in Berlin eine Auswahl meiner Verbindungen auf Inhibition der CLK1 getestet. Da das Testsystem in der Arbeitsgruppe von Dr. Jens von Kries neu etabliert wurde, liegen uns bis zur Fertigstellung der vorliegenden Arbeit noch keine Details zum Testsystem vor und es wurde erst nur eine Auswahl von meinen Verbindungen getestet (Tabelle 18).

4.4.1. Testergebnisse und Diskussion

Strukturformel	Verbindung	IC ₅₀ -Wert [nM]
	40	403
	47	45
	120	199
	135	18
	136	18

Strukturformel	Verbindung	IC ₅₀ -Wert [nM]
	140	163
	144	149
	148	569
	151	545
	152	68
	159	426

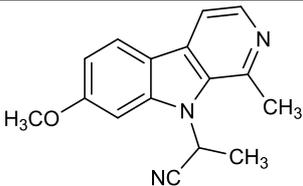
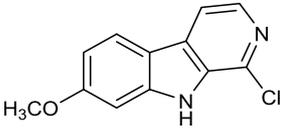
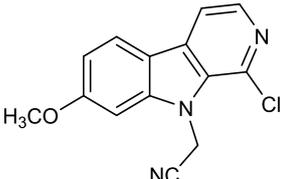
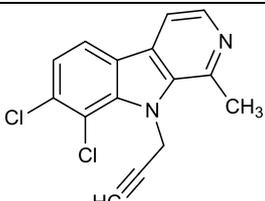
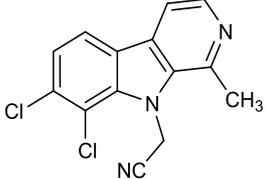
	168	13
	197	43
	199	33
	209	264
	210	103

Tabelle 18 Testergebnisse aus Berlin

In Tabelle 18 sind die Verbindungen dargestellt, die IC_{50} -Werte im nanomolaren Bereich besitzen.

Die 3-Oxo- γ -carboline **48** und **77** zeigen keine nennenswerte Inhibition der CLK1.

Dichlorannomontin (**40**) inhibiert die CLK1 mit einem IC_{50} -Wert von 403 nM. Im Vergleich dazu besitzt Annomontin (**30**) für die CLK1 einen IC_{50} -Wert von 602 nM. Die Einführung von Chlorsubstituenten führte hier zu keiner signifikanten Erhöhung der Kinase-inhibitorischen Aktivität. Das 2-Desaza-Annomontin⁶³ besitzt einen Wert von 1.4 μ M. Der Pyridin-Stickstoff scheint somit entscheidend für die inhibitorische Aktivität zu sein. Ob Dichlorannomontin (**40**) auch wie Annomontin (**30**) die CDK1 inhibiert, wird in einer Kooperation mit Laurent Meijer in Roscoff getestet. Die Ergebnisse lagen bis zur Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht vor.

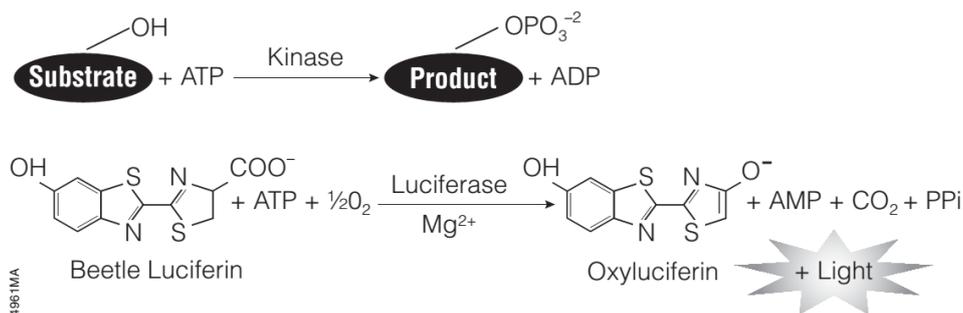
Die besten Verbindungen von dieser Auswahl sind das Cyanomethylderivat **136** mit einem IC_{50} -Wert von 18 nM, das Propargylderivat **135** mit einem IC_{50} -Wert von 18

nM und Verbindung **168**, bei der die Cyanomethylgruppe eine zusätzliche α -Methylengruppe besitzt, mit einem IC_{50} -Wert von 13 nM. Das Desaza-Analogon **47**, ein rigidisiertes Strukturanalogon von **136**, weist für die CLK1 einen IC_{50} -Wert von 45 nM auf. Ein Fehlen des Indol-Stickstoffs wirkt sich hier nicht so gravierend auf die inhibitorische Aktivität aus als wie bei DYRK1A (siehe 4.5.1.). Das Strukturanalogon von **136** mit einem Chlorsubstituenten an Position 1 (Verbindung **199**) besitzt einen IC_{50} -Wert von 33 nM. Somit wirkt sich auch hier ähnlich wie bei DYRK1A eine Chlorierung von Position 1 nicht gravierend auf die inhibitorische Aktivität aus. Die Testung der Harmin-Bauerin C-Hybride zeigt, dass durch Ersetzen der Methoxygruppe an Position 7 durch Chlor auch potente Hemmstoffe der CLK1 erhalten werden können, die aber die Harmin-Derivate **135**, **136** und **168** nicht übertreffen. Da bisher noch nicht alle Verbindungen getestet wurden, können noch keine Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden.

4.5. Testung auf Hemmung der DYRK1, CLK1 und MAO-A

Diese Testungen wurden im Arbeitskreis von Prof. Becker in Aachen durchgeführt. Verwendet wurden folgende Testsysteme: zum einen der MAO-Glo™-Assay von Promega und der Kinase-Glo®-Assay (ebenfalls von Promega). Beides sind kommerziell erhältliche nicht radioaktive Assays, die für Hochdurchsatzscreenings geeignet sind.

Der Kinase-Glo®-Assay basiert auf einer Luciferase-Reaktion. Dabei wird der Anteil ATP, welcher bei der Phosphorylierung des Substrates nicht umgesetzt worden ist, unter Lumineszenzumwandlung umgesetzt. Somit ist die ermittelte Lumineszenz proportional zur verbliebenen ATP-Menge und umgekehrt proportional zur Aktivität der Kinase. Eine geringe Lumineszenz zeigt, dass während der Reaktion von der Kinase viel ATP verbraucht wurde und somit weniger ATP für die Erzeugung der Lumineszenz zur Verfügung steht. Daraus resultierend ist die enzymatische Aktivität hoch und die getestete Verbindung besitzt nur geringe inhibitorische Aktivität (Abb. 174).

Abb. 174 Kinase-Glo[®]-Assay Reaktion¹⁹⁵

Der MAO-Glo[™]-Assay basiert ebenfalls auf einer Luciferase-Reaktion, bei der jedoch die gemessene Lumineszenz proportional zur MAO-Aktivität ist, da die Menge eines spezifischen MAO-Produktes gemessen wird. Eine hohe Lumineszenz besagt hier, dass sehr viel Produkt entstanden ist und somit die MAO-A hochaktiv ist (Abb. 175).

Abb. 175 Prinzip des MAO-Glo[™] Assays¹⁹⁶

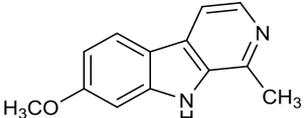
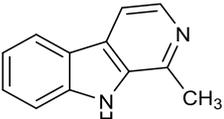
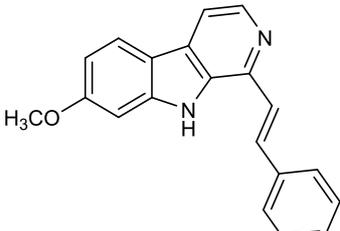
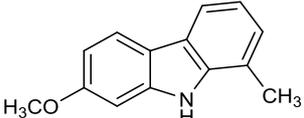
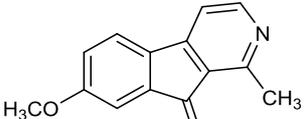
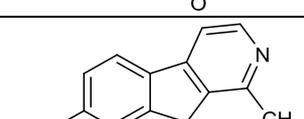
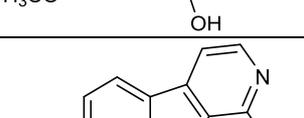
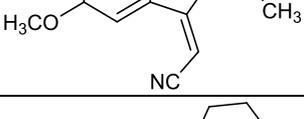
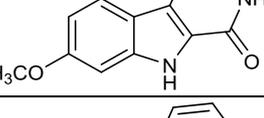
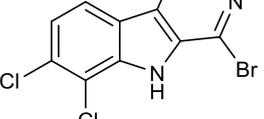
Routinemäßig wurden alle Verbindungen auf Hemmung der DYRK1A, DYRK2, CLK1 und MAO-A getestet. Als Kontrollen wurden Harmin (**1**) für DYRK1A-Hemmung und Iodtubercidin (**217**) für DYRK2-Inhibition mit getestet. Da keine der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen eine nennenswerte Inhibition der DYRK2 (relative Restaktivitäten > 45 %) zeigte, wurden die einzelnen Werte für dieses Enzym nicht in die Tabelle mitaufgenommen.

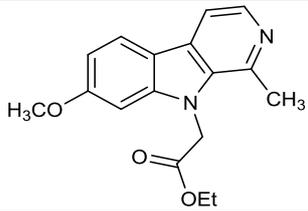
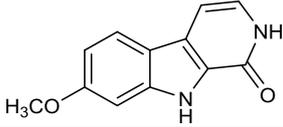
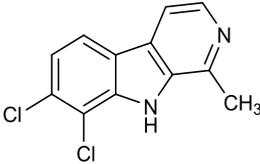
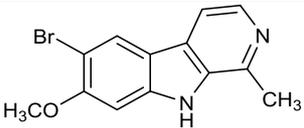
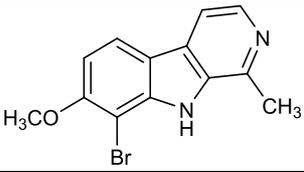
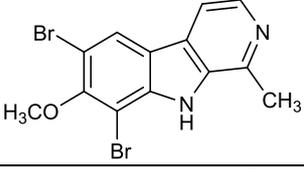
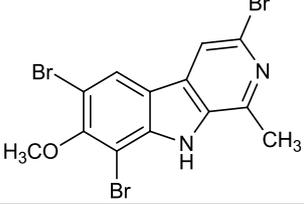
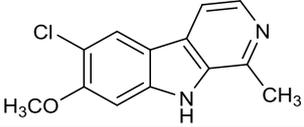
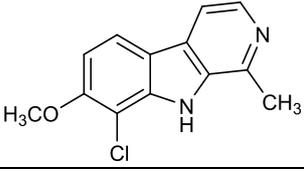
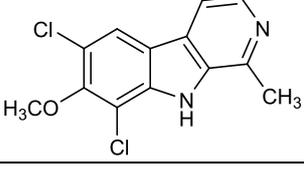
In der Tabelle 19 werden die relativen Restaktivitäten der Kinasen und von MAO-A bei einer eingesetzten Inhibitorkonzentration von 1 μM in % angegeben. Je höher die Werte der relativen Restaktivitäten sind, desto geringer ist das inhibitorische Potential der Verbindung. Unser Ziel waren kleine Restaktivitäten von DYRK1A, daraus resultierend eine hohe inhibitorische Aktivität der Verbindung, und hohe relative Restaktivitäten von MAO-A. Eine hohe relative Restaktivität von CLK1 war zwar erwünscht, stand aber nicht im Fokus dieser Arbeit. Ist eine Verbindung an einer der

Kinasen oder MAO-A nicht getestet worden, wird dies durch einen Strich (-) angezeigt.

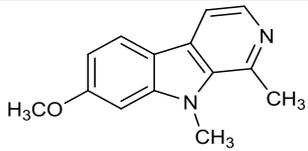
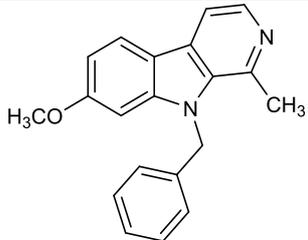
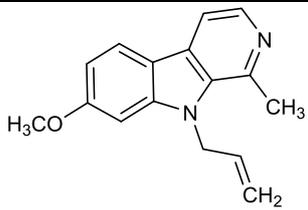
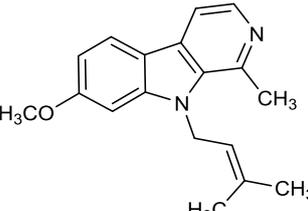
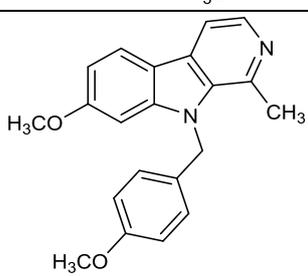
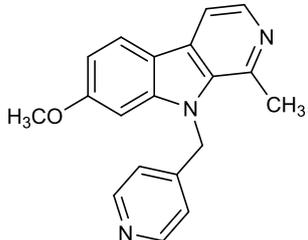
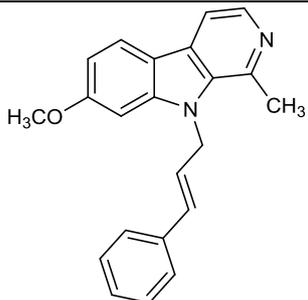
Die Bestimmung der relativen Restaktivität dient nur als erster Hinweis, ob eine Verbindung inhibitorisches Potenzial auf die Kinasen bzw. MAO-A besitzt, und sollte auch zum Vergleich der einzelnen Verbindungen herangezogen werden. Lag gleichzeitig eine signifikante inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A (Restaktivitäten < 10 %) vor und eine geringe inhibitorische Aktivität auf die MAO-A (v.a. im Vergleich zu Harmin (**1**)), dann wurde im nächsten Schritt der IC₅₀-Wert für DYRK1A bestimmt und /oder ein zellulärer Assay auf Substratphosphorylierung durchgeführt. In Tabelle 20 werden die bisher ermittelten IC₅₀-Werte für DYRK1A und MAO-A dargestellt. Alle Werte wurden mit einem radioaktiven Assay (siehe 6.3.5) bestimmt. IC₅₀-Werte, die mit dem Kinase-Glo[®]-Assay gemessen wurden, sind mit einem * markiert.

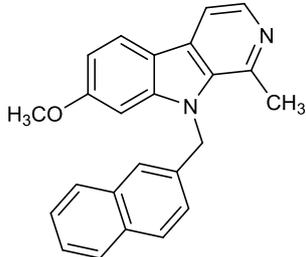
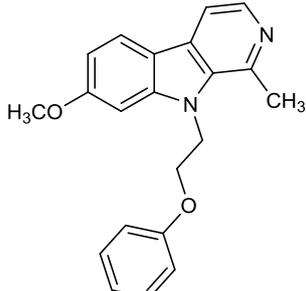
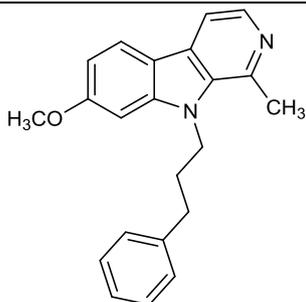
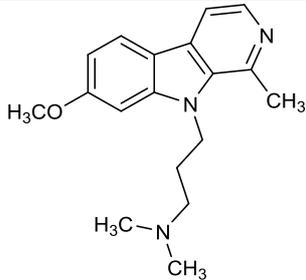
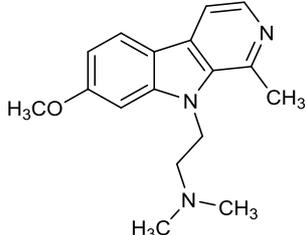
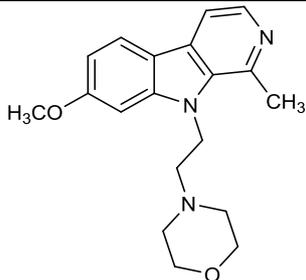
4.5.1. Testergebnisse

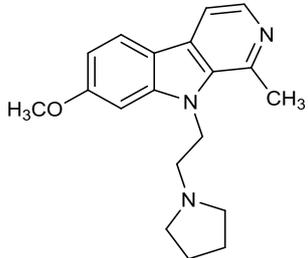
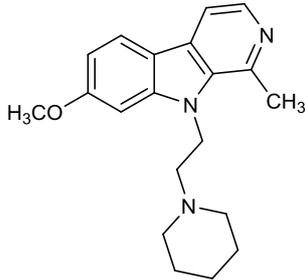
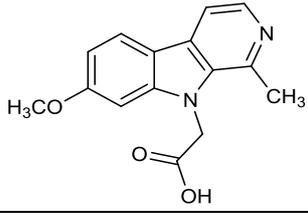
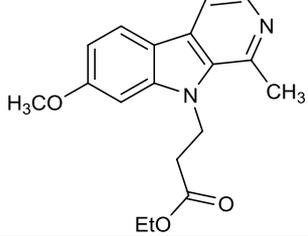
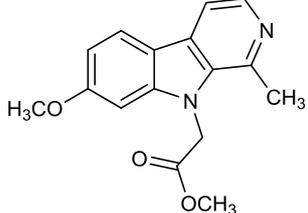
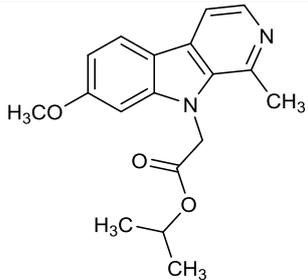
Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	Harmin (1)	3	27 \pm 13	23
	Harman (35)	18	>90	>90
	42	111	23	1
	43	90	75	90
	44	15	55	53
	45	32	59	76
	47	65	30	17
	58	87	100	>90
	99	100	38	95
	104	-	100	-

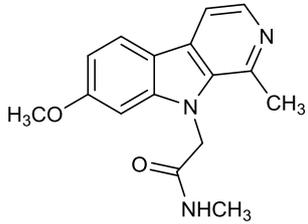
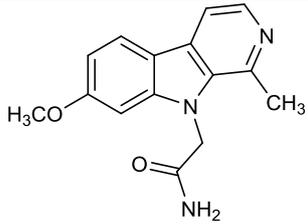
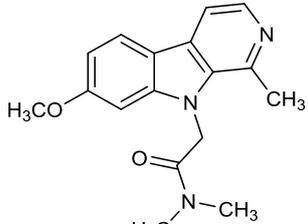
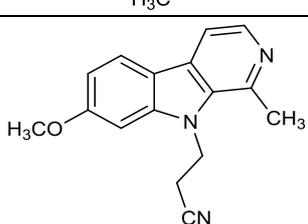
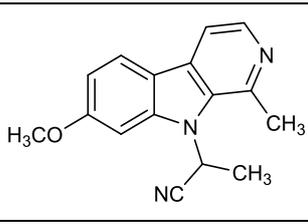
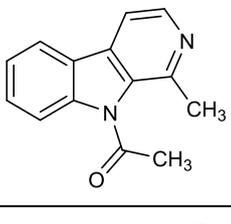
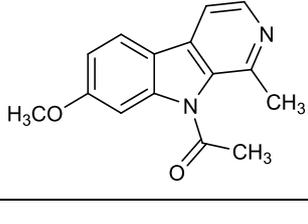
Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	116	100	34	49
	119	-	121	-
	120	32	3	23
	121	8	90	30
	122	-	95	60
	123	70	100	100
	124	-	126	-
	125	10	90	44
	126	22	100	46
	127	64	100	100

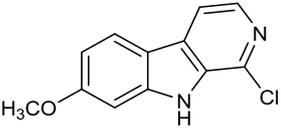
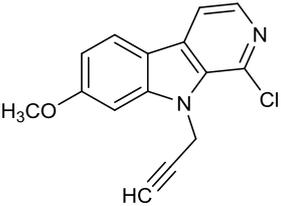
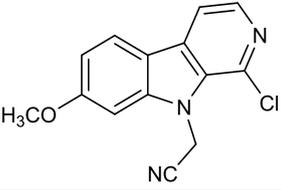
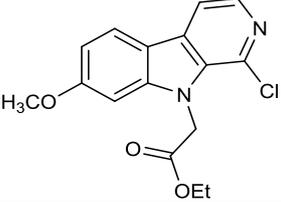
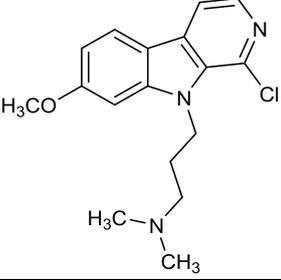
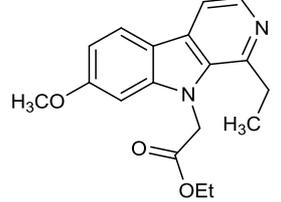
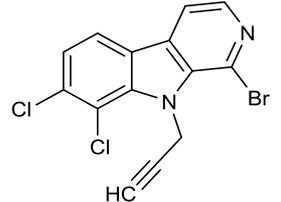
Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	128	8	100	79
	129	5	100	60
	130	100	100	62
	131	10	26	24
	132	20	95	100
	135	22	10	20
	136	68	8	13
	140	46	37	26

Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	142	2	24	6
	143	80	88	-
	144	18	6	17
	145	50	6	2
	146	-	100	80
	147	-	59	62
	148	39	3	15

Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	150	-	91	84
	151	20	40	17
	152	8	13	3
	153	79	14	70
	154	-	100	-
	155	59	35	100

Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	156	52	45	90
	157	62	35	85
	158	-	40	34
	159	116	12	40
	161	59	1	42
	162	63	5	45

Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 μ M]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 μ M]
	163	-	64	55
	164	-	36	89
	165	-	75	78
	167	77	25	38
	168	80	5	3
	172	75	90	-
	175	-	-	-

Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 µM]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 µM]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 µM]
	197	84	10	18
	198	100	12	57
	199	100	10	22
	200	100	35	96
	201	100	45	86
	202	-	-	-
	205	100	95	84

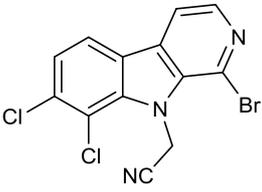
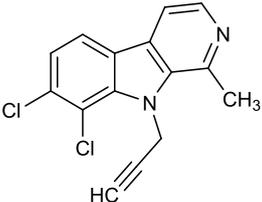
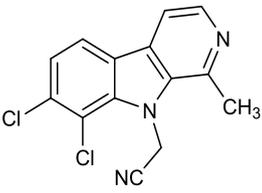
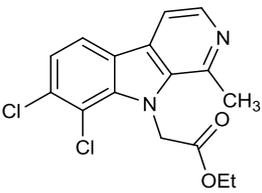
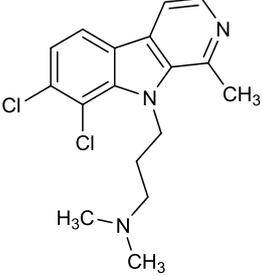
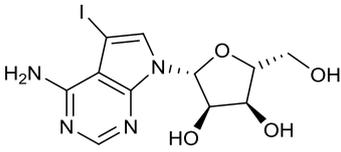
Strukturformel	Verbindung	MAO-A Relative Restaktivität in % [1 µM]	DYRK1A Relative Restaktivität in % [1 µM]	CLK1 Relative Restaktivität in % [1 µM]
	206	100	93	88
	209	98	17	34
	210	75	17	40
	211	70	25	71
	212	100	47	90
	5- Iodotubercidin (217)	100	8	14

Tabelle 19 Testergebnisse aus Aachen

	DYRK1A		MAO-A
Verbindung	IC ₅₀ -Wert in µM	Verbindung	IC ₅₀ -Wert in µM
116	0.910*	44	0.133
136	0.060	45	0.386
148	2*	132	0.163
153	1*	136	3
159	0.900*	140	0.344
161	0.400*	168	5
168	0.210	199	> 10
199	0.270	Harmin (1)	9
Harmin (1)	0.033 bzw. 0.088 ⁵		

Tabelle 20 Ausgewählte IC₅₀-Werte für DYRK1A und MAO-A

4.5.2. Diskussion der Testergebnisse

Sämtliche Modifikationen im Ring C führen zu keiner Erhöhung der inhibitorischen Aktivität auf die DYKR1A. Durch die Halogenierung an den Positionen 6 und/ bzw. 8 und eine dreifache Halogenierung an den Positionen 3, 6 und 8 verliert Harmin (1) seine inhibitorische Aktivität (Verbindungen **121-127**). Auch durch Einführung einer Butylgruppe am Pyrrol-Stickstoff der Halogenderivate von Harmin (1) konnte die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A nicht erhöht werden (Verbindungen **128-130**). Eine Einführung einer Butylgruppe am Pyrrol-Stickstoff des Harmins **131** führte dazu, dass die DYRK1A im selben Maße gehemmt wird wie durch Harmin (1) und dass die MAO-A etwas schwächer als bei Harmin (1) gehemmt wird. Eigentlich hatten Dockingstudien von Prof. Sippl aus Halle postuliert, dass durch die Einführung von Alkylsubstituenten am Indol des Harmins die Affinität zur DYRK1A erhöht wird. Im Falle der Halogenderivate von Harmin führte dies nicht zum Erfolg.

Die Testung des 2-Desaza-Harmins **43** bestätigt die Ergebnisse der Dockingstudien von Sippl⁵ und Reniers et al.⁶⁴ (siehe 2.1.3.). Durch das Ersetzen des Pyridin-Stickstoffs durch Kohlenstoff hat diese Verbindung sämtliche inhibitorische Aktivitäten auf die MAO-A, DYRK1A und CLK1 verloren. Der Pyridin-Stickstoff ist somit eine wichtige Interaktionsstelle für alle 2 Kinasen und MAO-A. Bei MAO-A kann ohne den Stickstoff eine essenzielle Wasserstoffbrücke zu einem am FAD-gebundenen Wassermolekül (siehe 2.1.3.) nicht mehr eingegangen werden. Bei DYRK1A fehlt eine der beiden essenziellen Wasserstoffbrücken zum Lys188 (siehe 2.1.3.) und bei CLK1 eine der beiden essenziellen Wasserstoffbrücken zum Lys191.

In Abbildung 176 ist die Bindung von Harmin (**1**) mit CLK1 dargestellt. Die Bindung erfolgt hier genauso wie bei DYRK1A über den Pyridin-Stickstoff und die Methoxygruppe.

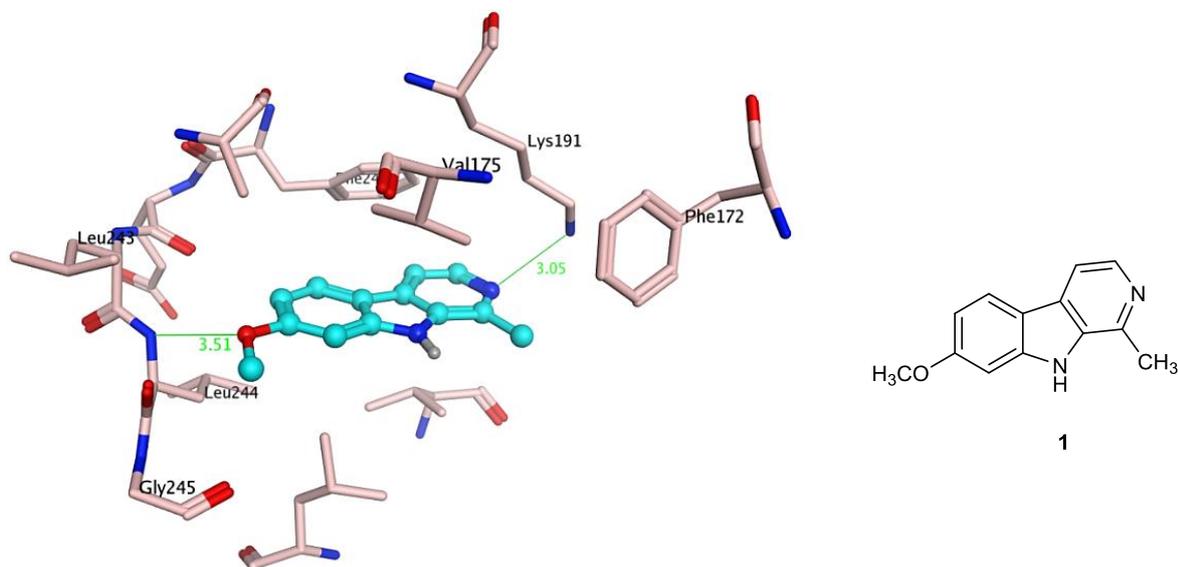


Abb. 176 Docking von Harmin (**1**) mit CLK1 von Prof. Sippl

Aus der Reihe der 9-Desaza-Analoga des Harmins zeigt keine der Verbindungen eine bessere inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A als Harmin (**1**). Das Keton **44** besitzt zwar die gleiche Koplanarität wie Harmin (**1**), aber das Keton ist ein Wasserbrückenakzeptor. Harmin besitzt an dieser Position auch Donatoreigenschaften. Auch durch Einführung einer Alkoholfunktion (siehe **45**), einen Wasserstoffbrückendonator, der jedoch eine Position weiter nach außen verschoben ist, konnte die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A nicht wieder erhöht werden. Anscheinend ist auch die Position des Donators entscheidend für das inhibitorische Potential. Das Phenol **140** zeigt im Vergleich zu der Methoxyverbindung **44** eine geringfügig höhere inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A. Ein Dockingmodell von Prof. Sippl von DYRK1A mit dem Keton **44** bzw. dem Phenol **140** und dem Alkohol **45** zeigt interessante Ergebnisse. Alle 3 Verbindungen scheinen eine um 180° gedrehte bevorzugte Orientierung zu haben, bei denen die Alkohol- und Ketonfunktion des Ringes B nach innen in die Tasche zeigt (siehe Abb. 177 am Bsp des Phenols **140**, im Vergleich dazu Dockingmodell von Harmin (**1**) siehe Abb. 178). Bei **140** kann im Gegensatz zum Keton **44** und Alkohol **45** das Phenol noch eine Wasserstoffbrücke zum Leu241 eingehen und hemmt deswegen die DYRK1A etwas stärker als **44** und **45**. Bei Harmin (**1**) liegen

umgekehrte Verhältnisse vor. Insgesamt sind aber die Interaktionsenergien der Desaza-Analoga von Harmin schlechter als die der Harmin-Analoga.

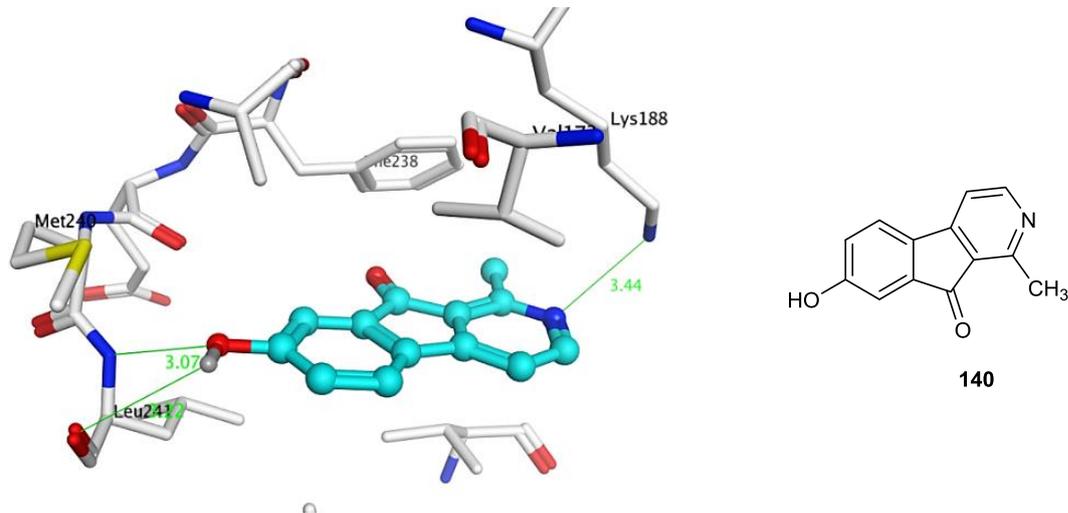


Abb. 177 Dockingmodell des Phenols **140** mit DYRK1A von Prof. Sippl

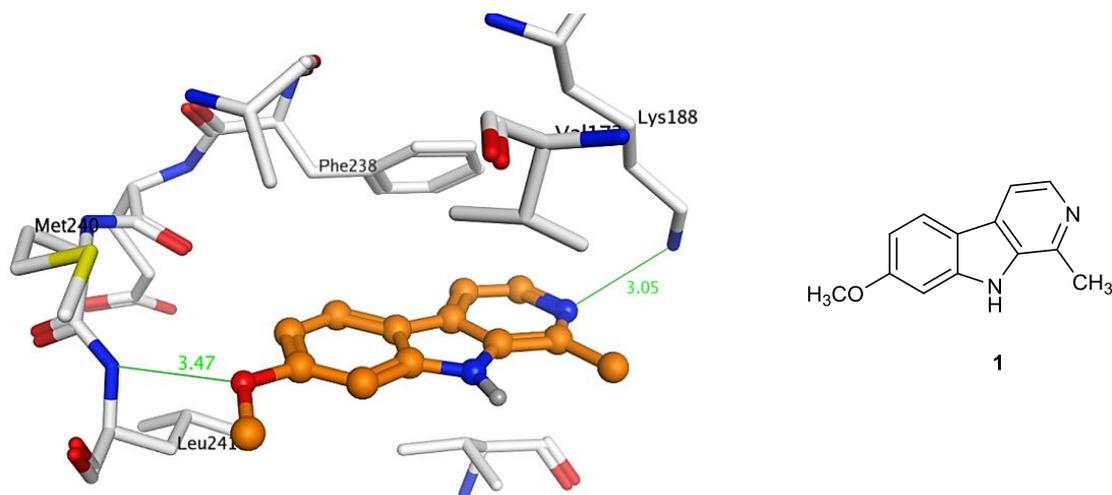


Abb. 178 Dockingmodell von Harmin (**1**) mit DYRK1A von Prof. Sippl

Auch durch die Einführung einer Cyanomethylengruppe in das 9-Desazaharmin konnte keine Erhöhung der inhibitorischen Aktivität erzielt werden (Verbindung **47**). Bisherige Ergebnisse hatten zuvor gezeigt, dass durch Einführung einer Cyanomethylgruppe an Harmin (Vergleich Verbindung **136**) die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A erheblich gesteigert werden kann. Zum Vergleich: Die relative Restaktivität von DYRK1A liegt bei Inhibition durch **136** bei 8 % und bei Harmin (**1**) bei 27 %. **47** zeigt zwar in der Reihe der Azafluoren-Analoga die höchste inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A, besitzt aber ähnliche inhibitorische Effekte

wie Harmin (**1**) und kann die inhibitorische Aktivität von **136** nicht übertreffen. An der MAO-A besitzen alle 9-Desaza-Verbindungen nur noch moderate inhibitorische Aktivitäten, was erwünscht war. Die IC_{50} -Werte der Verbindungen **140** und **45** liegen bei 344 und 386 nM. Verbindung **47** zeigt nur eine geringfügige Hemmung der MAO-A. Die höchste inhibitorische Aktivität zeigt das Keton **44** mit einer relativen Restaktivität von MAO-A von 11 %. Die Bestimmung des IC_{50} -Wertes zeigt, dass **44** mit einem Wert von 133 nM zwar ein potenter Inhibitor der MAO-A ist, aber dass Harmin (**1**) mit einem IC_{50} -Wert von 8.9 nM noch erheblich potenter ist. Auch hier zeigte ein Dockingmodell (Abb. 179 und 180), dass die Ketone **44** und **140** und der Alkohol **45** eine um 180° gedrehte bevorzugte Orientierung haben. Die Ketonfunktion im Ring B von **44** und **140** bzw. die Alkoholfunktion von **45** können im Gegensatz zum Harmin (**1**) mit dem konservierten Wasser nicht mehr interagieren und müssen deswegen eine alternative Position eingehen, die energetisch ungünstiger ist. Der Stickstoff an Position 9 ist somit nicht so entscheidend für die inhibitorische Aktivität wie die Größe und Ausrichtung des Restes an dieser Position. Die Interaktion mit dem konservierten Wassermolekül in der MAO-A, mit dem die NH-Funktion des Indols von Harmin (**1**) wechselwirkt, ist hier ein maßgeblicher Faktor.

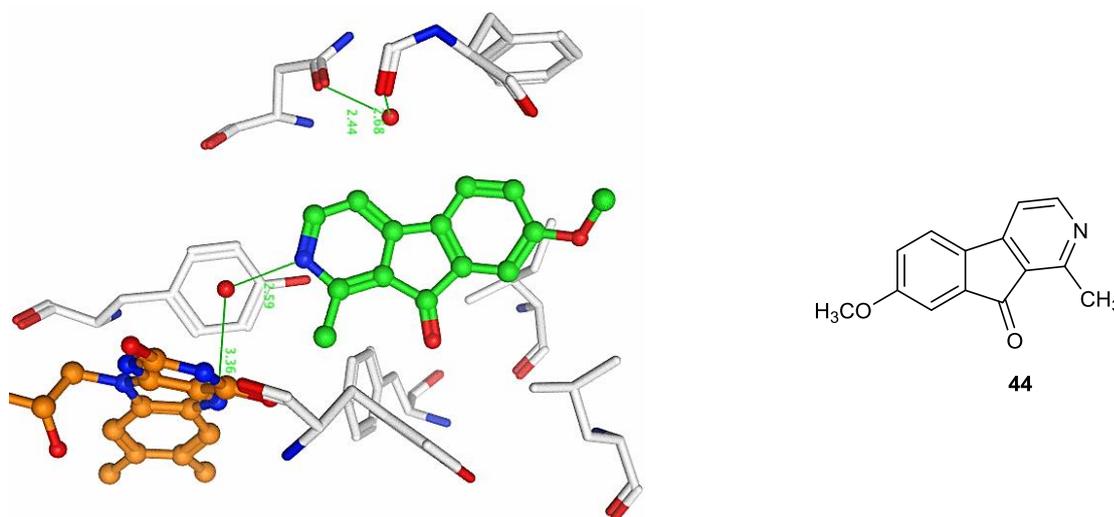


Abb. 179 Dockingmodell des Ketons **44** mit MAO-A von Prof. Sippl

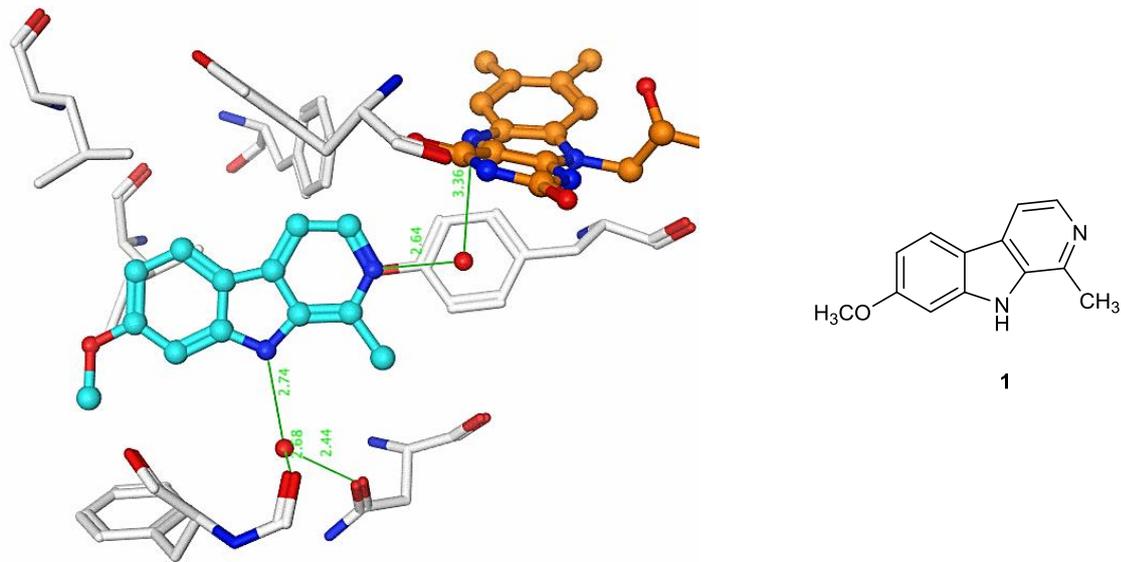


Abb. 180 Dockingmodell Harmin (**1**) mit MAO-A von Prof. Sippl

Hinsichtlich CLK-Inhibition zeigen das Cyanomethylenderivat **47** und das Phenol **140** ähnliche inhibitorische Potenz wie Harmin (**1**). Auch hier nehmen die Verbindungen wieder die um 180° gedrehte bevorzugte Orientierung ein (Abb. 181). Das Phenolderivat **140** kann hier besser mit der CLK1 interagieren als das entsprechende Methoxyderivat **44**.

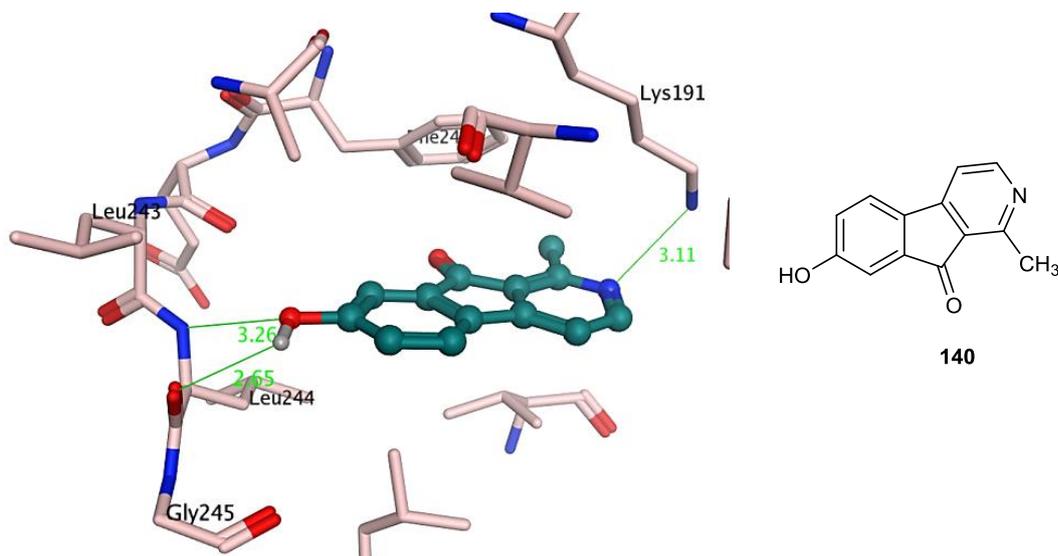


Abb. 181 Dockingmodell des Phenols **140** mit CLK1 von Prof. Sippl

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen der Desaza-Analoga von Harmin ableiten, dass N-2 nicht so entbehrlich ist wie die NH-Funktion an Position 9. Diese

These wird auch durch die Testergebnisse der 1-Oxo- β -carboline **58** und **119** unterstützt. Hier liegt der Stickstoff nicht wie im Harmin (**1**) als Bestandteil eines basischen Pyridins, sondern eines Lactams vor. Die Verbindungen **58** und **119** weisen keine inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A mehr auf. **58** wurde auch auf Inhibition der MAO-A und CLK1 getestet. Es zeigt sich auch hier, dass **58** kein inhibitorisches Potential mehr besitzt. Das Vorliegen eines basischen Pyridin-Stickstoffs ist anscheinend essenziell für die Interaktion mit DYRK1A, MAO-A und CLK1. Auch die Methoxyfunktion an C-7 ist wichtig für die Interaktion mit DYRK1A. Ein Fehlen der Methoxyfunktion, wie bei Harman (**35**), führt zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität auf CLK1 und DYRK1A. In beiden Fällen wird die Methoxyfunktion für die Interaktion mit den Kinasen benötigt. Andere Verhältnisse liegen bei der MAO-A-Interaktion vor. Hier erfolgt die Wechselwirkung mit MAO-A über den Pyridin-Stickstoff und die NH-Funktion des Pyrrols. Ein Fehlen der Methoxyfunktion wirkt sich daher nicht so stark auf die inhibitorische Aktivität aus. Harman (**35**) besitzt IC_{50} -Werte von 0.22, 0.25 bzw. 0.34 μM ¹⁹⁷ und Harmin einen Wert von 5 nM⁵.

Bei den Variationen am Ring B zeigte sich, dass durch Einführen von einfachen Alkyl- und Arylalkylresten ähnliche inhibitorische Aktivitäten wie bei Harmin erzielt werden können. Als wichtig erwies sich dabei die Kettenlänge und die sterische Ausrichtung. *N*-Butylharmin (**131**) und *N*-Methylharmin (**142**) zeigen ähnliche inhibitorische Aktivitäten wie Harmin (**1**), aber immer noch eine starke Hemmung der MAO-A. Die Cinnamylverbindung **148** und das Phenylpropylderivat **152** weisen eine stärkere Hemmung der DYRK1A als Harmin (**1**) auf. **148** zeigt aber eine erheblich geringere Hemmung der MAO-A als Harmin (**1**) und die gesättigte Verbindung **152**. Vermutlich kann sich die gesättigte Verbindung **152**, auf Grund der freien Drehbarkeit der Phenylpropylgruppe, besser in der Bindungstasche der MAO-A ausrichten als das (E)-Olefin **148**. Neben einer starken Inhibition der MAO-A zeigt diese Verbindung auch eine ähnliche inhibitorische Aktivität auf die CLK1 wie Harmin (**1**). Die Bestimmung des IC_{50} -Wertes für DYK1A von **148** zeigt aber, dass Harmin immer noch potenter ist. **148** besitzt einen IC_{50} -Wert von 2 μM . Das Ersetzen eines Kohlenstoffs durch Sauerstoff von Verbindung **152**, um einen zusätzlichen Wasserstoffbrückenakzeptor einzuführen, führte zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität (Phenoxyethylverbindung **151**). Eine Rigidisierung des Systems (Naphtylmethyl-Derivat **150**) führt auch zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität.

