

**Synthese und Struktur-Wirkungs-Beziehungen  
anellierter Cumarinderivate als potentielle  
Cyclin-abhängige Kinase-Inhibitoren**



Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität  
zu Kiel

vorgelegt von

**Mojgan Rostaie Gerylow**

Kiel 2000

Referent:

Prof. Dr. D. Heber

Korreferent:

Prof. Dr. W. Hänsel

Tag der mündlichen Prüfung:

18.12.2000

Zum Druck genehmigt: Kiel, den

18.12.2000

Prof. Dr. T. Bauer

-Dekan-

<b>Inhaltsverzeichnis</b>		<b>Seite</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
	1.1 Zellteilung	1
	1.2 Krebs und Zellzyklus	5
	1.3 Inhibition der CDKs	6
	1.4 Chemische Inhibitoren der CDKs	8
<b>2</b>	<b>Problemstellung</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>Synthesen</b>	<b>12</b>
	3.1 Synthese von 4-Aminocumarinen	12
	3.2 Alkylierungsreaktionen	13
	3.3 Vilsmeier-Reaktion an 4-Aminocumarinen	15
	Vilsmeier Formylierung	15
	Vilsmeier Acetylierung	16
	Acetylierung an 4-Aminocumarinen	17
	Anellierte 4-Chlorpyridine durch Vilsmeier-Haack-Synthese	17
	3.4 Michael Addition	19
	3.5 Hydrierung von Benzopyrano[4,3-b]pyridinen	21
	3.6 Synthese azaanaloger Tetrahydrocannabinolderivate	23
	3.7 Synthese mit Cyclohexanoncarbonsäureethylester	24
	3.8 Synthese von bicyclischen Verbindungen	33
	Mannich-Reaktionen	37
	Umsetzungen mit $\beta$ -Aminocrotonsäurederivate	34
<b>4</b>	<b>Spektroskopie</b>	<b>37</b>
	4.1 $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie	37
	4-Aminocumarine	37
	Tetrahydrobenzochromenone	39
	Benzopyranopyridine	45

4.2	<sup>13</sup> C-NMR-Spektroskopie	49
	4-Aminocumarine	49
	Benzopyranopyridine	54
	Tetrahydrobenzochromene	60
4.3	Massenspektrometrie	69
	4-Aminocumarine	69
	2,4-Dibrom-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on ( <b>9r</b> )	72
	Benzopyranopyridine	75
4.4	Strukturaufklärung von 3-Cyano-2-methyl-6-(1'-methylhexyloxy)phenyl- piperidin ( <b>12</b> )	79
	Massenspektrometrie	79
	<sup>1</sup> H-NMR-Spektroskopie	80
	<sup>13</sup> C-NMR-Spektroskopie	82
<b>5</b>	<b>Struktur-Wirkungs-Beziehung</b>	<b>84</b>
	5.1 Die Testmethode: CDK1/Cyclin B Histon H1 Kinase-Assay	84
	5.2 Benzopyranopyridine	85
	5.3 Tetrahydrobenzopyranopyridine	86
	5.4 Tetrahydrobenzochromenone	93
	5.5 Struktur-Wirkungs-Beziehung verschiedener Verbindungen	96
<b>6</b>	<b>Lipophiliebestimmungen mittels Kapillarelektrophorese (CE)</b>	<b>97</b>
	6.1 Material und Methoden	97
	6.2 Ergebnisse	98
<b>7</b>	<b>Homologes Protein-Modelling</b>	<b>102</b>
	7.1 Material und Methoden	102
	7.2 Homologie Modelling	102
	7.3 Protein-Liganden Wechselwirkung	108

<b>8</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	121
<b>9</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	124
	9.1 Allgemeine Hinweise	124
	9.2 Allgemeine Synthese-Vorschriften	126
	9.3 Synthesen und physikalische Daten einzelner Verbindungen	129
<b>10</b>	<b>Codierung der Verbindungen</b>	186
<b>11</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	189
<b>12</b>	<b>Abkürzungen und Anhang</b>	199

Danksagung

Lebenslauf

## 1. Einleitung

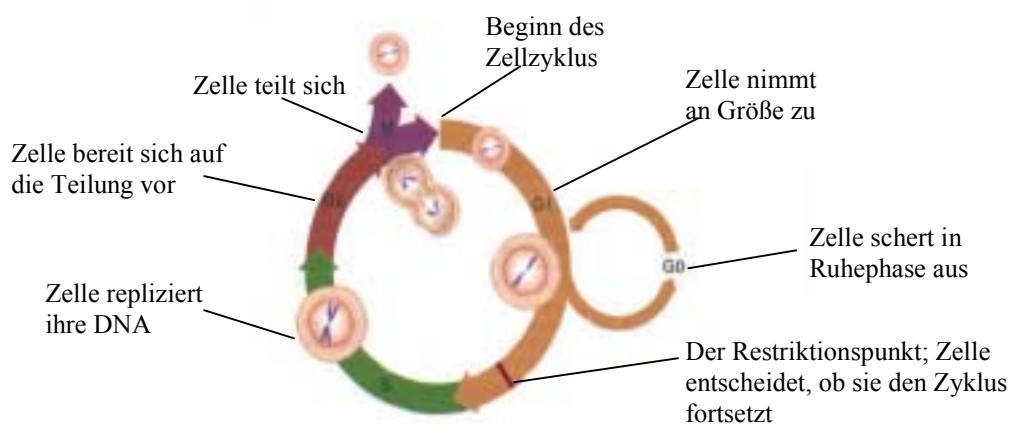
Wie Krebs entsteht, ist kein Rätsel mehr. Jedoch begann sich erst in neuerer Zeit aufzuklären, wie sich eine normale Zelle durch molekulare Veränderungen zu einer bösartigen umwandelt. Mutationen an besonderen Klassen von Genen, deren Proteine bei der Zellvermehrung und deren Regulation eine Rolle spielen, sind dafür verantwortlich. Die erstaunlichen Fortschritte in den letzten zwei Jahrzehnten haben eine Reihe von Gesetzmäßigkeiten offenbart, die der Entstehung von Krebs zugrundeliegen (siehe Krebs und Zellzyklus).

Diese können für neuartige Therapie-Methoden genutzt werden, die gezielt in die molekularen Veränderungen der Krebszellen eingreifen. Die in Entwicklung befindlichen Therapien gegen Krebs sollen an bestimmten abnormen Strukturen und Fehlfunktionen in den entarteten Zellen ansetzen.

Im Rahmen eigener Untersuchungen an azaanalogen Tetrahydrocannabinoiden zeichnete sich überraschenderweise eine Substanz mit guten inhibitorischen Eigenschaften bei den Testungen im Hinblick auf die Zellproliferation aus. Dies veranlasste uns, diese Substanzklasse genauer auf ihre inhibitorischen Eigenschaften hin zu untersuchen und mehr zu den Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser Substanz herauszufinden.

### 1.1. Zellteilung

Die Zellteilung (Abb. 1.1.1) durchläuft vier Stadien (Lehrbuch der Biologie). Die stimulierten Zellen verlassen die G<sub>0</sub>-Phase (Ruhephase) und treten in die G<sub>1</sub>-Phase ein. In der G<sub>1</sub>-Phase wächst die Zelle durch die Synthese von RNA, Proteinen und anderen Zellbestandteilen.

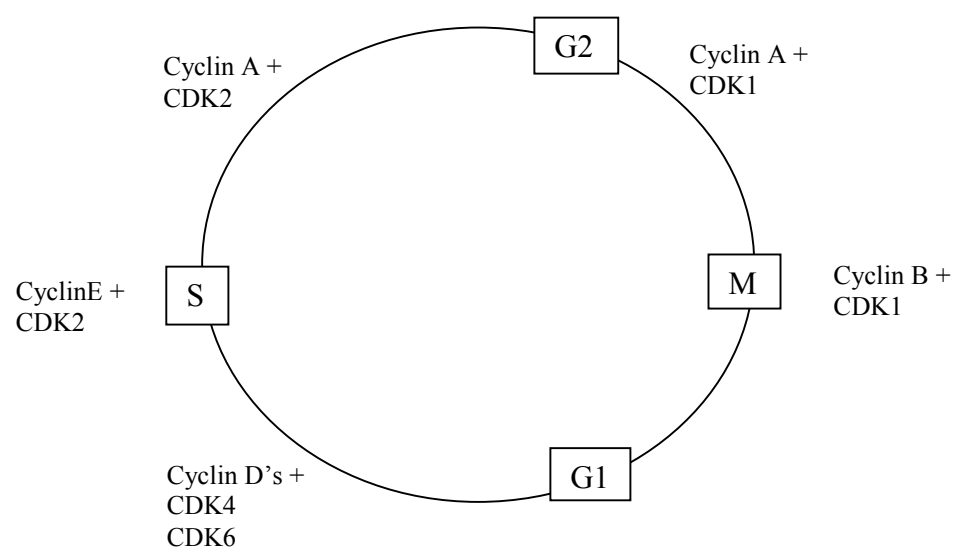


**Abb. 1.1.1** : Stadien einer Zellteilung (Weinberg 1996)

Nach Überschreiten eines Restriktionspunktes (Übergangspunkt) befindet sich die Zelle in der S-Phase, in der die DNA repliziert wird (Verdoppelung des genetischen Materials). In der folgenden Phase (G2) wird die Zelle auf die Mitose vorbereitet und in der M-Phase findet die eigentliche Zellteilung statt (Alberts 1995).

Erst zu Beginn der neunziger Jahre wurden Schlüsselproteine gründlicher charakterisiert, die für den gesicherten Verlauf des Zellzyklus mitverantwortlich sind. Der geordnete Ablauf des Zellzyklus ist durch Aktivierung einer Familie der Protein-Kinasen, die Cyclin-abhängigen Kinasen, gesichert (Lee et al. 1987, Hartwell et al. 1989, Draetta et al. 1989, Pines et al. 1990, Tsai et al. 1991, Meyerson et al. 1992, Nigg 1993, Heuvel et al. 1993, Morgan 1995). Die Cyclin-abhängigen Kinasen (cyclin dependent kinases, CDKs) sind als katalytische Untereinheit eines Komplexes anzusehen und werden erst durch Cycline, die regulatorischen Untereinheiten, aktiviert. Cycline werden zu bestimmten Zeitpunkten im Zellzyklus gebildet und anschließend proteolytisch abgebaut (Chun 1996).

Identifiziert sind die CDKs 1-8. Die Regulation der CDKs erfolgt durch folgende Cycline: Cyclin A (CDK1 und CDK2), Cyclin B1-B3 (CDK1), Cyclin D1-D3 (CDK1, CDK2, CDK4-6), Cyclin E (CDK2), Cyclin H (CDK7). Jeder Schritt des Zellzyklus wird durch solch einen Komplex begleitet und reguliert (Heuvel 1993, Hartwell 1994, Meijer 1995, Sherr 1996, Nasmyth 1996) (Abb.1.1.2).