Dass auch die Kettenlänge entscheidend ist, zeigen das Benzylderivat **143**, das Methoxybenzylderivat **146** und die Pyridinmethylverbindung **147**. Diese zeigen keine nennenswerte inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A.

Ein Dockingmodell von Prof. Sippl postulierte, dass durch Einführung von basischen Gruppen an Harmin (**1**) die Affinität zur DYRK1A gesteigert werden sollte. Bei einem physiologischen pH-Wert würden diese Verbindungen protoniert vorliegen und somit würde noch ein weiterer Wasserbrückendonator für die Interaktion mit der DYRK1A zur Verfügung stehen bzw. es könnten auch Ion-Ion-Wechselwirkungen mit der Carboxylatgruppe der Aminosäuren ausgebildet werden. Die Reihe der eingeführten Dimethylaminoalkylreste zeigt, dass das Dimethylaminopropylderivat **153** zwar eine ähnlich starke DYRK1A-Inhibition wie Harmin (**1**) besitzt. Aber die Bestimmung des IC_{50} -Wertes von **153** zeigte, dass **153** mit einem Wert von 1 μ M nicht so potent wie Harmin (**1**) ist. Aber die Inhibition der MAO-A und auch der CLK1 wurde drastisch reduziert. Die Inhibition der CLK1 konnte durch die anderen bisherigen Modifikationen nicht reduziert werden. Weitere durchgeführte Variationen von **153** zeigen aber, dass dieser Trend nicht verstärkt werden kann. Eine Kettenverkürzung führte zu einem Verlust an DYRK1A-Inhibition, siehe **154**. Eine Vergrößerung der distalen Aminogruppe (siehe Verbindungen **155-157**) erwies sich auch als nicht förderlich für die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A.

Aus der Reihe der Harmin-Derivate mit polaren Resten konnten bei der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** und bei der Cyanomethylverbindung **136** die höchsten inhibitorischen Aktivitäten auf die DYRK1A beobachtet werden, wobei **136** den Ester **116** noch übertrifft. **136** ist die potenteste Verbindung dieser Arbeit an DYRK1A mit einem IC_{50} -Wert von 60 nM. Es besitzt vergleichbare inhibitorische Potenz wie Harmin (**1**), dessen IC_{50} -Werte bei 33, 75 bzw. 80 nM⁵ liegt. Ein sehr großer Vorteil dieser Verbindung im Vergleich zu Harmin ist, dass **136** eine wesentlich geringere inhibitorische Aktivität auf die MAO-A besitzt als Harmin (**1**) (68 vs. 3 % relative Restaktivität). Der IC_{50} -Wert für MAO-A von **136** liegt bei 3 μ M. Hinsichtlich CLK-Inhibition besitzen beide Verbindungen ähnliche Potenz. Die Testung der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** zeigte, dass sie eine ähnliche inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A wie Harmin (**1**) besitzt. **116** ist zwar nicht so potent wie Harmin (**1**) oder **136**, da der IC_{50} -Wert bei 910 nM liegt, aber sie hemmt die MAO-A nicht mehr. Auch die Inhibition der CLK1 erfolgt nicht mehr in dem Ausmaße wie durch Harmin (**1**) und **136**. Variationen der Estergruppe (**161** und **162**),

eine Kettenverlängerung (**159**) und eine Hydrolyse des Esters zur Carbonsäure **158** führten zu keiner erheblichen Steigerung der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zu Harmin. Der IC₅₀-Wert der Methoxycarbonylmethylverbindung **161** liegt zwar bei 400 nM, aber kann damit die inhibitorische Aktivität des Naturstoffs Harmin (**1**) nicht übertreffen. Eine weitere Variation der Ester: Die Aminomethylcarbonylverbindungen **163**, **164** und **165** zeigen keine nennenswerte Inhibition der DYRK1A.

Die Testung des Cyanoethylderivats **167** an DYRK1A zeigt, dass durch die Kettenverlängerung ein Verlust an inhibitorischer Aktivität erzielt wurde. Somit scheint die Methylengruppe der optimale Abstand zu sein. Die Testung der Propargylverbindung **135** (ein Desazaderivat des Nitrils **136**) zeigt, dass neben der sterischen Ausrichtung auch die Polarität des Restes wichtig ist. **135** und **136** besitzen zwar ähnliche inhibitorische Aktivitäten auf die DYRK1A, aber hinsichtlich Hemmung der MAO-A besitzt **136** eine geringere inhibitorische Aktivität als **135**. Auch die Testergebnisse der entsprechenden Allylderivate **144** und **145** sprechen für die Wichtigkeit der polaren Komponente neben dem räumlichen Aspekt. Beide Verbindungen besitzen ähnliche inhibitorische Aktivitäten auf die DYRK1A wie **136**, hemmen aber die MAO-A stärker. Verbindung **168**, bei der die Cyanomethylgruppe eine zusätzliche α -Methylengruppe aufweist, zeigt zwar eine noch etwas geringere Inhibition der MAO-A als **136**, aber die Bestimmung des IC₅₀-Wertes für die DYRK1A zeigt, dass **136** immer noch potenter ist (210 nM vs. 60 nM). Die Idee hinter der Einführung der Methylverzweigung war, das Cyanomethylderivat sterisch etwas anspruchsvoller zu machen, um (ähnlich wie beim Ethylester **116**) die MAO-A-Inhibition zu reduzieren. Das gelang aber mit dieser Modifikation nur in unwesentlichem Ausmaß. Hinsichtlich CLK-Inhibition besitzen die Nitrile **167** und **168**, die Propargylverbindung **135** und die Allylverbindungen **144** und **145** ähnliche inhibitorische Aktivität wie Harmin (**1**).

Als bisher beste Reste am Pyrrolstickstoff des Harmins (**1**) hatten sich somit der Ethoxycarbonylmethyl-, Dimethylaminopropyl- (wegen fehlender Inhibition der CLK1), Cyanomethyl- und Propargylrest erwiesen.

Ein Ersetzen der Methylgruppe an C-1 des Harmins (**1**) durch größere Reste wie Benzyliden (**42**) bzw. Reste mit anderen elektronischen Eigenschaften wie Chlor (siehe Verbindung **197**) zeigt, dass durch diese Variationen die inhibitorische Aktivität auf die MAO-A drastisch gesenkt wird. Hinsichtlich Hemmung der DYRK1A besitzt **197** vergleichbare inhibitorische Aktivität wie die Cyanomethylverbindung **136**. Ein

IC₅₀-Wert wurde bis jetzt noch nicht bestimmt. Die *N*-alkylierten Derivate (mit den bisher besten Resten) des 1-Chlor- β -carbolins (**197**) sind im Gegensatz zum Harmin (**1**) und dem *N*-Cyanomethyl-Harmin **136** keine Inhibitoren der MAO-A mehr. Auch die CLK1 wird von diesen Verbindungen z.T. deutlich geringer gehemmt als von Harmin (**1**) und **136**. Auch in dieser Reihe erwies sich die *N*-Alkylierung mit einem Cyanomethylrest als zielführend. Das Cyanomethylderivat **199** besitzt an der DYRK1A einen IC₅₀-Wert von 270 nM. Es ist zwar nicht ganz so potent wie Harmin (**1**) und **136**, aber der große Vorteil dieser Verbindung ist die fehlende Hemmung der MAO-A. Die Ethoxycarbonylmethylverbindung **200** besitzt hier als einzige Verbindung, die auch die DYRK1A nennenswert inhibiert, neben den Dimethylaminopropylderivaten **155**, **156**, **157** und **158** keine nennenswerte CLK1-Hemmung mehr. Das entsprechende Harminderivat **116** hemmt die CLK1 noch im geringen Maße. Interessant wären auch die Ergebnisse der Ethoxycarbonylmethylverbindung **202**, bei dem an Position 1 eine Ethylgruppe sitzt. Die Ergebnisse lagen aber zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht vor.

Die Testung der Harmin-Bauerin C-Hybride zeigt, dass durch Ersetzen der Methoxygruppe an Position 7 durch Chlor auch potente Hemmstoffe der DYRK1A erhalten werden können, die aber Harmin (**1**) und die beiden Cyanomethylverbindungen **136** und **199** nicht übertreffen. Die beste Verbindung aus dieser Reihe ist die dichloranaloge Harminverbindung **120**. Eine *N*-Alkylierung erweist sich hier aber nicht als aktivitätssteigernd. Im Vergleich zu Harmin (**1**) besitzen alle Verbindungen aus dieser Reihe eine deutlich geringere Hemmung der MAO-A und auch z.T. der CLK1. Die Cyanomethylverbindung **206** und die Propargylverbindung **205**, die beide neben dem Dichlorsubstitutionsmuster auch einen Bromsubstituenten an Position 1 tragen, weisen im Gegensatz zu ihren analogen Harmin-Analoga mit einem Chlorsubstituenten an Position 1 keine Hemmung der DYRK1A mehr auf. Wahrscheinlich spielen hier auch sterische Faktoren eine Rolle, da Brom größer als Chlor ist.

Zusammenfassend lässt sich erkennen, dass der Pyridin-Stickstoff an Position 2 nicht so entbehrlich ist wie die NH-Funktion an Position 9. Sowohl die Interaktion mit der MAO-A als auch der DYRK1A erfolgt über den Pyridin-Stickstoff des Harmins (siehe 2.1.3.). Ein Fehlen des Stickstoffs bzw. das Vorliegen des Stickstoffs in Form eines Lactams führen zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität auf die DYRK1A.

Zum gleichen Ergebnis führen auch die Substitutionen an den Positionen 6 und/bzw. 8 am Ring C des Harmins (**1**). Auch die Größe des Restes an Position 7 ist entscheidend, während kleinere Reste wie der Methoxyrest und ein Chlorsubstituent noch akzeptiert werden, führt die Einführung eines Dimethylaminoethoxyrestes (siehe Verbindung **132**) zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität auf die DYRK1A. Das Fehlen einer geeigneten Substitution an dieser Stelle führt auch zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität (siehe Harman (**35**)), da hier eine Interaktionsstelle zur DYRK1A fehlt. Durch Einführung von polaren Resten an N-9 konnte die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A erheblich erhöht werden. Die Cyanomethylverbindung **136** ist mit einem IC₅₀-Wert von 60 nM die potenteste Verbindung dieser Arbeit. Sie besitzt vergleichbare inhibitorische Aktivität wie Harmin (**1**), hemmt aber die MAO-A wesentlich schwächer als Harmin. Die Einführung eines Chlorsubstituenten an Position 1 führt zu einem kompletten Verlust an inhibitorischer Aktivität auf die MAO-A (siehe Verbindung **197**) was Ziel dieser Arbeit war. Die Einführung eines Cyanomethylrestes bei **197** führte zu einem noch potenteren Hemmstoff der DYRK1A mit einem IC₅₀-Wert von 270 nM, der die MAO-A nicht mehr und die auch die CLK nicht mehr in dem Maße wie das *N*-Cyanomethyl-Derivat **136** hemmt.

Auf Grund der fehlenden MAO-Hemmung und der schwächeren Hemmung der CLK1 wurde **199** für weitere Testungen ausgewählt. Das ebenfalls sehr interessante 9-Cyanomethylharmin **136** ist zwar noch potenter an der DYRK1A, aber es hemmt immer noch die MAO-A und auch die CLK1.

4.5.3. Testung von **199**: Screening an 300 Kinasen

Die Testungen wurden von der Firma ProQuinase GmbH aus Freiburg durchgeführt. Es wurde an 300 Wildtype-Kinasen getestet. Das 1-Chlor-*N*-cyanomethyl-7-methoxy- β -carbolin (**199**) wurde in einer Konzentration von 0.001 mM in DMSO in einer Doppelbestimmung an den Kinasen getestet. Es wurde ein radioaktiver Assay, PanQuinase[®], verwendet. Angaben zur Methode befinden sich im experimentellen Teil. Grau hinterlegt sind alle Restaktivitäten unter 50 % (siehe Tabelle 21).

#	Kinase Name	Kinase Family*	Cpd ID	AnnH75	AnnH75	Mean
			Assay Conc. (M)	1,0E-06	1,0E-06	1,0E-06
1	ABL1	TK		96	93	95
2	ABL2	TK		97	94	96
3	ACK1	TK		105	90	97
4	ACV-R1	TKL		93	94	93
5	ACV-R1B	TKL		90	103	97
6	ACV-R2A	TKL		92	101	97
7	ACV-R2B	TKL		103	92	97
8	ACV-RL1	TKL		91	91	91
9	AKT1	AGC		104	101	102
10	AKT2	AGC		120	92	106
11	AKT3	AGC		107	100	104
12	ALK (GST-HIS-tag)	TK		100	96	98
13	AMPK-alpha1 aa1-550	CAMK		98	86	92
14	ARK5	CAMK		103	86	94
15	ASK1	STE		106	101	104
16	Aurora-A	OTHER		94	84	89
17	Aurora-B	OTHER		103	105	104
18	Aurora-C	OTHER		97	97	97
19	AXL	TK		96	93	95
20	BLK	TK		103	98	100
21	BMPR1A	TKL		89	88	89
22	BMX	TK		87	72	79
23	B-RAF	TKL		103	106	105
24	BRK	TK		107	88	97
25	BRSK1	CAMK		103	111	107
26	BTK	TK		98	94	96
27	CAMK1D	CAMK		98	106	102
28	CAMK2A	CAMK		85	72	79
29	CAMK2B	CAMK		93	91	92
30	CAMK2D	CAMK		92	82	87
31	CAMK4	CAMK		100	122	111
32	CAMKK1	OTHER		84	95	89
33	CAMKK2	OTHER		88	83	86
34	CDC42BPA	AGC		74	79	76
35	CDC42BPB	AGC		99	89	94
36	CDK1/CycA2	CMGC		80	77	79
37	CDK1/CycB1	CMGC		81	80	81
38	CDK1/CycE1	CMGC		96	91	93
39	CDK2/CycA2	CMGC		86	91	88
40	CDK2/CycE1	CMGC		97	96	97
41	CDK3/CycE1	CMGC		94	95	94
42	CDK4/CycD1	CMGC		111	89	100
43	CDK4/CycD3	CMGC		90	88	89
44	CDK5/p25NCK	CMGC		99	94	96
45	CDK5/p35NCK	CMGC		96	90	93
46	CDK6/CycD1	CMGC		95	96	95
47	CDK7/CycH/MAT1	CMGC		95	104	100
48	CDK8/CycC	CMGC		20	17	18
49	CDK9/CycK	CMGC		51	53	52
50	CDK9/CycT1	CMGC		83	86	85
51	CHK1	CAMK		100	101	100
52	CHK2	CAMK		103	102	102
53	CK1-alpha1	CK1		88	91	90
54	CK1-delta	CK1		72	71	71
55	CK1-epsilon	CK1		76	79	78
56	CK1-gamma1	CK1		92	92	92
57	CK1-gamma2	CK1		82	82	82
58	CK1-gamma3	CK1		94	91	93
59	CK2-alpha1	OTHER		96	95	96
60	CK2-alpha2	OTHER		101	100	101
61	CLK1	CMGC		1	-2	0
62	CLK2	CMGC		45	42	43
63	CLK3	CMGC		75	73	74
64	CLK4	CMGC		-1	0	-1
65	COT	STE		90	86	88
66	CSF1-R	TK		111	101	106
67	CSK	TK		101	87	94
68	DAPK1	CAMK		93	90	91
69	DAPK2	CAMK		102	91	97
70	DAPK3	CAMK		98	97	98
71	DCAMKL2	CAMK		108	86	97
72	DDR2	TK		97	97	97
73	DMPK	AGC		102	101	101
74	DNA-PK	ATYP		63	63	63
75	DYRK1A	CMGC		8	8	8
76	DYRK1B	CMGC		8	7	8
77	DYRK2	CMGC		69	68	68
78	DYRK3	CMGC		60	55	57
79	DYRK4	CMGC		97	92	94
80	EEF2K	ATYPICAL		106	91	98
81	EGF-R	TK		109	98	104
82	EIF2AK2	OTHER		99	91	95
83	EIF2AK3	OTHER		97	101	99
84	EPHA1	TK		89	95	92
85	EPHA2	TK		91	95	93
86	EPHA3	TK		107	103	105
87	EPHA4	TK		101	96	99
88	EPHA5	TK		82	87	84
89	EPHA7	TK		115	100	107
90	EPHA8	TK		85	92	89
91	EPHB1	TK		90	89	89
92	EPHB2	TK		100	99	99
93	EPHB3	TK		101	90	96
94	EPHB4	TK		97	94	95
95	ERBB2	TK		112	92	102
96	ERBB4	TK		89	91	90
97	ERK1	CMGC		94	80	87
98	ERK2	CMGC		93	81	87
99	ERK7	CMGC		62	57	59
100	FAK aa2-1052	TK		105	101	103
101	FER	TK		97	90	93
102	FES	TK		99	87	93
103	FGF-R1	TK		98	96	97
104	FGF-R2	TK		88	83	85
105	FGF-R3	TK		112	103	107

#	Kinase Name	Kinase Family*	Cpd ID	AnnH75		Mean
				Assay Conc. (M)	1,0E-06	1,0E-06
106	FGF-R4	TK		100	95	98
107	FGR	TK		98	103	101
108	FLT3	TK		71	70	70
109	FRK	TK		94	95	94
110	FYN	TK		96	88	92
111	GRK2	AGC		96	88	92
112	GRK3	AGC		94	90	92
113	GRK4	AGC		54	45	49
114	GRK5	AGC		98	92	95
115	GRK6	AGC		104	93	98
116	GRK7	AGC		108	99	103
117	GSG2	OTHER		5	6	5
118	GSK3-alpha	CMGC		89	74	81
119	GSK3-beta	CMGC		100	92	96
120	HCK	TK		106	97	101
121	HIPK1	CMGC		95	88	91
122	HIPK2	CMGC		83	91	87
123	HIPK3	CMGC		99	76	88
124	HIPK4	CMGC		88	89	88
125	HRI	OTHER		98	104	101
126	IGF1-R	TK		81	86	83
127	IKK-alpha	OTHER		61	58	60
128	IKK-beta	OTHER		94	89	91
129	IKK-epsilon	OTHER		93	97	95
130	INS-R	TK		92	91	92
131	INSR-R	TK		97	97	97
132	IRAK1	TKL		97	92	95
133	IRAK4 (untagged)	TKL		96	89	92
134	ITK	TK		103	87	95
135	JAK1	TK		94	93	93
136	JAK2	TK		102	96	99
137	JAK3	TK		100	101	101
138	JNK1	CMGC		108	90	99
139	JNK2	CMGC		96	104	100
140	JNK3	CMGC		78	86	82
141	KIT	TK		86	79	82
142	LCK	TK		93	90	91
143	LIMK1	TKL		55	59	57
144	LIMK2	TKL		86	102	94
145	LRRK2	TKL		88	77	83
146	LTK	TK		110	89	99
147	LYN	TK		83	72	77
148	MAP3K1	STE		99	95	97
149	MAP3K10	STE		91	91	91
150	MAP3K11	STE		100	96	98
151	MAP3K7/MAP3K7IP1	STE		92	90	91
152	MAP3K9	STE		95	105	100
153	MAP4K2	STE		92	94	93
154	MAP4K4	STE		89	81	85
155	MAP4K5	STE		84	84	84
156	MAPKAPK2	CAMK		89	80	85
157	MAPKAPK3	CAMK		102	87	94
158	MAPKAPK5	CAMK		92	85	89
159	MARK1	CAMK		103	99	101
160	MARK2	CAMK		96	100	98
161	MARK3	CAMK		103	97	100
162	MARK4	CAMK		105	103	104
163	MATK	TK		103	102	102
164	MEK1	STE		65	79	72
165	MEK2	STE		40	34	37
166	MEKK2	STE		105	104	105
167	MEKK3	STE		101	92	97
168	MELK	CAMK		91	83	87
169	MERTK	TK		97	86	91
170	MET	TK		101	99	100
171	MINK1	STE		94	90	92
172	MKK6 S207D/T211D**	STE		89	111	100
173	MKNK1	CAMK		101	105	103
174	MKNK2	CAMK		105	79	92
175	MST1	STE		92	90	91
176	MST2	STE		106	95	101
177	MST3	STE		111	98	104
178	MST4	STE		97	88	92
179	mTOR	ATYPICAL		86	94	90
180	MUSK	TK		94	108	101
181	MYLK	CAMK		93	91	92
182	MYLK2	CAMK		88	92	90
183	MYLK3	CAMK		94	94	94
184	NEK1	OTHER		107	95	101
185	NEK11	OTHER		94	95	94
186	NEK2	OTHER		85	96	90
187	NEK3	OTHER		87	96	91
188	NEK4	OTHER		103	93	98
189	NEK6	OTHER		102	106	104
190	NEK7	OTHER		96	91	93
191	NEK9	OTHER		95	95	95
192	NIK	STE		88	87	87
193	NLK	CMGC		86	98	92
194	p38-alpha	CMGC		88	85	86
195	p38-beta	CMGC		107	104	105
196	p38-delta	CMGC		91	87	89
197	p38-gamma	CMGC		86	86	86
198	PAK1	STE		104	102	103
199	PAK2	STE		94	117	105
200	PAK3	STE		89	101	95
201	PAK4	STE		94	93	94
202	PAK6	STE		95	91	93
203	PAK7	STE		95	84	90
204	PASK	CAMK		74	73	74
205	PBK	OTHER		97	92	94
206	PCTAIRE1/CycY	CMGC		92	89	90
207	PDGFR-alpha	TK		107	97	102
208	PDGFR-beta	TK		93	84	88
209	PK1	AGC		100	98	99
210	PHKG1	CAMK		84	99	91

#	Kinase Name	Kinase Family*	Cpd ID	AnnH75	AnnH75	Mean
			Assay Conc. (M)	1,0E-06	1,0E-06	1,0E-06
211	PHKG2	CAMK		92	96	94
212	PIM1	CAMK		43	39	41
213	PIM2	CAMK		120	95	107
214	PIM3	CAMK		44	43	44
215	PKA	AGC		101	109	105
216	PKC-alpha	AGC		105	117	111
217	PKC-beta1	AGC		76	109	93
218	PKC-beta2	AGC		88	128	108
219	PKC-delta	AGC		101	109	105
220	PKC-epsilon	AGC		30	48	39
221	PKC-eta	AGC		78	79	79
222	PKC-gamma	AGC		105	110	108
223	PKC-iota	AGC		90	115	102
224	PKC-mu	AGC		100	101	100
225	PKC-nu	AGC		92	82	87
226	PKC-theta	AGC		108	118	113
227	PKC-zeta	AGC		70	124	97
228	PLK1	OTHER		98	87	93
229	PLK3	OTHER		97	94	96
230	PRK1	AGC		91	97	94
231	PRK2	AGC		87	89	88
232	PRKD2	CAMK		87	93	90
233	PRKG1	AGC		93	81	87
234	PRKG2	AGC		83	86	85
235	PRKX	AGC		90	71	80
236	PYK2	TK		114	106	110
237	RAF1 Y340D/Y341D (untagged)**	TKL		98	99	99
238	RET	TK		89	88	89
239	RIPK2	TKL		92	96	94
240	RIPK5	TKL		96	86	91
241	ROCK1	AGC		77	69	73
242	ROCK2	AGC		81	77	79
243	RON	TK		97	95	96
244	ROS	TK		94	93	94
245	RPS6KA1	AGC		68	59	63
246	RPS6KA2	AGC		101	92	97
247	RPS6KA3	AGC		105	98	101
248	RPS6KA4	AGC		99	90	95
249	RPS6KA5	AGC		100	92	96
250	RPS6KA6	AGC		98	97	98
251	S6K	AGC		85	85	85
252	S6K-beta	AGC		98	106	102
253	SAK	OTHER		104	119	112
254	SGK1	AGC		94	88	91
255	SGK2	AGC		99	99	99
256	SGK3	AGC		109	107	108
257	SLK	STE		103	94	99
258	SNARK	CAMK		96	94	95
259	SNF1LK2	CAMK		93	89	91
260	SNK	OTHER		95	89	92
261	SRC (GST-HIS-tag)	TK		95	95	95
262	SRMS	TK		95	89	92
263	SRPK1	CMGC		106	115	111
264	SRPK2	CMGC		110	102	106
265	STK17A	CAMK		92	86	89
266	STK23	CAMK		94	92	93
267	STK25	STE		94	98	96
268	STK33	CAMK		87	86	87
269	STK39	STE		87	83	85
270	SYK aa1-635	TK		106	97	101
271	TAOK2	STE		104	93	98
272	TAOK3	STE		104	101	103
273	TBK1	OTHER		95	93	94
274	TEC	TK		102	84	93
275	TGFB-R1	TKL		104	105	104
276	TGFB-R2	TKL		87	80	83
277	TIE2	TK		91	78	84
278	TLK1	AGC		96	85	91
279	TLK2	AGC		111	106	108
280	TRK-A	TK		83	86	84
281	TRK-B	TK		85	59	72
282	TRK-C	TK		92	83	87
283	TSF1	OTHER		99	95	97
284	TSK2	CAMK		92	93	92
285	TSSK1	CAMK		88	82	85
286	TTK	OTHER		95	87	91
287	TXK	TK		92	97	94
288	TYK2	TK		99	92	96
289	TYRO3	TK		97	89	93
290	VEGF-R1	TK		92	85	89
291	VEGF-R2	TK		96	100	98
292	VEGF-R3	TK		99	87	93
293	VRK1	CK1		88	89	89
294	WEE1	OTHER		92	109	100
295	WNK1	OTHER		102	95	98
296	WNK2	OTHER		94	101	98
297	WNK3	OTHER		95	92	94
298	YES	TK		86	80	83
299	ZAK	TKL		98	89	94
300	ZAP70	TK		98	95	97

Selectivity Score (< 50 % residual activity):

0,040

*Classification of protein kinase families (Manning et al. Science 6 December 2002: Vol. 298 no. 5600 pp. 1912-1934):

AGC: containing PKA, PKG and PKC families

CAMK: Calcium/Calmoduline-dependent protein kinases

CK1: Casein kinase 1 -like

CMGC: containing CDK, MAPK, GSK3 and CLK families

TK: Tyrosine Kinase

TKL: Tyrosine Kinase-like

STE: Homologs of Yeast Sterile 7, Sterile 11, Sterile 20 Kinases

** Constitutively active kinase

Tabelle 21 Doppelbestimmung von **199** an 300 Kinasen von ProQuinase®

Die Verbindung **199** hemmt neben DYRK1A auch DYRK1B und CLK1 und CLK4 und auch relativ stark die Haspin-Kinase GSG2 (relative Restaktivität 5 %). Die Hemmung der GSG2 wurde auch schon von Cuny et al.²⁶ bei Harmin-Analoga beobachtet. Daneben werden noch 7 weitere Kinasen moderat gehemmt. Die anderen DYRK-Isoformen 2, 3 und 4 werden nicht gehemmt. Die PIM-Kinasen werden nur moderat gehemmt. Von den 300 Kinasen werden nur 12 Kinasen von **199** nennenswert (relative Restaktivitäten unter 50 %) gehemmt.

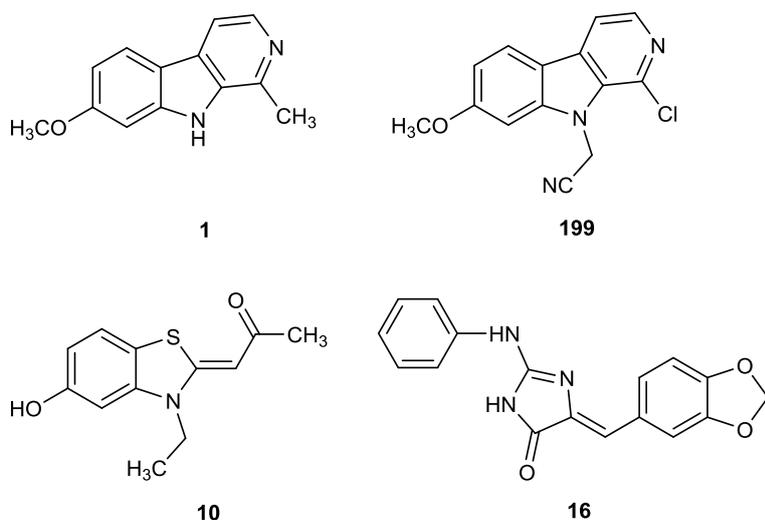


Abb. 182 Leitstruktur Harmin (**1**), Cyanomethylverbindung **199**, INDY (**10**) und L41 (**16**)

Harmin (**1**) wurde von Bain et al.²⁰ an 70 Kinasen getestet. Neben der sehr starken Hemmung von DYRK1A hemmt Harmin (**1**) DYRK2 und 3, PIM-Isoformen und CK1 nur moderat. In der Literatur ist auch eine moderate Hemmung von CDKs²⁵, Haspin²⁶ und CLK1²⁷ beschrieben. Harmin ist zwar ein potenter Inhibitor von DYRK1A, sein Einsatz wird aber durch die starke Hemmung der MAO-A (IC₅₀-Wert 5 nM⁵) eingeschränkt. Der neue Inhibitor **199** ist zwar nicht ganz so potent an der DYRK1A

wie Harmin, besitzt aber keine Inhibition der MAO-A mehr. Hinsichtlich Selektivität gegenüber anderen Kinasen sind sich beide Verbindungen sehr ähnlich.

INDY (**10**)³⁴, welches einen ähnlichen IC₅₀-Wert für DYRK1A wie **199** besitzt (240 nM vs. 270 nM), ist nicht so selektiv wie **199**. INDY ruft bei DYRK 2, 3, CLK1, CLK4, PIM1 und Caseinkinase 1 eine 90 %ige Hemmung hervor. Auch CDKs werden moderat gehemmt. Ob auch GSG2 von INDY inhibiert wird, wurde nicht getestet. INDY (**10**) wurde an 66 Kinasen getestet.

L41 (**16**)¹⁹⁸ hemmt neben DYRK1A auch DYRK2 und DYRK3, PIM1 und CLK1 stark. Der IC₅₀-Wert für DYRK1A liegt bei 40 nM. GSK-3, HIPK2, CK2 und PIM3 werden moderat gehemmt. L41 wurde an 400 Kinasen getestet. Im Vergleich zu L41 (**16**) inhibiert **199** die mit DYRK1A verwandten Kinasen HIPK2 und CK2 nicht und auch PIM1 und DYRK2 und 3 werden erheblich geringer von **199** gehemmt. **199** ist somit selektiver als L41. Ob L41 (**16**) auch die GSG2 inhibiert, wurde nicht getestet (Abb. 182).

Mit **199** wurde ein potenter und selektiver Hemmstoff der DYRK1A gefunden, der zwar nicht ganz so potent ist wie der Naturstoff Harmin (**1**), aber keine Hemmung der MAO-A mehr aufweist. Auch die Selektivität zur DYRK1A gegenüber CLK1 wurde im geringen Maße verbessert. Ein weiterer Vorteil ist, dass **199** außer DYRK1B die anderen DYRK-Isoformen nicht inhibiert. Zusätzlich besitzt **199** keine zytotoxischen und auch keine antimikrobiellen Aktivitäten (siehe 4.1. und 4.2.).

Zur Zeit wird in Oxford im Arbeitskreis von Prof. Stefan Knapp an einer Co-Kristallstruktur von **199** mit der DYRK1A gearbeitet. Diese Ergebnisse lagen aber bis zur Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht vor.

4.5.4. Bestimmung der Zytotoxizität der besten Verbindungen aus dieser Arbeit

Die aktivsten Verbindungen aus dieser Arbeit wurden auf Zytotoxizität an verschiedene Zelllinien getestet. Die Testungen wurden im Arbeitskreis von Prof. Becker in Aachen durchgeführt. Benutzt wurde der Cell Proliferation Assay XTT von Applichem. Genaue Angaben zum Testsystem befinden sich im Kapitel 6.3.5.

Die getesteten Zelllinien sind:

-HeLa-Zellen = menschliche Epithelzellen eines Gebärmutterhalskrebses
(Zervixkarzinom)

-PC12-Zellen = Tumorzellen des Nebennierenmarks aus einer Ratte

-SH-SY5Y-Zellen = klonierte Sublinie der SK-N-SH Zelllinie (SK-N-SH wurden 1970 aus dem Knochenmark eines vierjährigen Mädchens mit einem malignen Neuroblastom isoliert und kultiviert). Diese können zu neuronalen Zellen differenziert werden. Hier werden undifferenzierte Zellen benutzt. SH-SY5Y-Zellen sind allgemein sensitiver als die beiden anderen Zelltypen.

Das zu Grunde liegende Prinzip gleicht dem MTT-Test. Nur in lebenden Zellen kann XTT (**218**) durch die Mitochondrien zu einem orange gefärbten wasserlöslichen Farbstoff **219** reduziert werden (Abb. 183). Die Konzentration des Farbstoffs verhält sich proportional zur Anzahl der metabolisch aktiven Zellen. Die Reduktion erfolgt in Gegenwart von Phenazinmethosulfat (PMS).

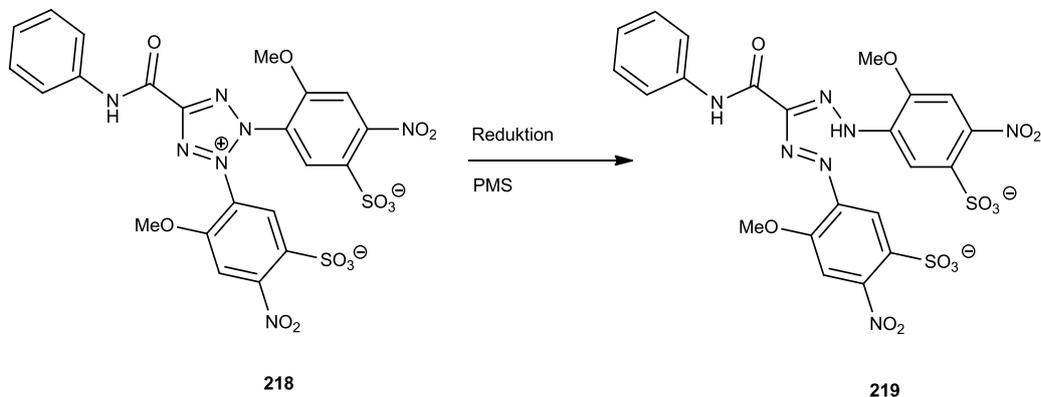


Abb. 183 Reduktion von XTT-Tetrazolium (**218**) zu XTT-Formazan (**219**)¹⁹⁹

	HeLa			PC12			SH-SY5Y		
	1 μ M	3 μ M	10 μ M	1 μ M	3 μ M	10 μ M	1 μ M	3 μ M	10 μ M
197	97	96	72	95	90	81	75	66	45
136	93	80	55	89	88	70	81	88	38
168	91	80	66	88	88	90	61	68	45
135	84	80	58	85	87	78	64	75	42
120	92	90	52	95	77	47	80	72	59
145	92	85	60	99	94	90	100	56	55
199	100	93	92	94	100	95	89	73	43
5'-Iodotubercidin	67	16	18	62	17	5	13	10	15
Staurosporin	8			18			6		

Tabelle 22 Bestimmung der Zytotoxizität von ausgewählten Verbindungen an verschiedenen Zelllinien, angegeben ist der Prozentanteil an überlebenden Zellen

Keine der getesteten Verbindungen (Tabelle 22) zeigt eine ausgeprägte Zytotoxizität. Je kleiner der Prozentanteil ist, desto weniger Zellen haben überlebt. Als Referenz

wurde auch Staurosporin (**5**) (Kapitel 1.2.2.) getestet. Staurosporin besitzt zytotoxisches Potential an allen 3 Zelllinien. Diese Ergebnisse stimmen auch mit dem von uns durchgeführten MTT-Test an HL 60-Zellen überein.

4.5.5. Testung der besten Verbindungen in einem zellulären Assay

Die Phosphorylierungsaktivität der besten Verbindungen wurde im Arbeitskreis von Prof. Becker auch in einem zellulären Assay an HeLA-Zellen getestet. Es wurde bei 3 Konzentrationen getestet (Abb. 184). Angaben zum Testsystem befinden sich im Kapitel 6.3.5.

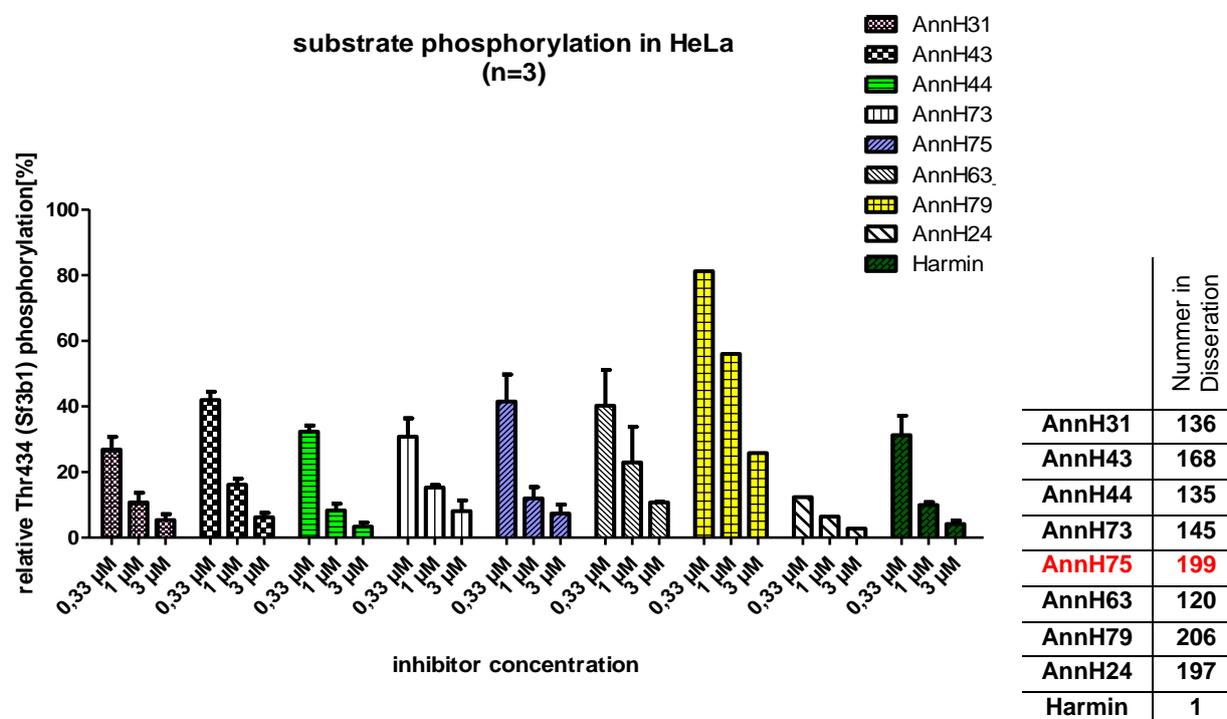


Abb. 184 Testung ausgewählter Verbindungen im zellulären System

Als Negativkontrolle wurde Verbindung **206**, welche keine inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A aufweist, mitgetestet. Bis auf **206** haben alle Verbindungen eine gute bis sehr gute Aktivität gezeigt. Bei einer Konzentration von 1 μM konnte bei Harmin (**1**), **197**, **199**, **135** und **136** eine Hemmung der Substratphosphorylierung von HeLA-Zellen von über 90 % beobachtet werden.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit ist thematisch in 3 Abschnitte unterschiedlicher Zielsetzung gegliedert.

1. Synthese eines 3-Oxo- γ -carbolins mit einem Dichlorsubstitutionsmuster **39** als Strukturisomer des Alkaloids Bauerin C
2. Synthese von Dichlorannomontin (**40**)
3. Synthese von Analoga von Harmin (**1**) als potenzielle Inhibitoren der DYRK1A

1. Synthese des dichlorierten 3-Oxo- γ -carbolins **39**

Leitstrukturen für dieses Projekt sind das 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**) und das 3-Oxo- γ -carbolin **38**. Verbindung **32** ist ein potenter Hemmstoff der Kinase CDK1 mit einem IC_{50} -Wert von 0.9 μ M. In Vorarbeiten aus unserem Arbeitskreis wurde herausgefunden, dass für die inhibitorische Aktivität folgende Strukturelemente entscheidend sind: *N*-Methylierung des Indols, keine *N*-Methylierung des Lactams und Chlorsubstituenten an den Positionen 7 und 8. Was bisher noch nicht untersucht wurde war, ob auch die Position des Lactams im Ring A, welches auch an der Interaktion mit der Kinase beteiligt ist, essenziell für das inhibitorische Potential ist. Wollein⁶¹ hatte schon das entsprechende unchlorierte 3-Oxo- γ -carbolin **38** hergestellt. Die Testung zeigte, dass diese Verbindung keine Kinase-inhibitorische Aktivität mehr aufweist. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch Einführung von Chlorsubstituenten an den Positionen 6 und 7 die inhibitorische Aktivität des 3-Oxo- γ -carbolins **38** zu erhöhen. Mit der Einführung von Chlorsubstituenten wurden in unserem Arbeitskreis schon gute Erfahrungen gemacht. Im Rahmen meiner Diplomarbeit hatte ich zusammen mit Wollein⁶¹ schon eine Synthese für das chlorierte 3-Oxo- γ -carbolin **48** entwickelt⁶⁵ (Abb. 185).

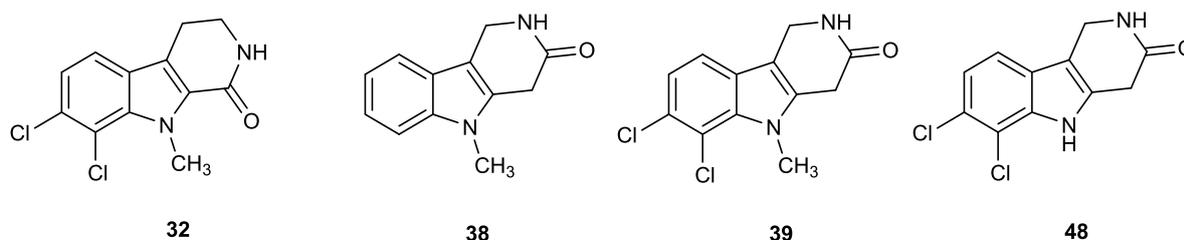
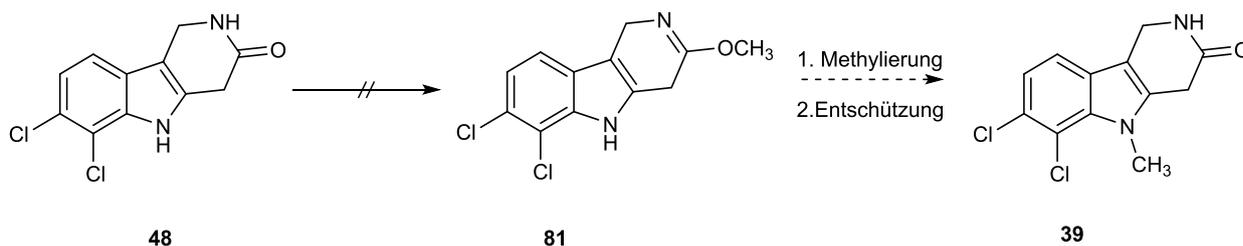


Abb. 185 3,4-Dihydro-Bauerin C (**32**), 3-Oxo- γ -carbolin **38** und die dichlorierten Analoga **39** und **48**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die noch fehlende Methylierung des Indol-Stickstoffs durchzuführen. Versuche zur direkten Methylierung des Indols führten unter unterschiedlichsten Reaktionsbedingungen immer zu untrennbaren Produktgemischen, da die Methylierung sowohl am Indol als auch am Lactam-Stickstoff stattfinden kann. Eine Methylierung der Cyclisierungsvorstufe **52** wurde nicht durchgeführt, da Arbeiten von Wollein gezeigt hatten, dass dann der Ringschluss nicht mehr durchgeführt werden kann. Die nächste Idee war mit Schutzgruppen zu arbeiten, um somit eine der aziden Stellen für die Methylierung zu blockieren. Die Auswahlmöglichkeiten an Schutzgruppen für Lactame sind überschaubar. Es gab zwei Wege, die Schutzgruppe einzuführen. Eine Möglichkeit ist, die Schutzgruppe auf der Stufe des fertigen Tricyclus **48** einzuführen, anschließend zu methylieren und zu entschützen. Die andere Möglichkeit war, mit einem Baustein, welcher schon die Schutzgruppe enthält, den Ringschluss zum Lactam durchzuführen. Im nächsten Schritt sollte methyliert und dann entschützt werden (Abb. 186). Es wurden beide Wege durchgeführt. Die Ausbeute des Cyclisierungsschrittes des Graminderivates **52** zum 3-Oxo- γ -carbolin **48** konnte im Rahmen dieser Arbeit verdoppelt (30 %) werden, indem für die Cyclisierung neben wässrigen Ammoniak auch gasförmiger Ammoniak eingesetzt wurde. Leider gelang die geplante Überführung der Lactamgruppe in einem Lactimether nicht, so dass Variante 1 nicht weiter verfolgt werden konnte. In der zweiten Variante gelang es zwar, ein Lactam mit einem *N*-Allylrest herzustellen und dieses Intermediat am Pyrrol-Stickstoff zu methylieren, allerdings misslang in allen Fällen die Deprotektion. Auch die Deprotektion des unchlorierten 3-Oxo- γ -carbolins mit einer 4-Methoxybenzylgruppe am Lactam-Stickstoff **77** konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden, weswegen diese Schutzgruppe beim chlorierten 3-Oxo- γ -carbolin **48** nicht mehr eingeführt wurde.