**Abb. 1.1.2:** Assoziation der Cycline mit Cyclin-abhängigen Kinasen im Zellzyklus  
(vereinfachte Darstellung nach Sherr 1996, Marx 1994a)

In der Mitte der G1-Phase werden die Cycline der D-Reihe nach einem wachstumsstimulierenden Signal gebildet. Sie bilden Komplexe mit der CDK4 und der CDK6 und können so spezifische Proteine phosphorylieren. Die Phosphorylierung des Retinoblastomproteins (pRB) ist von besonderer Bedeutung, da pRB das Schlüsselprotein für den G1-Restriktionspunkt ist (wird pRB nicht phosphoryliert, so wird die Transkription bestimmter Gene gehemmt)(Wang et al.1998, Cheng et al. 2000). Der Übergang von G1 in die S-Phase wird durch die Komplexe CDK2/Cyclin E gesichert. In der S-Phase wird Cyclin E abgebaut, und CDK2 assoziiert mit Cyclin A. In der G2-Phase bindet Cyclin A an CDK1 und die Zelle wird auf die Mitose vorbereitet. Wichtig für den Eintritt in die Mitose sind die Cycline B1-3 (Ye et al. 1997). Die Schlüsselrolle für den Übergang aus der G2-Phase in die M-Phase wird durch CDK1/Cyclin B reguliert. Der CDK1/Cyclin B-Komplex (auch als MPF bezeichnet, „maturation promoting factor“) ist in aktiver Form für die Phosphorylierung verschiedener an der Mitose beteiligter Proteine verantwortlich (zu MPF siehe Nurse 1990, Solomon et al. 1990, Maller 1990, Yamashita et al.1990, Masui 1996, Palmer et al. 1998, Borgne 1999).

Die CDKs selbst werden ebenfalls von weiteren Proteinen aktiviert bzw. gehemmt. Die CDK Aktivatoren (cdk activating kinases CAK) sind Cycline, die cdc25 Phosphatase und CDK7/Cyclin H-Komplex. Die CDKs werden durch Phosphorylierungen an bestimmten Threonin-Resten (Thr 161 in CDK1, Thr 160 in CDK2, Thr 172 in CDK4) oder Dephosphorylierungen durch die cdc25 Phosphatase (an Thr 14 und Tyr 15) aktiviert (Berry et al. 1996, Fattaey et al.1997). Gehemmt werden die CDKs durch kleinere Proteine (p15\*, p16, p18, p21, p27) (Abb.1.1.3) (Xiong et al 1993, Serrano 1993, Gu 1993).

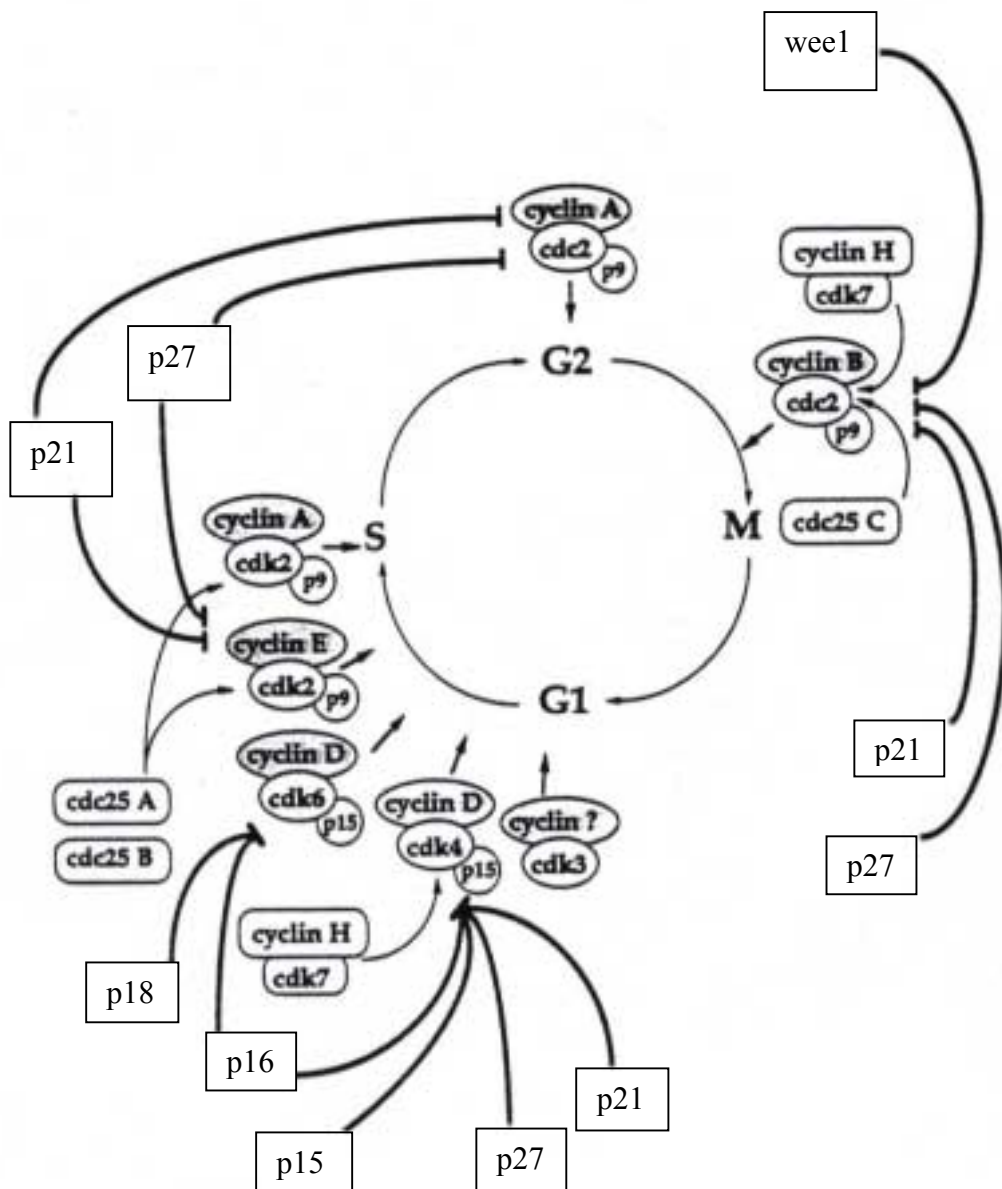
Cyclin-abhängige Kinasen werden durch eine Reihe von Mechanismen reguliert (Meijer 1995):

- Post-translationale Modifikation durch aktivierende Enzyme (z.B. cdc25 Phosphatase) oder hemmende Enzyme (wee1 Kinase),
- Assoziation mit den aktivierenden Untereinheiten (Cycline),
- Assoziation mit inhibitorischen Untereinheiten (p16, p15, p18, p21, p27),
- Wechselwirkungen mit regulatorischen Enzyme (p9 mit CDK1 und CDK2 , p15 mit CDK4-6),
- Proteolytischer Abbau von Cyclinen,
- Intrazelluläre Translokalisierung und Assoziation mit subzellulären Strukturen (Centrosomen, Microtubuli).

---

\* p steht für Protein und die Zahl ist das Molekulargewicht in Tausend.





**Abb. 1.1.3 :** Einen Überblick der essentiellen Schritte in der Regulierung des Zellzyklus (nach Meijer 1995, vereinfachte Darstellung): Cyclin-abhängige Kinasen (CDK1(cdc2) – CDK7) mit ihren Aktivatoren (Cycline, Cdc25\*, CDK7/CyclinH), ihren Regulatoren (p9 und p15) und ihren Inhibitoren (wee1\*, p16, p15, p18, p21, p27).

\* cdc25 ist eine Protein-Phosphatase.  
 \* wee1 ist eine Protein-Kinase.

CDKs regulieren die Übergänge im Zellzyklus und sichern, dass jede Phase vor dem Beginn der nächsten Phase vollendet ist (Hartwell 1994, Murray 1992, 1994, Nasmyth 1996). In der Abbildung 1.1.2 sind die CDKs mit ihren Funktionen im Zellzyklus dargestellt (Meijer 1995).

## 1.2. Krebs und Zellzyklus

Die 30 Billionen Zellen eines gesunden menschlichen Körpers leben in einer komplexen Gemeinschaft, die auf wechselseitigen Abhängigkeiten und geteilter Herrschaft beruht (Weinberg 1996). Eine Störung dieses Gleichgewichtes kann zur Abnormalität der Zellteilung und letztendlich zu Krebs führen. In den Krebszellen versagen diese fein aufeinander abgestimmten Mechanismen, und die Zellen folgen ihrem eigenen Vermehrungsprogramm. Inhibitorische Proteine, die die Zellproliferation regulieren, weisen einen Funktionsverlust auf. Diverse inhibitorische Proteine können das Fortschreiten des Zellzyklus hemmen, z. B. blockieren p15 und p16 die Aktivität von Cyclin D und verhindern damit den Austritt aus der G1-Phase in die S-Phase. Es wurde gezeigt, dass die Brustkrebszellen häufig die Cycline D und E im Überschuss produzieren.

Ein anderer Inhibitor der CDKs ist das Protein p21 (Marx 1993, Ball 1997). Dieses Protein steht unter Kontrolle des Tumorsuppressor p53, welches für die Apoptose verantwortlich ist. In den gesunden Zellen steigt bei einem DNS-Schaden die Konzentration von p53 in der Zelle an. Dadurch wird die Expression von p21 initiiert. Das Protein p21 bildet dann mit CDK2/Cyclin E bzw. CDK4/Cyclin D Komplexe und damit arretiert die Zelle in der G1-Phase. Nun hat die Zelle Zeit, entweder die DNS-Schäden zu reparieren oder den programmierten Zelltod (Apoptose) auszulösen (Marx 1994a, b, O'Connor 1996, Fotedar 1996). Bei der Hälfte aller menschlichen Tumorarten ist die Funktion des Proteins p53 ausgefallen. Die Folge ist, dass die Produktion von p21 nicht gefordert wird, p21 kein Komplex mit CDKs und Cycline bilden kann und dadurch die Zelle ihrem Vermehrungsprogramm weiter folgt (Weinberg 1996, Sherr 2000).