Variante 1:



Variante 2:

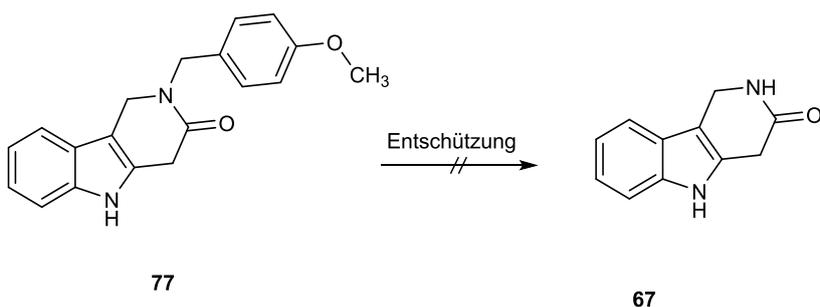
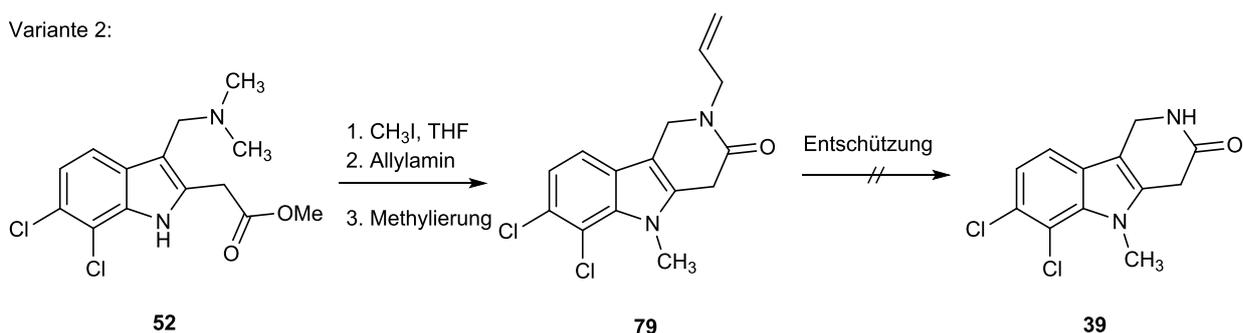


Abb. 186 Variante 1 und 2, für die Einführung einer Schutzgruppe an N-2

Da die bisherigen Versuche nicht zum Erfolg führten, musste ein neuer Zugang für den Aufbau des 3-Oxo- γ -carbolins gefunden werden. Es wurden 3 Wege versucht, die alle vom *N*-methylierten Dichlorindol (**61**) ausgehen und somit die benötigte Methylgruppe schon von Beginn an einzubringen.

Weg 1 und 2:

Das Dichlorindol **61** wurde zum Aldehyd **69** formyliert und weiter zum primären Amin **64** reaktiv aminiert. Anschließend wurde mit 2-(Phenylthio)acetylchlorid zum Amid **90** umgesetzt (Abb.187).

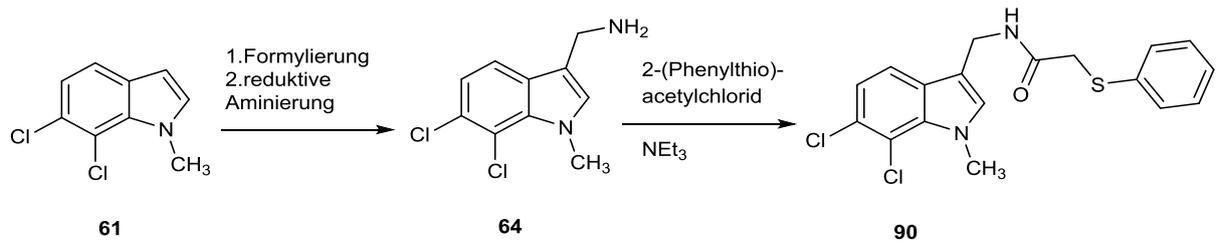


Abb. 187 Synthese des Amids **90** ausgehend vom methylierten Dichlorindol **61**

Die Cyclisierung des Amids **90** wurde auf 2 verschiedenen Wegen versucht: Über eine Friedel-Crafts-artige und über eine Pummerer-artige Cyclisierung. In beiden Fällen kam es zwar zu einer Umsetzung, aber das Produkt war zu instabil, um es charakterisieren zu können. Im jeweils letzten Schritt hätte eine reduktive Entschwefelung zur Zielstruktur **39** führen sollen (Abb. 188).

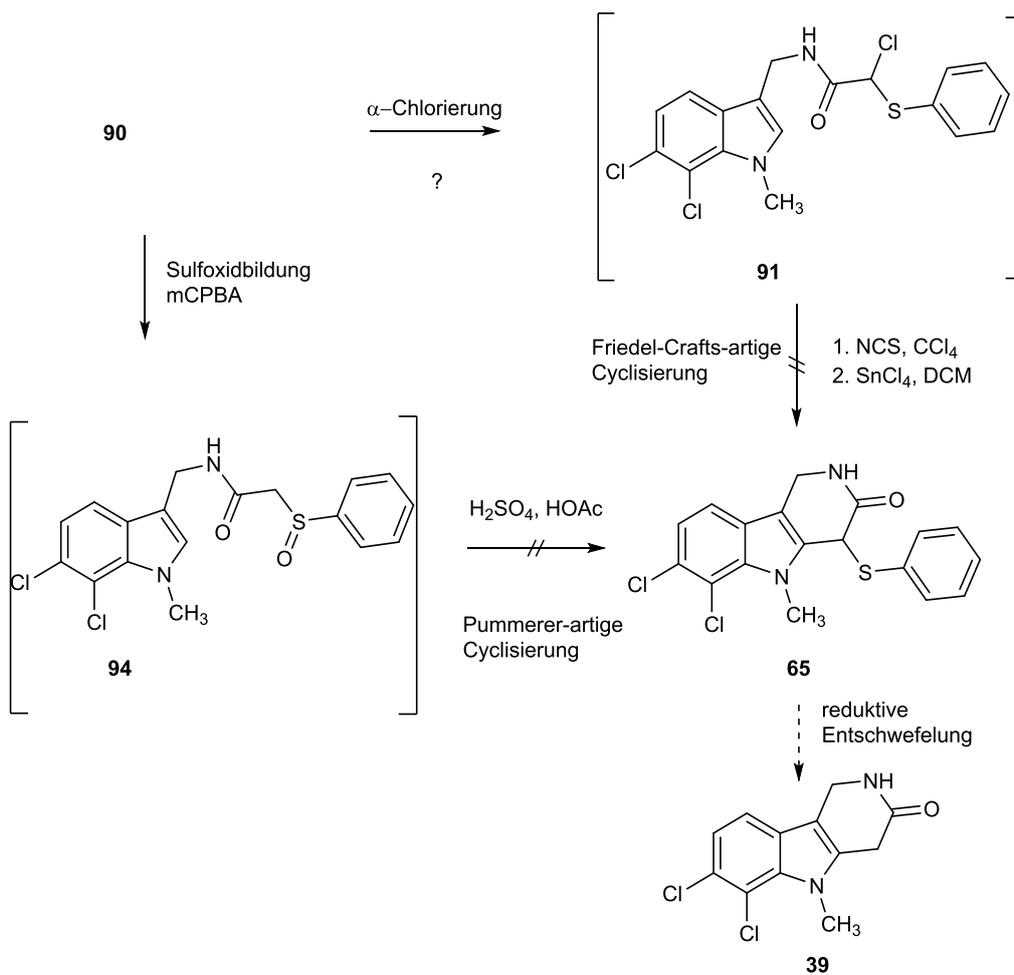


Abb. 188 Versuche zur Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **39**

Der 3. Weg sollte in Anlehnung an die Arbeiten von Wollein⁶¹ über eine Minisci-artige Reaktion ablaufen. Die Funktionalisierung des *N*-Methylindols **61** an C-2 erfolgte mit Wasserstoffperoxid, Eisen(II)sulfat und Iodessigsäureethylester in DMSO. Im nächsten Schritt wurde der Essigester **70** zum Aldehyd **71** formyliert und weiter in einer reduktiven Amininierung zum Aminoester **96** umgesetzt (Abb. 189). Da eine spontane Cyclisierung ausblieb, wurde versucht mit Veränderung der Temperatur und Verwendung von hochsiedenden Lösungsmitteln eine Cyclisierung zu erreichen. Auch durch Basenzugabe und die Anwendung der Amid-Synthese nach Weinreb et al.¹¹⁴ konnte keine Cyclisierung erzielt werden. Weitere Versuche wurden bislang nicht unternommen.

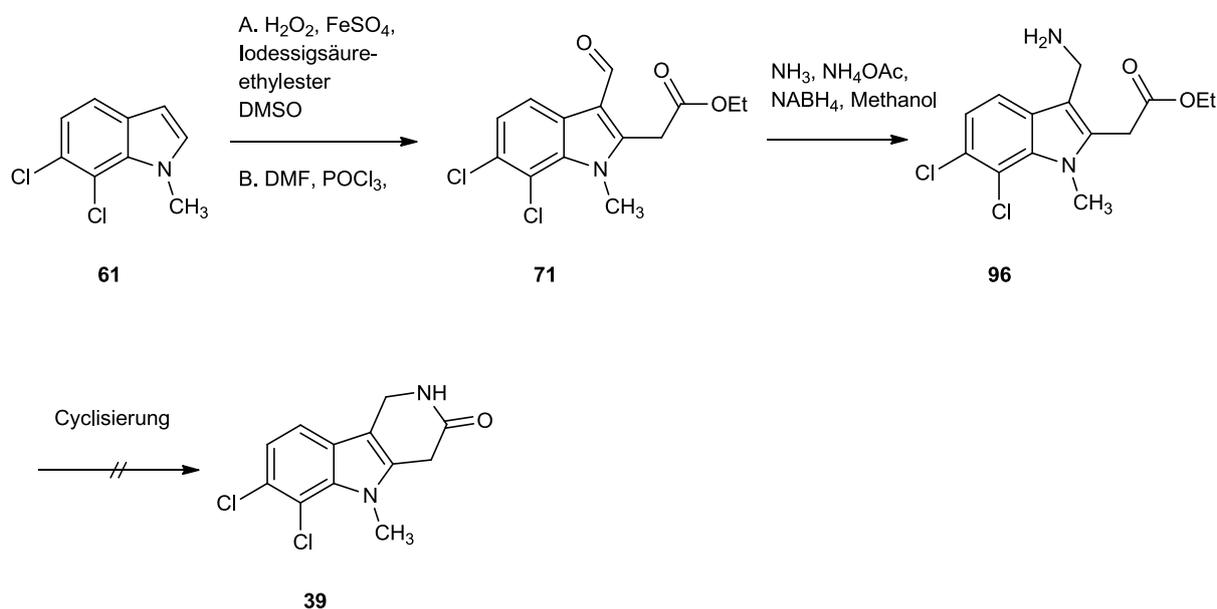


Abb. 189 Versuch zur Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins **39** über Lactamisierung

2. Synthese von Dichlorannomontin

Annomontin (**30**) ist ein potenter Hemmstoff der Kinase CDK1 mit einem IC_{50} -Wert von 1 μM . In Vorarbeiten⁶² aus unserem Arbeitskreis wurde herausgefunden, dass der Aminopyrimidinring, dessen Verknüpfung mit dem β -Carbolin und auch eine unsubstituierte Aminogruppe essenziell für die inhibitorische Aktivität sind. Eine Methylierung des Indol-Stickstoffs wirkte sich aktivitätsmindernd aus. Bisher noch nicht untersucht wurde der Einfluss von Chlorsubstituenten am Ring C. Vorarbeiten^{60,59} aus unserem Arbeitskreis hatten gezeigt, dass durch die Einführung von Chlorsubstituenten an den Positionen 7 und 8 von β -Carbolinen bzw. 6 und 7

von Indolen die Kinase-inhibitorische Aktivität gesteigert werden kann. Dies sollte nun auch bei Annomontin (**30**) versucht werden. Das bekannte 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolin **98** wurde in einer Japp-Klingemann-Reaktion hergestellt, im nächsten Schritt wurde dehydriert und bromiert. Die Stille-Kupplung des Bromderivates **99** mit Tributyl(1-ethoxyvinyl)stannan unter Pd-Katalyse in einer mikrowellengestützten Synthese und anschließende saure Hydrolyse lieferte das Methylketon **56**. Dieses wurde in Anlehnung an die Annomontin-Synthese⁶⁶ mit Brederecks Reagenz und Guanidiniumcarbonat umgesetzt. Dichlorannomontin (**40**) konnte in einer Gesamtausbeute von 5 % erhalten werden (Abb. 190).

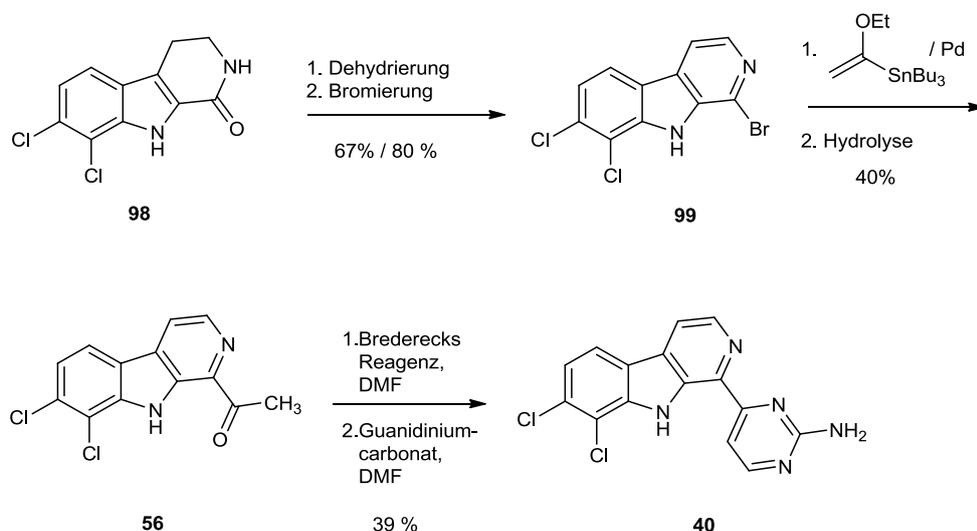


Abb. 190 Synthese von Dichlorannomontin (**40**)

3. Entwicklung eines selektiven DYRK1A-Inhibitors ausgehend von Harmin

Harmin (**1**) ist seit langem als potenter Hemmstoff der MAO-A bekannt. In einem Screening wurde herausgefunden, dass Harmin auch ein potenter Hemmstoff der DYRK1A ist. DYRK1A spielt wahrscheinlich eine große Rolle bei neurodegenerativen Erkrankungen und Down-Syndrom. Ein Einsatz von Harmin als Wirkstoff wird durch die potente Hemmung der MAO-A eingeschränkt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen selektiven Inhibitor der DYK1A zu entwickeln, der die MAO-A nicht mehr oder nur im geringeren Maße inhibiert. Eine ebenfalls reduzierte Inhibition der CLK1, die phylogenetisch eng mit DYRK1A verwandt ist, war zwar erwünscht, stand aber nicht im Fokus dieser Arbeit. Begleitend zu den Synthesen wurden Dockingstudien von Prof. Sippl (Universität Halle) durchgeführt und alle Verbindungen in Aachen im Arbeitskreis von Prof. Becker auf Inhibition der DYRK1A, DYRK2, CLK1 und MAO-A

getestet, um regelmäßig eine Anpassung der zielführenden Strukturenabwandlungen durchführen zu können.

Harmin (**1**) wurde auf verschiedene Weise modifiziert. Die einzelnen Strukturabwandlungen wurden zur besseren Übersicht nicht chronologisch, sondern nach den Orten der Variationen eingeteilt.

1. Variationen am Ring C

Die Bromierung bzw. Chlorierung von Harmin (**1**) erfolgte nach Bonce et al.^{136,137} mit NBS bzw. NCS. Durch die Halogensubstitution erhofften wir uns eine Senkung der Affinität zur MAO-A. Anschließend wurden einige der halogenierten Verbindungen mit Kalium-*tert*-butylat und *n*-Butyliodid *N*-butyliert (Abb. 191). Die Testung von *N*-9-Butylharmin (**132**) hatte zuvor gezeigt, dass durch diese Alkylierung die Affinität zur DYRK1A erhöht werden kann .

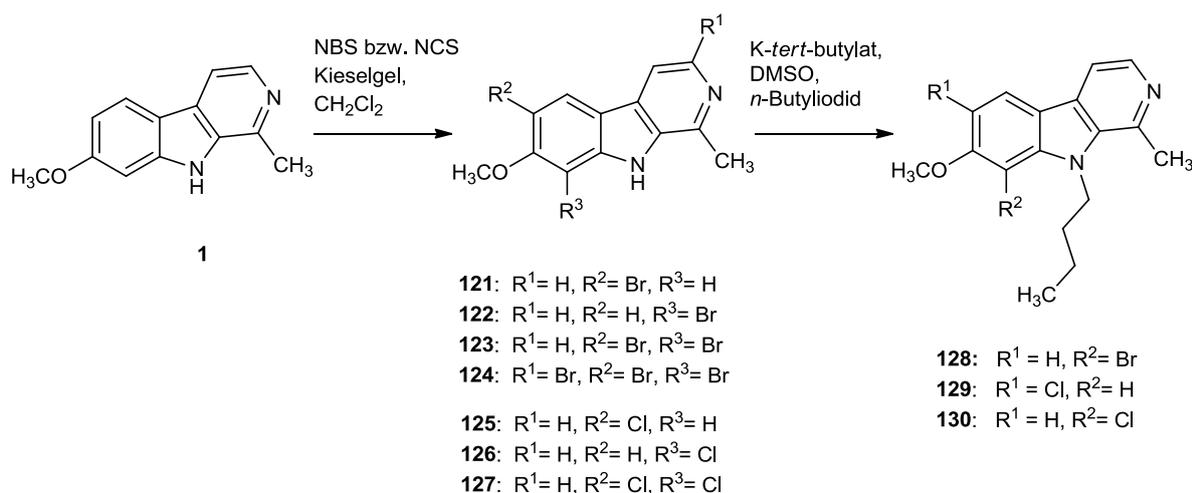


Abb. 191 Halogenierung von Harmin (**1**) und *N*-Butylierung

2. 2- bzw. 9-Desaza-Analoga von Harmin (**1**)

Um den Einfluss der beiden Stickstoffatome auf die inhibitorische Aktivität von Harmin (**1**) auf MAO-A und DYRK1A zu untersuchen, wurden die entsprechenden 2- und 9-Desaza-Analoga von Harmin hergestellt. Dockingmodelle und Kristallstrukturen zeigen, dass die Interaktion von Harmin (**1**) mit DYRK1A über die Methoxygruppe und den Pyridin-Stickstoff und die Interaktion mit der MAO-A über den Pyridin-Stickstoff und die NH-Funktion des Pyrrolrings erfolgt (Abb. 192). 2-

Desaza-Harmin (**43**) wurde unter meiner technischen Anleitung von Hogger¹⁶¹ in ihrer Masterarbeit hergestellt. Das Tetrahydrocarbazolon **141** wurde in einer Japp-Klingemann-Reaktion ausgehend von m-Anisidin hergestellt. Im nächsten Schritt erfolgte in einem Arbeitsgang eine Grignard-Reaktion mit Methyllithium, eine Dehydratisierung und Dehydrierung (Abb. 193).

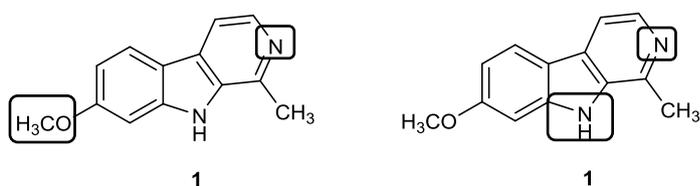


Abb. 192 Interaktionsstellen von Harmin (**1**) mit DYRK1A (links) bzw. MAO-A (rechts) sind markiert

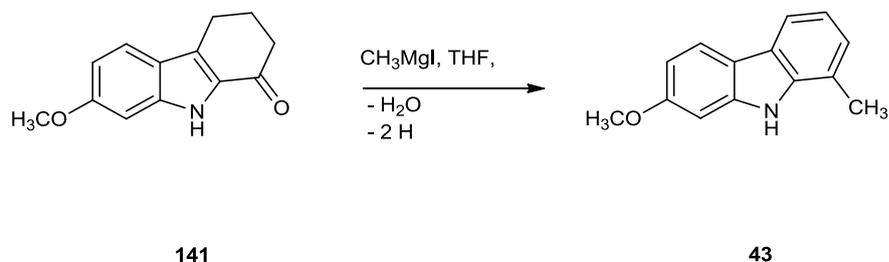
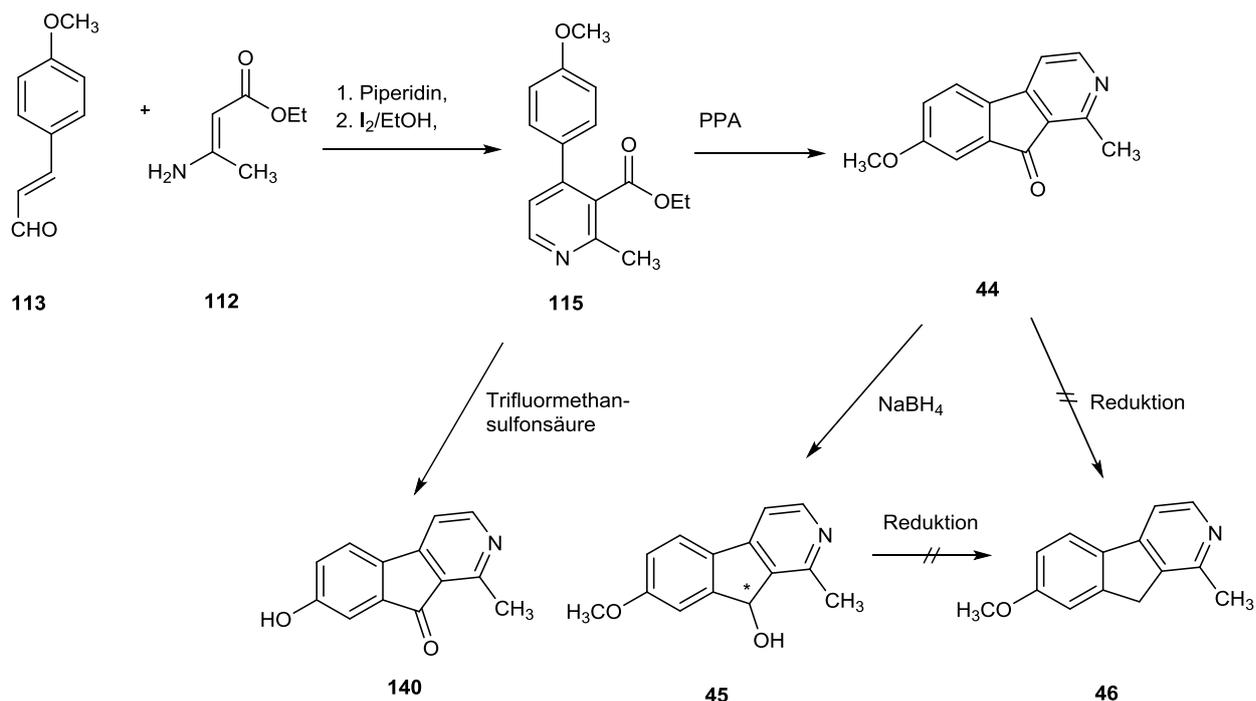
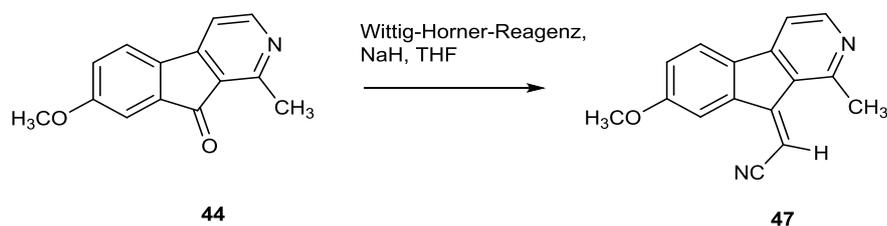


Abb. 193 Synthese von 2-Desaza-Harmin (**43**)

Für die Herstellung der 9-Desaza-Analoga musste der Grundkörper neu aufgebaut werden. Ausgehend von trans-4-Methoxyzimtaldehyd und Ethyl-3-aminocrotonat wurde in einer Hantzsch-artigen Synthese das Pyridin **115** hergestellt, dieses wurde dann mit PPA zum Keton **44** cyclisiert. Bei der Cyclisierung von **115** mit Trifluormethansulfonsäure wurde gleichzeitig auch der Ether gespalten (siehe Verbindung **140**). Um den Einfluss der Planarität des Tricyclus zu untersuchen, sollten auch der Alkohol **45** und das Azafluoren **46** hergestellt werden. Der Alkohol **45** besitzt genauso wie Harmin (**1**) einen Wasserstoffbrückendonator, aber um eine Position weiter nach außen versetzt, aber auch die Planarität des Systems ändert sich. Die Synthese des Azafluorens **46** sollte klären, ob an dieser Position ein Wasserstoffbrückendonator bzw. -akzeptor benötigt wird. Der Alkohol **45** wurde ausgehend vom Keton **44** über eine Reduktion mit Natriumborhydrid dargestellt (Abb. 194). Die Reduktion von **44** bzw. **45** zum entsprechenden Azafluoren **46** gelang trotz zahlreicher versuchter Reaktionsmethoden nicht.

Abb. 194 Synthesen des Ketons **44**, Alkohols **45** und Phenols **140**

Die Synthese des Cyanomethylenderivats **47** gelang unter Horner-Wadsworth-Emmons-Bedingungen mit Natriumhydrid als Base und Diethylcyanomethylphosphonat (Abb. 195). Testergebnisse hatten zuvor gezeigt, dass durch Einführung eines Cyanomethylrestes am Pyrrol-Stickstoff des Harmins die inhibitorische Aktivität auf die DYRK1A erhöht und für die MAO-A erniedrigt wird. **47** stellt ein rigidisiertes Analogon des 9-Cyanomethylharmins (**136**) dar.

Abb. 195 Wittig-Horner-Reaktion von **44** zu **47**

3. Substitution am N-9

Eine Einführung von Alkyl- bzw. Arylalkylresten am Pyrrol-Stickstoff sollte laut einem Dockingmodell von Prof. Sippl die Affinität zur DYRK1A im Vergleich zur MAO-A

erhöhen. Neben einfachen Alkylresten sollten auch polare Gruppe und basische Gruppen eingeführt werden (Abb. 196). Es wurden verschiedene Basen verwendet. In Tabelle 23 werden alle hergestellten Verbindungen, die eingesetzten Basen und Alkylierungsreagenzien und ihre Ausbeuten dargestellt. Das Carboxymethyl-Derivat **158** wurde durch Verseifung des Esters **116** und die Cyanoethylverbindung **167** durch Michael-Addition von Acrylnitril an Harmin (**1**) dargestellt. Die eingesetzten Reagenzien werden in Tabelle 23 angegeben.

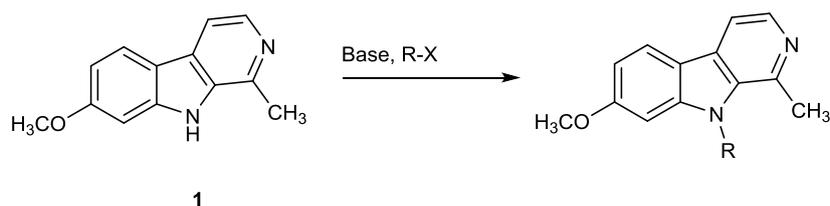


Abb. 196 N-Alkylierung von Harmin (**1**)

Produkt	Hal	Base	R	Ausbeute in %
116	Br	NaH		55
131	I	Kalium- <i>tert</i> -butylat		68
135	Br	NaH		65
136	Br	NaH		16
142	I	NaH	CH ₃	9
143	Br	Kalium- <i>tert</i> -butylat		25
144	Br	NaH		25
145	Br	NaH		13
146	Cl	NaH		62
147	Cl	NaH		9

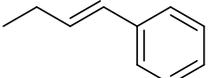
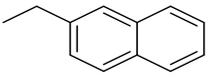
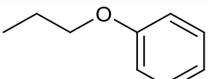
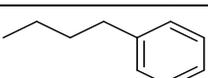
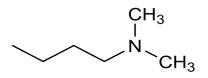
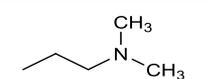
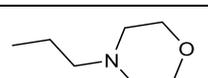
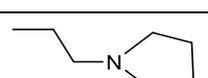
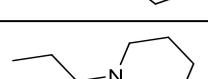
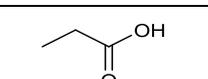
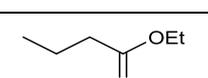
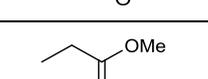
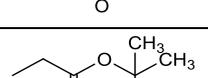
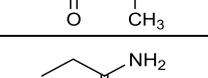
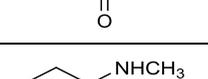
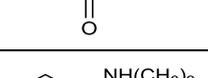
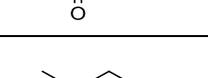
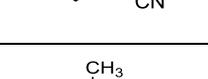
Produkt	Hal	Base	R	Ausbeute in %
148	Br	Kalium- <i>tert</i> -butylat		23
150	Br	NaH		41
151	Br	NaH		31
152	Br	NaH		49
153	Cl	NaH		36
154	Cl	NaH		66
155	Cl	NaH		17
156	Cl	NaH		46
157	Cl	NaH		33
158	Basische Hydrolyse von 116			75
159	Br	NaH		12
161	Br	NaH		11
162	Br	NaH		10
164	Br	NaH		14
163	Br	NaH		33
165	Br	NaH		26
167	Acrylnitril, Triton B			27
168	Br	NaH		21

Tabelle 23 Variationen am Ring B

4. Variationen am Ring A

Als 1. Variation wurde eine Kondensation von Harmin (**1**) mit Benzaldehyd zum literaturbekannten Benzylidenharmin (**42**)¹⁷⁴ durchgeführt (Abb. 197). Ein Dockingmodell von Prof. Sippl, bei dem in DYRK1A der bekannte DYRK1A-Inhibitor DJM2005 (**41**) mit Harmin (**1**) überlagert wurde, zeigte, dass Harmin (**1**) eine von dem Benzopyrazol DJM2005 im Cokristall durch einen *m*-Chlorphenylrest belegte Tasche nicht abdeckt. Versuche zur Kondensation von Harmin (**1**) mit weiteren Aldehyden wie Piperonal und 4-Cyanobenzaldehyd führten unter den bisher gewählten Reaktionsbedingungen entweder nicht zum Erfolg oder die Umsetzung war für eine Aufreinigung und Charakterisierung zu gering. Bei der Reaktion von Harmin (**1**) mit Piperonal und Acetanhydrid konnte nur das *N*-Acylderivat **175** erhalten werden. Testergebnisse hatten zuvor gezeigt, dass durch Einführung von polaren Resten am Pyrrol-Stickstoff wie Cyanomethyl, Ethoxycarbonylmethyl und Propargyl die Affinität von Harmin (**1**) zur DYRK1A erhöht, gleichzeitig aber die inhibitorische Aktivität auf die MAO-A gesenkt wird. Die Einführung dieser Reste an Benzylidenharmin (**42**) gelang leider nicht. Auch die Kondensation von *N*-Butylharmin (**131**) mit Benzaldehyd gelang nicht. Eine gleichzeitige Funktionalisierung von C-1 und N-9 konnte somit auf diesem Weg nicht erreicht werden.

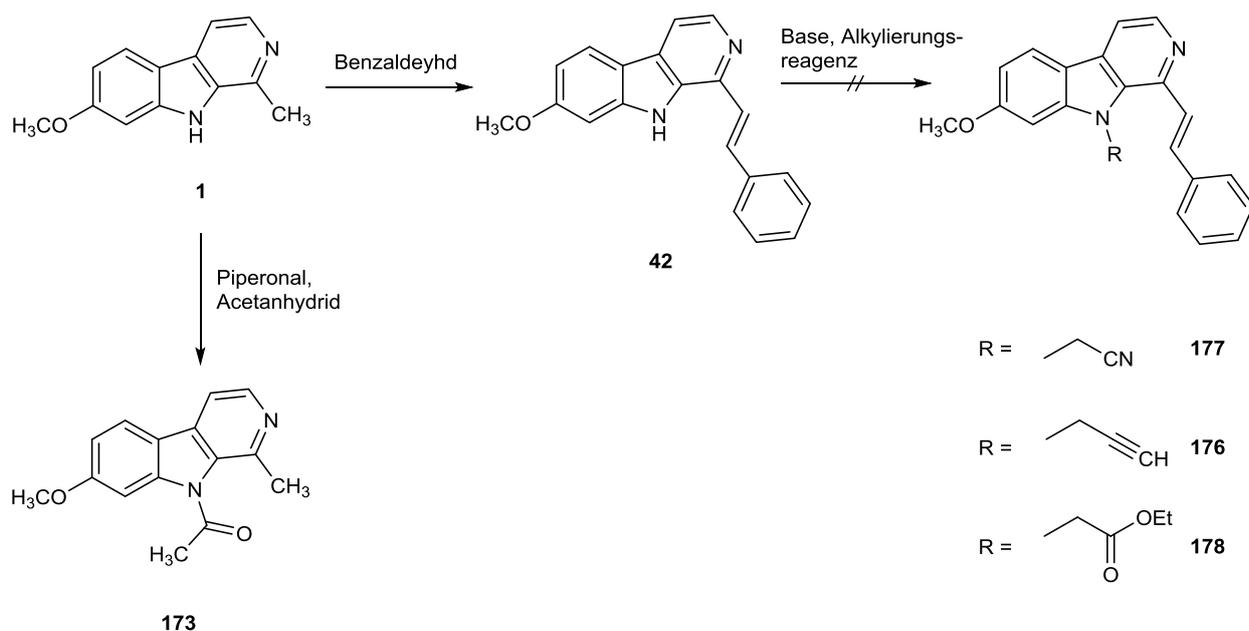


Abb. 197 Synthese von Benzylidenharmin (**42**) und versuchte *N*-Alkylierung

Da zwischenzeitliche Testergebnisse gezeigt hatten, dass durch Einführung eines Chlorsubstituenten an Position 1 die Affinität zur DYRK1A erhöht werden kann, wurden an dieser Stelle die Versuche zur Synthese der Aryliden- und Alkenylharmin-Analoga abgebrochen.

5. Versuche zur Synthese von C-1-N-9-verbrückten Tetracyclen

Neben den Variationen am Ring A und B sollte auch die beide Ringe miteinander verbrückt werden. Der Aufbau des Naphthyridins (**57**) ausgehend von der Ethoxycarbonylmethylverbindung **116** konnte über eine Claisen-artige Reaktion nicht erzielt werden (Abb. 198). Auch die Synthese des α -Ketoesters **180**, einer geplanten Zwischenstufe für eine Cyclisierung über eine intramolekulare Aldolkondensation gelang nicht.

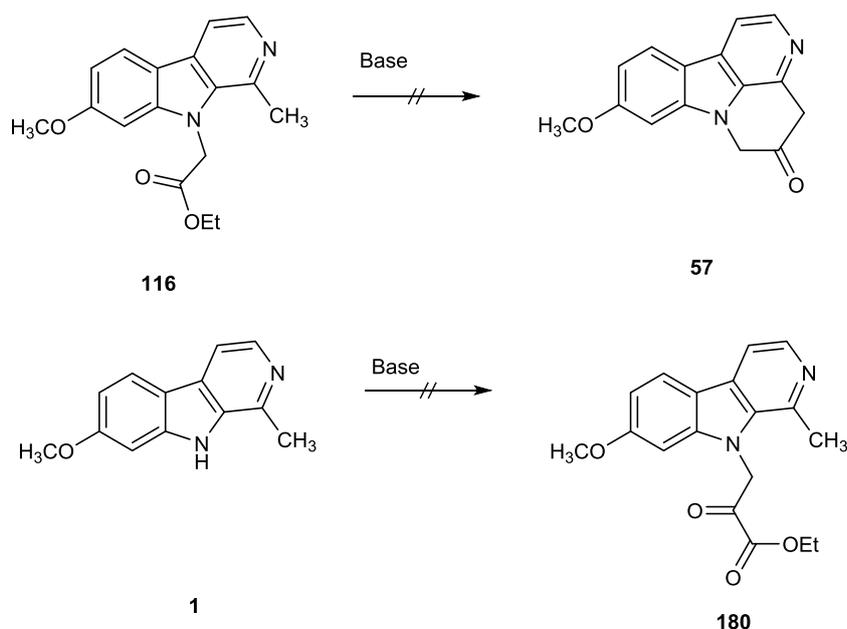


Abb. 198 Versuche zur Synthese des Naphthyridin-Derivates **57**

Dockingexperimente von Prof. Sippl postulierten, dass Tetracyclen mit einer Aminalstruktur möglicherweise eine Selektivität für DYRK1A gegenüber MAO-A und CLK1 haben könnten. Die Synthese der dafür benötigten Zwischenstufe **117** aus Harmin (**1**) konnte nach Literatur¹⁴⁶ mit Selendioxid nicht erreicht werden. Auch andere Versuche zur Oxidation mit Iod, *tert*-Butyliodid, Eisen(II)chlorid und Trifluoressigsäure in Anlehnung an Dombeck et al.¹⁸² und über eine oxidative

Enaminspaltung nach Kondensation von Harmin (**1**) mit Bredericks-Reagenz verliefen erfolglos.

Die Synthese des Aldehyds **117** gelang über eine ozonolytische Spaltung von Benzylidenharmin (**42**) in einer Ausbeute von nur 3 %. Die Synthese konnte leider auf Grund der Abzugsproblematik der LMU München nicht mehr optimiert werden (Abb. 199).

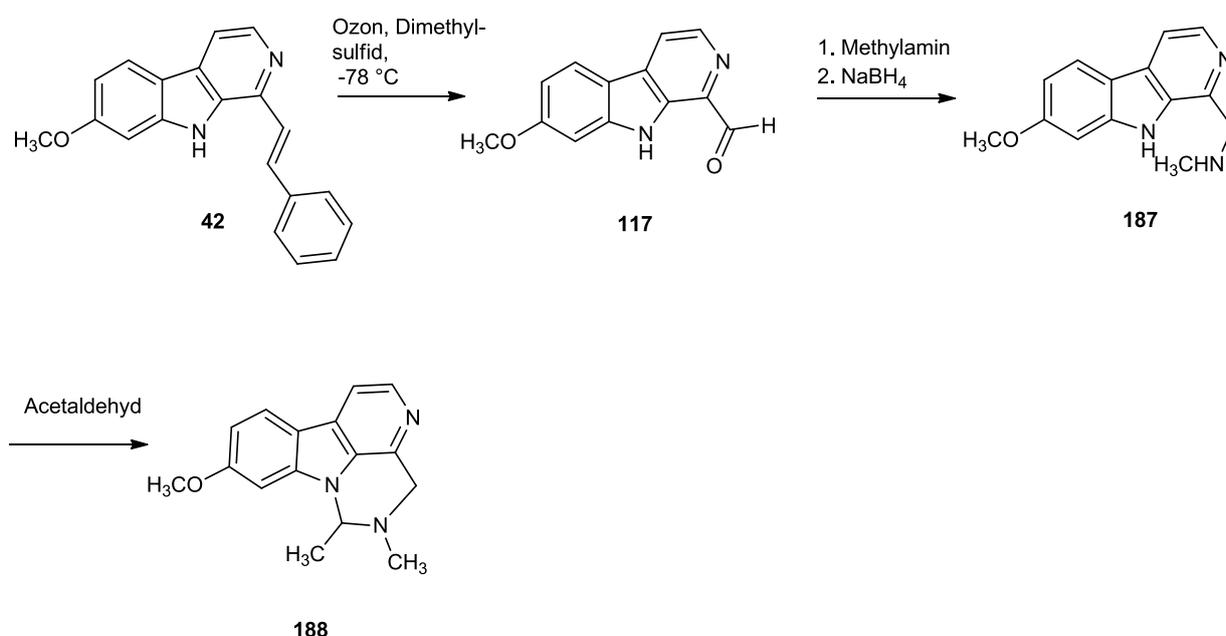


Abb. 199 Darstellung des Aldehyds **117** und des Aminals **188**

Zur Darstellung des Tetracyclus mit einer Aminalstruktur wurde der Aldehyd **117** mit Methylamin und NaBH₄ reaktiv aminierte und sofort mit Acetaldehyd umgesetzt. Diese Reaktion führte laut GC/MS zum Aminal **188**, konnte aber auf Grund der kleinen Ansatzgröße nicht aufgereinigt werden. Eine Neusynthese konnte auf Grund der Abzugsproblematik der LMU München nicht mehr durchgeführt werden.

6. 1-Chlor-Analoga von Harmin

Eine weitere Variation an C-1 erfolgte über das literaturbekannte Harmalacidin (**58**), das in einer Japp-Klingemann-Reaktion ausgehend von *m*-Anisidin in einer Ausbeute von 11 % hergestellt wurde⁶⁷. Dehydrierung mit *p*-Chloranil lieferte das 1-Oxo- β -carbolin **119** in einer Ausbeute 89 %. Nachfolgende Chlorierung mit Phosphoroxychlorid unter Katalyse von *N,N*-Dimethylanilin lieferte das 1-Chlor- β -carbolin (**197**) in einer Ausbeute von 50 % (Abb. 200). Versuche zur analogen

Bromierung von **119** mit Phosphoryoxybromid führten zu untrennbaren Produktgemischen unter Mehrfachbromierung.

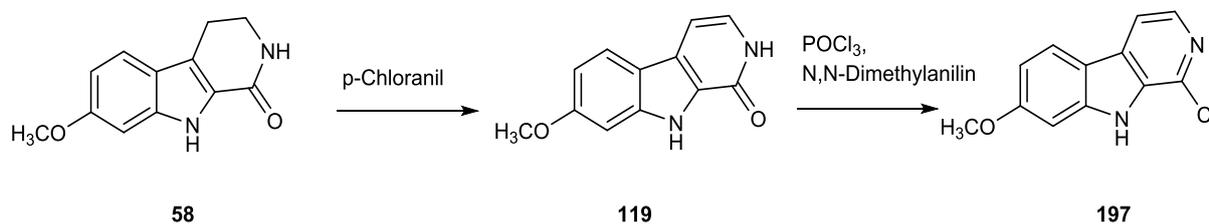


Abb. 200 Darstellung des 1-Chlor-Analogons **197**

Da die biologische Testung von Verbindung **197** zeigte, dass die MAO-A nicht mehr gehemmt wird und auch die DYRK1A etwas stärker als von Harmin (**1**) gehemmt wird, wurden die bis zu diesem Zeitpunkt als aktivitätssteigernd erkannten Reste an N-9 eingeführt. Die Alkylierung erfolgte mit NaH als Base (Abb. 201). In Tabelle 24 werden die eingeführten Reste und die Ausbeuten angegeben.