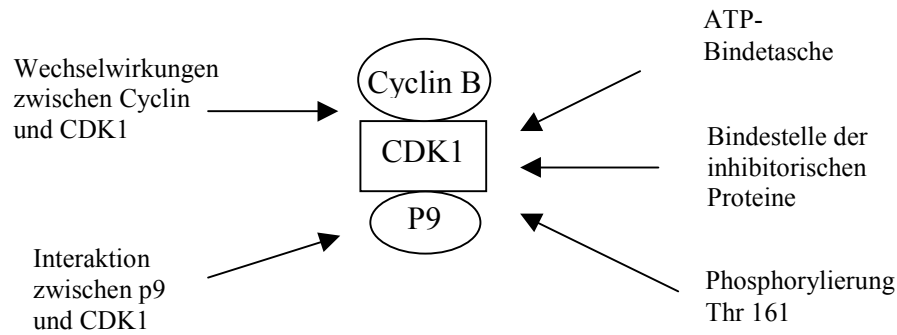
Studien zeigen, dass in vielen humanen Tumorzellen eine Deregulation oder erhöhte Expression der CDKs sowie Überproduktion der Cycline vorliegen (Draetta 1996, Hartwell 1994, Sherr 1996). Abnormalitäten einiger Zellzyklusproteine in den verschiedenen Tumorarten sind in der Tabelle 1.2.1 zusammengestellt (Weinstein 1997, Dietrich 1998). Die Inhibitoren der Cyclin-abhängigen Kinasen bieten eine neue Therapiemethode zur Behandlung des Krebses.

Gen	Abnormalität	Krebsart
Cyclin A	Integration des Hepatitis-B-Virus vor Stabilisierung des Proteins	Leber
Cyclin E	Erhöhte Expression	Kolon, Prostata, Magen, Brust Hals, Lunge, Brust, Leber
Cyclin D1	Erhöhte Expression	
CDK4	Erhöhte Expression, Mutation Verlust der p16-Bindung	Sarkom, Melanom
cdc25 Phosphatase	Erhöhte Expression	Brust
p15	Deletionen (an p16-Gen gekoppelt)	Leukämie, Lunge
p21	Verringerte Induktion nach DNS- Schäden in p53-mutierten Zellen	Zahlreiche Krebsarten
p53	Punktmutationen, Inaktivierung durch virale Onkoproteine	Zahlreiche Krebsarten, z.B. Kolon, Lunge, Leber, Gehirn
pRB	Punktmutationen	Zahlreiche Krebsarten, z.B. kleinzelliges Lungenkarzinom

**Tabelle 1.2.1** : Abnormalitäten von Zellzyklusgenen im Menschen (nach Weinberg 1997, Dietrich 1998)

### 1.3. Inhibition der CDKs

Die Röntgenstrukturanalysen von CDK2 und CDK6 und eine Reihe von Mutationsanalysen an CDKs lieferte eine Vielzahl von Informationen über diese Proteine, über ihre 3-dimensionalen Strukturen und ihre Wechselwirkungen mit Cyclinen und weiteren Proteinen. Chemische Inhibitoren haben die Möglichkeit, die Cyclin-abhängigen Kinasen mit großer Variabilität an verschiedenen Angriffspunkten zu hemmen (siehe Abb.1.3.1).



**Abb. 1.3.1:** Einige der potentiellen Angriffsstellen für die Hemmung des CDK1/Cyclin B-Komplexes (vereinfachte Darstellung nach Meijer 1995)

Die ATP-Bindestelle in der CDK1 ist ein bedeutender Bereich für eine Wechselwirkung mit den Inhibitoren (siehe auch Kapitel Protein Modelling). Sie ist zwischen den beiden N- bzw. C-terminalen Domänen platziert und enthält zwei Aminosäuren (Thr 14 und Tyr15), die in phosphorylierter Form die Aktivität der CDK1 und der CDK2 hemmen.

Die Phosphorylierung am Thr161-Rest ist essentiell für die Kinase-Aktivität (Solomon 1994). Wechselwirkungen mit dieser Stelle können möglicherweise zur Hemmung der Kinase führen (Meijer 1995).

Die Bindungsstelle des Cyclins ist in einem Kluster in der kleinen N-terminalen Domäne platziert (Kobayashi 1992). Sollten Inhibitoren diese Wechselwirkung stören, ist es wahrscheinlich, dass die Kinase gehemmt wird.

CDK1 und CDK2 stehen in enger Wechselwirkung mit einem kleinen Protein p9 (Azzi 1992). Dieses Protein ist für die funktionsfähige Konformation der Kinase erforderlich. Die Röntgenkristallstrukturanalyse von p9 zeigt, dass sich das Protein zu einer hexameren Struktur umformt und offensichtlich sechs CDKs bilden kann (Parge 1993). Studien haben gezeigt, dass dieses Protein mit den beiden C- und N-terminalen Domänen in Wechselwirkung steht (Azzi 1992).

Cyclin B enthält eine Domäne, welche als „P box“ bezeichnet wird (Zheng 1993). Die Integrität der „P box“ ist für die Aktivierung der cdc25 Phosphatase und folglich für die

Dephosphorylierung der CDK1 verantwortlich. Daher bietet die „P box“-Region eine mögliche Angriffsstelle für einen Inhibitor an.

#### 1.4. Chemische Inhibitoren der CDKs

Die Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitoren bieten sich als eine neue Methode zur Krebstherapie an. Sie können die Proteine für das Zellwachstum abschalten und damit u. a. die Empfindlichkeit der Tumorzellen für konventionelle Behandlungsmethoden, etwa Bestrahlung, steigern (Oliff et al. 1996, Fischer et al. 2000). Außerdem können solche Inhibitoren durch Störungen des Zellzyklus in den Tumorzellen die Apoptose auslösen (Meijer 1995).

Die Zahl der chemischen Verbindungen, die selektiv mit den CDKs reagieren und sie hemmen, ist limitiert (Abb 1.4.1). Einige der wichtigen CDK-Inhibitoren werden im folgenden vorgestellt. Flavopyridol und 7-Hydroxy-staurosporine befinden sich zur Zeit in der klinischen Testphase (Sausville 2000).

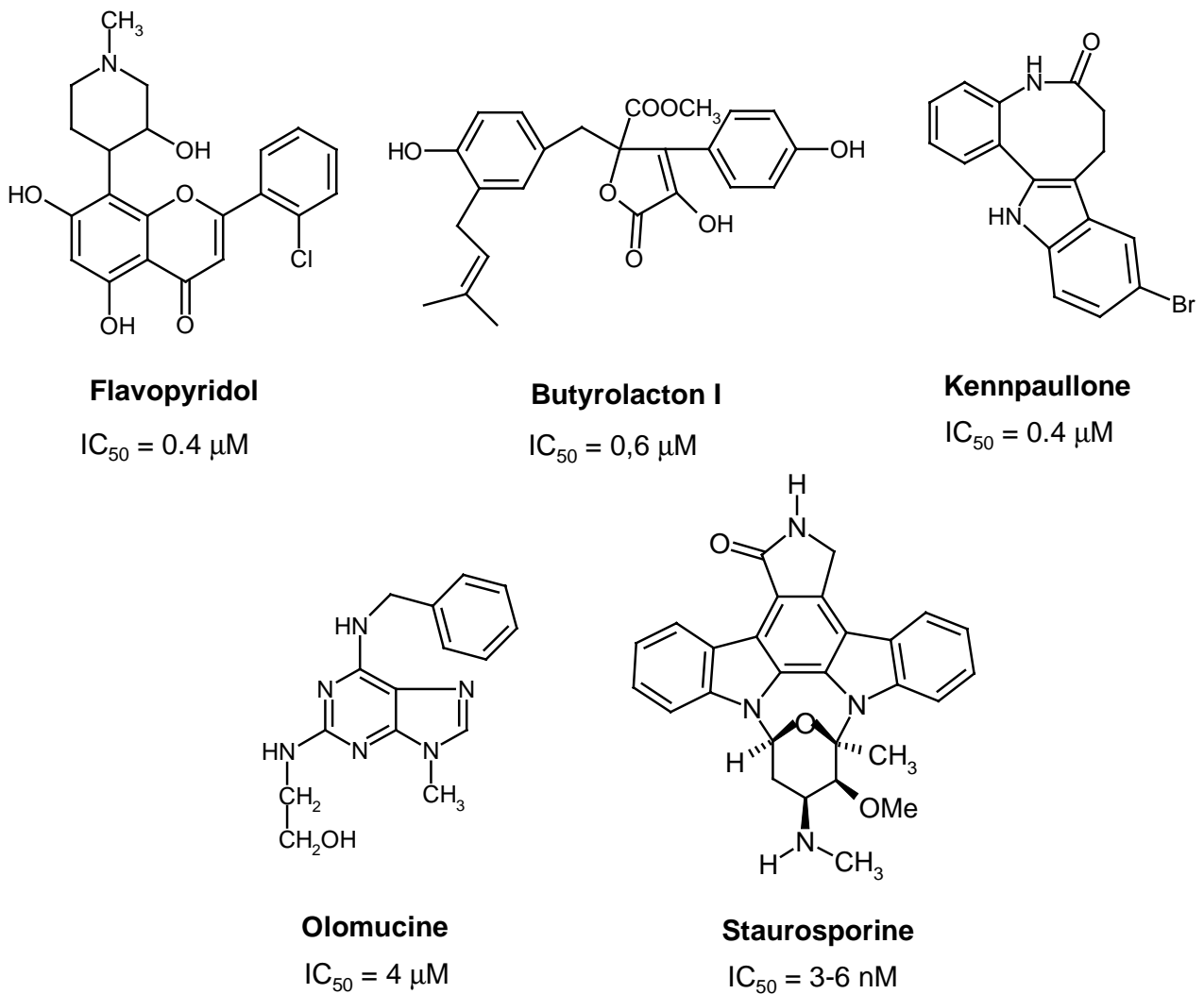
Aus der Substanzklasse der Lactone sind Flavopyridol, Butyrolacton I und Staurosporine bekannt. Studien haben gezeigt, dass Flavopyridol das Wachstum einiger Krebs-Zelllinien im nanomolaren Bereich blockiert. Flavopyridol ist der erste CDK-Inhibitor, der sich in der klinischen Testphase befindet (Sedlack 1996, Senderwicz 1998, Murthi 2000).

Studien haben gezeigt, dass Butyrolacton eine antiproliferative Wirkung auf koloniale und pankreatische Tumor-Zelllinien aufweist (Yamamoto 1998, Wada 1998).

Zu den auf Purin basierenden Verbindungen gehören Olomucine (Vesely et al. 1994, Havlicek 1997) und Roscovitine (Havlicek 1997, Meijer 1997). Studien zeigen, dass diese Verbindungen einige Krebszelllinien (Humane gastric Zelllinien –AGS, MKN45-630 und SNU-1) blockieren und damit sind sie eine neue Klasse von Inhibitoren in der Krebstherapie (Iseki 1997).

Die erst kürzlich bekannt gewordenen Paullone sind ebenfalls potente CDK1-Inhibitoren (Schultz et al. 1999, Gussio 2000). Diese sind Benzazepin-Derivate (Kunick 1992,1993), die die Cyclin-abhängige Kinase 1 und 2 im nanomolaren Bereich hemmen.

Es ist anzumerken, dass sich zur Zeit weitere potente CDK-Inhibitoren wie Puvalanol, Indurbin-3-monoxim in Untersuchung befinden (Buolamiwini 2000).



**Abb. 1.4.1** : CDK1 Inhibitoren; Flavopyridol ist der erste CDK-Inhibitor, der sich in der klinische Testphase befindet.