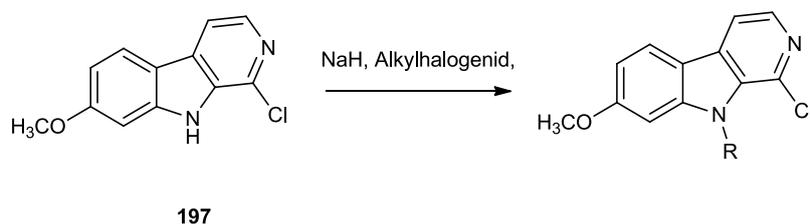


Abb. 201 N-Alkylierung des 1-Chloranalogons **197**

Produkt	Hal	R	Ausbeute in %
198	Br		74
199	Br		63
200	Br		88
201	Cl		20

Tabelle 24 N-Alkylderivate von **197**

Das 1-Chlor- β -carbolin-Strukturelement eröffnete auch die Möglichkeit, über eine Pd-katalysierte Funktionalisierung andere Alkylreste als Methyl an C-1 einzuführen. Die Ethoxycarbonylmethylverbindung **200** wurde mit Triethylboran und Kaliumcarbonat unter Pd-Katalyse in einer Ausbeute von 69 % zum 1-Ethylderivat **202** umgesetzt (Abb. 202). Somit konnte auf diesem Weg ausgehend von m-Anisidin ein neuer Zugang zu Homologen des Harmins entwickelt werden.

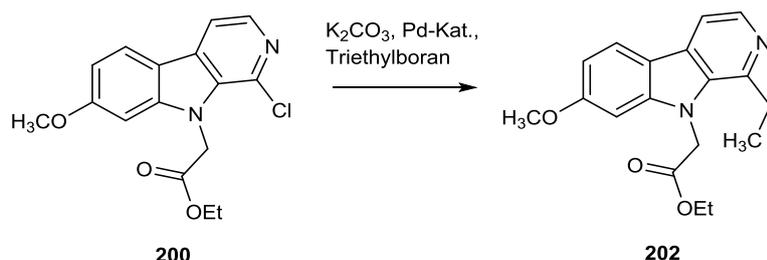
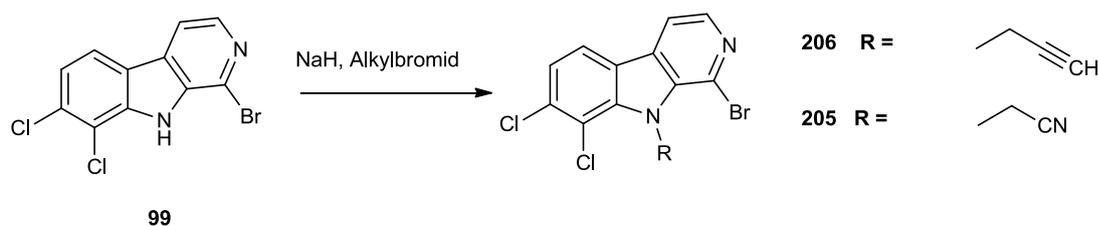


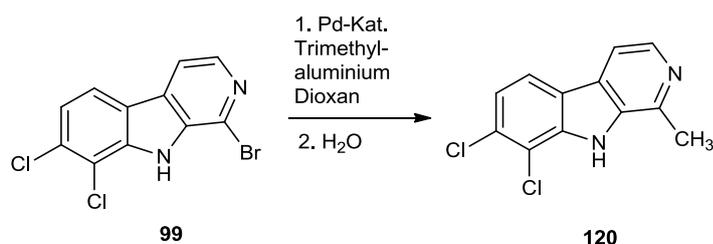
Abb. 202 Funktionalisierung der Ethoxycarbonylmethylverbindung **200** an C-1

7. Harmin-Bauerin C-Hybride

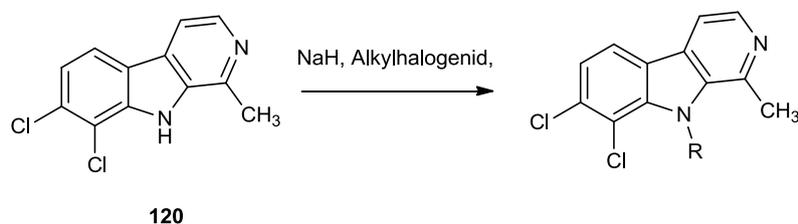
Mit der Synthese von Harmin-Bauerin C-Hybriden sollte überprüft werden, ob an Ring C ein Chlorsubstituent die Funktion der Methoxygruppe des Harmins bei der Interaktion mit der DYRK1A übernehmen kann. In einem Docking⁴⁸ konnte gezeigt werden, dass das Dichlorindol KHCB-19 (**24**) über eine Chlorbrücke des Chlorsubstituenten an Position 6 mit der CLK1 interagiert. Da in unserem Arbeitskreis schon in einigen Fällen die Erfahrung gemacht worden war, dass durch Einführung von Chlorsubstituenten an den Positionen 6 und 7 von Indolen die Kinase-inhibitorische Aktivität gesteigert werden kann, sollte auch hier diese Strategie angewendet werden. Da die biologische Testung von 1-Brom- β -carboline **99** (Vergleich Abb. 190) zeigte, dass die MAO-A nicht mehr, die DYRK1A aber noch moderat gehemmt wird, wurden auch hier die bisher besten Reste (Cyanomethyl, Propargyl) am Indol-Stickstoff eingeführt. Die Alkylierung erfolgte mit Natriumhydrid als Base (Abb.203).

Abb. 203 *N*-Alkylierung des 1-Bromanalogons **99**

Die Synthese des Harmin-Bauerin C-Hybrids **120** gelang ausgehend von **99** unter selektiver Umsetzung des Bromsubstituenten neben den beiden Chlor-Resten unter Pd-Katalyse mit Trimethylaluminium in einer Ausbeute von 92 % (Abb. 204). Ausgehend von 2,3-Dichloranilin konnte somit ein Zugang zu einem Harmin-Bauerin C-Hybrid mit einem 7,8-Dichlor-Substitutionsmuster **120** entwickelt werden.

Abb. 204 Darstellung des Harmin-Bauerin C-Hybrids **120**

Die *N*-Alkylierung von **120** mit den bisher besten Resten erfolgte mit den in Tabelle 25 angegebenen Alkylierungsreagenzien und NaH als Base (Abb. 207). Die jeweiligen Ausbeuten werden ebenfalls in Tabelle 25 aufgeführt.

Abb. 205 *N*-Alkylierung des Harmin-Bauerin C-Hybrides **120**

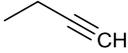
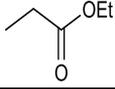
	Hal	R	Ausbeute in %
209	Br		45
210	Br		15
211	Br		21
212	Cl		28

Tabelle 25 *N*-Alkylderivate des Harmin-Bauerin C-Hybrides **120**

Biologische Testung

Der Agar-Diffusionstest auf antimikrobielle Aktivität zeigte, dass alle in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen entweder nur moderates oder kein antimikrobielles Potential besitzen. Auf eine genauere Untersuchung von antimikrobiellen Wirkmechanismen wurde deshalb verzichtet.

Der MTT-Test auf Zytotoxizität zeigte, dass keine Verbindung aus der Reihe der Harmin-Analoga eine ausgeprägte Zytotoxizität aufweist, was auch unser Ziel war.

Auch die Verbindungen des Dichlorannomontin-Projekts zeigten keine zytotoxische Aktivität.

Aus der Reihe der γ -Carbolin-Analoga und Vorstufen weist nur das nicht methylierte γ -Carbolinderivat **48** eine signifikante Zytotoxizität auf. Der IC_{50} -Wert liegt bei 2 μ M. Erwähnenswert ist hier, dass das unchlorierte Analogon von Wollein⁶¹ keine Zytotoxizität besitzt. Durch die Einführung der Chlorsubstituenten an den Positionen 6 und 7 konnte somit das zytotoxische Potential erheblich gesteigert werden.

Im Hochdurchsatzscreening in Oxford konnten einige Treffer beobachtet werden. Da nicht alle Verbindungen an den selben Kinasen getestet wurden und bei sehr vielen Verbindungen bis zum Ende dieser Arbeit die Ergebnisse noch ausstehen v.a. auch an einigen für unseren Arbeitskreis interessanten Kinasen, ist bisher keine umfassende Diskussion der inhibitorischen Aktivitäten möglich. Die meisten Verbindungen aus der Harmin-Reihe, die bisher an GSG2 (Haspin) getestet wurden, zeigen eine moderate Affinität zu dieser Kinase. Auch Harmin (**1**) besitzt eine

moderate Affinität zu Haspin (GSG2) mit einem IC_{50} -Wert von 590 nM²⁶. Bisher zeigte sich, dass Harmin-Derivate, die keine nennenswerte Affinität zur DYRK1A besitzen, immer noch moderate Affinität zu Haspin aufweisen. Das Carboxymethylderivat **158** besitzt neben einer moderaten DYRK1A-Hemmung auch eine hochaffine Bindung zu ACVR2BA (Activin A type I receptor) und eine signifikante Affinität zu STK24A. Das Tribromderivat **124** zeigt neben **158** eine noch stärkere Bindung zur ACVR2BA. Aus der Reihe der bromierten und chlorierten Harmin-Derivate zeigen einige Verbindungen hochaffine Bindungen. Das Dibromderivat **123** besitzt aus der Reihe der bromierten Harmine die höchste Affinität zu AAK1A. Das 6-Bromderivat **121** weist 2 hochaffine Bindungen zur PIM1A und 2A und auch signifikante Affinität zu GSG2, CLK3A und STK17AA auf.

Eine Auswahl meiner Verbindungen wurde auch auf CLK1-Inhibition am FMP in Berlin getestet. Einige dieser Verbindungen weisen eine Inhibition der CLK1 mit IC_{50} -Werten im niedrig nanomolaren Bereich auf. Da noch nicht alle Verbindungen getestet worden sind, können noch keine Struktur-Wirkungs-Beziehungen abgeleitet werden. Dichlorannomontin (**40**) besitzt für die CLK1 einen IC_{50} -Wert von 403 nM. Im Vergleich dazu weist Annomontin (**30**) einen IC_{50} -Wert von 602 nM auf. Die Einführung von Chlorsubstituenten führte hier zu keiner signifikanten Erhöhung der inhibitorischen Aktivität.

Die Testung aller Harmin-Analoga bei Prof. Becker in Aachen auf Inhibition der DYRK1A, DYRK2, CLK1 und MAO-A führte zu folgenden Ergebnissen:

Die Testung der 9- und 2-Desaza-Analoga von Harmin zeigte, dass der Pyridin-Stickstoff an Position 2 nicht so entbehrlich ist wie die NH-Funktion an Position 9. Sowohl die Interaktion der MAO-A als auch der DYRK1A erfolgt über den Pyridin-Stickstoff des Harmins (siehe 2.1.3.). Ein Fehlen dieses Stickstoffs bzw. das Vorliegen des Stickstoffs in Form eines Lactams (**58** und **119**) führen zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität auf die DYRK1A. Zum gleichen Ergebnis führen auch die Halogenierungen an den Positionen 6 und/bzw. 8 am Ring C des Harmins (**1**). Auch die Größe des Restes an Position 7 ist entscheidend, während kleinere Reste wie der Methoxyrest und ein Chlorsubstituent gut akzeptiert werden, führt die Einführung eines Dimethylaminoethoxyrestes (siehe **132**) zu einem Verlust an

inhibitorischer Aktivität auf die DYRK1A. Fehlen einer Substitution an dieser Stelle führt auch zu einem kompletten Verlust an inhibitorischer Aktivität (siehe Harman), da hier eine Interaktionsstelle zur DYRK1A fehlt. Die Einführung von polaren Resten am Pyrrol-Stickstoff des Harmins erwies sich als extrem vorteilhaft. Die *N*-Cyanomethylverbindung **136** ist mit einem IC₅₀-Wert für DYRK1A von 60 nM die potenteste Verbindung dieser Arbeit. Sie besitzt vergleichbare inhibitorische Aktivität wie Harmin, hemmt aber die MAO-A wesentlich schwächer als Harmin. Die Einführung eines Chlorsubstituenten an Position 1 führt zu einem Verlust an inhibitorischer Aktivität auf die MAO-A (siehe **197**), was Ziel dieser Arbeit war. Die zusätzliche Einführung eines Cyanomethylrestes an N-9 bei **197** führte zu einem potenten Hemmstoff der DYRK1A mit einem IC₅₀-Wert von 270 nM, der die MAO-A nicht mehr und auch die CLK1 nicht mehr in dem Maße wie das *N*-Cyanomethylharmin (**136**) hemmt.

Auf Grund der fehlenden MAO-Hemmung und der schwächeren Hemmung der CLK1 wurde **199** für weitere Testungen ausgewählt. **136** ist zwar noch potenter an der DYRK1A, aber es hemmt immer noch zu einem gewissen Maße die MAO-A und auch die CLK1.

Die Testung von **199** an 300 Kinasen zeigte, dass von den 300 Kinasen nur 12 Kinasen nennenswert (relative Restaktivitäten unter 50 %) gehemmt werden:

199 hemmt neben CLK1 und 4 auch die DYRK1B und auch relativ stark die Haspin-Kinase GSG2 (relative Restaktivität 5 %). Die Hemmung der GSG2 wurde auch schon von Cuny et al.²⁶ bei Harmin-Analoga beobachtet. Daneben werden noch 7 weitere Kinasen moderat gehemmt. Ein weiterer Vorteil ist, dass **199** außer DYRK1B die anderen DYRK-Isoformen nicht inhibiert. Die Testung der Cyanomethylverbindungen **199** und **136** an 3 verschiedenen Zelllinien (HeLa-, PC12-, SH-SY5Y-Zellen) zeigte, dass beide keine zytotoxische Aktivität besitzen. In einem zellulären Assay auf Substratphosphorylierung in HeLa-Zellen konnte bei einer Konzentration von 1 µM beobachtet werden, dass **199** und **136**, wie auch Harmin (**1**), eine Hemmung der Substratphosphorylierung von HeLa-Zellen von über 90 % hervorrufen. Mit **199** wurde ein potenter und selektiver Hemmstoff der DYRK1A gefunden, der zwar nicht ganz so potent ist wie der sehr aktive Naturstoff Harmin (**1**), aber keine Hemmung der MAO-A mehr aufweist. Auch die Selektivität zur DYRK1A gegenüber CLK1 wurde im geringem Maße verbessert.

6. Experimenteller Teil

6.1. Geräte

Schmelzpunkt

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mittels eines Büchi B-540 Apparates (Büchi, Flawil, Schweiz). Die Werte wurden nicht korrigiert.

NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden mit den folgenden Spektrometern aufgenommen: Jeol GSX 400 (^1H -NMR: 400 MHz, ^{13}C -NMR: 100 MHz) oder Jeol JNM-RGX 500 (^1H -NMR: 500 MHz, ^{13}C -NMR: 125 MHz) (Jeol, Peabody, USA). Diese Kernresonanzspektrometer kamen auch bei DEPT-, HH-COSY, HMQC-, HMBC- und NOE-Spektren zum Einsatz.

Die angegebenen Zahlenwerte beziehen sich auf die δ -Skala mit Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard ($\delta = 0.00$ ppm). Die chemischen Verschiebungen (δ) werden in ppm, die Kopplungskonstanten (J) in Hz angegeben. Als Lösungsmittel wurden CDCl_3 , CD_2Cl_2 und DMSO-D_6 verwendet.

IR-Spektroskopie

Feststoffe wurden als KBr-Presslinge, ölige oder harzige Substanzen als Film zwischen NaCl-Platten vermessen. Hierzu wurden die IR-Spektrometer Perkin-Elmer FT-IR Paragon 1000 (Perkin Elmer, Waltham, USA) oder Jasco FT-IR 410 (Jasco, Easton, USA) verwendet.

Massenspektrometrie

Die Massenspektren wurden mit den folgenden Massenspektrometern aufgenommen.

Elektronenstoß-Ionisation (EI; bei 70 eV Anregungsenergie): Hewlett Packard 5989A bzw. Thermo Finnigan MAT95 (Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA)

Chemische-Ionisation (CI; mit Methan als Reaktandgas): Hewlett Packard 5989A
APCI: ABSciex API 2000 LC/MS/MS (AB SCIEX, Foster City, USA)

ESI: Thermo Finnigan LTQ FT Ultra (Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA)

Die hoch auflösenden Massenspektren (HRMS) wurden mit Elektronenstoß-Ionisation (EI) an einem Jeol JMS GCmate II (Jeol, Peabody, USA) oder mit

Elektrosprayionisation an einem Thermo Finnigan LTQ FT (Fa. Thermo Electron Corporation, Waltham, USA) bestimmt.

GC-MS-Analytik

Die GC-MS-Analytik erfolgte mit einem Varian GC 3800 System gekoppelt mit einem Ion Trap Saturn MS-Detektor (Varian, Darmstadt, Deutschland). Die Reaktionskontrolle erfolgte mit einem Shimadzu GC 17-A System mit GCMS OP-5000 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

HPLC-Reinheit

Die HPLC-Reinheit wurde an einer HP Agilent 1100 HPLC mit Dioden Array Detektor (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) und einer Agilent Poroshell Säule (120 EC-C18; 3.0 x 100 mm; 2.7 Micron) bestimmt.

Mobile Phase: Acetonitril / Wasser / THF (6:4:0.1) bzw. (8:2:0.1)

Flussrate: 0.9 mL / min

Temperatur: 50 °C, konstant

Wellenlängen: 210 nm und 254 nm (mit einer Bandbreite von 4 nm)

Injektionsvolumen: 5 µL einer Lösung von 100 µg / mL (Probe in mobiler Phase)

6.2. Arbeitstechniken

Flash-Säulenchromatographie (FSC)

Für die säulenchromatographische Aufreinigung der Rohprodukte wurde Kieselgel 60 der mittleren Korngröße 0.040-0.063 mm oder 0.015-0.040 mm der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) als Sorbens verwendet. Die jeweilige Zusammensetzung des Elutionsmittels ist in der Beschreibung der einzelnen Verbindungen angegeben. Bei den Mischungsverhältnissen handelt es sich um Volumenanteile.

Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Polyester-Fertigfolien Polygram Sil G/UV₂₅₄ (Schichtdicke: 0.2 mm; Format: 40 x 80 mm) der Firma Macherey-Nagel (Düren, Deutschland) verwendet. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht bei einer Wellenlänge von 254 nm bzw. 365 nm und / oder mittels Verwendung von folgenden Detektionsreagenzien und Hitze: Cersulfat / Ammoniummolybdat Lösung, Ehrlichs-

Reagenz, Dinitrophenylhydrazin-Lösung, *Dragendorffs* Reagenz und Kaliumpermanganatlösung.

Mikrowellen-Synthesen

Mikrowellen-unterstützte Synthesen wurden in einem single-mode Mikrowellenreaktor Discovery S-1856 oder Dicovery Sp (CEM, Matthews, USA) durchgeführt.

Trocknung der Lösungsmittel

THF wurde von Acros (Thermo Fisher Scientific, Geel–Belgium) käuflich erworben, wasserfrei über Molsieb 4 Å und mit Septum verschlossen bzw. über Natrium unter Rückfluss erhitzt und abdestilliert. DMF und DMSO wurden ebenfalls von der Firma Acros käuflich erworben, wasserfrei über Molsieb 4 Å und mit Septum verschlossen. Dichlormethan wurde über Calciumchlorid unter Rückfluss erhitzt und abdestilliert. Toluol wurde über elementaren Natrium destilliert.

Ausbeuten

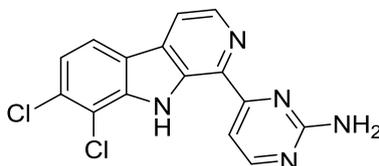
Die jeweiligen Angaben zur Ausbeute beziehen sich auf die durch FSC oder Umkristallisation aufgereinigte Substanz.

Software

Als Software wurde Windows 8 (Microsoft, Redmond, USA), MestRENOVA 5.1.1. (Mestrelab Research, Santiago de Compostela, Spanien) und ChemDraw Ultra 12.0 (CambridgeSoft, Cambridge, UK) verwendet.

6.3. Synthesevorschriften

4-(7,8-Dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)-pyrimidin-2-amin (40)



138 mg (0.495 mmol) 1-(7,8-Dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)-ethanon (**56**) werden unter N_2 -Atmosphäre in 10 mL wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Unter Rühren werden langsam 0.210 mL (1.00 mmol) Brederecks Reagenz zugegeben. Die gelbe Lösung wird 1 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 132 mg (1.09 mmol) Guanidiniumcarbonat zugegeben und 15 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 10 mL gesättigter Natriumcarbonatlösung versetzt und viermal mit jeweils 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der orange Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Triethylamin= 1/2 + 1 %) aufgereinigt.

Ausbeute: 63 mg (39 %) beiger Feststoff

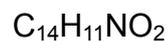
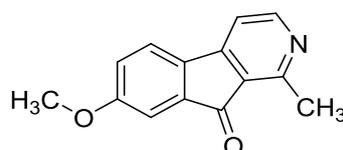
Schmelzpunkt: 142-147 °C

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6 , 500 MHz): δ (ppm) = 11.27 (s, NH), 8.60 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 3-H), 8.49 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 4'-H), 8.37-8.33 (m, 2 H, 4-H, 5-H), 7.70 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 5'-H), 7.56 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 6-H), 7.14 (s, 2 H, NH_2)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- D_6 , 400 MHz): δ (ppm) = 164.1 (C-6'), 163.3 (C-2'), 159.5 (C-4'), 139.6 (C-3), 138.3 (C-9a), 137.0 (C-1), 134.4 (C-8a), 130.9 (C-7), 130.3 (C-4a), 122.1 (C-5/6), 121.8 (C-5/6), 120.8 (C-4b), 117.5 (C-4), 114.8 (C-8), 105.9 (C-5')

MS (APCI):	$m/z = 334, 332, 330 [M^+ + H], 315, 259, 214, 212$
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu} \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3386, 3160, 1630, 1580, 1465, 1418, 1350, 1317, 1289, 1261, 1224, 1161, 1125, 1075, 831$
HR-MS (ESI):	$m/z = 330.0307$ (berechnet für $C_{15}H_{10}N_5Cl_2$: 330.0313)
HPLC-Reinheit:	97 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$) 100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

7-Methoxy-1-methyl-9H-indeno-[2,1-c]pyridin-9-on (44)

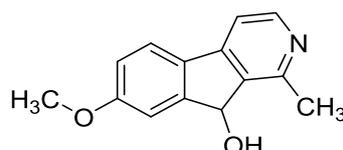


387 mg (1.43 mmol) 4-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-2-carbonsäureethylester (**115**) und 17 g Polyphosphorsäure werden 5 h bei 135 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 80 mL Eiswasser aufgenommen und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der pH-Wert mit 6 N Natronlauge auf 10 eingestellt und viermal mit jeweils 200 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:	45 mg (14 %)	gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	140-143 °C	

¹H-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.55 (d, J = 4.9 Hz, 1 H, 3-H), 7.80 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, 5-H), 7.57 (d, J = 4.9 Hz, 1 H, 4-H), 7.19 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1 H, 6-H), 7.15 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, 8-H), 3.86 (s, 3 H, OCH ₃), 2.64 (s, 3 H, 1-CH ₃)
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz):	δ (ppm) = 193.3 (C=O), 162.2 (C-7), 156.1 (C-1), 155.4 (C-3), 152.2 (C-4a), 135.2 (C-8a), 133.2 (C-4b), 124.5 (C-9a), 123.9 (C-5), 120.3 (C-6/8), 113.6 (C-4), 109.1 (C-6/8), 55.9 (OCH ₃), 20.5 (1-CH ₃)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 226 [M ⁺ + H] (28), 125 (10), 97 (12), 79 (100)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 225 [M ⁺] (100), 210 (30), 182 (18), 154 (26), 84 (30)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3442, 3051, 2924, 2854, 1708, 1636, 1618, 1593, 1484, 1453, 1438, 1369, 1343, 1290, 1261, 1240, 1213, 1195, 1149, 1061, 1019, 950, 881, 827, 794, 681
HR-MS (EI):	m/z = 225.0800 (berechnet für C ₁₄ H ₁₁ NO ₂ : 225.0790)
HPLC-Reinheit:	93 % (λ = 210 nm) 96 % (λ = 254 nm)

(±)-7-Methoxy-1-methyl-9H-indeno-[2,1-c]pyridin-9-ol (45)



C₁₄H₁₃NO₂

M_r = 227.26 g/mol

96 mg (0.42 mmol) 7-Methoxy-1-methyl-9*H*-indeno-[2,1-*c*]pyridin-9-on (**44**) werden in 7 mL Methanol gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann werden 23 mg (0.61 mmol) Natriumborhydrid zugegeben und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer eingeeengt. Anschließend wird der Rückstand in 13 mL Dichlormethan und 7 mL 15 %iger Kaliumhydroxidlösung aufgenommen und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt und zweimal mit jeweils 10 mL Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der gelbe zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol = 4/4/2) aufgereinigt

Ausbeute: 47 mg (49 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 191-192 °C

¹H-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 8.38 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 7.78 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.52 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H), 7.21 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, 8-H), 7.00 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1 H, 6-H), 5.93 (s, 1 H, OH), 5.57 (s, 1 H, 9-H), 3.84 (s, 3 H, OCH₃), 2.58 (s, 3 H, 1-CH₃)

¹³C-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz): δ (ppm) = 161.5 (C-7), 155.3 (C-1), 150.5 (C-8a), 149.6 (C-3), 147.8 (C-4a), 138.3 (C-9a), 130.3 (C-4b), 123.1 (C-5), 115.1 (C-6), 112.8 (C-4), 111.2 (C-8), 73.4 (C-9), 55.9 (OCH₃), 21.6 (1-CH₃)

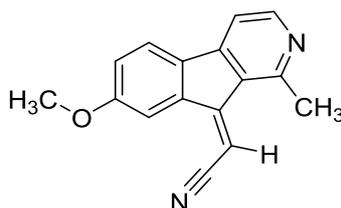
MS (APCI): *m/z* (rel. Int. in %) = 228 [M⁺ + H], 213, 102

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3423, 2921, 2836, 2599, 1708, 1592, 1483, 1438, 1369, 1342, 1290, 1239, 1212, 1148, 1103, 1060, 1019, 949, 826, 794

HR-MS (EI): *m/z* = 227.0953 (berechnet für C₁₄H₁₃NO₂: 227.0946)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)
100 % ($\lambda = 254$ nm)

(2E)-(7-Methoxy-1-methyl-9H-indeno[2,1c]pyridin-9-yliden)ethannitril (47)



$C_{16}H_{12}N_2O$

$M_r = 248.29$ g/mol

20 mg (0.50 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 1.25 mL Tetrahydrofuran suspendiert. Anschließend werden 0.040 mL (0.30 mmol) Diethylcyanomethylphosphonat zugegeben. Die gelbe Lösung wird 15 min bei Raumtemperatur gerührt. 56 mg (0.25 mmol) 7-Methoxy-1-methyl-9H-indeno[2,1-c]pyridin-9-on (**44**) werden in 1.25 mL Tetrahydrofuran gelöst und langsam zu dieser Lösung zugegeben. Dann wird das Reaktionsgemisch 17 h bei Raumtemperatur gerührt, am Rotationsverdampfer eingeeengt und in 20 mL Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird mit 25 mL Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der orangefarbene Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol = 4/4/2) aufgereinigt. Anschließend wird der gelbe Feststoff in Dichlormethan gelöst und mit n-Hexan gefällt.

Ausbeute: 13 mg (22 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 174-176 °C

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6 , 400 MHz): δ (ppm) = 8.47 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 8.08 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, 8-H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 7.34 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H), 7.04 (dd, J = 8.4, 2.3 Hz, 1 H, 6-H), 6.28 (s, 1 H, 1'-H), 3.92 (s, 3 H, OCH_3), 2.76 (s, 3 H, 1- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- D_6 , 500 MHz): δ (ppm) = 162.0 (C-7), 154.4 (C-1), 153.1 (CN), 151.1 (C-3), 148.8 (C-4a), 137.5 (C-8a), 131.7 (C-4b), 129.0 (C-9a), 122.4 (C-5), 118.2 (C-6), 117.1 (C-9), 112.7 (C-4), 110.2 (C-8), 93.3 (C-1'), 55.7 (OCH_3), 24.5 (1- CH_3)

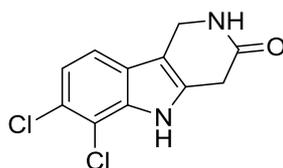
MS (APCI): m/z (rel. Int. in %) = 249 [M^+ + H], 102

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3443, 3088, 2987, 2966, 2838, 2255, 2204, 1619, 1585, 1484, 1458, 1141, 1403, 1371, 1340, 1325, 1283, 1259, 1242, 1139, 1063, 1027, 974, 856, 829, 814

HR-MS (ESI): m/z = 249.1025 (berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$:
249.1028)

HPLC-Reinheit: 100 % (λ = 210 nm)
100 % (λ = 254 nm)

6,7-Dichlor-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3-b]indol-3-on (48)



$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$

$M_r = 255.11$ g/mol

93 mg (0.29 mmol) (6,7-Dichlor-3-dimethylaminomethyl-1*H*-indol-2-yl)essigsäuremethylester (**52**) werden unter Stickstoffatmosphäre in 3 mL wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst. Zu dieser Lösung werden langsam 450 mg (3.17 mmol) Methyljodid zugetropft und 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann zur Trockene eingedampft. Der braune Rückstand wird in 5 mL konzentrierter wässriger Ammoniaklösung und 4 mL Tetrahydrofuran aufgenommen. Dann wird 15 min lang gasförmiger Ammoniak eingeleitet, bis die Lösung farblos wird und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 40 ml gesättigter Natriumchloridlösung versetzt und anschließend dreimal mit jeweils 50 mL einer Mischung aus Dichlormethan und Methanol (95:5) extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 2 M HCl angesäuert und dreimal mit jeweils 50 mL einer Mischung aus Dichlormethan und Methanol (95:5) extrahiert. Die organischen Phasen werden ohne zu trocknen vereinigt und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der gelbe Niederschlag wird mit Dichlormethan gewaschen, abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 22 mg (30 %) gelber Feststoff

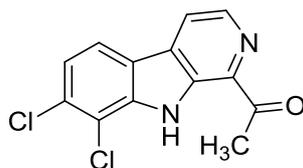
¹H-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz): δ (ppm) = 11.50 (s, 1 H, 5-H), 8.09 (s, 1 H, 2-H), 7.43 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 9-H), 7.19 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 8-H), 4.46-4.44 (m, 2 H, 1-H), 3.56 (t, $J = 3.6$ Hz, 2 H, 4-H)

¹³C-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz): δ (ppm) = 167.32 (C-3), 134.4 (C-5a), 132.5 (C-4a), 124.9 (C-9a), 123.3 (C-7), 120.5 (C-8), 117.6 (C-9), 113.7 (C-6), 104.3 (C-9b), 39.0 (C-1), 30.1 (C-4)

MS (CI): m/z (rel. Int. in %) = 259 (11), 257 (62), 255 [M⁺ + H] (100)

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 258 (11), 256 (58), 254 [M⁺⁺] (88), 215 (15), 213 (75), 211 (100)

HR-MS (EI): $m/z = 254.0042$ (berechnet für C₁₁H₈Cl₂N₂O: 254.0014)

1-(7,8-Dichlor-9H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)-ethanon (56)Methode A:

429 mg (1.36 mmol) 1-Brom-7,8-dichlor-9H-pyrido[3,4-b]indol (**99**) und 49 mg (0.070 mmol) Bis(triphenylphosphan)palladium(II)chlorid werden unter N₂-Atmosphäre in 4.8 mL Toluol gelöst. Unter Rühren werden langsam 0.60 mL (1.8 mmol) Tributyl-(1-ethoxyvinyl)stannan zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 16 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die orange Lösung mit jeweils 3 mL konz. Salzsäure und Wasser versetzt und intensiv 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit 30 mL Wasser versetzt, mit Kaliumcarbonat neutralisiert, und dreimal mit jeweils 40 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der beige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 5/1) aufgereinigt.

Methode B:

230 mg (0.731 mmol) 1-Brom-7,8-dichlor-9H-pyrido[3,4-b]indol (**99**) und 26 mg (0.037 mmol) Bis(triphenylphosphan)palladium(II)chlorid werden in einem Mikrowellenvial eingewogen und in 3.0 mL Dioxan gelöst. Dann werden 0.30 mL (1.8 mmol) Tributyl-(1-ethoxyvinnyl)stannan zugegeben. Die Umsetzung findet anschließend für die Dauer von 20 min unter Mikrowellenbedingungen bei 130 °C, einer Leistung von 150 W und einem zulässigen Maximaldruck von 7 bar statt. Nach einer Reaktionskontrolle mit Hilfe der DC wird die Umsetzung unter Mikrowellenbedingungen unter folgenden Bedingungen wiederholt: bei einer Reaktionsdauer von 20 min, Temperatur von 140 °C, Leistung von 200 W und bei einem Maximaldruck von 9 bar. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit jeweils 2 mL Wasser und konz. Salzsäure versetzt und intensiv 2 h bei Raumtemperatur

gerührt. Dann werden 25 mL Wasser zugegeben und mit Kaliumcarbonat neutralisiert. Die gelbe Suspension wird dreimal mit jeweils 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der beige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 5/1) aufgereinigt

Ausbeute: Methode A: 82 mg (22 %) weißer Feststoff

Methode B: 82 mg (40%)

Schmelzpunkt: 142-147 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 10.33 (s, NH), 8.58 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 8.09 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H), 7.94 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 6-H), 2.90 (s, 3H, CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 202.9 (C=O), 139.4 (C-8a), 139.2 (C-3), 136.8 (C-1), 135.2 (C-9a), 132.6 (C-7), 131.2 (C-4a), 122.7 (C-6), 120.4 (C-5,4b), 120.3 (C-4), 116.1 (C-8), 25.9 (CH₃)

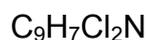
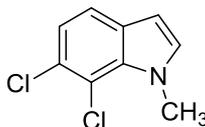
MS (APCI): *m/z* = 283, 281, 279 [M⁺ + H], 238, 102

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3436, 3278, 3053, 3020, 2926, 1669, 1617, 1587, 1542, 1477, 1449, 1425, 1364, 1339, 1317, 1284, 1267, 1226, 1202, 1163, 1126, 1062, 972, 920, 810, 767

HR-MS (ESI): *m/z* = 279.0085 (berechnet für C₁₃H₉N₂OCl₂:
279.0091)

HPLC-Reinheit: 91 % (λ = 210 nm)

90 % (λ = 254 nm)

6,7-Dichlor-1-methyl-1H-indol (61)

208 mg (1.12 mmol) 6,7-Dichlor-1H-indol (**63**) werden in 4.5 mL wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Dann werden langsam 67 mg (1.7 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) zugegeben und auf 40 °C erhitzt. Es wird 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen werden langsam 0.10 mL (1.6 mmol) Methyljodid zugetropft, 4 h bei Raumtemperatur gerührt, in 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit jeweils 25 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit jeweils 25 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 1/1) aufgereinigt.

braunes Öl

Ausbeute: 154 mg (69 %)

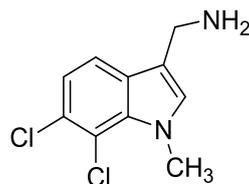
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 7.36 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 4-H), 7.11 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H, 5-H), 6.95 (d, $J = 3.1$ Hz, 1 H, 2-H), 6.40 (d, $J = 3.1$ Hz, 1 H, 3-H), 4.08 (s, 3 H, CH_3),

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 132.9 (C-7a), 132.2 (C-2), 129.9 (C-3a), 126.6 (C-6), 121.6 (C-5), 119.9 (C-4), 115.5 (C-7), 101.4 (C-3), 37.2 (CH_3)

MS (ESI): $m/z = 200$ [M^+H], 173, 158, 139, 103

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3396, 3102, 2925, 2854, 1602, 1588, 1510, 1464, 1442, 14212, 1320, 1287, 1156, 1105, 1087, 950

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)

92 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)**6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol-3-yl-methanamin (64)** $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2$ $M_r = 229.1 \text{ g/mol}$

52 mg (0.23 mmol) 6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol-3-yl-carbaldehyd (**69**) und 62 mg (0.80 mmol) Ammoniumacetat werden in 2.5 mL Methanol gelöst. Dann werden 0.5 mL konz. Ammoniaklösung getropft. Es wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird auf 0 °C abgekühlt und langsam 22 mg (0.59 mmol) Natriumborhydrid zugegeben. Es wird 5 min bei dieser Temperatur und dann 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 4 mL Wasser versetzt und dreimal mit jeweils 15 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

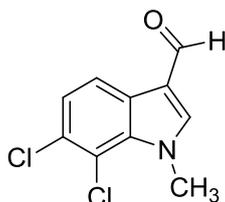
Ausbeute:	48 mg (93 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	190-193 °C	
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3, 500 MHz):	δ (ppm) = 7.51 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H), 7.20 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.01 (s, 1 H, 2-H), 4.81 (s, 2 H, 1'-H), 4.13 (s, 3 H, CH_3)	
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3, 500 MHz):	δ (ppm) = 133.5 (C-7a), 131.3 (C-2), 128.7 (C-3a), 126.9 (C-6), 121.5 (C-5), 118.5 (C-4), 115.7 (C-7), 115.2 (C-3), 54.0 (C-1'), 37.0 (CH_3)	
MS (EI):	$m/z = 233$ (10), 231 (50), 229 (80) [M^{+}], 216 (15),	

214 (60), 212 (100), 165

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3412, 3284, 2928, 2872, 2928, 2872, 1660, 1625, 1607, 1567, 1540, 1464, 1448, 1347, 1317, 1296, 1163, 1077, 992, 805

HR-MS (EI): m/z = 228.0168 (berechnet für C₁₀H₁₀N₂Cl₂: 228.0221)

6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol-3-carbaldehyd (**69**)

C₁₀H₇Cl₂NOM_r = 228.07 g/mol

0.10 mL (1.1 mmol) Phosphoroxychlorid werden unter Eiskühlung zu 0.30 mL (3.9 mmol) wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid getropft. Zu dieser Lösung wird langsam unter Eiskühlung eine Lösung von 128 mg (0.640 mmol) 6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol (**61**) in 1 mL wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid zugegeben und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird 4 h bei 60 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 12 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit jeweils 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit jeweils 30 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt.

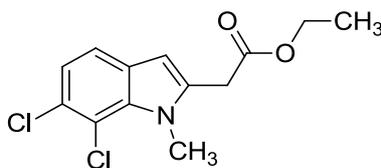
Ausbeute: 90 mg (62 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 136-137 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 9.95 (s, 1 H, CHO), 8.15 (d, J = 8.5 Hz,

	1 H, 4-H), 7.62 (s, 1 H, 2-H), 7.36 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 4.23 (s, 3 H, CH ₃)
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 184.1 (CHO), 141.8 (C-2), 134.2 (C-7a), 129.3 (C-6), 126.5 (C-3a), 125.1 (C-5), 121.0 (C-4), 117.4 (C-3), 116.2 (C-7), 38.5 (CH ₃)
MS (EI):	m/z = 232 (20), 230 (65), 228 (100) [M ⁺], 201 (2), 199 (8), 197 (19), 163
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3107, 3052, 2940, 2821, 2733, 1657, 1602, 1537, 1455, 1412, 1395, 1313, 1285, 1196, 1172, 1082, 872, 824, 801, 650
HR-MS (ESI):	m/z = 227.9980 (berechnet für C ₁₀ H ₈ N ₂ OCl ₂ : 227.9983)
HPLC-Reinheit:	95 % (λ = 210 nm) 99 % (λ = 254 nm)

2-(6,7-Dichlor-1-methyl-1H-indol-2-yl)carbonsäureethylester (70)



C₁₃H₁₃Cl₂NO₂

M_r = 286.15 g/mol

121 mg (0.606 mmol) 6,7-Dichlor-1-methyl-1H-indol (**61**) werden in 2.4 mL wasserfreiem Dimethylsulfoxid gelöst. Dann werden langsam 0.10 mL (0.84 mmol) Iodessigsäureethylester, 0.365 mg (1.32 mmol) Eisen(II)sulfat Heptahydrat und 0.12 mL (1.3 mmol) Wasserstoffperoxidlösung (30 %ig) zugegeben und eine Stunde auf 60 °C erhitzt. Anschließend werden erneut 0.190 mg (0.686 mmol) Eisen(II)sulfat

Heptahydrat und 0.060 mL (0.65 mmol) Wasserstoffperoxidlösung (30 %ig) zugegeben und eine Stunde bei 60 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird die braune Suspension in 10 mL gesättigter Kochsalzlösung aufgenommen, dreimal mit jeweils 10 mL Diethylether extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 4/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 44 mg (26 %) oranger Feststoff

Schmelzpunkt: 140-145 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 4-H), 7.13 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 6.39 (s, 1 H, 3-H), 4.27-4.09 (m, 2 H, CH₂-CH₃), 4.05 (s, 3 H, N-CH₃), 3.79 (s, 2 H, 1'-H), 1.27-1.21 (m, 3 H, CH₂-CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 169.5 (C=O), 135.1 (C-2), 133.8 (C-7a), 128.8 (C-3a), 126.7 (C-6), 121.6 (C-5), 119.3 (C-4), 115.2 (C-7), 102.9 (C-3), 61.5 (CH₂-CH₃), 33.5 (C-1'), 33.1 (N-CH₃), 14.2 (CH₂-CH₃)

MS (ESI): *m/z* = 290, 288, 286 [M⁺+H], 216, 214, 212, 126

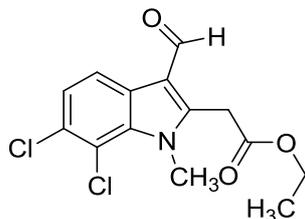
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3431, 2978, 2926, 2855, 1730, 1602, 1574, 1478, 1459, 1448, 1417, 1392, 1367, 1316, 1279, 1196, 1158, 1104, 1032, 938

HR-MS (+ESI): *m/z* = 286.0399 (berechnet für C₁₃H₁₄NO₂Cl₂ : 286.0402)

HPLC-Reinheit: 90 % (λ = 210 nm)

90 % (λ = 254 nm)

2-(6,7-Dichlor-3-formyl-1-methyl-1*H*-indol-2-yl)carbonsäureethylester (71)



0.05 mL (0.7 mmol) Phosphoroxchlorid werden langsam unter Eiskühlung zu 0.13 mL (1.7 mmol) wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid getropft. Zu dieser Lösung wird langsam unter Eiskühlung eine Lösung von 77 mg (0.27 mmol) 2-(6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol-2-yl)carbonsäureethylester (**70**) in 0.4 mL wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid gegeben und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird 4 h bei 60 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 5 mL Eiswasser aufgenommen und dreimal mit jeweils 10 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit jeweils 15 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Die orange zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 38 mg (45 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 89-93 °C

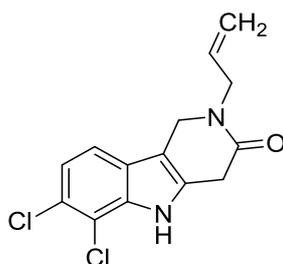
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 10.2 (s, 1 H, CHO), 8.12 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 4-H), 7.36 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 4.25-4.19 (m, 4 H, 1'-H, O-CH₂, CH₂-CH₃), 4.14 (s, 3 H, N-CH₃), 1.29 (s, 3 H, CH₂-CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 183.9 (CHO), 167.8 (C=O), 143.6 (C-2), 133.6 (C-7a), 129.2 (C-3), 126.9 (C-7), 124.9 (C-5), 119.6 (C-4), 116.0 (C-6), 114.8 (C-3a), 62.1 (C-1'), 33.7 (N-CH₃), 30.9 (O-CH₂), 14.1 (CH₂-CH₃)

MS (ESI): *m/z* = 318, 316, 314 [M⁺+H], 290, 288, 286, 216, 214, 212, 187

IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3439, 2957, 2925, 2854, 1726, 1649, 1638, 1601, 1542, 1426, 1456, 1394, 1368, 1327, 1278, 1222, 1188, 1160, 1130, 1060, 1024, 939, 847
HR-MS (+ESI):	m/z = 314.0348 (berechnet für C ₁₄ H ₁₄ NO ₃ Cl ₂ : 314.0351)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 97 % (λ = 254 nm)

2-Allyl-6,7-dichlor-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3-b]indol-3-on (78)



C₁₄H₁₂Cl₂N₂O

M_r = 294.03 g/mol

65 mg (0.21 mmol) (6,7-Dichlor-3-dimethylaminomethyl-1*H*-indol-2-yl)essigsäuremethylester (**52**) werden unter N₂-Atmosphäre in 3 mL wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst. Zu dieser Lösung werden langsam 0.43 g (3.0 mmol) Methyljodid getropft. Anschließend wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird in 4.0 mL (53 mmol) Allylamin aufgenommen und 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung versetzt und anschließend dreimal mit jeweils 30 mL Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Kieselgel, Chloroform/Ethanol/EDMA = 90:10:1)

Ausbeute: 20 mg (30 %)

oranger Feststoff

Schmelzpunkt: Zersetzung ab 84 °C

¹H-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 11.57 (s, 1 H, 5-H), 7.43 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 9-H), 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 8-H), 5.88-5.78 (m, 1 H, 2'-H), 5.24-5.03 (m, 2 H, 3'-H), 4.56-4.54 (m, 2 H, 1-H), 4.15-4.13 (m, 2 H, 1'-H), 3.71-3.69 (m, 2 H, 4-H)

¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 164.9 (CO), 134.1 (C-5a), 132.8 (C-2'), 132.0 (C-4a), 124.6 (C-6), 123.3 (C-9a), 120.5 (C-8), 117.4 (C-9), 116.9 (C-3'), 113.7 (C-7), 103.8 (C-9b), 48.7 (C-1'), 44.4 (C-1), 30.4 (C-4)

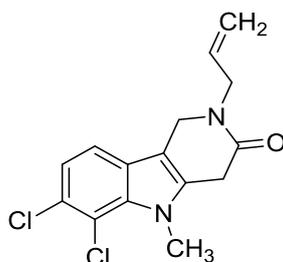
MS (CI): *m/z* (rel. Int. in %) = 299 (13), 297 (100), 295 [M⁺ + H] (53), 213 (8), 211 (28)

MS (EI): *m/z* (rel. Int. in %) = 298 (16), 296 (28), 294 [M⁺] (40), 256 (4), 254 (10), 252 (18), 215 (14), 213 (64), 211 (100)

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3431, 3327, 3074, 2974, 2894, 1644, 1621, 1488, 1367, 1164, 919

HR-MS (EI): *m/z* = 294.03191 (berechnet für C₁₄H₁₂Cl₂N₂O : 294.03268)

2-Allyl-6,7-dichlor-5-methyl-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3-b]indol-3-on (79)



C₁₅H₁₄Cl₂N₂O

M_r = 308.05 g/mol

77 mg (0.34 mmol) Benzyltriethylammoniumchlorid und 52 mg (0.37 mmol) Kaliumcarbonat werden in 8 mL Acetonitril suspendiert und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 53 mg (0.18 mmol) 2-Allyl-6,7-dichlor-1,2,4,5-tetrahydropyrido[4,3-b]indol-3-on (**78**) werden in jeweils 4 mL Dichlormethan und Acetonitril gelöst und langsam zugetropft. Anschließend werden 0.25 mL (2.64 mmol) Dimethylsulfat zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird in 80 mL Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit 80 mL Wasser und einmal mit je 80 mL gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden vereinigt und mit 150 mL Ethylacetat extrahiert. Dann werden die organischen Phasen vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der gelbe ölige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Kieselgel, Chloroform/Ethanol/EDMA = 90:10:1)

Ausbeute: 31 mg (55 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 191 °C

¹H-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 7.42 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 9-H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 8-H), 5.85-5.80 (m, 1 H, 2'-H), 5.23-5.19 (m, 2 H, 3'-H), 4.54-4.52 (m, 2 H, 1-H), 4.14 (d, J = 5.7 Hz, 2 H, 1'-H), 3.93 (s, 3 H, 5-CH₃), 3.78-3.74 (m, 2 H, 4-H)

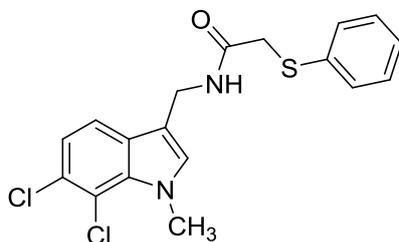
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 164.6 (CO), 134.1 (C-4a), 132.8 (C-2'), 125.5 (C-6), 125.0 (C-7), 120.9 (C-8), 117.5 (C-9), 116.9 (C-3'), 115.3 (C-5a), 113.9 (C-9a), 102.8 (C-9b), 54.8 (C-1'), 46.2 (C-1), 32.7 (C-5), 29.6 (C-4)

MS (CI): m/z (rel. Int. in %) = 313 (10), 311 (62), 309 [M⁺ + H] (100)

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 312 (8), 310 (46), 308 [M⁺] (73), 270 (12), 268 (35), 266 (58), 229 (16), 227 (67), 225 (100)

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3444, 3060, 2924, 1734, 1648, 1632,

1487, 1459, 1375, 1265, 1158, 945

HR-MS (EI): $m/z = 308.04893$ (berechnet für $C_{15}H_{14}Cl_2N_2O$:
308.04833)***N*-[(6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)methyl]-2-(phenylthio)acetamid (**90**)** $C_{18}H_{16}Cl_2N_2OS$ $M_r = 379.30$ g/mol

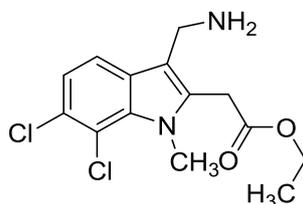
141 mg (0.617 mmol) 6,7-Dichlor-1-methyl-1*H*-indol-3-yl-methanamin (**64**) werden in 3 mL Dichlormethan gelöst und 0.86 mL Triethylamin werden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird auf 0 °C gekühlt, es wird eine Lösung von 90 µL (0.62 mmol) 2-(Phenylthio)acetylchlorid zugegeben und 5 min bei dieser Temperatur gerührt. Dann wird drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die braune Lösung wird dreimal mit jeweils 5 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, Iso-Hexan/Ethylacetat = 2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 98 mg (42 %) braune, halbfeste Masse

1H -NMR (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) = 7.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 4-H), 7.28-7.24 (m, 2 H, aromatische Protonen), 7.21-7.12 (m, 4 H, 5-H und aromatische Protonen), 7.04 (s, 1 H, 2-H), 5.24 (s, 2 H, \underline{CH}_2 -NH), 4.08 (s, 3 H, CH_3), 3.63 (s, 2 H, \underline{CH}_2 -S)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2, 500 MHz):	δ (ppm) = 170 (C=O), 135.3 (C-3a), 133.7 (C-2), 133.5 (C-7a), 130.1 (C-aromatisch), 130.0 (C-aromatisch), 129.6 (C-4''), 127.3 (C-aromatisch), 127.1 (C-6), 122.2 (C-5), 118.6 (C-4), 116.0 (C-7), 109.8 (C-3), 59.1 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 37.5 (CH_3), 36.8 (C-1')
MS (EI):	m/z = 381 (2), 379 [M^{+}] (4), 216 (15), 214 (65), 212 (100), 123
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3384, 3059, 2945, 1730, 1607, 1582, 1480, 1464, 1450, 1439, 1410, 1378, 1351, 1319, 1270, 1133, 1079
HR-MS (ESI):	m/z = 379.0404 (berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{Cl}_2\text{OS}$: 379.0439)

2-(3-Aminomethyl)-6,7-dichlor-1-methyl-1*H*-indol-2-yl)carbonsäureethylester (96)



64 mg (0.20 mmol) 2-(6,7-Dichlor-3-formyl-1-methyl-1*H*-indol-2-yl)carbonsäureethylester (**71**) und 59 mg (0.76 mmol) Ammoniumacetat werden in 2.4 mL Methanol gelöst und mit 0.46 mL konz. Ammoniaklösung versetzt. Die gelbliche Lösung wird 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird auf 0 °C abgekühlt und langsam 21 mg (0.55 mmol) Natriumborhydrid zugegeben. Es wird 5 min bei dieser Temperatur gerührt und dann 1 h bei Raumtemperatur. Das Reaktionsgemisch wird mit 4 mL Wasser versetzt und dreimal mit jeweils 10 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Die gelbe zähflüssige Masse wird mit Hilfe der

Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, Iso-Hexan/Ethylacetat = 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:	15 mg (24 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	119-121 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 7.46 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 4-H), 7.18 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 4.77 (s, 2 H, 1'-H), 4.18 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, O-CH ₂), 4.07 (s, 3 H, N-CH ₃), 3.86 (s, 2 H, CH ₂ -CO), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, 4``-H)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 169.7 (C=O), 133.5 (C-7a), 133.1 (C-2), 128.0 (C-6), 127.4 (C-3a), 121.9 (C-5), 117.5 (C-4), 115.3 (C-7), 114.5 (C-3), 61.9 (CH ₂ -CH ₃), 55.2 (C-1'), 33.0 (N-CH ₃), 31.1 (CH ₂ -CO), 14.1 (CH ₂ -CH ₃)	
MS (EI):	m/z = 319 (1), 317 (37), 315 (50), [M ⁺], 245 (4), 243 (25), 241 (44), 231 (10), 229 (62), 227 (100)	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3441, 2925, 2826, 1725, 1654, 1609, 1581, 1542, 1457, 1421, 1398, 1369, 1338, 1197, 1160, 1062, 1035, 984, 936	

1-Brom-7,8-dichlor-9H-pyrido[3,4-b]indol (99)



1.27 g (5.04 mmol) 7,8-Dichlor-2,9-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-on (**98**) und 10 g (35 mmol) Phosphoroxobromid werden in 20 mL Anisol 4 h bei 120°C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit 130 mL gesättigter Natriumcarbonatlösung versetzt, viermal mit jeweils 200 mL Ethylacetat

extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Die beige zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 1/1) aufgereinigt.

Ausbeute:	1.27 g (80 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	200 °C	
¹H-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz):	δ (ppm) = 12.15 (s, 1 H, NH), 8.29 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 8.26 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 8.22 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 6-H)	
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz):	δ (ppm) = 140.0 (C-3), 139.2 (C-8a), 136.2 (C-4a), 131.8 (C-7), 130.2 (C-9a), 125.0 (C-1), 122.6 (C-6), 122.4 (C-5), 122.3 (C-4b), 115.9 (C-8), 115.8 (C-4)	
MS (ESI):	$m/z = 319, 317, 315 [M^+ + H], 280, 248, 113$	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu} \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3423, 2925, 28269, 2711, 2361, 2341, 1624, 1544, 1485, 1450, 1426, 1293, 1237, 1214, 1187, 1160, 1127, 1063, 924, 852, 798$	
HR-MS (EI):	$m/z = 313.9005$ (berechnet für C ₁₁ H ₅ N ₂ Cl ₂ Br: 313.9013)	
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

7,8-Dichlor-2,9-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (104)



C₁₁H₆Cl₂N₂O

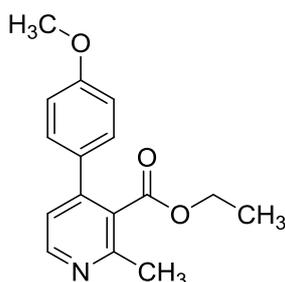
M_r = 253.08 g/mol

1.94 g (7.61 mmol) 6,7-Dichlor-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (**98**) und 3.46 g (15 mmol) 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) werden unter Stickstoffatmosphäre in 120 mL Tetrahydrofuran 15 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch mit 55 mL Ethylacetat versetzt und viermal mit jeweils 100 mL 1 N Natronlauge gewaschen. Die verreinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit jeweils 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingengt. Der beige Rückstand wird mit warmem Ethylacetat, Methanol und Dichlormethan gewaschen

Ausbeute:	1.27 g (67 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	200 °C	
¹H-NMR (DMSO-D₆, 500 MHz):	δ (ppm) = 12.52 (s, 1 H, 9-H), 11.58 (s, 1 H, 2-H), 8.07 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, 5-H), 7.40 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, 6-H), 7.19 (d, J = 6.4 Hz, 1 H, 3-H), 7.03 (d, J = 6.4 Hz, 1 H, 4-H)	
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz):	δ (ppm) = 155.3 (C=O), 137.0 (C-8a), 129.3 (C-9a), 128.7 (C-8), 126.0 (C-3), 125.1 (C-4a), 122.4 (C-4b), 121.2 (C-6), 121.1 (C-5), 115.2 (C-7), 99.2 (C-4)	
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 257 (24), 255 (76), 253 [M ⁺ + H] (100), 170 (15), 130 (41)	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 256 (6), 254 (66), 252 [M ⁺] (100)	
IR (KBr-Pressling):	ν̃ (cm ⁻¹) = 3434, 3114, 2965, 2829, 2760, 2362, 1739, 1644, 1608, 1531, 1491, 1468, 1441, 1419, 1323, 1308, 1242, 1204, 1308, 1242, 1204, 1161, 1132, 1075, 988, 934, 911, 784	
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 251.9847 (berechnet für C ₁₁ H ₆ N ₂ Cl ₂ O: 251.9857)	

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)
100 % ($\lambda = 254$ nm)

4-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-3-carbonsäureethylester (**115**)

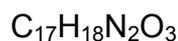
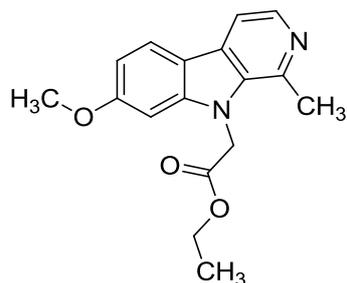


$C_{16}H_{17}NO_3$

$M_r = 271.32$ g/mol

3.2 g (0.019 mol) trans-4-Methoxyzimtaldehyd (**114**), 2.1 mL (0.017 mol) Ethyl-3-aminocrotonat (**113**) und 0.080 mL Piperidin werden in 20 mL Ethanol gelöst und eine 1 h zum Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer eingengt, in 70 mL Ethanol aufgenommen und es werden 0.34 g Natriumhydrogencarbonat zugegeben. Anschließend wird eine 10 %ige Lösung von Iod in Ethanol zugetropft, bis sich die Farbe von gelb nach braun ändert und 2 min lang bestehen bleibt. Dann wird solange 0.1 N Natriumthiosulfatlösung zugetropft bis sich die Lösung nach gelb verfärbt. Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer eingengt. Der ölige Rückstand wird in 20 mL Diethylether aufgenommen und mit jeweils 20 mL Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der braune ölige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 65/35) aufgereinigt. Neben 4-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-3-carbonsäureethylester **115** fällt bei der Flash-Säulenchromatographie auch Verbindung 6-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-3-carbonsäureethylester **137** an. Elutionsreihenfolge: 1. **137** ($R_f = 0.76$) und 2. **115** ($R_f = 0.35$)

Ausbeute:	800 mg (16 %)	braunes Öl
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.53 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 6-H), 7.38-7.29 (m, 2 H, 2'/6'-H, 3'/5'-H), 7.14 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 5-H), 7.01-6.89 (m, 2 H, 2'/6'-H, 3'/5'-H), 4.17 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, CH ₂ -CH ₃), 3.85 (s, 3 H, OCH ₃), 2.62 (s, 3 H, Ar-CH ₃), 1.09 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, CH ₂ -CH ₃)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 168.9 (C=O), 160.0 (C-4'), 155.4 (C-2), 149.5 (C-6), 147.5 (C-4), 130.6 (C-1'), 129.2 (C-2'/6', -3'/5'), 128.5 (C-3), 121.6 (C-5,6), 114.0 (C-2'/6', -3'/5'), 61.4 (CH ₂ -CH ₃), 55.3 (OCH ₃), 22.8 (Ar-CH ₃), 13.8 (CH ₃)	
MS (APCI):	m/z = 272 [M ⁺ + H], 102	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3401, 3038, 2979, 2960, 2838, 1726, 1610, 1579, 1548, 1515, 1463, 1443, 1401, 1366, 1294, 1251, 1215, 1180, 1140, 1113, 1097, 1073, 1032, 853, 829	
HR-MS (EI):	m/z = 271.1207 (berechnet für C ₁₆ H ₁₇ NO ₃ : 271.1208)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)essigsäureethylester (116)

500 mg (2.36 mmol) Harmin (**1**) und 98 mg (2.4 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 15 mL trockenem *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dem Reaktionsgemisch werden langsam 0.26 mL (2.4 mmol) Bromessigsäureethylester zugegeben und es wird 4 h bei 40 °C gerührt. Anschließend wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 30 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 20 mL Wasser wird viermal mit jeweils 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

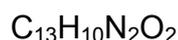
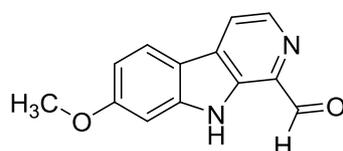
Ausbeute: 384 mg (55 %) beiger Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8.30 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.98 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 4-H), 6.91 (dd, J = 2.2, 8.6 Hz, 1 H, 6-H), 6.76 (d, J = 2.2, Hz, 1 H, 8-H), 5.20 (s, 2 H, 1'-H), 4.27-4.20 (m, 2 H, O-CH₂), 3.93 (s, 3 H, OCH₃), 2.94 (s, 3 H, 1-CH₃), 1.25 (m, 3 H, CH₂-CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 168.6 (C=O), 161.1 (C-7), 143.4 (C-8a), 140.5 (C-1), 139.0 (C-3), 135.7 (C-9a), 129.8 (C-4a), 122.6 (C-5), 115.4 (C-4b), 112.5 (C-4), 109.4 (C-6), 93.0 (C-8), 62.0 (O-CH₂), 55.7 (OCH₃), 46.8 (C-1'), 23.0 (1-CH₃), 14.1 (CH₂-CH₃)

MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 299 [$M^+ + H$] (100), 225 (4)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 298 [M^{++}] (50), 225 (100), 182 (24)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3461, 3047, 2972, 2872, 1884, 1736, 1622, 1564, 1499, 1444, 1343, 1252, 1047, 925, 810, 746
HR-MS (EI):	m/z = 298.1311 (berechnet für $C_{17}H_{18}N_2O_3$: 298.1318)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

1-Formyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (117)

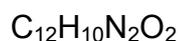
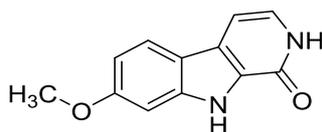


502 mg (1.67 mmol) Methoxy-1-styryl-9H-pyrido-[3,4-b]-indol (**42**) werden in 16 mL von einem 5:1 Gemisch aus Dichlormethan und Methanol gelöst. Anschließend wird bei -78°C 15 min Ozon eingeleitet, wobei die gelbe Lösung heller wird. Dann wird 30 min bei dieser Temperatur gerührt und 1.35 mL Dimethylsulfid zugeben. Nach einer Stunde bei -78°C wird die orange Lösung auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird der Ansatz zur Trockene eingeeengt und mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1).

Ausbeute:	10 mg (3 %)	beige-gelber Feststoff
------------------	-------------	---------------------------

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3, 500 MHz):	δ (ppm) = 10.34 (s, 1 H, CHO), 10.01 (s, 1 H, NH), 8.60 (d, $J = 5.0$ Hz, 1 H, 3-H), 8.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 4- H), 7.71 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 4-H), 8.02 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 8-H), 6.96 (dd, $J = 8.7, 2.2$ Hz, 1 H, 6-H), 3.95 (s, 3 H, OCH_3)
MS (APCI):	$m/z = 227$ [$\text{M}^+ + \text{H}$], 197, 163, 102
HR-MS (ESI):	$m/z = 227.0819$ (berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2$: 227.0820)

7-Methoxy-2,9-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (119)



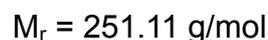
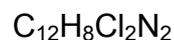
440 mg (2.03 mmol) 7-Methoxy-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (**58**) und 747 mg (3.04 mmol) *p*-Chloranil werden in 20 mL Xylol 23 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 388 mg (89 %) beiger Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6, 500 MHz):	δ (ppm) = 11.80 (s, 1 H, NH), 11.31 (s, 1 H, NH), 7.88 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 5-H), 7.04 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 3-H), 6.93 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 8-H), 6.91 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H, 4-H), 6.80 (dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1 H, 6-H), 3.82 (s, 3 H, CH_3)
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-D_6, 400 MHz):	δ (ppm) = 158.9 (C-7), 155.3 (CO), 140.4 (C-8a), 127.3 (C-9a), 124.7 (C-3, C-4a), 122.1 (C-5),

	116.0 (C-4b), 110.3 (C-6), 99.4 (C-4), 94.3 (C-8), 55.2 (OCH ₃)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 215 [M ⁺ + H] (100), 199 (30), 187 (34), 171 (55), 159 (95), 89 (22)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 214 (20) [M ⁺], 149 (18), 84 (40), 73 (100)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3430, 3287, 3174, 2997, 1686, 1639, 1560, 1413, 1262, 1200, 1021, 810
HR-MS (EI):	m/z = 214.0736 (berechnet für C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₂ : 214.0742)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (120)

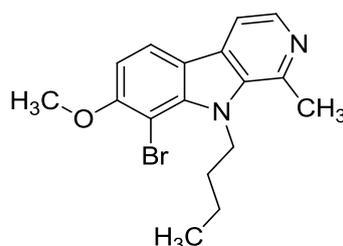


69 mg (0.22 mmol) 1-Brom-7,8-dichlor-9H-pyrido[3,4-b]-indol (**99**) und 15 mg (0.013 mmol) Tetrakis(triphenylphosphan)palladium (0) werden unter N₂-Atmosphäre in 5 mL Dioxan gelöst. Dann werden langsam 0.12 mL (0.24 mmol) Trimethylaluminium (2 M in Hexan) zugegeben und 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 25 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der weiße

Feststoff wird in Dichlormethan gelöst und aus n-Hexan umgefällt.

Ausbeute:	51 mg (92 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	226-227°C	
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.65 (s, 9-H), 8.41 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 3-H), 7.91 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 7.76 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 4-H), 7.36 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 6-H), 2.87 (s, 3 H, 1-CH ₃),	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 142.6 (C-1), 139.7 (C-3), 138.2 (C-8a), 134.6 (C-9a), 131.5 (C-7), 128.4 (C-4a), 122.1 (C-6), 121.7 (C-4b), 120.6 (C-5), 115.6 (C-8), 113.0 (C-4), 20.4 (1-CH ₃)	
MS (ESI):	m/z = 255, 253, 251 [M ⁺ + H], 102	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3425, 3112, 3031, 2926, 2844, 2741, 1618, 1567, 1497, 1472, 1422, 1307, 1286, 1254, 1237, 1161, 116, 1084, 1026, 942, 907, 796	
HR-MS (ESI):	m/z = 251.0136 (berechnet für C ₁₂ H ₉ Cl ₂ N ₂ : 251.0143)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

8-Brom-9-butyl-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (128)



C₁₇H₁₉BrN₂O

M_r = 347.26 g/mol

48 mg (0.17 mmol) 8-Brom-7-methoxy-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]-indol (**122**) und 22 mg (0.20 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 5 mL trockenem Dimethylsulfoxid 30 min bei 80 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt. Unter Rühren werden langsam 0.10 mL (0.88 mmol) *n*-Butyliodid zugetropft und 3 h bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen des Ansatzes auf Raumtemperatur wird mit 10 mL kalter 10 %iger Ammoniak-Lösung versetzt und solange Wasser zugetropft bis das Produkt quantitativ ausgefällt ist. Anschließend wird dreimal mit jeweils 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

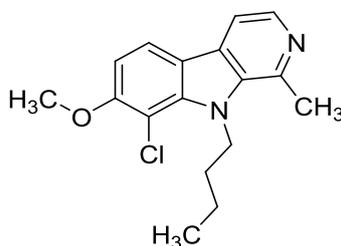
Ausbeute:	34 mg (60 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	90-96°C	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.32 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.98 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 7.71 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.93 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 6-H), 5.10-4.90 (m, 2 H, 1'-H), 4.02 (s, 3 H, OCH ₃), 3.03 (s, 3 H, 1-CH ₃), 1.72-1.63 (m, 2 H, 2'-H), 1.38-1.24 (m, 2 H, 3'-H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, 4'-H)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 156.8 (C-7), 141.6 (C-1), 140.0 (C-8a), 138.9 (C-3), 137.2 (C-9a), 129.5 (C-4a), 120.8 (C-5), 119.2 (C-4b), 111.9 (C-4), 105.7 (C-6), 93.9 (C-8), 57.2 (OCH ₃), 45.32 (C-1'), 33.7 (C-2'), 24.6 (1-CH ₃), 19.5 (C-3'), 13.9 (C-4')	
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 349 (98), 347 [M ⁺ + H] (100),	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 348 (54), 346 [M ⁺] (56), 307 (98), 305 (100), 225 (10), 57 (26)	
IR (KBr-Pressling):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3733, 3422, 2926, 2854, 1653, 1559, 1457, 1260, 1026, 806, 668	

HR-MS (EI): $m/z = 346.0691$ (berechnet für $C_{17}H_{19}N_2OBr$:
346.0681)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)

100 % ($\lambda = 254$ nm)

9-Butyl-8-chlor-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (129)



$C_{17}H_{19}ClN_2O$

$M_r = 302.81$ g/mol

54 mg (0.22 mmol) 8-Chlor-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]-indol (**126**) und 27 mg (0.24 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 5 mL trockenem Dimethylsulfoxid 30 min bei 80 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, 0.13 mL (1.1 mmol) n-Butyliodid zugetropft und 4 h bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen des Ansatzes auf Raumtemperatur wird mit 10 mL kalter 10 %iger Ammoniak-Lösung versetzt und solange Wasser zugetropft bis das Produkt quantitativ ausgefällt ist. Anschließend wird dreimal mit jeweils 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 35 mg (53 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 88-90 °C

1H -NMR (DMSO- D_6 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.24 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 3-H), 8.20 (d,

J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.95 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.17 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H), 4.88 (t, J = 7.8 Hz, 2 H, 1'-H), 3.98 (s, 3 H, OCH₃), 2.95 (s, 3 H, 1-CH₃), 1.65 (p, J = 7.7 Hz, 2 H, 2'-H), 1.31-1.24 (m, 2 H, 3'-H), 0.88 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, 4'-H)

¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 150.2 (C-7), 135.8 (C-1), 133.2 (C-3), 132.2 (C-8a), 130.7 (C-9a), 123.2 (C-4a), 115.3 (C-5), 112.6 (C-4b), 106.9 (C-4), 100.8 (C-6), 98.3 (C-8), 51.4 (OCH₃), 40.32 (C-1'), 33.5 (C-2'), 18.2 (1-CH₃), 13.5 (C-3'), 8.1 (C-4')

MS (CI): *m/z* (rel. Int. in %) = 305 (26), 303 [M⁺ + H] (100)

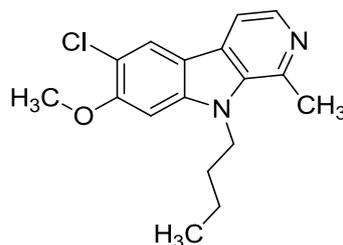
MS (EI): *m/z* (rel. Int. in %) = 304 (17), 302 [M⁺⁺] (48), 261 (32), 259 (100), 246 (6), 244 (10), 218 (4), 216 (13)

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3426, 2954, 2930, 2859, 1623, 1567, 1441, 1422, 1351, 1303, 1249, 1184, 1078, 803

HR-MS (EI): *m/z* = 302.1190 (berechnet für C₁₇H₁₉N₂OCl: 302.1186)

HPLC-Reinheit: 100 % (λ = 210 nm)

100 % (λ = 254 nm)

9-Butyl-6-chlor-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (130)

53 mg (0.21 mmol) 6-Chlor-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]-indol (**125**) und 31 mg (0.27 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 5 mL trockenem Dimethylsulfoxid 30 min bei 80 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, 0.13 mL (1.1 mmol) n-Butyliodid zugetropft und 2 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen des Ansatzes auf Raumtemperatur wird mit 10 mL kalter 10 %iger Ammoniak-Lösung versetzt und solange Wasser zugetropft bis das Produkt quantitativ ausgefällt ist. Anschließend wird viermal mit jeweils 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 35 mg (54 %) beiger Feststoff

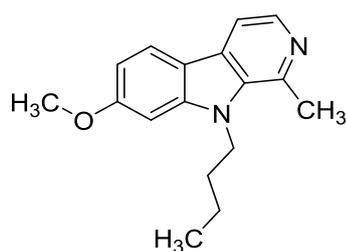
Schmelzpunkt: 133-137°C

¹H-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 8.34 (s, 1 H, 5-H), 8.19 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.94 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 7.37 (s, 1 H, 8-H), 4.58 (t, J = 7.5 Hz, 2 H, 1'-H), 4.02 (s, 3 H, OCH₃), 2.95 (s, 3 H, 1-CH₃), 1.72-1.68 (m, 2 H, 2'-H), 1.37-1.31 (m, 2 H, 3'-H), 0.92 (t, J = 7.4 Hz, 3 H, 4'-H)

¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 150.7 (C-7), 136.7 (C-8a), 136.5 (C-1), 133.5 (C-3), 130.1 (C-9a), 123.2 (C-4a), 117.9 (C-5), 109.9 (C-4b), 109.6 (C-6), 108.1 (C-4), 89.6 (C-8), 52.1 (OCH₃), 35.5 (C-1'), 28.0 (C-2')

	18.6 (1-CH ₃), 15.0 (C-3'), 9.3 (C-4')
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 305 (32), 303 [M ⁺ + H] (100), 288 (6), 264 (16)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 304 (14), 302 [M ⁺] (30), 261 (34), 259 (100), 246 (4), 244 (8), 218 (2), 216 (14)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3443, 3048, 2989, 2957, 2927, 2869, 1622, 1584, 1561, 1491, 1476, 1445, 1406, 1299, 1245, 1193, 1040, 805
HR-MS (EI):	m/z = 302.1193 (berechnet für C ₁₇ H ₁₉ N ₂ OCl: 302.1186)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 93 % (λ = 254 nm)

9-Butyl-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (131)



C₁₇H₂₀N₂O

M_r = 268.36 g/mol

102 mg (0.481 mmol) Harmin (**1**) und 58 mg (0.52 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 9 mL wasserfreiem Dimethylsulfoxid 30 min bei 80 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, 0.27 mL (2.4 mmol) *n*-Butyliodid zugetropft und 2 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen des Ansatzes wird mit 5 mL kalter 10 % iger Ammoniak-Lösung versetzt und solange Wasser

zugetropft bis das Produkt quantitativ ausgefällt ist. Anschließend wird dreimal mit jeweils 40 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, Iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt. Das erhaltene Produkt wird aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute: 85 mg (68 %) beiger Feststoff

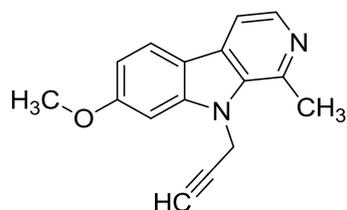
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.28 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 3 H), 7.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 5 H), 7.74 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 4 H), 6.90-6.86 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 4.47 (m, 2 H, 1'-H), 3.96 (s, 3 H, OCH_3), 3.03 (s, 3 H, 1- CH_3), 1.82 (m, 2 H, 2'-H), 1.46 (m, 2 H, 3'-H), 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 4'-H)

MS (CI): m/z (rel. Int. in %) = 269 [$\text{M}^+ + \text{H}$] (100)

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 268 [M^{++}] (48), 225 (100), 182 (15)

HR-MS (EI): $m/z = 268.1576$ (berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$: 268.1584)

7-Methoxy-1-methyl-9-(prop-2-in-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b] (135)



$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$

$M_r = 250.30$ g/mol

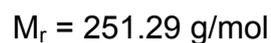
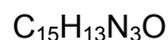
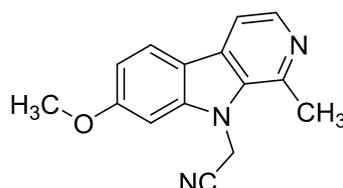
153 mg (0.720 mmol) Harmin (1) und 41 mg (1.0 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in

Mineralöl) werden in 5.0 mL DMF suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird 20 min bei 40 °C gerührt. Anschließend werden 0.080 mL (0.72 mmol) Propargylbromid (80% wt in Toluol) zugegeben und 2 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und 5 mal mit jeweils 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:	118 mg (65 %)	hellbrauner Feststoff
Schmelzpunkt:	146-147 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.31 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.96 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.71 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.94-6.88 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 5.18 (d, J = 2.5 Hz, 2 H, 1'-H), 3.94 (s, 3 H, OCH ₃), 3.10 (s, 3 H, 1-CH ₃), 2.35 (t, J = 2.5 Hz, 1 H, 3'-H)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 161.1 (C-7), 142.7 (C-8a), 141.0 (C-1), 139.1 (C-3), 135.0 (C-9a), 129.7 (C-4a), 122.5 (C-5), 115.4 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.5 (C-6), 93.2 (C-8), 78.5 (C-2'), 73.5 (C-3'), 55.7 (OCH ₃), 34.7 (C-1'), 23.0 (1-CH ₃)	
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 251 [M ⁺ + H] (100)	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 250 [M ⁺] (100), 211 (60), 196 (8), 168 (21)	
IR (KBr-Pressling):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3431, 3268, 3064, 2965, 2940, 2838, 2119, 1615, 1566, 1494, 1450, 1402, 1353, 1341, 1293, 1279, 1254, 1234, 1226, 1193, 1171, 1137, 1116, 1096, 1042, 1008, 975, 829, 806, 721	
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> =	250.1107 (berechnet für C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O: 250.1106)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$)
100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-acetonitril (136)



Methode A:

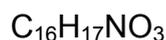
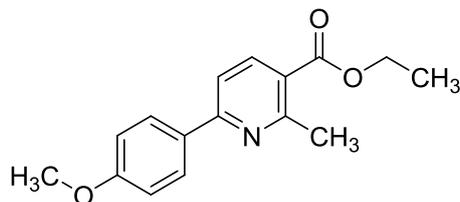
108 mg (0.509 mmol) Harmin (**1**) und 19 mg (0.51 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 0.040 mL (0.57 mmol) Bromacetonitril getropft und es wird 2 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 7 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL Wasser versetzt und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

Methode B:

102 mg (0.478 mmol) Harmin (**1**) und 610 mg (1.88 mmol) Caesiumcarbonat werden in 3 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 0.070 mL (1.0 mmol) Bromacetonitril zugegeben. Nach 20 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch auf 40 °C erhitzt und 5 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das

Reaktionsgemisch mit 20 mL Dichlormethan versetzt und einmal mit je 15 mL Wasser und dreimal mit je 15 mL gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute:	Methode A: 20 mg (16 %)	brauner Feststoff
	Methode B: 20 mg (17 %)	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.36 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.97 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.72 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.96 (dd, J = 8.6, 2.0 Hz, 1 H, 6-H), 6.86 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, 8-H), 5.35 (s, 2 H, 1'-H), 3.96 (s, 3 H, OCH ₃), 3.08 (s, 3 H, 1-CH ₃)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 161.5 (C-7), 142.4 (C-8a), 140.4 (C-1), 140.3 (C-3), 134.8 (C-9a), 130.5 (C-4a), 122.9 (C-5), 115.7 (CN), 114.7 (C-4b), 112.6 (C-4), 110.3 (C-6), 93.2 (C-8), 55.8 (OCH ₃), 33.6 (C-1'), 23.0 (1-CH ₃)	
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 252 [M ⁺ + H] (100), 225 (15)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 251 [M ⁺] (100), 225 (10), 211 (68), 168 (23)	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3630, 3441, 2924, 2853, 2208, 1654, 1629, 1560, 1459, 1257, 1045, 922	
HR-MS (EI):	m/z = 251.1059 (berechnet für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O: 251.1059)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm)	
	100 % (λ = 254 nm)	

6-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-2-carbonsäureethylester (137)

Diese Verbindung fällt als Nebenprodukt bei der Darstellung von 4-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-3-carbonsäureethylester **115** an. Elutionsreihenfolge: 1. **137** ($R_f = 0.76$) und 2. **115** ($R_f = 0.35$)

Ausbeute: 0.610 g (11 %) beige-gelber

Schmelzpunkt: 66-67 °C Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 4-H), 8.09-7.98 (m, 2 H, 2'/6'-H, 3'/5'-H), 7.56 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 5-H), 7.06-6.94 (m, 2 H, 2'/6'-H, 3'/5'-H), 4.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.87 (s, 3 H, OCH_3), 2.87 (s, 3 H, Ar- CH_3), 1.48-1.33 (m, 3 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$)

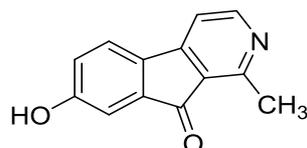
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 166.7 (C=O), 161.0 (C-4'), 159.9 (C-2/3), 158.7 (C-6), 139.2 (C-4), 131.1 (C-1'), 128.7 (C-5), 122.8 (C-2/3), 116.4 (C-2',6'), 114.2 (C-3',5'), 61.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 55.4 (OCH_3), 25.3 (Ar- CH_3), 14.3 (CH_3)

HR-MS (ESI): $m/z = 272.1284$ (berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_3$:
272.1287)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)

100 % ($\lambda = 254$ nm)

7-Hydroxy-1-methyl-9*H*-indeno-[2,1-*c*]pyridin-9-on (140)



100 mg (0.369 mmol) 4-(4-Methoxyphenyl)-2-methylpyridin-2-carbonsäureethylester (**115**) werden unter N_2 -Atmosphäre in 1.5 mL Trifluormethansulfonsäure gelöst und 4 h bei 85 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird mit eisgekühlter gesättigter Natriumcarbonatlösung neutralisiert und die orange-braune Lösung dreimal mit jeweils 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit jeweils 50 mL gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der orange Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 65/35) aufgereinigt

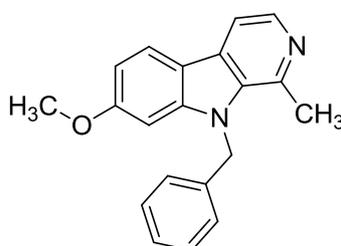
Ausbeute:	36 mg (46 %)	gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	275-276 °C	
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6, 400 MHz):	δ (ppm) = 10.40 (s, 1 H, OH), 8.53 (d, $J = 4.9$ Hz, 1 H, 3-H), 7.72 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 5-H), 7.54 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, 4-H), 7.03-6.99 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 2.64 (s, 3 H, CH_3)	
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-D_6, 500 MHz):	δ (ppm) = 193.7 (C=O), 160.7 (C-7), 156.0 (C-1), 155.4 (C-3), 152.7 (C-4a), 135.5 (C-8a/4b), 131.6 (C-8a/4b), 124.5 (C-9a), 124.1 (C-5), 121.1 (C-6), 113.3 (C-4), 110.7 (C-8), 20.5 (CH_3)	
MS (APCI):	m/z (rel. Int. in %) = 212 [$\text{M}^+ + \text{H}$], 186, 102	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3443, 2924, 2854, 1716, 1592, 1456, 1380, 1298, 1248, 1231, 1209, 1144, 1059, 965,	

849

HR-MS (ESI): $m/z = 212.0709$ (berechnet für $C_{13}H_{10}NO_2$:
212.0712)

HPLC-Reinheit: 90 % ($\lambda = 210$ nm)
100 % ($\lambda = 254$ nm)

9-Benzyl-7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (143)

 $C_{20}H_{18}N_2O$ $M_r = 302.14$ g/mol

101 mg (0.476 mmol) Harmin (**1**) und 58 mg (0.52 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 10 mL trockenem Dimethylsulfoxid 30 min bei 80 °C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, 0.30 mL (2.4 mmol) Benzylbromid zugetropft und 4 h bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen des Ansatzes auf Raumtemperatur wird mit 20 mL kalter 10 %iger Ammoniak-Lösung versetzt und solange Wasser zugetropft bis das Produkt quantitativ ausgefällt ist. Anschließend wird viermal mit jeweils 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 36 mg (25 %) beiger Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ (ppm) = 8.31 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, 3 H), 8.02 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, 5 H), 7.79 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, 4 H), 7.36-

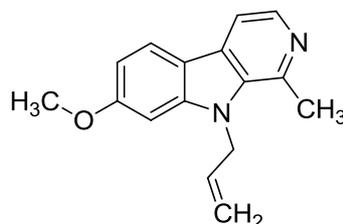
7.20 (m, 3 H, aromatische Protonen), 7.01 (d, J = 8.0 Hz, 2 H, aromatische Protonen), 6.91 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 6.77 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 5.74 (s, 2 H, 1'-H), 3.85 (s, 3 H, OCH₃), 2.85 (s, 3 H, 1-CH₃)

MS (CI): m/z (rel. Int. in %) = 303 [M⁺ + H] (100)

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 302 [M⁺] (33), 91 (100)

HR-MS (EI): m/z = 302.1417 (berechnet für C₂₀H₁₈N₂O : 302.1419)

7-Methoxy-1-methyl-9-(prop-2-en-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (144)



C₁₆H₁₆N₂O

M_r = 252.31 g/mol

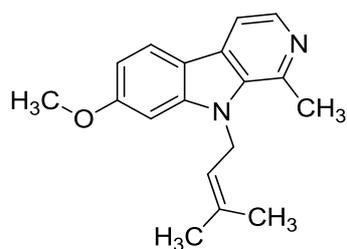
104 mg (0.491 mmol) Harmin (1) und 24 mg (0.60 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.040 mL (0.50 mmol) Allylbromid zugegeben und 7 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 6 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 4/4/3) aufgereinigt

Ausbeute: 30 mg (25 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 95-96 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 8.29 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.99 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H),

	6.90 (dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz, 1 H, 6-H), 6.79 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, 8-H), 6.09 (ddt, $J = 17.2, 10.4, 4.0$ Hz, 1 H, 2'-H), 5.20-5.16 (m, 1 H, 3'-H), 5.10-5.08 (m, 2 H, 1'-H), 4.83-4.79 (m, 1 H, 3'-H), 3.93 (s, 3 H, OCH ₃), 2.98 (s, 3 H, 1-CH ₃)
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 170.0 (C-7), 143.2 (C-8a), 140.9 (C-1), 138.5 (C-3), 135.6 (C-9a), 133.2 (C-2'), 129.3 (C-4a), 122.3 (C-5), 116.5 (C-3'), 115.1 (C-4b), 112.2 (C-4), 109.0 (C-6), 93.3 (C-8), 55.6 (OCH ₃), 46.9 (C-1'), 22.9 (1-CH ₃)
MS (APCI):	$m/z = 253 [M^+ + H], 212$
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3443, 2984, 2957, 1618, 1563, 1495, 1450, 1359, 1343, 1280, 1254, 1226, 1195, 1173, 1136, 1118, 1099, 1036, 1016, 973, 929, 818
HR-MS (ESI):	$m/z = 253.1338$ (berechnet für C ₁₆ H ₁₇ N ₂ O: 253.1341)
HPLC-Reinheit:	97 % ($\lambda = 210$ nm) 100 % ($\lambda = 254$ nm)

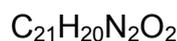
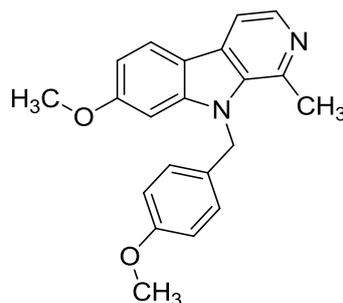
7-Methoxy-1-methyl-9-(3-methylbut-2-en-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (145)C₁₈H₂₀N₂OM_r = 280.36 g/mol

107 mg (0.505 mmol) Harmin (**1**) und 23 mg (0.56 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 30 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.055 mL (0.47 mmol) 3,3-Dimethylallylbromid zugegeben und 4 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 6 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 25 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt

Ausbeute:	18 mg (14 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	102-104 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.24 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.94 (d, J = 8.6, 1 H, 5-H), 7.69 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.85 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1 H, 6-H), 6.78 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 5.22-5.18 (m, 1 H, 2'-H), 5.08-5.06 (m, 2 H, 1'-H), 3.90 (s, 3 H, OCH ₃), 2.96 (s, 3 H, 1-CH ₃), 1.86 (d, J = 1.3 Hz, 3 H, C(CH ₃) ₂), 1.69 (d, J = 1.3 Hz, 3 H, C(CH ₃) ₂)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 160.8 (C-7), 143.1 (C-8a), 140.9 (C-1), 138.3 (C-3), 135.5 (C-9a), 134.5 (C-3'), 129.3 (C-4a), 122.3 (C-5), 121.8 (C-2'), 115.3 (C-4b), 112.2 (C-4), 108.9 (C-6), 93.4 (C-8), 55.6 (OCH ₃), 43.4 (C-1'), 25.5 (C(CH ₃) ₂), 23.3 (1-CH ₃), 18.4 (C(CH ₃) ₂)	
MS (APCI):	m/z = 281 [M ⁺ + H], 213	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3433, 2958, 2928, 1620, 1560, 1497, 1449, 1407, 1371, 1360, 1314, 1280, 1255, 1211, 1169, 1118, 1043, 973, 923, 814	
HR-MS (ESI):	m/z = 281.1650 (berechnet für C ₁₈ H ₂₁ N ₂ O: 281.1653)	

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$)
100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

7-Methoxy-9-(4-methoxybenzyl)-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (146)



150 mg (0.706 mmol) Harmin (1) und 32 mg (0.82 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 40 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 0.10 mL (0.70 mmol) 4-Methoxybenzylchlorid zugetropft und 3 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 7 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

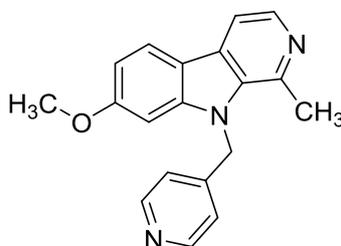
Ausbeute: 145 mg (62 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 164-166 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.30 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 8.01 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.77 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H), 6.95-6.87 (m, 3 H, 6-H, 3''/5''-H), 6.82-6.78 (m, 2 H, 2''/6''-H), 6.77 (d, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1 H, 8-H), 5.66 (s, 2 H, 1'-H), 3.85 (s, 3 H, OCH_3), 3.75 (s, 3 H, 4''- OCH_3), 2.86 (s, 3 H, 1- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3, 500 MHz):	δ (ppm) = 161.0 (C-7), 158.9 (C-4'), 143.5 (C-8a), 141.0 (C-1), 138.6 (C-3), 135.7 (C-9a), 129.8 (C-1'), 129.3 (C-4a), 126.6 (C-3''/5''), 122.4 (C-5), 115.1 (C-4b), 114.4 (C-2''/6), 112.3 (C-4), 109.2 (C-6), 93.3 (C-8), 55.6 (OCH_3), 55.3 (4''- OCH_3), 47.7 (C-1'), 23.1 (1- CH_3)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 333 [$\text{M}^+ + \text{H}$] (100), 225 (6), 121 (46)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 332 [M^+] (8), 121 (100)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3045, 3005, 2934, 2906, 2834, 1619, 1563, 1512, 1452, 1442, 1406, 1363, 1346, 1292, 1257, 1231, 1198, 1172, 1137, 1045, 1027, 972, 914, 828, 813, 801
HR-MS (EI):	m/z = 332.1524 (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$: 332.1525)
HPLC-Reinheit:	100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$) 100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

7-Methoxy-1-methyl-9-(pyridin-4-yl-methyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (147)



$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$

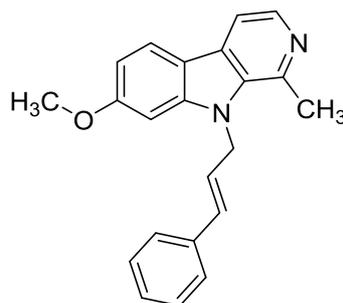
$M_r = 303.36 \text{ g/mol}$

157 mg (0.708 mmol) Harmin (**1**) und 41 mg (0.71 mmol) Natriumhydrid 60 %ig in Mineralöl werden in 5.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 30 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 125 mg (0.708 mmol) 4-Picolylchlorid zugegeben und 7 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 5 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 4/4/3) aufgereinigt.