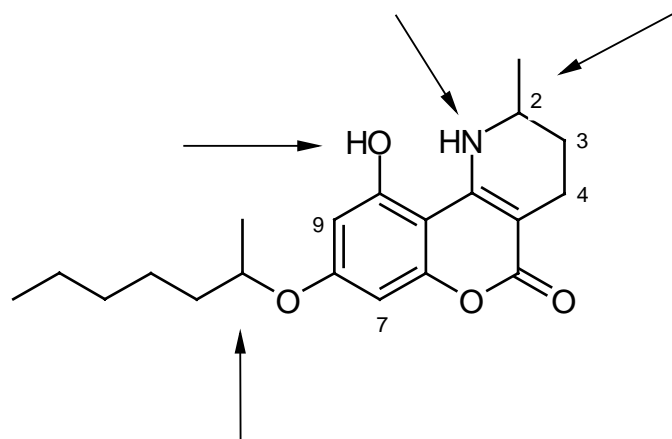
Auf dem Gebiet potentieller CDK1- bzw. Proteinkinase-Inhibitoren sind unseres Wissen keine Struktur-Wirkungsbeziehungen zu den Benzopyrano[4,3-b]pyridinen bekannt. Es ist aber interessant zu erwähnen, dass diverse Studien über die Therapie von Krebserkrankungen mit Tetrahydrocannabinol-Derivaten bzw. Marijhuna berichten (Carchman 1976, Heim 1981, Murison 1987, Kusher 1994, Trisler 1994, Molnar 2000). In anderen Studien wurden die Tetrahydrocannabinolderivate als Chemotherapeutika bzw. als schmerzlindernde Mittel eingesetzt. Im Hinblick auf die Analogie der Struktur der azaanloger Cannabinoide war es interessant, mehr über die Wirkung der azaanologen Cannabinoide zu erfahren. Tetrahydrocannabinol selbst besitzt keine Hemmwirkung an der CDK1/ Cyclin B (persönliche Mitteilung Heber/Meijer).

## 2. Problemstellung

Auf dem Gebiet potentieller CDK1- bzw. Proteinkinase-Inhibitoren sind unseres Wissen keine Struktur-Wirkungsbeziehungen zu den Benzopyrano[4,3-b]pyridinen bekannt. Nachdem in einem Screening-Test zufällig gefunden worden war, dass ein speziell substituiertes Benzopyrano[4,3-b]pyridin (siehe Abb. 2.1) den CDK1-CyclinB-Komplex gehemmt hat, sollte in der vorliegenden Arbeit eine Reihe anellierter Cumarinderivate synthetisiert werden. Dabei galt es, die Leitstruktur mit dem Ziel systematisch chemisch abzuwandeln, Struktur-Wirkungsbeziehungen aufzustellen.

Die vorliegende Arbeit soll dabei insbesondere diese Ziele verfolgen:

Durch Synthese und anschließender Testung azaanaloger Cannabinoide soll festgestellt werden, welche der Substituenten für die inhibitorische Eigenschaft essentiell sind bzw. auf welche verzichtet werden kann. Zu diesem Zweck sollen Verbindungen hergestellt werden, die keine Hydroxygruppe an Position 10 des Tricyclus tragen (siehe Abb). Außerdem soll überprüft werden, ob die Methylgruppe am Kohlenstoffatom C2 notwendig ist.



**Abb.2.1:** Strukturabwandlungen an **6f**

Weiterhin soll die Stellung des Stickstoffs im Tetrahydropyridinring überprüft werden und deshalb Verbindungen mit dem Stickstoff in anderen Positionen des Rings hergestellt werden. Darüberhinaus ist die Frage zu klären, ob dieses Heteroatom überhaupt erforderlich ist und ob auch mono- bzw. bicyclische Verbindungen mit Strukturmerkmalen der Benzopyranopyridine die inhibitorische Eigenschaft gegenüber dem CDK1/CyclinB-Komplex besitzen.

Hierfür sollen Tetrahydrobenzochromen-6-one, sowie Cumarin- und Pyridinderivate dargestellt werden.

Die homologen Protein-Modelling-Studien sollen helfen, die Wechselwirkungen zwischen den Liganden und dem Protein besser zu verstehen und zum Entwurf neuer (besser wirksamerer) Verbindungen führen.