Ausbeute:	20 mg (9 %)	brauner Feststoff
Schmelzpunkt:	143-146 °C	
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.49 (dd, J = 4.5 , 1.6 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 8.28 (d, J = 5.6 Hz, 1 H, 3-H), 8.11 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 5-H), 7.96 (d, J = 5.6 Hz, 1 H, 4-H), 7.00 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 6.94 (d, J = 6.0 Hz 2 H, 2''-H, 6''-H), 6.77 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 5.78 (s, 2 H, 1'-H), 3.87 (s, 3 H, OCH ₃), 2.87 (s, 3 H, 1-CH ₃)	
¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 400 MHz):	δ (ppm) = 162.8 (C-7), 150.7 (C-3'', C-5''), 147.2 (C-1''), 145.0 (C-8a), 140.0 (C-1), 136.2 (C-3), 135.5 (C-9a), 131.7 (C-4a), 123.6 (C-5), 121.1 (C-2'', C-6''), 114.9 (C-4b), 113.4 (C-4), 111.2 (C-6), 93.4 (C-8), 56.1 (OCH ₃), 49.4 (C-1'), 21.1 (1-CH ₃)	
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 304 [M ⁺ + H] (100), 212 (10)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 303 [M ⁺] (100), 225 (26), 211 (95)	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3425, 2958, 2922, 2851, 2634, 1620, 1598, 1561, 1447, 1347, 1255, 1192, 1166, 1136, 1042, 819	
HR-MS (EI):	m/z = 303.1371 (berechnet für C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O: 303.1372)	

HPLC-Reinheit: 93 % ($\lambda = 210$ nm)
100 % ($\lambda = 254$ nm)

7-Methoxy-1-methyl-9-((E)-3-phenylallyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (148)



$C_{22}H_{20}N_2O$

$M_r = 328.42$ g/mol

100 mg (0.472 mmol) Harmin (**1**) und 65 mg (0.58 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 10 mL Dimethylsulfoxid 30 min bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen werden langsam 509 mg (2.58 mmol) *trans*-3-Phenylallylbromid zugegeben und 5 h bei 80 °C erhitzt. Dann wird das Reaktionsgemisch mit 10 mL eisgekühlter 10 %iger Ammoniaklösung und anschließend mit 40 ml Wasser versetzt. Die milchige Suspension wird dreimal mit jeweils 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Aufreinigung erfolgt mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Isohexan/Ethylacetat/Ethanol = 2/2/1)

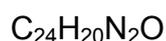
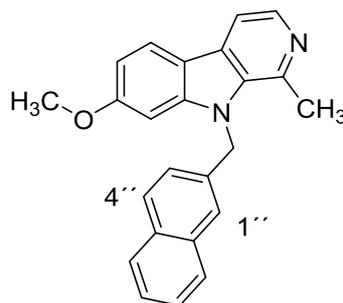
Ausbeute: 36 mg (23 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 104-108°C

1H -NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8.30 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, 3-H), 8.01 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, 5-H), 7.78 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 4-H), 7.32-7.14 (m, 5 H, aromatische Protonen), 6.92 (dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz, 1 H, 6-H), 6.85 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, 8-H), 6.42 (dt, $J = 16.0, 4.5$ Hz, 1 H, 2'-H),

	6.21 (d, $J = 16.0$ Hz, 1 H, 3'-H), 5.26 (dd, $J = 4.4$, 1.8 Hz, 2 H, 1'-H), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.03 (s, 3 H, 1-CH ₃)
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 161.2 (C-7), 143.4 (C-8a), 140.6 (C-1), 138.1 (C-3), 136.0 (C-4'), 135.5 (C-9a), 131.4 (C-3'), 129.7 (C-4a), 128.6 (C-aromatisch), 127.9 (C-aromatisch), 126.4 (C-aromatisch), 124.7 (C-2'), 122.5 (C-5), 115.1 (C-4b), 112.4 (C-4), 109.3 (C-6), 93.4 (C-8), 55.7 (OCH ₃), 46.6 (C-1'), 22.7 (1-CH ₃)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 329 [M ⁺ + H] (94), 225 (10), 117 (100)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 328 [M ⁺] (36), 117 (100)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3362, 3059, 3027, 2926, 2851, 1726, 1673, 1624 1567, 1496, 1449, 1408, 1360, 1253, 1169, 1026, 967
HR-MS (EI):	m/z = 328.1574 (berechnet für C ₂₂ H ₂₀ N ₂ O : 328.1576)
HPLC-Reinheit:	92 % ($\lambda = 210$ nm) 100 % ($\lambda = 254$ nm)

7-Methoxy-1-methyl-9-(2-naphthylmethyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (150)



150 mg (0.709 mmol) Harmin (**1**) und 28 mg (0.71 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 159 mg (0.716 mmol) 2-(Brommethyl)naphthalen zugegeben und 4 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 15 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 102 mg (41 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 143 °C

¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) = 8.27 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 8.05 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.82-7.80 (m, 3 H, 4-H, 4''-H, 5''-H), 7.60 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, 8''-H), 7.48-7.37 (m, 2 H, 6''-H, 7''-H), 7.33 (s, 1 H, 1''-H), 7.26 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 1 H, 3''-H), 6.91 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1 H, 6-H), 6.81 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 5.88 (s, 2 H, 1'-H), 3.80 (s, 3 H, OCH₃), 2.81 (s, 3 H, 1-CH₃)

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) = 161.3 (C-7), 143.7 (C-8a), 140.7 (C-1), 138.7 (C-3), 135.9 (C-9a), 133.6 (C-4a''), 132.9 (C-8a'', C-2''), 130.9 (C-4a), 128.9 (C-4''/5'')

127.8 (C-8'', C-4''/5''), 126.5 (C-6''/7''), 126.0 (C-6''/7''), 124.2 (C-1''), 123.8 (C-3''), 122.5 (C-5), 115.3 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.4 (C-6), 93.4 (C-8), 55.7 (OCH₃), 53.2 (C-1'), 23.0 (1-CH₃)

MS (CI): m/z (rel. Int. in %) = 353 [M⁺ + H] (100), 141 (22)

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 352 [M⁺] (20), 141 (100)

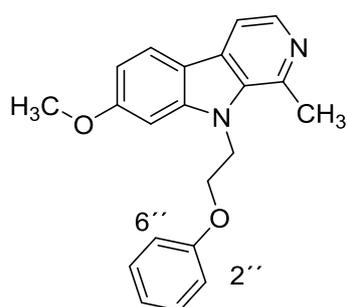
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3427, 3091, 3022, 3049, 2910, 2833, 1627, 1563, 1495, 1439, 1405, 1370, 1351, 1326, 1300, 1281, 1253, 1219, 1173, 1147, 1048, 1026, 1001, 971, 917, 855, 830, 822, 809, 796, 756, 748, 670, 571

HR-MS (EI): m/z = 352.1574 (berechnet für C₂₄H₂₀N₂O: 352.1576)

HPLC-Reinheit: 100 % (λ = 210 nm)

100 % (λ = 254 nm)

7-Methoxy-1-methyl-9-(2-phenoxyethyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (151)



C₂₁H₂₀N₂O₂

M_r = 332.40 g/mol

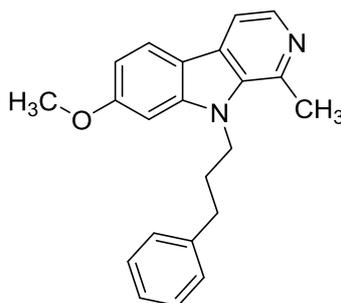
150 mg (0.709 mmol) Harmin (**1**) und 28 mg (0.71 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 144 mg (0.716 mmol) 2-Bromethylphenylether zugegeben und

6 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 15 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 4/4/3) aufgereinigt.

Ausbeute:	72 mg (31 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	143-144 °C	
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.24 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.96 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.72 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 7.27-7.14 (m, 2 H, aromatische Protonen), 7.00 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 6.92-6.87 (m, 2 H, 6-H, 4'-H), 6.78-6.76 (m, 2 H, aromatische Protonen), 4.91 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, 1'-H), 4.35 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, 2'-H), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.05 (s, 3 H, 1-CH ₃)	
¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz):	δ (ppm) = 161.1 (C-7), 158.4 (C-1''), 143.4 (C-8a), 141.1 (C-1), 138.6 (C-3), 135.8 (C-9a), 129.6 (C-aromatisch), 129.4 (C-4a), 122.3 (C-5), 121.3 (C-4'), 115.3 (C-4b), 114.4 (C-aromatisch), 112.2 (C-4), 109.4 (C-6), 93.7 (C-8), 67.0 (C-2'), 54.0 (OCH ₃), 44.3 (C-1'), 23.8 (1-CH ₃)	
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 333 [M ⁺ + H] (100), 213 (45)	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 332 [M ⁺] (34), 225 (100), 182 (16)	
IR (KBr-Pressling):	ν̃ (cm ⁻¹) = 3093, 3060, 3021, 2998, 2933, 2918, 2869, 2835, 1631, 1599, 1586, 1562, 1498, 1461, 1447, 1409, 1350, 1325, 1302, 1286, 1248, 1121, 1197, 1171, 1153, 1091, 1080, 1028, 977, 932, 900, 883, 830, 809, 799, 753, 691	
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 332.1528 (berechnet für C ₂₁ H ₂₀ N ₂ O ₂ : 332.1525)	

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)
100 % ($\lambda = 254$ nm)

7-Methoxy-1-methyl-9-(3-phenylpropyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (152)



$C_{22}H_{22}N_2O$

$M_r = 330.42$ g/mol

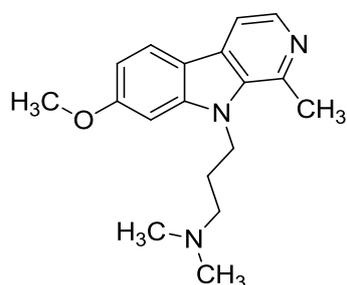
151 mg (0.712 mmol) Harmin (1) und 29 mg (0.72 mmol) Natriumhydrid 60 %ig in Mineralöl werden in 5.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 0.11 mL (0.73 mmol) 1-Brom-3-phenylpropan gegeben und 4 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 15 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 114 mg (49 %) beiger Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 400 MHz): δ (ppm) = 8.27 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 3-H), 7.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, 5-H), 7.71 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 4-H), 7.34-7.29 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H), 7.25-7.20 (m, 3 H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 6.86 (dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz, 1 H, 6-H), 6.63 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 8-H), 4.50-4.36 (m, 2 H, N- CH_2), 3.85 (s, 3 H, OCH_3), 2.92 (s, 3 H, CH_3), 2.76 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 2.24-

	2.07 (m, 2 H, CH ₂ -CH ₂ -Ar)
¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 400 MHz):	δ (ppm) = 160.8 (C-7), 142.9 (C-8a), 140.7 (C-1), 140.6 (C-1''), 138.3 (C-3), 135.2 (C-9a), 129.3 (C-4a), 128.6 (C-aromatisch), 128.4 (C-aromatisch), 126.3 (C-aromatisch), 122.4 (C-5), 115.1 (C-4b), 112.2 (C-4), 108.9 (C-6), 93.0 (C-8), 55.6 (OCH ₃), 44.3 (N-CH ₂), 32.9 (CH ₂ -Ar), 31.7 (CH ₂ -CH ₂ -Ar), 23.2 (1-CH ₃)
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 331 [M ⁺ + H] (100)
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 330 [M ⁺] (44), 225 (100), 212 (24), 182 (24)
HR-MS (ESI):	<i>m/z</i> = 331.1804 (berechnet für C ₂₂ H ₂₃ N ₂ O: 331.1810)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

[3-(7-Methoxy-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-9-yl)-propyl]-dimethylamin (153)



C₁₈H₂₃N₃O

M_r = 297.40 g/mol

100 mg (0.470 mmol) Harmin (**1**) und 65 mg (1.6 mmol) Natriumhydrid 60%ig in Mineralöl werden in 5.0 mL Tetrahydrofuran suspendiert und 20 min bei

Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 129 mg (0.820 mmol) *N,N*-Dimethyl-3-chlorpropylamin-Hydrochlorid zugegeben. Anschließend wird 63 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 25 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol/Triethylamin = 2/2/1 + 1%) aufgereinigt

Ausbeute: 50 mg (36 %) oranger Feststoff

Schmelzpunkt: 46-48 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 8.28 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.97 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.97 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 6.89 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1 H, 6-H), 4.56 (t, J = 7.5 Hz, 2 H, 1'-H), 3.95 (s, 3 H, OCH₃), 3.03 (s, 3 H, 1-CH₃), 2.34 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 3'-H), 2.25 (s, 6 H, N(CH₃)₂), 2.02-1.95 (m, 2 H, 2'-H)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 160.9 (C-7), 143.3 (C-8a), 140.6 (C-1), 138.2 (C-3), 135.3 (C-9a), 129.5 (C-4a), 122.3 (C-5), 115.1 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.0 (C-6), 93.4 (C-8), 56.4 (C-3'). 55.7 (OCH₃), 45.4 (N(CH₃)₂), 42.7 (C-1'), 28.6 (C-2'), 23.2 (1-CH₃)

MS (CI): *m/z* (rel. Int. in %) = 298 [M⁺ + H] (100)

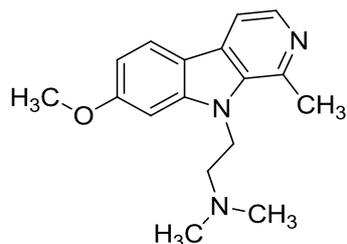
MS (EI): *m/z* (rel. Int. in %) = 297 [M⁺] (8), 226 (22), 58 (100)

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3407, 3052, 2965, 2935, 2857, 2819, 2790, 2711, 1887, 1621, 1562, 1496, 1469, 1452, 1405, 1342, 1243, 1195, 1162, 1051, 971, 823

HR-MS (EI): *m/z* = 297.1841 (berechnet für C₁₈H₂₃N₃O: 297.1841)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$)
100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

[2-(7-Methoxy-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-9-yl)-ethyl]-dimethylamin (154)



$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$

$M_r = 283.38 \text{ g/mol}$

103 mg (0.490 mmol) Harmin (**1**) und 70 mg (1.8 mmol) Natriumhydrid 60 %ig in Mineralöl werden in 5.0 mL Tetrahydrofuran suspendiert und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 107 mg (0.750 mmol) *N,N*-Dimethyl-3-chlorethylamin-Hydrochlorid gegeben. Anschließend wird 70 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 15 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 30 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Kieselgel, isoHexan/Ethylacetat/Ethanol/Triethylamin = 2/2/1 + 1 %).

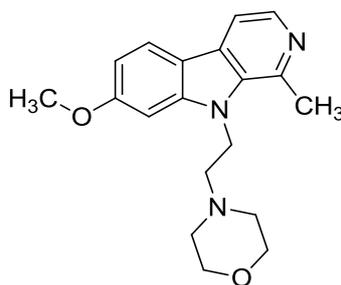
Ausbeute: 91 mg (66 %) oranger Feststoff

Schmelzpunkt: 88-92 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.29 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 7.97 (d, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.74 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H), 6.91-6.89 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 4.68–4.55 (m, 2 H, 1'-H), 3.95 (s, 3 H, OCH_3), 3.06 (s, 3 H, 1- CH_3), 2.76-2.63 (m, 2 H, 2'-H), 2.39 (s, 6 H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3, 500 MHz):	δ (ppm) = 161.0 (C-7), 143.1 (C-8a), 140.4 (C-1), 138.2 (C-3), 135.3 (C-9a), 129.5 (C-4a), 122.5 (C-5), 115.2 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.1 (C-6), 93.1 (C-8), 58.6 (C-2'), 55.7 (OCH_3), 46.0 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 43.5 (C-1'), 23.3 (1- CH_3)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 284 [$\text{M}^+ + \text{H}$] (100)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 283 [$\text{M}^{+\bullet}$] (2), 58 (100)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3424, 3018, 2975, 2950, 2820, 2791, 2767, 1621, 1561, 1499, 1473, 1455, 1440, 1404, 1344, 1253, 1220, 1148, 1040, 1018, 971, 820, 811
HR-MS (EI):	m/z = 283.1682 (berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$: 283.1685)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

4-[2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-ethyl)morpholin (155)



$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$

$M_r = 325.40$ g/mol

104 mg (0.491 mmol) Harmin (**1**) und 68 mg (1.7 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL Tetrahydrofuran suspendiert und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 150 mg (0.834 mmol) 4-(2-

Chlorethyl)morpholin-Hydrochlorid zugegeben. Anschließend wird 45 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 15 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol + Triethylamin = 2/2/1 + 1 %) aufgereinigt

Ausbeute: 26 mg (17 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 183 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8.29 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 3-H), 8.00 (d, J = 9.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.79 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 4-H), 6.94-6.92 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 4.71-4.58 (m, 2 H, 1'-H), 3.97 (s, 3 H, OCH₃), 3.73-3.68 (m, 4 H, 5''-H, 3''-H), 3.12 (s, 3 H, 1-CH₃), 2.83-2.69 (m, 2 H, 2'-H), 2.55-2.53 (m, 4 H, 2''-H, 6''-H)

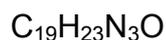
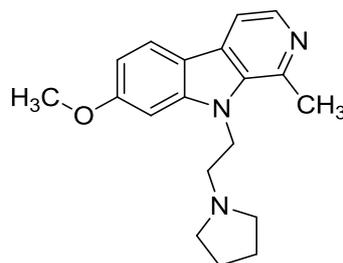
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 161.4 (C-7), 143.6 (C-8a), 139.4 (C-1), 136.9 (C-3), 135.1 (C-9a), 130.2 (C-4a), 122.7 (C-5), 115.0 (C-4b), 112.6 (C-4), 109.5 (C-6), 93.4 (C-8), 66.8 (C-3'', C-5''), 58.0 (C-2'), 55.8 (OCH₃), 54.2 (C-2'', C-6''), 43.0 (C-1'), 22.5 (1-CH₃)

MS (ESI): *m/z* = 326 [M+ H], 235, 118

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3442, 3060, 2927, 2853, 2360, 1623, 1565, 1543, 1499, 1451, 1408, 1375, 1347, 1283, 1264, 1250, 1214, 1153, 1143, 1115, 1041, 807

HR-MS (EI): *m/z* = 325.1789 (berechnet für C₁₉H₂₃N₃O₂: 325.1790)

HPLC-Reinheit: 90 % (λ = 210 nm)
100 % (λ = 254 nm)

7-Methoxy-1-methyl-9-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]-9H-pyrido[3,4-b]indol (156)

150 mg (0.706 mmol) Harmin (**1**) und 137 mg (3.43 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 7.5 mL Tetrahydrofuran suspendiert und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 204 mg (1.20 mmol) 1-(2-Chlorethyl)pyrrolidin-Hydrochlorid gegeben. Anschließend wird 23 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 15 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 15 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol + Triethylamin = 2/2/1 + 1 %) aufgereinigt

Ausbeute: 100 mg (46 %) beiger Feststoff

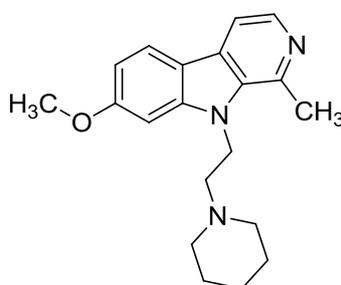
Schmelzpunkt: 99-101°C

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8.29 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.97 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.96 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, 8-H), 6.90 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1 H, 6-H), 4.76-4.61 (m, 2 H, 1'-H), 3.96 (s, 3 H, OCH₃), 3.07 (s, 3 H, 1-CH₃), 2.98-2.83 (m, 2 H, 2'-H), 2.70-2.66 (m, 4 H, Pyrrolidin), 1.94-1.79 (m, 4 H, Pyrrolidin)

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 161.1 (C-7), 143.1 (C-8a), 140.4 (C-1), 138.3 (C-3), 135.3 (C-9a), 129.5 (C-4a), 122.4 (C-5), 115.2 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.3 (C-6), 93.1 (C-8), 55.8 (OCH₃), 55.4 (C-2'), 54.6 (C-Pyrrolidin),

	44.1 (C-1'), 23.5 (1-CH ₃)
MS (ESI):	$m/z = 310 [M^+ + H], 98$
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu} \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3450, 2959, 2929, 2875, 2798, 2754,$ 1622, 1586, 1561, 1499, 1473, 1455, 1439, 1407, 1391, 1358, 1343, 1305, 1281, 1249, 1177, 1139, 1095, 1038, 970, 812
HR-MS (EI):	$m/z = 309.1843$ (berechnet für C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O: 309.17841)
HPLC-Reinheit:	91 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$) 100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

7-Methoxy-1-methyl-9-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]-9H-pyrido[3,4-b]indol (157)



C₂₀H₂₅N₃O

M_r = 323.43 g/mol

106 mg (0.501 mmol) Harmin (**1**) und 93 mg (0.23 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL Tetrahydrofuran suspendiert und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 148 mg (0.806 mmol) 1-(2-Chlorethyl)piperidin-Hydrochlorid zugegeben. Anschließend wird 48 h zum Rückfluss erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch in 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 25 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über

Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol + Triethylamin = 2/2/1 + 1 %) aufgereinigt

Ausbeute: 75 mg (33 %) hellbrauner Feststoff

Schmelzpunkt: 108-110°C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 8.28 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.96 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.72 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.93 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 6.89 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1 H, 6-H), 4.71-4.56 (m, 2 H, 1'-H), 3.94 (s, 3 H, OCH_3), 3.05 (s, 3 H, 1- CH_3), 2.77-2.63 (m, 2 H, 2'-H), 2.55-2.50 (m, 4 H, 1''-H, 5''-H), 1.62-1.59 (m, 4 H, 2''-H, 4''-H), 1.48-1.42 (m, 2 H, 3''-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) = 160.9 (C-7), 143.1 (C-8a), 140.6 (C-1), 138.3 (C-3), 135.4 (C-9a), 129.4 (C-4a), 122.4 (C-5), 115.2 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.0 (C-6), 93.2 (C-8), 58.3 (C-2'), 55.7 (OCH_3), 55.3 (C-1'', C-5''), 42.9 (C-1'), 25.9 (C-2'', C-4''), 24.1 (C-3''), 23.5 (1- CH_3)

MS (ESI): m/z = 324 [M^+ + H], 163, 112, 102

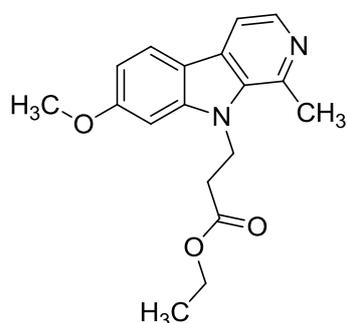
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3444, 3048, 2932, 2850, 2788, 2739, 2719, 2673, 1621, 1588, 1561, 1498, 1477, 1454, 1439, 1407, 1362, 1346, 1324, 1302, 1281, 1271, 1259, 1226, 1169, 1148, 1136, 1112, 1041, 1033, 973, 947, 811

HR-MS (EI): m/z = 323.1999 (berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$:
323.1998)

HPLC-Reinheit: 100 % (λ = 210 nm)

100 % (λ = 254 nm)

	CH ₃)
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz):	δ (ppm) = 171.1 (C=O), 160.6 (C-7), 143.4 (C-8a), 140.4 (C-1), 137.6 (C-3), 135.0 (C-9a), 128.6 (C-4a), 122.3 (C-5), 113.9 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.5 (C-6), 93.5 (C-8), 55.5 (OCH ₃), 46.0 (C-1'), 22.2 (1-CH ₃)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 271 [M ⁺ + H] (22), 227 (18), 83 (100)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 270 [M ⁺] (72), 225 (100), 182 (30), 142 (20), 83 (57)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3506, 3380, 3294, 3103, 3006, 2928, 2477, 1628, 1577, 1553, 1460, 1386, 1341, 1257, 1228, 1134, 1043, 934, 813, 636
HR-MS (EI):	m/z = 270.0970 (berechnet für C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃ : 270.1005)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 99 % (λ = 254 nm)

3-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-propionsäureethylester (159)C₁₈H₂₀N₂O₃M_r = 312.36 g/mol

105 mg (0.494 mmol) Harmin (**1**) und 49 mg (1.2 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 1 h bei

Raumtemperatur gerührt. Dann werden 0.070 mL (0.54 mmol) 3-Brompropionsäureethylester zugetropft und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden weitere 26 mg (0.65 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) und 0.07 mL (0.54 mmol) 3-Brompropionsäureethylester zugegeben und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 20 mL Dichlormethan aufgenommen, mit jeweils 20 mL Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

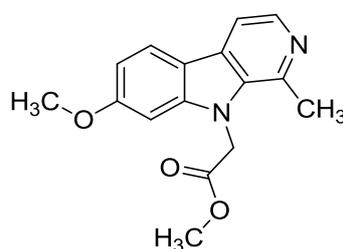
Ausbeute:	18 mg (12 %)	weisser Feststoff
Schmelzpunkt:	95-96 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.30 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.97 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.93 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 6.90 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 4.90-4.77 (m, 2 H, 1'-H), 4.12 (q, J = 7.2 Hz, 2 H, O-CH ₂), 3.96 (s, 3 H, OCH ₃), 3.04 (s, 3 H, 1-CH ₃), 2.86-2.73 (m, 2 H, 2'-H), 1.24-1.13 (m, 3 H, CH ₂ -CH ₃)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 170.9 (C=O), 161.0 (C-7), 142.7 (C-8a), 140.5 (C-1), 138.6 (C-3), 135.0 (C-9a), 129.8 (C-4a), 122.5 (C-5), 115.3 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.3 (C-6), 93.2 (C-8), 61.1 (OCH ₂), 55.7 (OCH ₃), 40.5 (C-1'), 35.0 (C-2'), 23.3 (1-CH ₃), 14.0 (CH ₂ -CH ₃)	
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 313 [M ⁺ + H] (100)	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 312 [M ⁺] (48), 225 (100), 182 (15)	
IR (KBr-Pressling):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3568, 3445, 3011, 2968, 2927, 2849, 1728, 1622, 1561, 1497, 1446, 1383, 1344, 1282, 1239, 1196, 1164, 1135, 1093, 1042, 1018, 971, 866, 816, 774	

HR-MS (EI): $m/z=$ 312.1474 (berechnet für $C_{18}H_{20}N_2O_3$:
312.1474)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)

100 % ($\lambda = 254$ nm)

(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)essigsäuremethylester (161)



$C_{16}H_{16}N_2O_3$

$M_r = 284.12$ g/mol

105 mg (0.490 mmol) Harmin (**1**) und 20 mg (0.49 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 4.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 0.050 mL (0.53 mmol) Bromessigsäuremethylester zugetropft. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 4 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird mit 6 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL Wasser versetzt und 5 mal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingedunstet. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

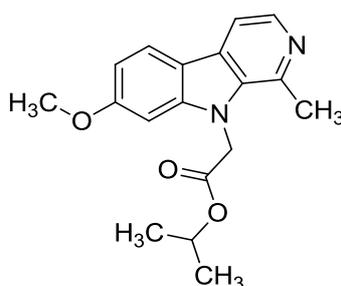
Ausbeute: 16 mg (11%) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 121-125 °C

1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ (ppm) = 8.31 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 3-H), 7.98 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 4-H), 6.91 (dd, $J = 8.6, 2.0$ Hz, 1 H, 6-H), 6.75 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, 8-H), 5.21 (s, 2 H, 1'-H), 3.93 (s,

	3 H, OCH ₃), 3.77 (s, 3 H, COOCH ₃), 2.93 (s, 3 H, 1-CH ₃),
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 169.4 (C=O), 161.2 (C-7), 143.3 (C-8a), 140.5 (C-1), 139.0 (C-3), 135.6 (C-9a), 129.8 (C-4a), 122.6 (C-5), 115.4 (C-4b), 112.5 (C-4), 109.4 (C-6), 93.0 (C-8), 55.7 (OCH ₃), 52.9 (COOCH ₃), 46.7 (C-1'), 23.0 (1-CH ₃)
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 285 [M ⁺ + H] (100), 225 (5)
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 284 [M ⁺] (37), 225 (100), 182 (26)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3446, 3053, 2998, 2953, 2834, 1735, 1624, 1567, 1500, 1445, 1406, 1344, 1305, 1255, 1216, 1196, 1174, 1138, 1049, 1022, 1014, 972, 930, 816
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 284.1162 (berechnet für C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₃ : 284.1161)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

(7-Methoxy-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-9-yl)essigsäureisopropylester (162)



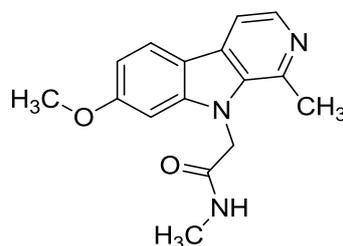
C₁₈H₂₀N₂O₃

M_r = 312.36 g/mol

150 mg (0.706 mmol) Harmin (1) und 144 mg (1.28 mmol) Kalium-*tert*-butylat werden in 13 mL Dimethylsulfoxid 40 min bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen werden langsam 1.0 mL (7.7 mmol) Bromessigsäureisopropylester zugegeben und 3 h bei 80 °C erhitzt. Dann wird das Reaktionsgemisch mit 30 mL eisgekühlter 10 %iger Ammoniaklösung und anschließend mit 60 mL Wasser versetzt. Die milchige Suspension wird viermal mit jeweils 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Aufreinigung erfolgt mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Isohexan/Ethylacetat/Ethanol = 2/2/1)

Ausbeute:	18 mg (10 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	78-82 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.30 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 3-H), 7.97 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.91 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 6.76 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 5.15 (s, 2 H, 1'-H), 5.12-5.10 (m, 1 H, OCH), 3.96 (s, 3 H, OCH ₃), 2.93 (s, 3 H, 1-CH ₃), 1.24 (s, 6 H, CH(CH ₃) ₂)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 168.3 (C=O), 161.1 (C-7), 143.5 (C-8a), 140.5 (C-3), 138.8 (C-1), 135.7 (C-9a), 129.8 (C-4a), 122.5 (C-5), 115.3 (C-4b), 112.4 (C-4), 109.3 (C-6), 93.0 (C-8), 69.8 (CH(CH ₃) ₂), 55.6 (OCH ₃), 47.0 (C-1'), 22.9 (1-CH ₃), 21.7 (CH(CH ₃) ₂)	
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 313 [M ⁺ + H] (100), 271 (6), 225 (11)	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 312 [M ⁺] (28), 270 (8), 225 (100), 182 (16)	
IR (KBr-Pressling):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3426, 2980, 2934, 1729, 1632, 1568, 1500, 1451, 1409, 1377, 1348, 1303, 1284, 1256, 1229, 1197, 1175, 1147, 1106, 1050, 1028, 937, 824	
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 312.1474 (berechnet für C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O ₃ :	

312.1474)

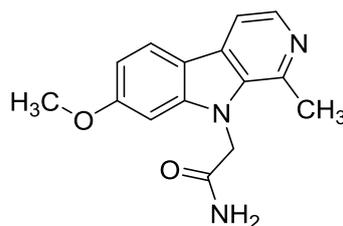
HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$)100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)**2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-N-methylacetamid (163)** $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ $M_r = 283.33 \text{ g/mol}$

150 mg (0.708 mmol) Harmin (**1**) und 76 mg (1.9 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 81 mg (0.75 mmol) 2-Chlor-*N*-methylacetamid zugegeben und es wird 6 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden erneut 81 mg (0.75 mmol) 2-Chlor-*N*-methylacetamid zugegeben und 5 h bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 15 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 10 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 25 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/ Ethylacetat/Ethanol + Triethylamin = 2/2/1 + 1 %) aufgereinigt.

Ausbeute: 65 mg (33 %) beiger Feststoff**Schmelzpunkt:** 265-272 °C

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6 , 400 MHz): δ (ppm) = 8.21 (d, $J = 4.6 \text{ Hz}$, 1 H, NH), 8.17 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 8.10 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.90 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 4 H), 7.17 (d, $J = 2.0$

	Hz, 1 H, 8-H) , 6.88 (dd, J = 8.6 , 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 5.20 (s, 2 H, 1'-H), 3.88 (s, 3 H, OCH ₃), 2.84 (s, 3 H, 1-CH ₃), 2.64 (d, J = 4.6 Hz, 3 H, NH-CH ₃)
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz):	δ (ppm) = 168.6 (C=O), 160.6 (C-7), 143.6 (C-8a), 140.9 (C-1), 137.7 (C-3), 135.4 (C-9a), 128.7 (C-4a), 122.4 (C-5), 114.3 (C-4b), 112.3 (C-4), 109.4 (C-6), 93.6 (C-8), 55.7 (OCH ₃), 40.1 (C-1'), 25.7 (NH-CH ₃), 22.5 (1-CH ₃)
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 284 [M ⁺ + H] (100)
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 283 [M ⁺] (28), 225 (100), 182 (24)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3424, 3292, 3097, 2925, 1656, 1623, 1569, 1498, 1444, 1405, 1254, 1193, 1170, 1139, 1035, 821, 809
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 283.1322 (berechnet für C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₂ : 283.1321)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 92 % (λ = 254 nm)

2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)acetamid (164)C₁₅H₁₅N₃O₂M_r = 269.30 g/mol

103 mg (0.486 mmol) Harmin (**1**) und 22 mg (0.54 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 30 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 67 mg (0.49 mmol) 2-Bromacetamid zugegeben. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird in 25 mL Eiswasser aufgenommen und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 60 mL Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol + Triethylamin = 4/4/3 + 1 %) aufgereinigt.

Ausbeute: 18 mg (14 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 291-297 °C

¹H-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 8.21 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 3-H), 8.16 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 8.04 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 4-H), 7.80 (s, 1 H, NH₂), 7.42 (s, 1 H, NH₂), 7.21 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, 8-H), 6.92 (dd, J = 8.5, 2.0 Hz, 1 H, 6-H), 5.23 (s, 2 H, 1'-H), 3.90 (s, 3 H, OCH₃), 2.91 (s, 3 H, 1-CH₃)

¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz): δ (ppm) = 170.0 (C=O), 161.2 (C-7), 144.3 (C-8a), 140.0 (C-1), 136.0 (C-3), 135.2 (C-9a), 129.5 (C-4a), 122.7 (C-5), 114.0 (C-4b), 112.7 (C-4), 110.0 (C-6), 93.6 (C-8), 55.7 (OCH₃), 47.1 (C-1'). 21.4 (1-CH₃)

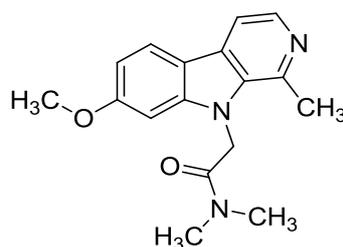
MS (CI): *m/z* (rel. Int. in %) = 270 [M⁺ + H] (100)

MS (EI): *m/z* (rel. Int. in %) = 269 [M⁺⁺] (32), 225 (100), 182 (25)

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3423, 3335, 3184, 3013, 2927, 2830, 2738, 2715, 1683, 1627, 1571, 1501, 1450, 1432, 1349, 1303, 1255, 1196, 1173, 1138, 1027, 928, 808

HR-MS (EI): *m/z* = 269.1164 (berechnet für C₁₅H₁₅N₃O₂)

269.1164)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$)100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)**2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-N,N-dimethylacetamid (165)** $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ $M_r = 297.36 \text{ g/mol}$

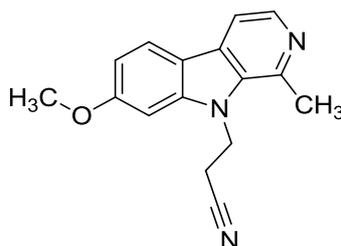
105 mg (0.493 mmol) Harmin (1) und 20 mg (0.50 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3.0 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden 0.050 mL (0.50 mmol) 2-Chlor-*N,N*-dimethylacetamid zugegeben und es wird 4 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch in 6 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 10 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol + Triethylamin = 4/4/3 + 1 %) aufgereinigt.

Ausbeute: 38 mg (26 %) beiger Feststoff**Schmelzpunkt:** 201-202 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.27 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 7.96 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.72 (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H), 6.87 (dd, $J = 8.6, 2.1 \text{ Hz}$, 1 H, 6-H), 6.67 (d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, 1 H, 8-H), 5.19 (s, 2 H, 1'-H), 3.90

	(s, 3 H, OCH ₃), 3.19 (s, 3 H, 1-CH ₃), 3.03 (s, 3 H, N-CH ₃), 2.87 (s, 3 H, N-CH ₃)
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 167.2 (C=O), 161.0 (C-7), 143.8 (C-8a), 140.3 (C-1), 138.6 (C-3), 136.1 (C-9a), 129.7 (C-4a), 122.5 (C-5), 115.4 (C-4b), 112.5 (C-4), 108.9 (C-6), 93.2 (C-8), 55.7 (OCH ₃), 46.5 (C-1'), 36.4 (N-CH ₃), 36.1(N-CH ₃), 22.9 (1-CH ₃)
MS (CI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 298 [M ⁺ + H] (100), 225 (21)
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 297 [M ⁺] (23), 225 (100), 182 (27)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3496, 3447, 3282, 3058, 2959, 2929, 2854, 2633, 1650, 1620, 1564, 1499, 1452, 1406, 1366, 1345, 1322, 1257, 1233, 1197, 1177, 1136, 1122, 1047, 1021, 1005, 969, 930, 828, 817, 808
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 297.1478 (berechnet für C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₂ : 297.1477)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

3-(7-Methoxy-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-9-yl)-propannitril (167)

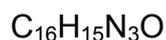
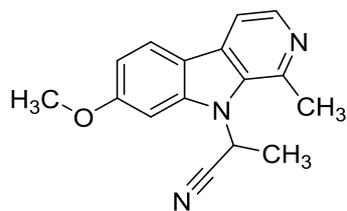


C₁₆H₁₅N₃O

M_r = 265.31 g/mol

102 mg (0.482 mmol) Harmin (**1**) werden in 2.0 mL (30 mmol) Acrylnitril suspendiert und 15 min unter Eiskühlung gerührt. Dann werden 3.5 μ L (0.0062 mmol) Benzyltriethylammoniumhydroxid (40 %ig in Methanol) zugegeben und es wird 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 1 h bei 70 °C gerührt, wobei eine orange Lösung entsteht. Nach dem Abkühlen wird der gelbe Niederschlag abfiltriert und aus Acetonitril umkristallisiert.

Ausbeute:	35 mg (27 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	190 °C	
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.34 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.99 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 6.94 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 6.88 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 4.92-4.79 (m, 2 H, 1'-H), 3.97 (s, 3 H, OCH_3), 3.03 (s, 3 H, 1- CH_3), 2.89-2.76 (m, 2 H, 2'-H)	
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3, 400 MHz):	δ (ppm) = 161.3 (C-7), 142.2 (C-4b), 140.1 (C-1), 139.5 (C-3), 134.7 (C-9a), 130.1 (C-4a), 122.8 (C-5), 116.7 (CN), 115.7 (C-8a), 112.5 (C-4), 109.6 (C-6), 93.2 (C-8), 55.8 (OCH_3), 40.6 (C-1'), 23.53 (1- CH_3), 18.4 (C-2')	
MS (ESI):	m/z = 266 [M^+ + H], 225, 231, 150	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3442, 2990, 2842, 2345, 2242, 1627, 1568, 1496, 1457, 1444, 1410, 1379, 1341, 1304, 1282, 1211, 1173, 1149, 1113, 1093, 1031, 968, 835, 797	
HR-MS (EI):	m/z = 265.1216 (berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$: 265.1215)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

(±)-2-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-propannitril (168)

150 mg (0.706 mmol) Harmin (**1**) und 40 mg (1.0 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5.0 mL DMF suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Anschließend werden 0.060 mL (0.69 mmol) (±)-2-Brompropionitril zugegeben und 7 h bei dieser Temperatur und weiter über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und viermal mit jeweils 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die braune zähflüssige Masse wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol= 2/2/1) aufgereinigt.

Ausbeute: 39 mg (21 %) beiger Feststoff

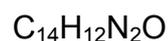
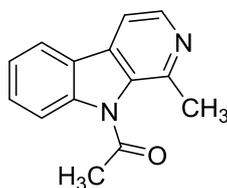
Schmelzpunkt: 132-134 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 8.35 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 8.00 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 4-H), 7.26 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 6.98 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 6.25 (q, J = 7.2 Hz, 1 H, CH(CH₃)), 3.98 (s, 3 H, OCH₃), 3.01 (s, 3 H, 1-CH₃), 1.95 (d, J = 7.3 Hz, 3 H, CH(CH₃))

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 161.0 (C-7), 140.7 (C-8a), 139.8 (C-3), 139.6 (C-1), 134.6 (C-9a), 130.4 (C-4a), 122.7 (C-5), 117.2 (CN), 116.4 (C-4b), 112.6 (C-4), 110.2 (C-6), 95.6 (C-8), 55.8 (OCH₃), 41.9 (CH(CH₃)), 23.9 (1-CH₃), 19.3 (CH(CH₃))

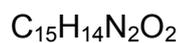
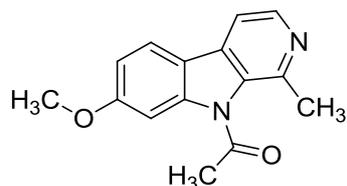
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 266 [$M^+ + H$] (40), 239 (10), 213 (100), 192 (10)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 265 [M^{+}] (78), 211 (100), 197 (20), 169 (38)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3428, 2918, 2345, 2369, 1628, 1458, 1444, 1410, 1341, 1304, 1211, 1174, 1031, 797
HR-MS (EI):	m/z = 265.1209 (berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$: 265.1215)
HPLC-Reinheit:	100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$) 100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

1-(1-Methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)ethan-1-on (172)



101 mg (0.549 mmol) Harman (**35**) werden in einem Mikrowellenvial in 2.8 mL Acetanhydrid und 0.41 mL Aceton gelöst. Die Umsetzung findet anschließend für die Dauer von 10 min unter Mikrowellenbedingungen bei 80 °C, einer Leistung von 70 W und einem zulässigen Maximaldruck von 4 bar statt. Nach dem Abkühlen wird die gelbe Lösung in 20 mL Wasser aufgenommen und mit 2 M NaOH wird der pH-Wert auf 8-7 eingestellt. Die gelbe Lösung wird dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit jeweils 30 mL gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der beige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt

Ausbeute:	31 mg (30 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	89-93 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.55 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 3-H), 8.04 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, 5-H), 8.00 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 8-H), 7.74 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H), 7.61 (t, J = 7.9 Hz, 1 H, 7-H), 7.43 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, 6-H), 2.94 (s, 3 H, CO-CH ₃), 2.77 (s, 3 H, CH ₃)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 170.1 (C=O), 146.9 (C-1), 143.5 (C-3), 140.0 (C-8a), 134.8 (C-9a), 134.0 (C-4a), 129.7 (C-7), 124.7 (C-4b), 123.8 (C-6), 121.5 (C-5), 114.9 (C-8), 111.8 (C-4), 27.2 (COCH ₃), 25.1 (CH ₃)	
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 225 [M ⁺ + H] (100), 183 (8), 83 (12)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 224 [M ⁺] (20), 182 (100), 83 (12)	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3443, 2923, 1702, 1656, 1612, 1578, 1451, 1438, 1394, 1361, 1302, 1285, 1243, 1205, 1184, 1081, 1013, 982, 828	
HR-MS (EI):	m/z = 224.0960 (berechnet für C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O: 224.0950)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

1-(7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)ethanon (175)

103 mg (0.484 mmol) Harmin (**1**) und 160 mg (1.07 mmol) Piperonal werden in 3.0 mL Acetanhydrid 3 h zum Rückfluss erhitzt. Dann wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 60 mL Eiswasser aufgenommen und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wird der pH-Wert auf 7-8 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit je 150 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der beige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt

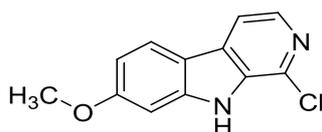
Ausbeute:	38 mg (31 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	107-108°C	
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.50 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 3-H), 7.89 (d, J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.63 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.59 (d, J = 2.2 Hz, 1 H, 8-H), 7.00 (dd, J = 8.6, 2.2 Hz, 1 H, 6-H), 3.94 (s, 3 H, OCH ₃), 2.73 (s, 3 H, CO-CH ₃), 2.69 (s, 3 H, 1-CH ₃)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 170.6 (C=O), 161.6 (C-7), 145.8 (C-1), 143.6 (C-3), 141.8 (C-8a), 134.8 (C-9a), 134.2 (C-4a), 122.1 (C-5), 117.7 (C-4b), 111.7 (C-6), 111.1 (C-4), 99.8 (C-8), 55.8 (OCH ₃), 27.1 (CH ₃ -CO), 24.7 (1-CH ₃)	
MS (ESI):	$m/z = 255 [M^+ + H], 213$	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3677, 3443, 3008, 2979, 2916, 2846,	

1702, 1626, 1578, 1494, 1441, 1375, 1364, 1322,
1297, 1249, 1221, 1201, 1185, 1170, 1151, 1113,
992, 821, 801

HR-MS (ESI): $m/z = 255.1133$ (berechnet für $C_{15}H_{15}N_2O_2$: 255.1133)

HPLC-Reinheit: 99 % ($\lambda = 210$ nm)
99 % ($\lambda = 254$ nm)

1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol (197)



$C_{12}H_9ClN_2O$

$M_r = 232.66$ g/mol

305 mg (1.42 mmol) 7-Methoxy-2,9-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-on (**119**) werden unter N_2 -Atmosphäre in 7.5 mL (80 mmol) Phosphoroxchlorid suspendiert. Anschließend werden 0.025 mL (0.19 mmol) *N,N*-Dimethylanilin zugegeben und 17 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch in 60 mL Eiswasser aufgenommen und mit Natriumcarbonat neutralisiert. Dann wird dreimal mit je 100 mL Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der braune Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 3/2) aufgereinigt.

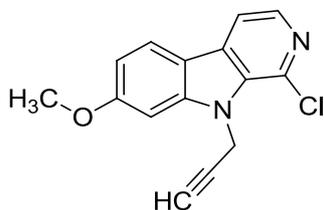
Ausbeute: 164 mg (50 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 231-236 °C

1H -NMR (DMSO- D_6 , 400 MHz): δ (ppm) = 11.86 (s, 1 H, NH), 8.11 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 5-H), 8.08 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 3-H), 8.03 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 4-H), 7.06 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 8-

	H), 6.91 (dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1 H, 6-H), 3.87 (s, 3 H, OCH ₃)
¹³C-NMR (DMSO-D₆, 400 MHz):	δ (ppm) = 160.8 (C-7), 142.5 (C-8a), 137.8 (C-3), 132.6 (C-9a/1), 132.4 (C-9a/1), 130.4 (C-4a), 123.5 (C-5), 114.7 (C-4b), 114.1 (C-4), 110.3 (C-6), 94.9 (C-8), 55.5 (OCH ₃)
MS (CI):	m/z (rel. Int. in %) = 235 (32), 233 [M ⁺ + H] (100), 79 (14)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 234 (34), 232 (100) [M ⁺], 219 (10), 217 (20), 197 (5), 189 (30), 153 (34)
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3440, 3147, 3117, 3005, 2965, 2934, 2881, 1629, 1611, 1547, 1465, 1446, 1433, 1375, 1321, 1297, 1252, 1204, 1163, 1121, 1080, 1065, 1045, 1020, 948, 842, 825, 807
HR-MS (EI):	$m/z = 232.0412$ (berechnet für C ₁₂ H ₉ N ₂ OCl: 232.0403)
HPLC-Reinheit:	100 % ($\lambda = 210$ nm) 100 % ($\lambda = 254$ nm)

1-Chlor-7-methoxy-9-(prop-2-in-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (198)



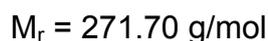
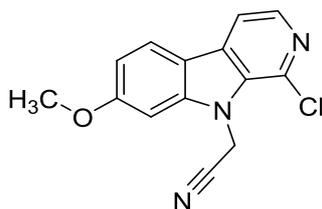
C₁₅H₁₁ClN₂O

M_r = 270.21 g/mol

61 mg (0.26 mmol) 1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol (**197**) und 17 mg (0.42 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

suspendiert und 30 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.030 mL (0.26 mmol) Propargylbromid (80% in Toluol) zugegeben und 4 h bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 5 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und 5 mal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 3/2) aufgereinigt

Ausbeute:	53 mg (74 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	141-144 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 8.19 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 3-H), 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 5-H), 7.79 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.00-6.97 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 5.50 (d, J = 2.5 Hz, 2 H, 1'-H), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 2.33 (t, J = 2.5 Hz, 1 H, 3'-H)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 161.7 (C-7), 143.2 (C-8a), 139.0 (C-3), 132.7 (C-1/4a), 132.6 (C-1/4a), 131.8 (C-9a), 122.6 (C-5), 114.9 (C-4b), 113.5 (C-4), 110.6 (C-6), 93.6 (C-8), 78.1 (C-2'), 73.2 (C-3'), 55.8 (OCH ₃), 34.2 (C-1')	
MS (APCI):	m/z = 273, 271 [M ⁺ + H]	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3428, 3159, 2364, 2345, 1627, 1549, 1457, 1416, 1339, 1273, 1253, 1231, 1202, 1168, 1130, 1069, 1039, 917, 811	
HR-MS (ESI):	m/z = 271.0632 (berechnet für C ₁₅ H ₁₂ N ₂ OCl: 271.0638)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 99 % (λ = 254 nm)	

(1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)acetonitril (199)

96 mg (0.41 mmol) 1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol (**197**) und 16 mg (0.40 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 30 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.030 mL (0.43 mmol) Bromacetonitril zugegeben und 4 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 5 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und 5 mal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der braune Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 3/2) aufgereinigt

Ausbeute: 71 mg (63 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 163-164 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8.25 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 3-H), 7.99 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 5-H), 7.81 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.02 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 6.92 (d, J = 2.1 Hz, 1 H, 8-H), 5.67 (s, 2 H, 1'-H), 3.99 (s, 3 H, OCH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 162.1 (C-7), 142.7 (C-8a), 140.1 (C-3), 133.3 (C-4a), 132.4 (C-1), 131.5 (C-9a), 123.0 (C-5), 115.1 (C-4b), 114.5 (CN), 113.8 (C-4), 111.3 (C-6), 93.3 (C-8), 55.9 (OCH₃), 32.9 (C-1')

MS (APCI): $m/z = 274, 272 [M^+ + H]$

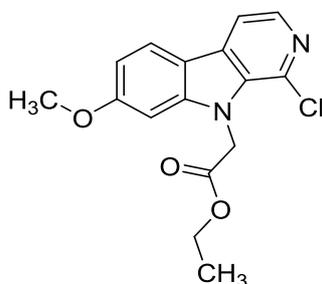
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu} \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3434, 2926, 2363, 2344, 1624, 1542, 1498, 1458, 1441, 1361, 1337, 1278, 1253,$

1204, 1173, 1129, 1068, 1041, 1005, 919, 896,
829, 816, 797

HR-MS (ESI): $m/z = 272.0584$ (berechnet für $C_{14}H_{11}N_3OCl$:
272.0590)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)
99 % ($\lambda = 254$ nm)

1-Chlor-7-methoxy-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-9-yl-essigsäureethylester (200)



$C_{16}H_{15}ClN_2O_3$

$M_r = 318.76$ g/mol

64 mg (0.28 mmol) 1-Chlor-7-methoxy-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**197**) und 20 mg (0.50 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.030 mL (0.30 mmol) Bromessigsäureethylester zugegeben, 3 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 5 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der gelbbraune Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 3/2) aufgereinigt

Ausbeute: 78 mg (88 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 152-153 °C

1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ (ppm) = 8.18 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 3-H), 7.98 (d, J

= 8.6, 1 H, 5-H), 7.80 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, 4-H), 6.95 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 1 H, 6-H), 6.78 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, 8-H), 5.42 (s, 2 H, 1'-H), 4.25 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂), 3.94 (s, 3 H, OCH₃), 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, CH₂-CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):

δ (ppm) = 168.6 (C=O), 161.6 (C-7), 143.7 (C-8a), 138.9 (C-3), 132.6 (C-4a, 9a), 122.8 (C-5), 114.8 (C-1, 4b), 113.6 (C-4), 110.3 (C-6), 92.9 (C-8), 61.9 (OCH₂), 55.7 (OCH₃), 46.1 (C-1'), 14.1 (CH₂-CH₃)

MS (APCI):

$m/z = 321, 319 [M^+ + H]$

IR (KBr-Pressling):

$\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3442, 3043, 2993, 2968, 2837, 1733, 1626, 1577, 1544, 1499, 1473, 1457, 1433, 1421, 1366, 1344, 1308, 1278, 1256, 1230, 1206, 1190, 1168, 1140, 1072, 1017, 926, 820

HR-MS (ESI):

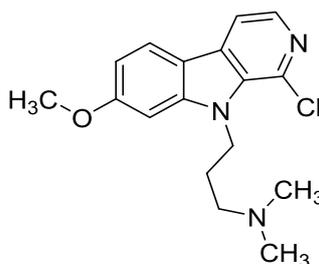
$m/z = 319.0844$ (berechnet für C₁₆H₁₆N₂O₃Cl:
319.0849)

HPLC-Reinheit:

98 % ($\lambda = 210$ nm)

99 % ($\lambda = 254$ nm)

**3-(1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin
(201)**



C₁₇H₂₀ClN₃O

M_r = 318.76 g/mol

66 mg (0.28 mmol) 1-Chlor-7-methoxy-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**197**) und 41 mg (1.0 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3.0 mL trockenem Tetrahydrofuran suspendiert und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 82 mg (0.52 mmol) *N,N*-Dimethyl-3-chlorpropylamin-Hydrochlorid zugegeben und es wird 50 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Kieselgel, isoHexan/Ethylacetat/Ethanol + Triethylamin = 2/2/2 +1 %).

Ausbeute: 18 mg (20 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 86-87 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 8.15 (d, *J* = 5.1 Hz, 1 H, 3-H), 7.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 1 H, 5-H), 7.78 (d, *J* = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.21 (d, *J* = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 6.91 (dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 4.92 (t, *J* = 7.4 Hz, 2 H, 1'-H), 4.02 (s, 3 H, OCH₃), 3.20-3.03 (m, 2 H, 3'-H), 2.80 (s, 6 H, N(CH₃)₂), 2.56-2.42 (m, 2 H, 2'-H)

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 161.4 (C-7), 143.7 (C-8a), 138.0 (C-3), 132.4 (C-4a, 9a, 1), 132.2 (C-4a, 9a, 1), 122.4 (C-5), 114.5 (C-4b), 113.3 (C-4), 110.0 (C-6), 93.4 (C-8), 56.4 (C-3'), 55.6 (OCH₃), 45.5 (N-(CH₃)₂), 42.3 (C-1'), 28.9 (C-2')

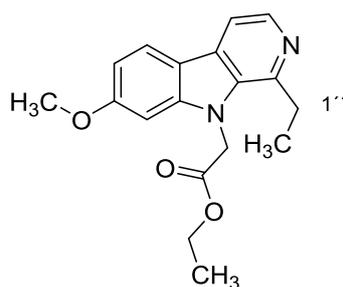
MS (APCI): *m/z* = 320, 318 [M⁺ + H], 282, 268

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3425, 3039, 3007, 2963, 2932, 2855, 2832, 2812, 2792, 2754, 1628, 1577, 1542, 1497, 1473, 1454, 1443, 1432, 1423, 1360, 1343, 1307, 1241, 1215, 1178, 1154, 1124, 1079, 1051, 1042, 976, 832, 817, 802

HR-MS (ESI): *m/z* = 318.1369 (berechnet für C₁₇H₂₁N₃OCl: 318.1373)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$)
100 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

1-Ethyl-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]-9-yl-essigsäureethylester (202)



49 mg (0.15 mmol) 1-Chlor-7-methoxy-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl-essigsäureethylester (**200**), 7.9 mg (0.0068 mmol) Tetrakis(triphenylphosphan)palladium(0) und 42 mg Kaliumcarbonat werden unter N_2 -Atmosphäre in 1.0 mL wasserfreiem *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Dann werden langsam 0.28 mL (2.8 mmol) Triethylboran (1 M in Hexan) zugegeben und 2 h zum Rückfluss erhitzt. Die gelbe Lösung wird abgekühlt und mit 10 mL Wasser versetzt. Anschließend wird viermal mit je 10 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der beige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt und aus n-Hexan gefällt.

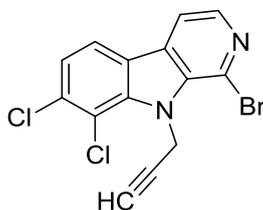
Ausbeute: 33 mg (69 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 95-97 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) = 8.35 (d, $J = 5.1 \text{ Hz}$, 1 H, 3-H), 7.96 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1 H, 5-H), 7.72 (d, $J = 5.1 \text{ Hz}$, 1 H, 4-H), 6.89 (dd, $J = 8.6, 2.1 \text{ Hz}$, 1 H, 6-H), 6.75 (d, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1 H, 8-H), 5.15 (s, 2 H, 1'-H), 4.22 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2 H, O-CH₂), 3.91 (s, 3 H, OCH₃), 3.17 (q, $J =$

	7.6 Hz, 2 H, 1''-H), 1.41 (t, J = 7.6 Hz, 3 H, 2''-H), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, OCH ₂ -CH ₃)
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 168.7 (C=O), 161.1 (C-7), 145.7 (C-1), 143.5 (C-8a), 139.2 (C-3), 134.9 (C-9a), 130.22 (C-4a), 122.4 (C-5), 115.6 (4b), 112.2 (C-4), 109.3 (C-6), 93.2 (C-8), 61.9 (OCH ₂), 55.7 (OCH ₃), 47.0 (C-1'), 28.6 (C-1''), 14.1 (OCH ₂ -CH ₃ , C-2'')
MS (ESI):	<i>m/z</i> = 313 [M ⁺ + H], 279
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3854, 3423, 3055, 2966, 2931, 1747, 1737, 1624, 1564, 1498, 1431, 1410, 1372, 1347, 1278, 1258, 1216, 1191, 1167, 1052, 1025, 1006, 818
HR-MS (ESI):	<i>m/z</i> = 313.1548 (berechnet für C ₁₈ H ₂₁ N ₂ O ₃ : 313.1552)
HPLC-Reinheit:	80 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)

1-Brom-7,8-dichlor-9-(prop-2-in-1-yl)-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (205)



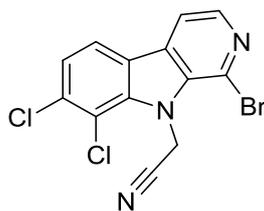
C₁₄H₇BrCl₂N₂

M_r = 354.03 g/mol

101 mg (0.320 mmol) 1-Brom-7,8-dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**99**) und 17 mg (0.43 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 30 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.040 mL (0.36

mmol) Propargylbromid (80 %ig in Toluol) zugegeben und 3 h bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 3/2) aufgereinigt

Ausbeute:	90 mg (79 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	190-193 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.30 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 7.93 (d, J = 8.3, 1 H, 5-H), 7.87 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H), 7.48 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 6.07 (d, J = 2.4 Hz, 2 H, 1'-H), 2.33 (t, J = 2.4 Hz, 1 H, 3'-H)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 140.7 (C-3), 138.8 (C-8a), 135.5 (C-9a), 135.0 (C-7), 132.3 (C-4a), 124.0 (C-1), 123.8 (C-6), 123.1 (C-4b), 120.0 (C-5), 117.0 (C-8), 114.0 (C-4), 79.0 (C-2'), 74.1 (C-3'), 36.1 (C-1')	
MS (APCI):	m/z = 361, 359, 357, 355 [M ⁺ + H], 353, 279, 277, 275, 238, 102	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3433, 3293, 3069, 3042, 3008, 2923, 2581, 2345, 2125, 1614, 1539, 1446, 1434, 1417, 1405, 1336, 1285, 1201, 1189, 1161, 1091, 1068, 1053, 939, 874, 808, 792, 717, 682	
HR-MS (ESI):	m/z = 352.9243 (berechnet für C ₁₄ H ₈ N ₂ BrCl ₂ : 352.9247)	
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

(1-Brom-7,8-dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-9-yl)-acetonitril (206)

102 mg (0.320 mmol) 1-Brom-7,8-dichlor-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**99**) und 13 mg (0.34 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.020 mL (0.40 mmol) Bromacetonitril zugegeben, 3 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat = 3/2) aufgereinigt

Ausbeute: 92 mg (80 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 208-209 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 8.35 (d, *J* = 5.1 Hz, 1 H, 3-H), 7.95 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.88 (d, *J* = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.53 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 6.12 (s, 2 H, 1'-H),

¹³C-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 141.9 (C-3), 138.5 (C-8a), 135.5 (C-7), 135.3 (C-9a), 132.6 (C-4a), 124.9 (C-6), 123.8 (C-1), 123.3 (C-4b), 120.4 (C-5), 116.9 (C-8), 115.2 (CN), 114.3 (C-4), 35.1 (C-1')

MS (ESI): *m/z* = 362, 360, 358, 356 [M⁺ + H], 238, 102

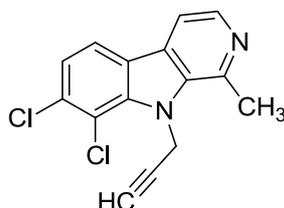
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3423, 3315, 3062, 2989, 2958, 2361, 2343, 2256, 1615, 1544, 1459, 1430, 1403, 1331,

1287, 1206, 1191, 1168, 1070, 1058, 915, 876,
824, 797

HR-MS (ESI): $m/z = 353.9194$ (berechnet für $C_{13}H_7N_3BrCl_2$:
353.9200)

HPLC-Reinheit: 100 % ($\lambda = 210$ nm)
100 % ($\lambda = 254$ nm)

7,8-Dichlor-1-methyl-9-(prop-2-in-1-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol (209)



$C_{15}H_{10}Cl_2N_2$

$M_r = 289.16$ g/mol

79 mg (0.31 mmol) 7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (**120**) und 15 mg (0.37 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 20 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.040 mL (0.35 mmol) Propargylbromid (80 %ig in Toluol) zugegeben und 3 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt

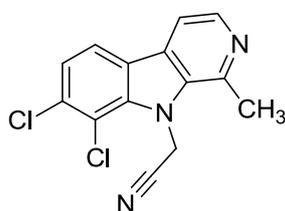
Ausbeute: 41 mg (45 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 174-175 °C

1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ (ppm) = 8.38 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, 3-H), 7.88 (d, J

	= 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.78 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 4-H), 7.38 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 5.67 (d, J = 2.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.13 (s, 3 H, 1-CH ₃), 2.38 (t, J = 2.4 Hz, 1 H, 3'-H)
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 142.9 (C-1), 140.1 (C-3), 138.1 (C-8a), 137.1 (C-9a), 133.8 (C-7), 129.3 (C-4a), 123.7 (C-4b), 122.9 (C-6), 120.0 (C-5), 116.3 (C-8), 112.5 (C-4), 79.4 (C-2'), 74.4 (C-3'), 36.7 (C-1'), 23.6 (1-CH ₃)
MS (APCI):	<i>m/z</i> = 293, 291, 289 [M ⁺ + H], 250
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3426, 3160, 2107, 1613, 1573, 1547, 1439, 1419, 1396, 1336, 1323, 1288, 1233, 1196, 1165, 1139, 1062, 982, 937, 877, 818, 805, 732
HR-MS (ESI):	<i>m/z</i> = 289.0296 (berechnet für C ₁₅ H ₁₁ Cl ₂ N ₂ : 289.0299)
HPLC-Reinheit:	100 % (λ = 210 nm) 99 % (λ = 254 nm)

(7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol-9-yl)acetonitril (210)



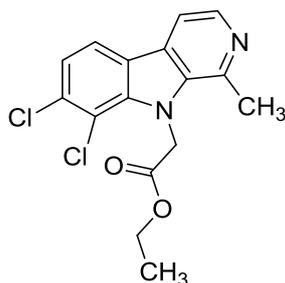
C₁₄H₉Cl₂N₃

M_r = 290.15 g/mol

102 mg (0.404 mmol) 7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (**120**) und 18 mg (0.45 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 2.5 mL *N,N*-

Dimethylformamid suspendiert und 25 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.030 mL (0.44 mmol) Bromacetonitril zugegeben und 4 h bei 40 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden weitere 0.030 mL (0.44 mmol) Bromacetonitril zugegeben und 2 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 8 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 10 mL Wasser aufgenommen und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt

Ausbeute:	17 mg (15 %)	brauner Feststoff
Schmelzpunkt:	180-181 °C	
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz):	δ (ppm) = 8.36 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 3-H), 7.87 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.73 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 4-H), 7.43 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 5.75 (s, 2 H, 1'-H), 3.04 (s, 3 H, 1-CH ₃)	
¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz):	δ (ppm) = 142.5 (C-1), 141.2 (C-3), 138.5 (C-8a), 137.3 (C-9a), 134.6 (C-7), 130.5 (C-4a), 124.5 (C-6), 124.2 (C-4b), 120.6 (C-5), 116.6 (C-8), 115.5 (CN), 113.1 (C-4), 35.6 (C-1'), 23.0 (1-CH ₃)	
MS (APCI):	m/z = 294, 292, 290 [M+ H], 136	
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3433, 2983, 2364, 2344, 1654, 1611, 1575, 1446, 1427, 1418, 1395, 1337, 1284, 1233, 1199, 1170, 1139, 1066, 979, 876, 807	
HR-MS (ESI):	m/z = 290.0249 (berechnet für C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ N ₃ : 290.0252)	
HPLC-Reinheit:	97 % (λ = 210 nm) 100 % (λ = 254 nm)	

(7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]-9-yl)essigsäureethylester (211)

81 mg (0.32 mmol) 7,8-Dichlor-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (**120**) und 17 mg (0.41 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 3 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 15 min bei 40 °C gerührt. Dann werden langsam 0.040 mL (0.36 mmol) Bromessigsäureethylester zugegeben und 4 h bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 5 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol = 2/2/1) aufgereinigt

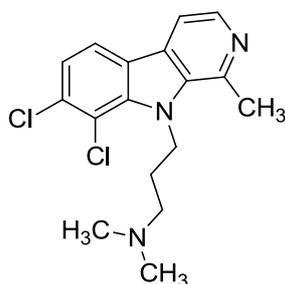
Ausbeute: 22 mg (21 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 110-111°C

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8.40 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.94 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.78 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 4-H), 7.41 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 6.08-5.27 (m, 2 H, 1'-H), 4.29 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, O-CH₂), 2.96 (s, 3 H, 1-CH₃), 1.30-1.26 (m, 3 H, CH₂-CH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 169.3 (C=O), 142.0 (C-1), 139.9 (C-3), 138.5 (C-8a), 137.4 (C-9a), 133.7 (C-7), 129.0 (C-4a), 123.4 (C-4b), 122.8 (C-6), 120.2 (C-5), 115.8 (C-8), 112.7 (C-4), 62.0 (O-CH₂), 48.5 (C-1'), 23.7 (1-CH₃), 14.2 (CH₂-CH₃)

MS (APCI):	$m/z = 341, 339, 337 [M^+ + H], 251$
IR (KBr-Pressling):	$\tilde{\nu} \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3430, 3059, 2982, 2927, 1743, 1655, 1613, 1572, 1551, 1435, 1417, 1374, 1344, 1285, 1208, 1165, 1137, 1099, 1069, 1016, 979, 887, 806$
HR-MS (ESI):	$m/z = 337.0508$ (berechnet für $C_{16}H_{15}Cl_2N_2O_2$: 337.0510)
HPLC-Reinheit:	92 % ($\lambda = 210 \text{ nm}$) 97 % ($\lambda = 254 \text{ nm}$)

3-(7,8-Dichlor-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]-9-yl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (212)

92 mg (0.37 mmol) 7,8-Dichlor-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**120**) und 57 mg (1.4 mmol) Natriumhydrid (60 %ig in Mineralöl) werden in 5 mL Tetrahydrofuran suspendiert und 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann werden langsam 133 mg (0.843 mmol) *N,N*-Dimethyl-3-chlorpropylamin-Hydrochlorid zugegeben und 94 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in 10 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der braune zähflüssige Rückstand wird mit Hilfe der Flash-Säulenchromatographie (Kieselgel, iso-Hexan/Ethylacetat/ Ethanol +

Triethylamin = 2/2/1 + 1%) aufgereinigt

Ausbeute: 35 mg (28 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 126-128 °C

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) = 8.35 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.90 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.74 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 4-H), 7.36 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 6-H), 5.00-4.90 (m, 2 H, 1'-H), 3.06 (s, 3 H, 1-CH₃), 2.19 (t, J = 7.0 Hz, 2 H, 3'-H), 2.15 (s, 6 H, N(CH₃)₂), 1.96-1.81 (m, 2 H, 2'-H)

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 142.7 (C-1), 139.2 (C-3), 138.1 (C-8a), 137.1 (C-9a), 133.5 (C-4b), 128.7 (C-4a), 123.6 (C-7), 122.2 (C-6), 120.0 (C-5), 116.0 (C-8), 112.4 (C-4), 56.2 (C-3'), 45.4 (N(CH₃)₂), 44.3 (C-1'), 30.0 (C-2'), 24.3 (1-CH₃)

MS (APCI): *m/z* (rel. Int. in %) = 340, 338, 336 [M+ H], 149

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3426, 3160, 2939, 2818, 2774, 1611, 1571, 1439, 1416, 1405, 1375, 1345, 1298, 1230, 1215, 1164, 1136, 1061, 923, 805

HR-MS (ESI): *m/z* = 336.1031 (berechnet für C₁₇H₂₀Cl₂N₃:
336.1034)

HPLC-Reinheit: 100 % (λ = 210 nm)

100 % (λ = 254 nm)

6.4. Arbeitstechniken Biologische Testung

6.3.1. Agar-Diffusionstest

Von allen Verbindungen werden 1 %ige (m/V) Stammlösungen in DMSO hergestellt. Die Stammlösungen der Referenzsubstanzen Tetracyclin und Clotrimazol sind 1 %ig (m/V) in Methanol. Jeweils 10.0 µl bzw. 3 µl der Stammlösung der Verbindungen bzw. Referenzsubstanzen werden auf Testplättchen (Durchmesser 6 mm, Firma Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) aufgetragen, was 100 µg Substanz bzw. 30 µg Referenzsubstanz je Plättchen entspricht. Die Testplättchen werden vor dem Aufbringen auf die Testplatten 24 h zum Trocknen ausgelegt. Das Lösungsmittel DMSO wurde aufgrund seiner guten Lösungseigenschaften für alle getesteten Substanzen eingesetzt, obwohl es im Gegensatz zu den üblicherweise im Rahmen des Tests verwendeten Lösungsmitteln Methanol und Ethanol nur sehr schwer verdampfbar ist. Als Blindproben werden mit 10.0 µl reinem DMSO präparierte Plättchen verwendet. Anhand dieser Blindproben kann gezeigt werden, dass das eingesetzte DMSO keinen unerwünschten Einfluss auf das Keimwachstum oder die Struktur des Gelgerüsts hat.

Die Pilze und Bakterien wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) in Braunschweig bezogen und zunächst nach der jeweils mitgelieferten Vorschrift in einer Flüssigkultur angezüchtet. Die sterilen Arbeiten werden unter der Laminar-Tariflos-Arbeitsbank vom Typ Heraeus (Heraeus, Hanau, Deutschland) durchgeführt. Als Nährmedium für den Agar-Diffusionstest kommt bei den Keimen *Hyphopichia burtonii*, *Streptococcus entericus*, *Staphylococcus equorum*, *Pseudomonas antimicrobia*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida glabrata* und *Escherichia coli* ein All-Culture Agar (AC-Agar) der Firma Sigma zum Einsatz. Hierbei werden 35.2 g AC-Agar zusammen mit 20 g Agar, der zur Verfestigung dient, in 1.0 Liter Wasser suspendiert und autoklaviert. Unter sterilen Arbeitsbedingungen werden je 15 ml des noch flüssigen warmen Agars in Petrischalen gefüllt und 30 Minuten stehen gelassen. Für *Aspergillus niger* wird ein Potato Agar als Nährmedium eingesetzt. Dazu werden 32 g Potato Dextrose Agar und 20 g Agar zur Verfestigung in 1.0 Liter Wasser suspendiert und autoklaviert. Unter sterilen Arbeitsbedingungen werden ebenfalls je 15 ml des noch flüssigen warmen Agars in Petrischalen gefüllt und 30 Minuten stehen gelassen. Die erstarrten

Agar-Böden werden mit einem in der Flüssigkultur des jeweiligen Keims getränkten Wattestäbchen bestrichen und sofort mit je vier Substanzplättchen sowie den als Blindwert und Referenz präparierten Plättchen belegt. Für Bakterien werden anschließend die Agarplatten 36 Stunden bei 32.1 °C inkubiert. Für Pilze wird bei 28.0 °C inkubiert. Die Durchmesser der Hemmhöfe werden manuell ausgemessen. Die im Kapitel 4.1.1. angegebenen Werte für die Testsubstanzen stammen aus Einzelbestimmungen; für den Modellkeim *Pseudomonas antimicrobia* wurden Daten aus 16 Bestimmungen gemittelt. Alle übrigen Referenzangaben stellen Mittelwerte aus 18 Bestimmungen dar. Bei der Auswertung muss ferner berücksichtigt werden, dass die Testsubstanzen in größerer Menge aufgetragen werden als die Referenzen. Der Test wurde in Anlehnung an DIN 58940-1 durchgeführt.

6.3.2. MTT-Test

Der MTT-Test erfolgt mit Zellen der humanen Leukämie-Zelllinie HL-60. Es werden von den zu untersuchenden Substanzen jeweils 10 mM Stammlösungen in DMSO hergestellt. Diese werden bis zu zehnmal nacheinander jeweils im Verhältnis 1:1 mit DMSO verdünnt. Der Nullwert enthält 1 µl DMSO und Kontrollzellen werden weder mit DMSO noch mit Testsubstanz versetzt. Als Positivkontrolle wird eine Lösung des Detergens Triton X-100 in einer Endkonzentration von 1 µg/ml eingesetzt.

In einer Mikrotiterplatte werden je 99 µl einer Suspension von HL-60-Zellen (zirka 9×10^5 Zellen je Milliliter) vorgelegt. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden werden in die jeweiligen Wells je 1 µl von der jeweiligen Verdünnung der Testlösung beziehungsweise von reinem DMSO oder von einer Triton X-100-Stammlösung der Konzentration 0.1 mg/ml pipettiert. Die Platte wird anschließend 24 Stunden bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert.

Jedes Well wird dann mit 10 µl einer MTT-Stammlösung von 5 mg MTT in 1.0 ml Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) versetzt und weitere zwei Stunden unter den oben angegebenen Bedingungen inkubiert. Nach Zusatz von je 190 µl DMSO wird eine weitere Stunde gewartet, wobei die Platte gelegentlich gerüttelt wird. Die Quantifizierung des entstandenen Farbstoffs erfolgt photometrisch an einem ELISA-Reader (MRX II Microplate Reader der Firma Dynex, Denkendorf, Deutschland) bei einer Messwellenlänge von $\lambda = 570$ nm. Die statistische Auswertung einschließlich

der Berechnung der IC₅₀-Werte erfolgt mit der Software Prism 4 (Firma GraphPad, La Jolla, USA).

6.3.4. High throughput Screening an Proteinkinasen (SGC Oxford)

Die Testungen wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Stefan Knapp in Oxford durchgeführt. Die jeweiligen Angaben zur Methode und Details zum Testsystem finden sich in der Literatur. Das Testsystem umfasst um die 116 Kinasen^{194,200,201,202}.

6.3.5. Testsysteme für DYRK1A, MAO-A, CLK1 und DYRK2

Alle Testungen wurden in Aachen von der Arbeitsgruppe von Prof. Becker durchgeführt. Die Testung von **199** an 300 Kinasen wurde von der Firma ProQuinase GmbH aus Freiburg durchgeführt.

Kinaseassay

Für die Kinasen wurde der Kinase-Glo[®] Luminescent Assay von Promega (USA)¹⁹⁵ verwendet:

Der Assay wurde in einem Gesamtvolumen von 10 µl in einem Kinasepuffer (25 mM HEPES pH 7.4, 0.5 mM DTT, 5 mM MgCl₂, 5 µM ATP) mit den entsprechenden Peptidsubstraten (20 mM DYRKtide für die DYKRs, mit folgender für DYRK1A optimierten Sequenz mit einem phosphorylierbaren Serin: RRRFRPASSPLRGPPK²⁰³ oder 100 µM RStide für CLK1, mit folgender Sequenz GRSRSRSRSR) durchgeführt. Die Assays wurden mit der Menge an Kinase gestartet, bei der 90 % des ATPs im Assay verbraucht wird (Linearitätsbereich der Kinasetitrationskurve). Von allen Verbindungen wurde eine 1 %ige Lösung in DMSO hergestellt. Harmin wurde in Ethanol gelöst. Zuerst wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt und dann die Reaktion mit 10 µl Kinase-Glo[®] Reagenz gestartet. Nach 10 minutiger Inkubation bei Raumtemperatur wird die Lumineszenz bestimmt.

Die Kinasen wurden als rekombinante Fusionsproteine mit Glutathion-S-Transferase (GST) in *E. coli* produziert. Aus praktischen Gründen wird eine C-terminal deletierte Version (GST-DYRK1A-ΔC) eingesetzt, weil sie in höherer Ausbeute exprimiert wird und eine höhere Aktivität aufweist²⁰³. Weil DYRK1A die aktivierende

Phosphorylierung eines Tyrosins in der Aktivierungsschleife selbst katalysiert, ist die bakteriell exprimierte Kinase ohne weitere Behandlung katalytisch aktiv.

MAO-A-Assay

Die inhibitorische Aktivität der Verbindungen auf die Monoamin-Oxidase A wurde mit dem MAO-Glo™ Assay von Promega (USA)¹⁹⁶ bestimmt. Der Assay wurde entsprechend der Herstelleranweisung mit 12 µU humaner rekombinanter MAO-A (Promega) und 25 µM MAO-A Substrat ((4S)-4,5-Dihydro-2-(6-hydroxybenzothiazolyl)-4-thiazol-carboxylat) in einem Gesamtvolumen von 20 µL durchgeführt.

Bestimmung des IC₅₀-Wertes für DYRK1A und MAO-A

Die IC₅₀-Werte wurden mit einem radioaktiven Assay (32P-ATP und DYRKtide) nach Literatur^{204,23} oder mit dem Kinase-Glo® Assay von Promega¹⁹⁵ bestimmt.

Bestimmung der Zytotoxizität

Es wurde nach dem Cell Proliferation Assay XTT von Applichem¹⁹⁹ vorgegangen. Es wurden nur die Substanzen, die eine gute DYRK1A-Hemmung zeigten, jeweils in 3 Konzentrationen in 3 Zelllinien getestet (pro Zelllinie n=2).

Zellulärer Assay

Bei der Substratphosphorylierung in HeLa wurden die Zellen mit GFP-SF3b1-NT-His6 mittels FuGENE HD (Promega, Mannheim) transfiziert. Nach 24 h wurde mit der jeweiligen Inhibitor-Konzentration behandelt und für 20 h inkubiert. Die Zellen wurden mit 100 µL SDS-Puffer (20 mM Tris HCl pH 7,4, mit 1% SDS) lysiert. Die Lysate wurden aufgekocht, mit Ultraschall behandelt und dann durch Zentrifugation gereinigt, so dass die Proben dann durch SDS/PAGE aufgetrennt werden konnten.

ProQuinase: Testung von 199

Es wurde der radioaktive ³³PanQuinase® Aktivitätsassay verwendet. **199** wurde in einer Konzentration von 0.001 mM in DMSO eingesetzt.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization
bzw.	beziehungsweise
CI	Chemische Ionisation
°C	Grad Celsius
CDCl ₃	Deuterochloroform
d	Dublett
dd	Dublett eines Dublett
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DC	Dünnschichtchromatographie
δ	Chemische Verschiebung in der NMR-Spektroskopie (ppm)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EI	Electron Impact Ionisation
ESI	Elektronensprayionisation
Me	Methyl
Et	Ethyl
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
et al.	et alii (und andere)
g	Gramm
GC/MS	Gas-Chromatographie gekoppelt mit Massen-Spektrometrie
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HR-MS	High Resolution Mass Spectrometry
Hz	Hertz
h	Stunde
IC ₅₀	Konzentration eines Inhibitors, bei der ein halbmaximaler Effekt am Enzym beobachtet werden kann
IR	Infrarot-Spektroskopie
IS	Interner Standard
J	Kopplungskonstante in der NMR-Spektroskopie
KOH	Kaliumhydroxid
λ	Wellenlänge

m	Multipllett
M	Molar (Mol je Liter)
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
mL	Milliliter
M _R	relative Molekülmasse
MS	Massenspektrometrie
MW	Mikrowellen-Bedingungen
m/z	Masse je Ladungseinheit
q	quartett
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl (cm ⁻¹)
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	mikromolar
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
nM	nanomolar
NOE	Nuclear overhauser effect
ppm	parts per million
q	Quartett
R _f	Retentionsfaktor
RP	Reversed Phase
RT	Raumtemperatur
Rel. Int	relative Intensität
s	Singulett
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
<i>tert.</i>	Tertiär
TH	totaler Hemmhof
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilan
THF	Tetrahydrofuran
UV	Ultraviolett
WH	Wachstumshemmung

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Einteilung des Kinoms in Gruppen, Familien- und Unterfamilien. Die für diese Arbeit relevanten Kinasen sind rot markiert.	3
Abb. 2 Harmin (1), EGCg2 (2), Purlavanol (3), dNBC (4), Staurosporin (5) und DMAT 6	6
Abb. 3 Peganum harmala (links) und Banisteriopsis caapi (rechts)	7
Abb. 4 Pyrazolidin-3,5-dion HCD160 (7) und Derivate	8
Abb. 5 INDY (10), TG003 (11) und Harmin (1)	9
Abb. 6 Chinazolin-Derivate	9
Abb. 7 Meridianin-Analogon 15 und Leucettin-Derivat L41 (16)	10
Abb. 8 Pyrazinderivat 17, Hydroxyindolylpyridin 18 und Chromenoidolderivat 19	10
Abb. 9 Vom Harmin abgeleitete Trifluormethylverbindung 20 und Indirubin-Analogon 21	11
Abb. 10 Dihydrobenzodioxinderivat 22 und Dimethylaminophenylderivat 23	12
Abb. 11 TG003 (11), KH-CB19 (24) und LC41 (16)	13
Abb. 12 CLK-Inhibitoren vom Chinazolintyp	14
Abb. 13 Kenpaullon (27), Cyanopaullon (28), Alsterpaullon (29) und Staurosporin (5)	14
Abb. 14 Annomontin (30), Bauerin C (31), 3,4-Dihydro-Bauerin C (32) und Cyano-Bauerin C (33)	15
Abb. 15 Annona reticulata und Dichotrix baueriana (Photo von Peter York)	15
Abb. 16 Harmol (34), Harman (35), Tetrahydroharmin (36) und Harmalin (37)	16
Abb. 17 Bauerin C (31) und 3,4-Dihydro-Bauerin C (32)	17
Abb. 18 Bindungsmodus von Dihydro-Bauerin C (32), SGC-Dockingstudie	18
Abb. 19 Chlorbrücke von KH-CB19 (24) zum Carbonyl-Rückgrat der Hingeregion der CLK1	18
Abb. 20 Leitstrukturen 3,4-Dihydro-Bauerin C (32) und 1,2,4,5-Tetrahydro-3-oxo- γ -carbolin (38), sowie Zielstruktur 39	19
Abb. 21 Leitstruktur Annomontin (30), Zielstrukturen von Strödke und Dichlorannomontin (40)	20
Abb. 22 ATP-Bindungstasche mit gedocktem Harmin von Prof. Sippl und Leitstruktur Harmin (1)	21
Abb. 23 MAO-A Bindungstasche mit gedocktem Harmin (1) nach Reniers et al.	22
Abb. 24 Geplante Modifikationen am Harmin (1)	23

Abb. 25 DJM2005 (41) und Zielstruktur Benzylidenharmin (42)	23
Abb. 26 Geplante Tetracyclen	24
Abb. 27 Geplante Desaza-Analoga von Harmin (1)	25
Abb. 28 Zielverbindungen: 1-Halogen- und 1-Alkyl-Analoga von Harmin (1) (links), Hybride aus Harmin und Bauerin C (Mitte) und zum Vergleich der CLK1-Inhibitor KH- CB19 (24)	26
Abb. 29 Zielstrukturen: 3-Oxo- γ -carbolin 48 und 39	27
Abb. 30 Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins 48	28
Abb. 31 Synthese von Annonomtin (30)	28
Abb. 32 Geplante Synthese von Dichlorannomontin (40)	29
Abb. 33 Geplante Strukturvariationen am Ring C	29
Abb. 34 Geplante Strukturvariationen am Ring B	30
Abb. 35 Geplante Strukturvariationen am Ring A	31
Abb. 36 Angestrebte Harmin-Bauerin C-Hybride	32
Abb. 37 3-Oxo- γ -carbolin 48 und Zielstruktur 39	33
Abb. 38 Geplante direkte N-Methylierung des 3-Oxo- γ -carbolins 48	34
Abb. 39 Variante 1	35
Abb. 40 Variante 2	35
Abb. 41 Versuch zur Cyclisierung von 38	36
Abb. 42 Geplante Synthese von 39 über eine Pummerer-artige Cyclisierung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung	37
Abb. 43 Synthese von 38 nach Wollein	38
Abb. 44 Geplante Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins 39	39
Abb. 45 Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins 48	40
Abb. 46 Synthese von Amino-Bauerin C(76) nach Huber	41
Abb. 47 Cyclisierung des Graminderivats 52	42
Abb. 48 Angestrebte N-Methylierung von 48	42
Abb. 49 Varianten 1 und 2 unter Verwendung einer Schutzgruppe (R) an N-2	44
Abb. 50 Versuche zur Entschützung der Methoxybenzylverbindung 77	45
Abb. 51 Versuch zur Cyclisierung des Graminderivats 52 mit tert-Butylamin	46
Abb. 52 Synthese der N-Allylverbindung 79	47
Abb. 53 Versuch zur Abspaltung der Allylgruppe	48
Abb. 54 Darstellung des Lactimethers 81	49
Abb. 55 Synthese von 6,7-Dichlorindol (63)	50

Abb. 56 Darstellung des methylierten Dichlorindols (61)	50
Abb. 57 Synthese des Formyl-Derivats 69	51
Abb. 58 Versuch zur reduktiven Aminierung des Aldehyds 69 über das Oxim 83	52
Abb. 59 Reduktive Aminierung des Aldehyds 69	53
Abb. 60 Pummerer-Umlagerung	54
Abb. 61 Pummerer-Umlagerung bzw. Friedel-Crafts-artige Cyclisierung nach Tamura et al. und Entschwefelung (R = Me oder H)	55
Abb. 62 Darstellung des Amids 90	55
Abb. 63 Versuch zur Cyclisierung des Amids 90 nach Friedel-Crafts	56
Abb. 64 Darstellung von 93 nach Hauke	57
Abb. 65 Versuch zur Synthese von 65 über eine Pummerer-artige Cyclisierung	58
Abb. 66 Methylindol 61 und Aldehyd 69	59
Abb. 67 Mechanismus der Radikalbildung nach Baciocchi	59
Abb. 68 Versuch zur Synthese des Essigesters 71	60
Abb. 69 Synthese des Essigesters 70	61
Abb. 70 GC-Analyse von 70 , der Pfeil zeigt den Peak des Nebenproduktes an	61
Abb. 71 MS-Analyse des Nebenproduktes	61
Abb. 72 Vergleich Doktorarbeit mit Diplomarbeit	62
Abb. 73 Synthese des Aldehyds 71	62
Abb. 74 Angestrebte Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins 39	63
Abb. 75 Prinzip der Weinreb-Amidsynthese	64
Abb. 76 Synthese von Annomontin (30) über 1-Acetyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (54)	65
Abb. 77 Geplante Synthese von Dichlorannomontin (40)	66
Abb. 78 Synthese des 1-Oxo-3,4-dihydro- β -carbolins 98 nach Pohl	67
Abb. 79 Dehydrierung von 98 zum 1-Oxo- β -carbolin 104	68
Abb. 80 Alkaloide 1-Ethyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (106), Annomontin (30) und Komaroin (107)	69
Abb. 81 Bromierung des 1-Oxo- β -carbolins 104	70
Abb. 82 Massenspektrum von 99	70
Abb. 83 Synthese des 1-Acetyl- β -carbolin 56	71
Abb. 84 Mechanismus der Stille-Kupplung	72
Abb. 85 Thermolytische Spaltung von Bredericks Reagenz (97)	73
Abb. 86 Synthese von Dichlorannomontin (40)	73
Abb. 87 Bromierung und Chlorierung von Harmin (1) nach Bonce et al.	75

Abb. 88 Geplante Synthese des Azafluorenon 44	75
Abb. 89 Weitere Variationen des Ketons 44	76
Abb. 90 Synthese von N-alkylierten Harmin-Derivaten	76
Abb. 91 Synthese von Benzylidenharmin (42)	77
Abb. 92 Geplante Tetracylen	77
Abb. 93 Geplante Synthese vom cyclischen Keton 57	78
Abb. 94 Geplante Synthese von Tetracyclen mit einer Aminalstruktur 58	78
Abb. 95 Geplante Synthese von 1-Halogen- und 1-Alkyl-Analoga von Harmin (1)	79
Abb. 96 Geplante Synthese von Harmin-Bauerin C-Hybrids	80
Abb. 97 Bromierung von Harmin (1)	80
Abb. 98 Chlorierung von Harmin (1)	81
Abb. 99 N-Butylierung von Halogenharminen	81
Abb. 100 Synthese von 132 nach Reniers et al.	82
Abb. 101 Versuche zur N-Alkylierung von 132 mit Bromacetonitril bzw. Propargylbromid	83
Abb. 102 Versuch zur Demethylierung und O-Alkylierung von 135	84
Abb. 103 Hantzsch-artige Synthese der Pyridine 115 und 137	85
Abb. 104 Intramolekulare Acylierung von 115 zu Azafluorenon 44	85
Abb. 105 Intramolekulare Acylierung mit konz. Schwefelsäure nach Fox et al.	86
Abb. 106 Intramolekulare Acylierung und Etherspaltung zum Phenol 140	87
Abb. 107 Reduktion zum Alkohol 45	88
Abb. 108 Ionische Hydrierung	88
Abb. 109 Versuche zur ionischen Hydrierung des Alkohols 45 und des Ketons 44	89
Abb. 110 Versuch zur Reduktion von 45 mit Natriumborhydrid und Aluminiumchlorid	89
Abb. 111 Versuche zur Hydrogenolyse des Alkohols 45 und des tricyclischen Ketons 44	90
Abb. 112 Wolff-Kishner Reduktion am Beispiel des Acetons	90
Abb. 113 Versuch zur Reduktion des Ketons 44 nach Wolff-Kishner	91
Abb. 114 Cyanomethylverbindung 136	91
Abb. 115 Geplante Wittig-Reaktion zu 47	92
Abb. 116 Reaktionsmechanismus der Wittig-Horner-Reaktion	93
Abb. 117 Wittig-Horner Reaktion zu 47	93

Abb. 118 Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum (oben) und NOE-Experiment (unten) der Cyanomethylenverbindung 47	94
Abb. 119 Synthese von 2-Desaza-Harmin (43) von Hogger	94
Abb. 120 N-Alkylierung von Harmin (1) mit Methyljodid	95
Abb. 121 N-Alkylierung von Harmin (1) mit NaH als Base	96
Abb. 122 Geplante Strukturvariationen Y , Z und W des Cinnamylderivates 148	97
Abb. 123 N-Alkylierung des Harmins (1) mit NaH als Base-Teil 2	98
Abb. 124 N-Alkylierung von Harmin (1)	99
Abb. 125 Synthese von Aminoalkylderivaten des Harmins (1)	100
Abb. 126 Synthese der Ethoxycarbonylmethylverbindung 116	101
Abb. 127 Synthese der Carboxymethylverbindung 158	101
Abb. 128 Synthese der homologen Ester von Harmin (1)	102
Abb. 129 Massenspektrum des Rohprodukts von 160	103
Abb. 130 Versuchte Umesterung des Ethylesters 116	104
Abb. 131 Basische Hydrolyse des Essigesters 116	105
Abb. 132 Versuch zur Darstellung des Carbonsäureamids 163	105
Abb. 133 Synthese der Acetamid-Derivate	106
Abb. 134 Versuch zur Synthese des Ketons 166	107
Abb. 135 Massenspektrum des Rohprodukts von 166	107
Abb. 136 Synthese der Cyanomethylverbindung 136	108
Abb. 137 Synthese der Analoga der Cyanomethylverbindung 136	108
Abb. 138 Synthese der Cyanoethylverbindung 167	109
Abb. 139 Synthese von Benzylidenharmin (42) nach Li et al.	110
Abb. 140 Massenspektrum des Rohproduktes	111
Abb. 141 Geplante Kondensation von N-Butylharmin (131) mit Benzaldehyd	112
Abb. 142 Angestrebte Synthese von Vulcanin (171)	112
Abb. 143 Synthese von N-Acetylharman (172)	113
Abb. 144 Geplante Kondensationsreaktionen von Harmin (1) mit Piperonal und 4-Cyanobenzaldehyd	114
Abb. 145 Synthese des N-Acetylderivats 175	114
Abb. 146 Geplante N-Alkylierungen von Benzylidenharmin (42)	115
Abb. 147 Versuch zur Synthese des cyclischen Ketons 57	117
Abb. 148 Geplante Synthese des Naphthyridinderivates 181	117
Abb. 149 Versuch der Synthese des Aldehyds 117 nach Zhong-Ze	118

Abb. 150 Synthese des Aldehyds 183 ausgehend von Onychin (182) von Dombeck	118
Abb. 151 Synthese des Aldehyds 186 über das Enamin 185 ausgehend von Cleistopholin (184) von Dombeck	119
Abb. 152 Synthese des Aldehyds 117 über eine ozonolytische Spaltung von Benzylidenharmin (42)	120
Abb. 153 Synthese eines Tetracyclus mit einer Aminalstruktur	121
Abb. 154 Massenspektrum der N-Methylaminomethylverbindung 187 und des Tetracyclus mit einer Aminalstruktur 188	121
Abb. 155 Geplante Minisci-Reaktionen	122
Abb. 156 Synthese von Harmalacidin (58) nach Bracher et al.	123
Abb. 157 Massenspektrum des Nebenproduktes	124
Abb. 158 Japp-Klingemann-Reaktion zu Harmalacidin (58)	124
Abb. 159 Synthese von Harmalacidin (58) über eine Azoverbindung	125
Abb. 160 Dehydrierung von Harmalacidin (58)	126
Abb. 161 Versuche zur Bromierung des 1-Oxo- β -carbolins 119	127
Abb. 162 Synthese des 1-Chlor- β -carbolins 197	127
Abb. 163 Synthese der N-Alkylderivate des 1-Chlor- β -carbolins (197)	128
Abb. 164 Synthese des 1-Ethylderivates 202	129
Abb. 165 Syntheseroute zum 1-Ethyl- β -carbolin 202	130
Abb. 166 Syntheseroute zum 1-Ethyl- β -carbolin 204 nach Cuny et al.	130
Abb. 167 N-Alkylierung des 1-Brom- β -carbolins 99	131
Abb. 168 Synthese des Bauerin C-Harmin-Hybrides 120	133
Abb. 169 Syntheseroute zum Harmin-BauerinC-Hybrid 120	133
Abb. 170 N-Alkylierung des Harmin-Bauerin-C Hybrides 120	134
Abb. 171 Tetracylin (213) und Clotrimazol (214)	136
Abb. 172 Farbreaktion beim MTT-Test	141
Abb. 173 3-Oxo- γ -carbolin 67 von Wollein und das chlorierte Strukturanalogon 48	143
Abb. 174 Kinase-Glo [®] -Assay Reaktion	152
Abb. 175 Prinzip des MAO-Glo [™] Assays	152
Abb. 176 Docking von Harmin (1) mit CLK1 von Prof. Sippl	164
Abb. 177 Dockingmodell des Phenols 140 mit DYRK1A von Prof. Sippl	165
Abb. 178 Dockingmodell von Harmin (1) mit DYRK1A von Prof. Sippl	165
Abb. 179 Dockingmodell des Ketons 44 mit MAO-A von Prof. Sippl	166

Abb. 180 Dockingmodell Harmin (1) mit MAO-A von Prof. Sippl	167
Abb. 181 Dockingmodell des Phenols 140 mit CLK1 von Prof. Sippl	167
Abb. 182 Leitstruktur Harmin (1), Cyanomethylverbindung 199 , INDY (10) und L41 (16)	176
Abb. 183 Reduktion von XTT-Tetrazolium (218) zu XTT-Formazan (219)	178
Abb. 184 Testung ausgewählter Verbindungen im zellulären System	179
Abb. 185 3,4-Dihydro-Bauerin C (32), 3-Oxo- γ -carbolin 38 und die dichlorierten Analoga 39 und 48	181
Abb. 186 Variante 1 und 2, für die Einführung einer Schutzgruppe an N-2	183
Abb. 187 Synthese des Amids 90 ausgehend vom methylierten Dichlorindol 61	184
Abb. 188 Versuche zur Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins 39	184
Abb. 189 Versuch zur Synthese des 3-Oxo- γ -carbolins 39 über Lactamisierung	185
Abb. 190 Synthese von Dichlorannomontin (40)	186
Abb. 191 Halogenierung von Harmin (1) und N-Butylierung	187
Abb. 192 Interaktionsstellen von Harmin (1) mit DYRK1A (links) bzw. MAO-A (rechts) sind markiert	188
Abb. 193 Synthese von 2-Desaza-Harmin (43)	188
Abb. 194 Synthesen des Ketons 44 , Alkohols 45 und Phenols 140	189
Abb. 195 Wittig-Horner-Reaktion von 44 zu 47	189
Abb. 196 N-Alkylierung von Harmin (1)	190
Abb. 197 Synthese von Benzylidenharmin (42) und versuchte N-Alkylierung	192
Abb. 198 Versuche zur Synthese des Naphthyridin-Derivates 57	193
Abb. 199 Darstellung des Aldehyds 117 und des Amins 188	194
Abb. 200 Darstellung des 1-Chlor-Analogons 197	195
Abb. 201 N-Alkylierung des 1-Chloranalogons 197	195
Abb. 202 Funktionalisierung der Ethoxycarbonylmethylverbindung 200 an C-1	196
Abb. 203 N-Alkylierung des 1-Bromanalogons 99	197
Abb. 204 Darstellung des Harmin-Bauerin C-Hybrids 120	197
Abb. 205 N-Alkylierung des Harmin-Bauerin C-Hybrides 120	197

9. Literaturverzeichnis

- ¹ Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S.; *Science*, 2002, 298, 1912-1934
- ² Zhang, J.; Yang, P. L.; Gray, N. S.; *Natural Reviews Cancer Journal*, 2009, 9, 28-39
- ³ Cohen, P.; *Natural Reviews of Drug Discovery*, 2002, 1, 309-315
- ⁴ Hanks, S. K.; Hunter, T.; *The Journal of the Federation of American Societies of Experimental Biology*, 1995, 9, 576-596
- ⁵ Becker, W.; Sippl, W.; *Federation of European Biochemical Societies*, 2011, 278, 246-256
- ⁶ Soundararajan, M.; Roos, A. K.; Savitsky, P.; Filippakopoulos, P.; Kettenbach, A. N.; Olsen, J. V.; Gerber, S. A.; Eswaran, J.; Knapp, S.; Elkins, I. M.; *Structure*, 2013, 21, 986-996
- ⁷ Yoshida, K.; *Biochemical Pharmacology*, 2008, 76, 1389-1394
- ⁸ Becker, W.; *Cell Cycle*, 2012, 11, 3389-3394
- ⁹ Woods, Y. L.; Cohen, P.; Becker, W.; Jakes, R.; Goedert, M.; Wang, X.; Proud, C. G.; *Biochemical Journal*, 2001, 355, 609-615
- ¹⁰ Kime, E. J.; Sung, J. Y.; Lee, H. J.; Rhim, H.; Hasegawa, M.; Iwatsubo, T.; Min, D.-S.; Kim, J.; Paik, S. R.; Chung, K. C.; *Journal of the Biological Chemistry*, 2006, 281, 33250-33257
- ¹¹ Sitz, J. H.; Baumgärtel, B.; Hämmerle, C.; Papadopoulos, C.; Hellerman, P.; Tejedor, F. J.; Becker, W.; Lutz, B.; *Neuroscience*, 2008, 157, 596-605
- ¹² Becker, W.; DYRK1A, *UCSD-Nature Molecule Page*, 24.10.2008
- ¹³ Graaf, K.; Czajkowska, H.; Rottman, S.; Packman, L. C.; Lilischkis, R.; Lüscher, B.; Becker, W.; *Biochemistry*, 2006, 7, 7, 1-13
- ¹⁴ Becker, W.; Friedman, E.; DYRK1B, *USCD-Nature Molecule Page*, 15.10.2008
- ¹⁵ Leder, S.; Weber, Y.; Altafaj, X.; Estvill, X.; Joost, H. G.; Becker, W.; *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, 254, 474-479
- ¹⁶ Friedman, E.; *International Journal of Molecular Science*, 2013, 14, 5560-5575
- ¹⁷ Aranda, S.; Laguna, A.; Luna, S.; *The Journal of the Federation of American Societies of Experimental Biology*, 2011, 25, 449-462
- ¹⁸ Smith, B.; Medda, F.; Gokhale, V.; Dunckley, T.; Hulme, C.; *ACS Chemical Neuroscience Review*, 2012, 3, 857-872
- ¹⁹ Bain, J.; McLauchlan, H.; Elliot, M.; Cohen, P.; *Biochemical Journal*, 2003, 371, 199-204

- ²⁰ Bain, J.; Plater, L.; Elliot, M.; Shpiro, N.; Hastie, C. J.; McLauchlan, H.; Klevernic, I.; Arthur, J. S. C.; Alessi, D. R.; Cohen, P.; *Biochemical Journal*, 2007, 408, 297-315
- ²¹ Becker, W.; Sippl, W.; Federation of European Biochemical Societies, 2011, 278, 246-256
- ²² Kim, H.; Sublin, S. O.; Ramsay, R. R.; *Archiv der Biochemical Biophysics*, 1997, 337, 137-142
- ²³ Goeckler, N.; Jofre, G.; Papadopoulos, C.; Soppa, U.; Tejedor, F.; Becker, W.; Federation of European Biochemical Societies, 2009, 276, 6324-6337
- ²⁴ Brierley, D. I.; Davidson, C.; *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2012, 39, 263-272
- ²⁵ Song, Y.; Kesuma, D.; Wang, I.; Duan, J.; Wang J. H.; Qi, R. Z.; *Biochemical and Biophysics Research Communications*, 2004, 317, 128-132
- ²⁶ Cuny, G.; Ulyanova, N.; Patnaik, D.; Liu, I.-F.; Lin, X.; Auerbach, U.; Ray, S. S.; Xian, Y.; Glicksman, M. A.; Stein, R. L.; Higgins, J. M. G.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22, 2015-2019
- ²⁷ Grabher, P.; Durieu, E.; Kouloura, E.; Halabalau, M.; Skaltsounis, L. A.; Meijer, L.; Hamburger, M.; Potterat, O.; *Planta Medica*, 2012, 78, 951-956
- ²⁸ Ishida, J.; Wang, H.-K.; Bastow, K. F.; Hu, C.-Q.; Lee, K.-H.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 3319-3324
- ²⁹ www.apatita.com
- ³⁰ Wikimedia Commons
- ³¹ Cao, R.; Fan, W.; Guo, L.; Ma, Q.; Zhang, G.; Li, J.; Chen, X.; Ren, Z.; Qui, L.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, 60, 135-143
- ³² Pagano, M. A.; Bain, J.; Kazimierzuk, Z.; Sarno, S.; Ruzzene, M.; Maira, G. D.; Elliot, M.; Orzesko, A.; Cozza, G.; Meggio, F.; Pinna, L. A.; *Biochemical Journal*, 2008, 415, 353-365
- ³³ Kyung, A. K. ; Kim, N. D.; Chon, J. S.; Jung, M.-S.; Lee, B.-J.; Kim, J. H.; Song, W.-Y.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2009, 19, 2324-2328
- ³⁴ Ogawa, Y.; Nonaka, Y.; Goto, T.; Ohniski, E.; Hiramatsu, T.; Hagiwara, M.; *Nature Communications* 2010, 86, 1-9
- ³⁵ Rosenthal, A. S.; Tanega, C.; Shen, M.; Mott, B. F.; Bougie, J. M.; Nguyen, D.-F.; Misteli, D.-T.; Auld, D. S.; Maloney, D. J.; Thomas, C. J.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21, 3152-3158

- ³⁶ Giraud, F.; Alves, G.; Debiton, E.; Nauton, L.; They, V.; Durieu, E.; Ferandin, Y.; Lozach, O.; Meijer, L.; Anizon, F.; Pereira, E.; Moreau, P.; *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54, 4474-4489
- ³⁷ Debdab, M.; Carreaux, F.; Renault, S.; Soundarajan, M.; Fedorov, O.; Filippakopoulos, P.; Lozach, O.; Babault, L.; Tahtouh, T.; Baratte, B.; Ogawa, Y.; Hagiwara, M.; Eisenreich, A.; Rauch, U.; Knapp, S.; Meijer, L.; Bazureau, J. P.; *Journal of the Medicinal Chemistry*, 2011, 54, 4172-4186
- ³⁸ Merour, J.-Y.; Kassis, P.; Brzecz, J.; Beneteau, V.; Lozach, O.; Meijer, L.; Guevel, R.; Guillouzo, C.; Lewinski, K.; Bourg, S.; Colliandre, L. S.; Routier, M. J. Y.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 48, 5416-5434
- ³⁹ Neagoie, C.; Vedrenne, E.; Buron, F.; Merour, J. Y.; Rosca, S.; Bourg, S.; Lozach, O.; Meijer, L.; Baleyrou, B.; Lansiaux, A.; Routier, S.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 49, 379-396
- ⁴⁰ Myrianthopoulos, V.; Kritsanida, M.; Gaboriaud, N.; Magiatis, P.; Ferandin, Y.; Durieu, E.; Lozach, O.; Cappel, D.; Soundarajan, M.; Filippakopoulos, P.; Sherman, W.; Knapp, S.; Meijer, L.; Mikros, E.; Skalsounis, A.; *Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 4, 22-26
- ⁴¹ Loidreau, Y.; Marchand, P.; Dubouilh-Benard, C.; Nourrisson, M.-R.; Duflos, M.; Loaéc, N.; Meijer, L.; Besson, T.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, 59, 283-295
- ⁴² Loidreau, Y.; Marchand, P.; Dubouilh-Benard, C.; Nourrisson, M.-R.; Duflos, M.; Lozach, O.; Loaéc, N.; Meijer, L.; Besson, T.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 58, 171-183
- ⁴³ Prasad, J.; Manley, J.-L.; *Molecular Cell Biology*, 2003, 23, 4139-4149
- ⁴⁴ Faustino, N. A.; Cooper, T. A.; *Genes Development*, 2003, 17, 419-437
- ⁴⁵ Bourgeois, C. F.; Lejeune, F.; Stevenin, J.; *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 2004, 78, 37-88
- ⁴⁶ Duncan, P.; Stojal, D. F.; Marius, R. M.; Scheit, K.-H.; Bell, J. C.; *Experimentall Cell Research*, 1998, 241, 300-308
- ⁴⁷ Stamm, S.; *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283, 1223-1227
- ⁴⁸ Fedorov, O.; Huber, K.; Eisenreich, A.; Filippakopoulos, P.; King, O.; Bullock, A. N.; Fabro, D.; Trappe, J.; Rauch, U.; Bracher, F.; Knapp, S.; *Chemical Biology*, 2011, 18, 67

- ⁴⁹ Mott, B. T.; Tanega, C.; Shen, M.; Maloney, D. J.; Shinn, P.; Leister, W.; Marugan, J.; Inglese, J.; Austin, C. P.; Misteli, T.; Auld, D. S.; Thomas, C. J.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2009, 19, 6700-6705
- ⁵⁰ Kunick, C.; *Current Pharmaceutical Design*, 1999, 5, 181-194
- ⁵¹ Schulz, C.; Link, A.; Leost, M.; Zaharevitz, D. W.; Gussio, R.; Sausville, E. A.; Meijer, L.; Kunick, C.; *Journal of Medicinal Chemistry*, 1999, 42, 2909-2919
- ⁵² Leost, M.; Schultz, C.; Link, A.; Wu, Y.-Z.; Biernat, J.; Mandelkow, E.-M.; Bibb, J. A.; Snyder, G. L.; Greengard, P.; Zaharevitz, D. W.; Gussio, R.; Senderowicz, A.; Sausville, E. A.; Kunick, C.; Meijer, L.; *European Journal of Biochemistry*, 2000, 267, 1-13
- ⁵³ Rüegg, U.; Burgess, G.; *Trends in Pharmacological Science*, 1989, 10, 218-220
- ⁵⁴ www.pflanzen-im-web.de
- ⁵⁵ Son, S.-Y.; Ma, J.; Kondou, Y.; Yoshimura, M.; Yamashita, E.; Tsukihara, T.; *Proceeding of the National Academy of sciences of the United States of America*, 2008, 105, 5739-5744
- ⁵⁶ Samoylenko, V.; Rahman, M.; Tellwani, B. L.; Tripathi, L. M.; Wang, Y.-H.; Khan, S. J.; Khan, J. A.; Miller, L. S.; Joshi, V. C.; Muhammad, J.; *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 127, 357-367
- ⁵⁷ Pohl, B.; Luchterhand, T.; Bracher, F.; *Synthetic Communications*, 37, 1273-1280, 2007
- ⁵⁸ Pohl, B.; *Dissertation LMU München* 2006
- ⁵⁹ Ritter, A.; *Dissertation LMU München* 2006
- ⁶⁰ Huber, K.; *Dissertation LMU München* 2007
- ⁶¹ Wollein, U.; *Dissertation LMU München*
- ⁶² Kast, O.; *Dissertation LMU München* 2003
- ⁶³ Strödke, B.; *Dissertation LMU München* 2008
- ⁶⁴ Reniers, J.; Robert, S.; Frederick, R.; Masereel, B.; Vincent, S.; Wouters, J.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2011, 19, 134-144
- ⁶⁵ Wurzlbauer, A.; *Diplomarbeit Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg*, 2008
- ⁶⁶ Bracher, F.; Hildebrand, D.; *Liebigs Annalen der Chemie*, 1993, 837-839
- ⁶⁷ Yamada, F.; Kobayashi, K.; Shimizu, A.; Aoki, N.; Somei, M.; *Heterocycles*, 36, 12, 1993, 2783-2804
- ⁶⁸ Rafelson, M.; Ehrensverd, Bashford, M.; Saluste, E.; Heden, C.-G.; *Journal of Biological Chemistry*, 211, 725-735, 1954

- ⁶⁹ Tamura, J.; Kenishi, J.-I.; Maeda, H.; Choi, H.; Ishibashi, H.; *Synthesis*, 1981, 534-535
- ⁷⁰ Baciocchi, E.; Muraglia, E.; Sleiter, G.; *Journal of Organic Chemistry*, 1992, 57, 6817-6820
- ⁷¹ Dubey, P. K.; Reddy, P. V.; *Synthetic Communications* 2007, 37, 2259-2266
- ⁷² Green, T.; Wuts P. G. M.; *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3. Auflage, 1999, John Wiley and Sons, INC
- ⁷³ Bull, S. D.; Davies, S. G.; Fenton, G.; Mulvaney, A. W.; Prasad, R. S.; Smith, A. D.; *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1*, 2000, 2765-3774
- ⁷⁴ Jarrahpour, A.; Zarei, M.; *Molecules* 2007, 12, 2364-2379
- ⁷⁵ Danishefsky, S.; DeNinno, S. L.; Boisvert, L.; Barbachyn, M.; *Journal of the American Chemical Society*, 1989, 111, 5810-5818
- ⁷⁶ Akiyama, T.; Kumegawa, M.; Takesue, Y.; Nishimoto, H.; Ozaki, S.; *Chemistry Letters*, 1990, 339-342
- ⁷⁷ Akiyama, T.; Takesue, Y.; Kumegawa, M.; Nishimoto, H.; Ozaki, S.; *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1991, 64, 2266-2269
- ⁷⁸ Brooke, G.; Mohammed, S.; Whiting, M. C.; *Chemical Communications*, 1997, 1511-1512
- ⁷⁹ Schmidt, B.; Lindman, S.; Tong, W.; Lindeberg, G.; Gogoli, A.; Lai, Z.; Thörnwall, M.; Synnergan, B.; Nilsson, A.; Welch, C.; Sohtek, M.; Westerlund, C.; Nyberg, F.; Karlen, A.; Halberg, A.; *Journal of the Medicinal Chemistry*, 1997, 40, 903-919
- ⁸⁰ Earle M.; Fairhurst, R. A.; Heaney, H.; Papegeorgiou, G.; *Synlett*, 1990, 621-623
- ⁸¹ Reddy, D.; Iqbal, M. A.; Hudkins, R. L.; Messina-McLaughlin, P. A.; Pallamo, J. P.; *Tetrahedron Letters*, 2002, 43, 8063-8066
- ⁸² Yu, B.; Li, B.; Zhang, J.; Hui, Y.; *Tetrahedron Letters*, 1998, 39, 4871-4874
- ⁸³ Taniguchi, T.; Ogasawara, K.; *Tetrahedron Letters*, 1998, 39, 4679-4682
- ⁸⁴ Wip, P.; Hopkins, C. R.; *Journal of the Organic Chemistry*, 2001, 66, 3133-3139
- ⁸⁵ Alkaide, B.; Almendros, P.; Alonso, J. M.; *Chemistry A European Journal*, 2006, 12, 2874-2879
- ⁸⁶ Escoubet, S.; Gastaldi, S.; Bertrand, M.; *European Journal of Organic Chemistry*, 2005, 3855-3873
- ⁸⁷ Kajihara, K.; Arisawa, M.; Shuto, S.; *Journal of the Organic Chemistry*, 2008, 73, 9494-9496

- ⁸⁸ Poschenrieder, H.; Stachel, H. D.; Höfner, G.; Mayer P.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40, 2005, 391-400
- ⁸⁹ Ritter, A.; Poschenrieder, H.; Bracher, F.; *Zeitschrift für Naturforschung*, 2009, 64b, 427-433
- ⁹⁰ Shvekhgeimer, M.-G; *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 41, 2005, 551-591
- ⁹¹ Williams, R.; Cao, J.; Tsujishima, H.; Cox, R. J.; *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125, 12172-12178
- ⁹² Carlsson, A. ; Jam, F.; Tullberg, M.; Pikoti, A.; Joannidis, P.; Lutham, K.; Grotli, M.; *Tetrahedron Letters*, 47, 2006, 5199-5201
- ⁹³ Greshock, T.; Williams, R. M.; *Organic Letters*, 2007, 9, 4255-4258
- ⁹⁴ Artman, G.; Grubbs, A. W.; Williams, R. M.; *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129, 6336-6342
- ⁹⁵ Heemstra, J. R.; Walsh, J. R.; Walsh, C. T.; *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130, 14024-14025
- ⁹⁶ Barth, F.; Vernhet, C.; Rinaldi-Carmona, M.; Guillaumont-Legeay, C. E.; WO 2007/057571, 2007
- ⁹⁷ Bartoli, G.; Palmieri, G.; Bosco, M.; Dalpozzo, R.; *Tetrahedron Letters*, 1989, 30, 2129-2132
- ⁹⁸ Vilsmeier, A.; Haak, A.; *Chemische Berichte*, 1927, 60, 119
- ⁹⁹ Lai, R.-Y. ; Lee, C.-J.; Liu, S. T.; *Tetrahedron*, 2008, 64, 1213-1217
- ¹⁰⁰ Suginome, M.; Tanaka, Y.; Hasui, T.; *Synlett*, 2006, 1047-1050
- ¹⁰¹ Soledade, M.; Hossain, M.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2007, 15, 5981-5996
- ¹⁰² Dangerfield, E.; Plunkett, C. H.; Win-Mason, A. L.; Stocker, B. L.; Timmer. M. S. M.; *Journal of the Organic Chemistry*, 2010, 75, 5470-5477
- ¹⁰³ Feng, Y.; Lograsso, P.; Schroetter, T.; Yin, Y.; WO 2010/036316, 2010
- ¹⁰⁴ Kürti, L.; Czakó, B.; *Strategic Applications of named Reactions in Organic Synthesis*, Academic Press, 2004
- ¹⁰⁵ Smith, L.; Coote, S. C.; Sneddon, H. F.; Procter, D. J.; *Angewandte Chemie*, 2010, 122, 5968-5980
- ¹⁰⁶ Moiseenkova, A.; Dragan, V. A.; Veselovsky, W.; *Russian Chemical Reviews*, 1991, 60, 643-657
- ¹⁰⁷ Padwa, A.; Waterson, A. G.; *Current Organic Chemistry*, 2000, 4, 175-203
- ¹⁰⁸ Feldmann, K. S.; *Tetrahedron*, 2006, 62, 5003-5034

- ¹⁰⁹ Bur, S. K.; Padwa, A.; *Chemical Reviews*, 2004, 104, 2401-2432
- ¹¹⁰ Sarkar, T. K.; Basak, S.; Panda, N.; *Tetrahedron Letters*, 43, 2002, 1341-1344
- ¹¹¹ Kennedy, M. G.; Moody, C. J.; Rees, C. W.; Thomas, R.; *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1*, 1991, 2499-2504
- ¹¹² Hauke, T.; *Masterarbeit LMU München*, 2013
- ¹¹³ Furukawa, S.; Ikeno, K.; Kato, S.; Kawasaki, M.; Kojima, H.; Minagawa, W.; Sawada, N.; Yamamoto, F.; Lohani, S.; Wang, Y.; WO 2009/151997, 2009
- ¹¹⁴ Weinreb, S. M.; Basha, A.; Lipton, M.; *Tetrahedron Letters*, 1977, 4171-4174
- ¹¹⁵ Bracher, F.; *Journal of Practical Chemistry*, 1999, 341, 88-91
- ¹¹⁶ Toyooka, N.; Zhou, D.; Nemeto, H.; Garraffo, H. M.; Spande, T. F.; Daly, J. W.; *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2007, 29, 1-5
- ¹¹⁷ Bracher, F.; Hildebrand, D.; *Tetrahedron*, 1994, 50, 12329-12336
- ¹¹⁸ Bracher, F.; Daab, J.; *Synthetic Communications*, 1995, 25, 1557-1562
- ¹¹⁹ Puzik, A.; Bracher, F.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2009, 46, 770-773
- ¹²⁰ Bracher, F.; Hildebrand, D.; Ludger, E.; *Archiv der Pharmazie*, 1994, 327, 121-122
- ¹²¹ Japp, F.; Klingemann, F.; *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1887, 20, 2942-2944 und 3284-3286
- ¹²² Bracher, F.; Hildebrand, D.; *Liebigs Annalen der Chemie*, 1992, 1315-1319
- ¹²³ Bracher, F.; Hildebrand, D.; *Pharmazie*, 1993, 48, 695
- ¹²⁴ Abramowitch, R. A.; Shapiro, D.; *Journal of the Chemical Society*, 1956, 4589-4592
- ¹²⁵ Shapiro, D.; Abramowitch, R. A.; *Journal of the Chemical Society*, 1955, 6690-6691
- ¹²⁶ Fischer, E.; Jourdan, F.; *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1883, 16, 2241-2245
- ¹²⁷ Huber, K.; Bracher, F.; *Zeitschrift für Naturforschung*, 2007, 62b, 1313-1316
- ¹²⁸ Bracher, F.; Hildebrand, D.; Häberlein, H.; *Natural Product Research*, 18, 2004, 391-396
- ¹²⁹ Barclay, B. M.; Campbell, N.; *Journal of the Chemical Society*, 1945, 530-533
- ¹³⁰ Bracher, F. *Archiv der Pharmazie*, 1992, 325, 645-648
- ¹³¹ Bracher, F.; Hildebrand, D.; *Liebigs Annalen der Chemie*, 1993, 1335-1337
- ¹³² Rocca, P.; Marsais, F.; Godard, A.; Queguiner, G.; *Synthetic Communications*, 1995, 25, 2901-2908

- ¹³³ Milstein, D.; Stille, J. K.; *Journal of the American Chemical Society*, 1978, 100, 3636-3638
- ¹³⁴ Laue, T.; Plagens, A.; *Namens und Schlagwortreaktionen der organischen Chemie*
- ¹³⁵ Puzik, A. *Disseration LMU München*, 2002
- ¹³⁶ Bonce, M. A.; Erra-Balseks, R.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2001, 38, 1087-1095
- ¹³⁷ Bonce, M. A.; Tarzi, O. J.; Erra-Balseks, R.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 40, 2003, 419-426
- ¹³⁸ Giuliani, G.; Capelli, A.; Mataresse, M.; Masiello, V.; Turolla, E. A.; Monterisci, C.; Fazio, F.; Anzini, M.; Mohr, G. L. P.; Riitano, D.; Finetti, F.; Morbidelli, L.; Ziche, M.; Giorgi, G.; Vomero, S.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 19, 2011, 2242-2251
- ¹³⁹ Weller, D. D.; Rapoport, H.; *Journal of the American Chemical Society*, 1976, 98, 6650-6654
- ¹⁴⁰ Bracher, F.; *Archiv der Pharmazie*, 1989, 322, 293-294
- ¹⁴¹ Rentzea, C.; Gerber, M.; Harreus, A.; Kardorff, U.; Kast, J.; Koenig, H.; Landes, A.; Meyer, N.; Plath, P.; Walter, H.; Westphalen, K.-O.; US 5,637,554, 1997
- ¹⁴² Tagmatarchis, N.; Katerinopoulos, H. E.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 33, 1996, 983-985
- ¹⁴³ Luo, W.; Liu, J.; Li, J.; Zhang, D.; Liu, M.; Addo, J. K.; Patil, S.; Zhang, L.; Yu, J.; Buolamwini, J. K.; Chen, J.; Huang, C.; *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283, 8624-8633
- ¹⁴⁴ Nielsch, U.; Sperzel, M.; Bethe, B.; Junge, B.; Lieb, F.; Velten, R.; DE 19807 993 A 1, 1999
- ¹⁴⁵ Giudice, M.; Gatta, F.; Settim, G.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1990, 27, 967-973
- ¹⁴⁶ Zhong-Ze, M.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J.; *Phytochemistry*, 2000, 53, 1075-1078
- ¹⁴⁷ Yamada, F.; Suida, Y.; Somei, M.; *Heterocycles*, 1986, 24, 2619-2627
- ¹⁴⁸ Bracher, F.; *Archiv der Pharmazie*, 1994, 327, 371-375
- ¹⁴⁹ Fox, H. H.; Lewis, J.; Wenner, W.; *Journal of Organic Chemistry*, 1951, 16, 1259-1270
- ¹⁵⁰ Hwang, J. P.; Prakash, G. K. S.; Olah, G. A.; *Tetrahedron*, 2000, 56, 7199-7203
- ¹⁵¹ Kursanov, D. N.; Parnes, Z. N.; Loim, N. M.; *Synthesis*, 1974, 633-651

- ¹⁵² Ono, A.; Suzuki, N.; Kamimura, J.; *Synthesis*, 1987, 736-738
- ¹⁵³ Almeida, M. E.; Braz, R. T.; Bülowin, V.; Gottlieb, O. R.; Maria, J. G. S.; *Phytochemistry*, 1976, 15, 1186-1187
- ¹⁵⁴ Palackal, S. J.; Alt, H. G.; DE 42 17 563 A1, 1992
- ¹⁵⁵ Wolff, L.; *Liebigs Annalen der Chemie*, 1912, 394, 86-108
- ¹⁵⁶ Kishner, N. *Journal der russischen physikalisch-chemischen Gesellschaft*, 1911, 43, 582
- ¹⁵⁷ Feitelson, B. N.; Petrow, F.; *Journal of the Chemical Society*, 1952, 228-232
- ¹⁵⁸ Maryanoff, B. E.; Reitz, B. A.; *Chemical Reviews*, 1989, 89, 863-927
- ¹⁵⁹ Epperson, J.; Bruce, M. A.; Catt, J. D.; Deskus, J. A.; Hodges, D. B.; Karageorge, G. N.; Keavy, D. J.; Mahle, C. D.; Mattson, R. J.; Ortiz, A. A.; Parker, M. F.; Tallaki, K. S.; Watson, T. B.; Yevich, J. P.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2004, 12, 4601-4611
- ¹⁶⁰ Wadsworth, W.; Emmons, W. D.; *Journal of the American Chemical Society*, 1961, 83, 1733-1738
- ¹⁶¹ Hogger V.; Masterarbeit LMU München, 2012
- ¹⁶² Douglas, B.; Kirkpatrick, J. L.; Moore, B. P.; Weisbach, J.; *Australian Journal of Chemistry*, 1964, 17, 246-255
- ¹⁶³ Cao, R.; Chen, Q.; Hou, X.; Chen, H.; Guan, H.; Ma, Y.; Peng, W.; Xu, A.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2004, 12, 4613-4623
- ¹⁶⁴ Cao, R.; Chen, W.; Peng, W.; Ma, Y.; Hou, X.; Guan, H.; Liu, X.; Xu, A.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, 40, 991-1001
- ¹⁶⁵ Hill, T. A.; Gordon, C.; McGeachie, A.; Venn-Brown, B.; Odeu, L.; Chan, N.; Quan, A.; Mariana, A.; Sakoff, J.; Chircop, M.; Robinson, P.; McCluskey, A.; *Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, 52, 3762-3773
- ¹⁶⁶ Galaretta, B.; Sifuentes, R.; Carrillo, A. K.; Sanchez, L.; Amado M. d. R.; Maruenda, H.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2008, 16, 6689-6695
- ¹⁶⁷ Ritzeler, O.; Castro, A.; Grenier, L.; Soucy, F.; Hancock, W. W.; Mazdiyasni, H.; Palombella, V.; Adams, J.; US 7,348,336 B2, 2008
- ¹⁶⁸ Hilz N.; Dissertation LMU München, 2011
- ¹⁶⁹ Remme, N.; Koschek, K.; Schneider, C.; *Synlett*, 2007, 491-493
- ¹⁷⁰ Otero, J.; *Chemical Reviews*, 1993, 93, 1449-1470
- ¹⁷¹ Hung, D. T.; Protter, A. A.; Chakravarty, S.; Jain, P. R.; PCT/US2009/032065, 2009

- ¹⁷² Staab, H. A. ; *Angewandte Chemie International Edition*, 1962, 1, 351-367
- ¹⁷³ Percec, S. ; Tilford, S.; *Journal of the Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 2011, 49, 361-368
- ¹⁷⁴ Li, H-Y.; Koike, K.; Ottomoto, T.; *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1993, 41, 1807-1811
- ¹⁷⁵ Cao, R. ; Yi, W.; Guan, X.; Feng, M.; Ma, C.; Chen, Z.; Song, H.; Peng, W.; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2008, 18, 6558-6561
- ¹⁷⁶ Hussein, A. M.; Isnak, E. A.; Ataka, A. A.; Hafiz, S. A.; Elnagdi, M. H.; *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*, 2007, 182, 2897-2917
- ¹⁷⁷ Gözler, T.; Linden, A.; Hesse, M.; *Phytochemistry*, 1996, 43, 1425-1426
- ¹⁷⁸ Somei, M.; Sayama, S.; Naka, K.; Shinmoto, K.; Yamada, F.; *Heterocycles*, 2007, 73, 537-554
- ¹⁷⁹ Kelly, T. R.; Wie, X.; Sundaresan, J.; *Tetrahedron Letters*, 1993, 34, 6173-6176
- ¹⁸⁰ Lauenroth, K.; *Dissertation Hamburg*, 2001
- ¹⁸¹ Matus, I.; Fischer, J.; *Tetrahedron Letters*, 1985, 26, 385-388
- ¹⁸² Dombeck, F.; Bracher, F.; *Pharmazie*, 2006, 61, 387-390
- ¹⁸³ Dombeck, F.; *Disseration LMU München*, 2003
- ¹⁸⁴ Hauke, T., *Bachelorarbeit LMU München*, 2011
- ¹⁸⁵ Minisci, F.; *Synthesis*, 1973, 1-24
- ¹⁸⁶ Bracher, F.; Puzik, A.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2004, 41, 173-176
- ¹⁸⁷ Kast, O.; Bracher, F.; *Synthetic Communications*, 2003, 22, 3843-3850
- ¹⁸⁸ Lin, G.; Wung, Y.; Zhou, Q.; Tang, W.; Wang, J.; Lu, T.; *Synthetic Communications*, 2011, 41, 3541-3550
- ¹⁸⁹ Hashimoto, Y.; Kawanishi, K.; *Phytochemistry*, 1976, 15, 1559-1560
- ¹⁹⁰ Judd, K.; Mahon, M.; Caggiano, L.; *Synthesis*, 2009, 2809-2817
- ¹⁹¹ Henecka, H.; Timmler, H.; Lorenz, R.; Geiger, W.; *Chemische Berichte*, 1957, 90, 1060-1069
- ¹⁹² Awuah, E.; Capretta, A.; *Journal of Organic Chemistry*, 2010, 75, 5627-5634
- ¹⁹³ Mosmann, T.; *Journal of immunological Methods*, 1983, 65, 55-63
- ¹⁹⁴ Fedorov, O.; Mardsen, B.; Pogacic, V.; Rekos, P.; Müller, S.; Bullock, A. N.; Schwaller, J.; Sundström, M.; Knapp, S.; *Proceedings of the National Academy of Science*, 2007, 104, 20523-20528
- ¹⁹⁵ Promega, *Technical Bulletin, Kinase-Glo® Luminescent Kinase Assay Platform*
- ¹⁹⁶ Promega, *Technical Bulletin, MAO-Glo™ Assay*

- ¹⁹⁷ Clarke, S. E.; Ramsay, R. R.; *Journal of Neural Transmission*, 2011, 118, 1031-1041
- ¹⁹⁸ Tahtou, T.; Elkins, J.; Filippakopolous, P.; Soundarajan, M.; Burgy, G.; Durieu, E.; Cochet, C.; Schmid, R.; Lo, D.; Delhommer, F.; Oberholzer, A.; Pearl, L.; Carreaux, F.; Bazureau, J.-P.; Knapp, S.; Meijer, L.; *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 55, 9312-9330
- ¹⁹⁹ Applichem, Cell Proliferation Assay XTT
- ²⁰⁰ Vedadi, M.; Nielson, F. H.; Akali-Hassani, A.; Fedorov, O.; Finerty, Jr. P.; Wasney, G.; Yeung, R.; Arrowsmith, C.; Ball, L.; Berglund, H.; Hui, R.; Marsden, B.; Nordlund, P.; Sundström, M.; Weigelt, J.; Edwards, A. M.; *Proceedings of the National Academy of Science*, 2006, 103, 15835-15840
- ²⁰¹ Bullock, A. N.; Debreczeni, J. E.; Fedorov, O.; Nelson, A.; Marsden, B.; Knapp, S.; *Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, 48, 7604-7614
- ²⁰² Matulis, D.; Kranz, J. K.; Salemme, R.; Todd, M. J.; *Biochemistry*, 2005, 44, 5258-5266
- ²⁰³ Himpel, S.; Panzer, P.; Eirnbter, K.; Czajkowska, H.; Sayed, M.; Packman, L. C.; Blundell, T.; Kentrup, H.; Grötzinger, J.; Joost, H.-G.; Becker, W.; *Biochemical Journal*, 2001, 359, 497-505
- ²⁰⁴ Hastie, J.; McLauchlan, H. J.; Cohen, P.; *Nature Protocols*, 2006, 1, 968-971

Tagungsbeiträge

- 20.09.-23.09.2011 A. Wurzlbauer, W. Sippl, A. Walte, W. Becker, F. Bracher; DPhG-Tagung in Innsbruck; Joint Meeting of the Austrian and German Pharmaceutical societies; *Synthesis of inhibitors of the protein kinase DYRK1A based on the alkaloid harmine*
- 17.03.-20.03.2013 A. Wurzlbauer, K. Rüben, A. Walte, W. Sippl, W. Becker, F. Bracher; Frontiers in Medicinal Chemistry in München; *DYRK1A inhibitors derived from the alkaloid harmine-How to dissect kinase inhibition from undesired MAO A inhibition*
- 09.11.-11.11.2013 F. Bracher*, A. Wurzlbauer, W. Sippl, K. Rüben, A. Walte, W. Becker; DPhG-Jahrestagung in Freiburg, Drug discovery inspired by Nature; *From the alkaloid harmine to selective DYRK1A inhibitors - How to dissect kinase inhibition from undesired MAO A inhibition*