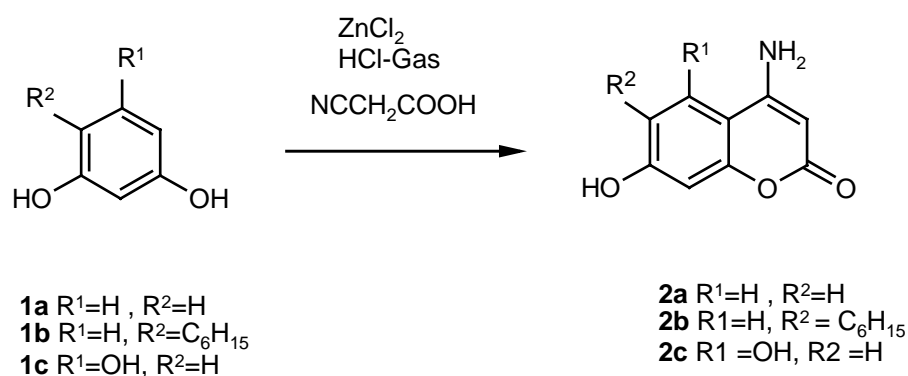


### 3. Synthesen

#### 3.1. Synthese von 4-Aminocumarinen

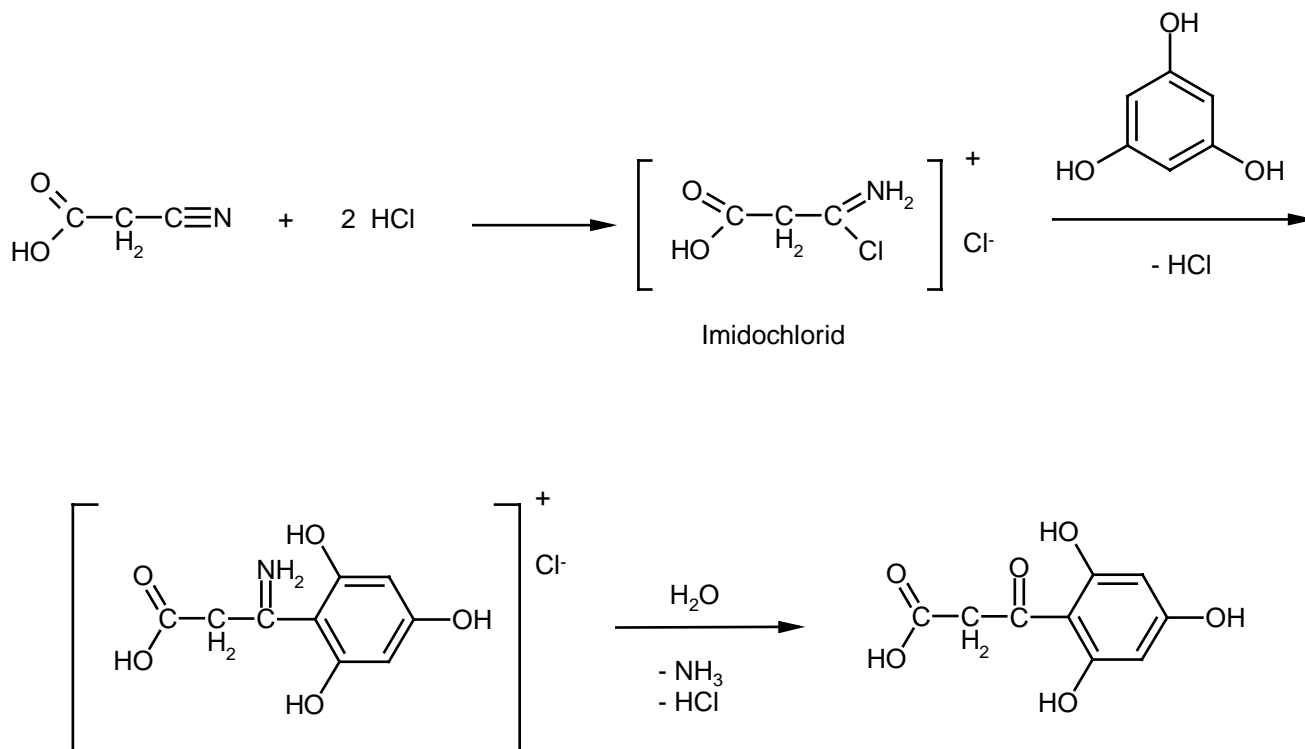
4-Aminocumarine können auf verschiedenen Wegen hergestellt werden. Bereits 1927 entwickelte Sonn die erste Methode. Ausgehend von Phloroglucin und Resorcin stellte er 4-Amino-7-hydroxycumarin **2a** und 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin **2c** unter Einwirkung von Cyanessigsäure und HCl-Gas her (Sonn 1917). Zagorevski und Dudykina beschrieben die Synthese von N-substituierten 4-Aminocumarinen. Diese sind durch Umsetzung von 4-Chlorcumarin mit primären und sekundären Aminen erhältlich (Zagorevski et al. 1962). Als eine weitere Methode beschrieben Tabakovic und Ajdini die Aminolyse von 4-Hydroxycumarin mit aliphatischen und aromatischen Aminen (Tabakovic 1987).

Im Hinblick auf die gewünschten Zielverbindungen wählten wir die Synthesemethode nach Sonn. Durch die Reaktion von Resorcin (**1a**), 4-Hexylresorcin (**1b**) oder Phloroglucin (**1c**) mit Cyanessigsäure in trockenem Ether unter Einleiten von HCl-Gas können bei 0 °C in Anwesenheit von Zinkchlorid die entsprechenden 4-Aminocumarine hergestellt werden (Abb. 3.1.1).



**Abb. 3.1.1:** Synthese von 4-Aminocumarinen

Die Reaktion verläuft analog einer Hoesch-Keton-Synthese, bei der eine Cyanogruppe an ein ein- oder mehrwertiges Phenol zum Hydroxyaryl- oder Alkoxyarylketon addiert wird. Durch die Reaktion des Nitrils mit zwei Mol Chlorwasserstoff bildet sich ein Imidochlorid. Das eigentlich elektrophile Reagenz ist dabei der Komplex aus dem Katalysator und Imidochlorid, welches mit dem nucleophilen Aromat reagiert (siehe Reaktionsmechanismus in Abb. 3.1.2).



**Abb. 3.1.2:** Reaktionsmechanismus der Hoesch-Keton-Synthese bei 0 °C

Die weniger reaktiven Phenole reagieren nur unter Zusatz eines Friedel-Crafts-Katalysators. Bei der Reaktion von Phloroglucin als Phenolkomponente kann u. U. auf den Katalysator verzichtet werden (Spoerri 1949).

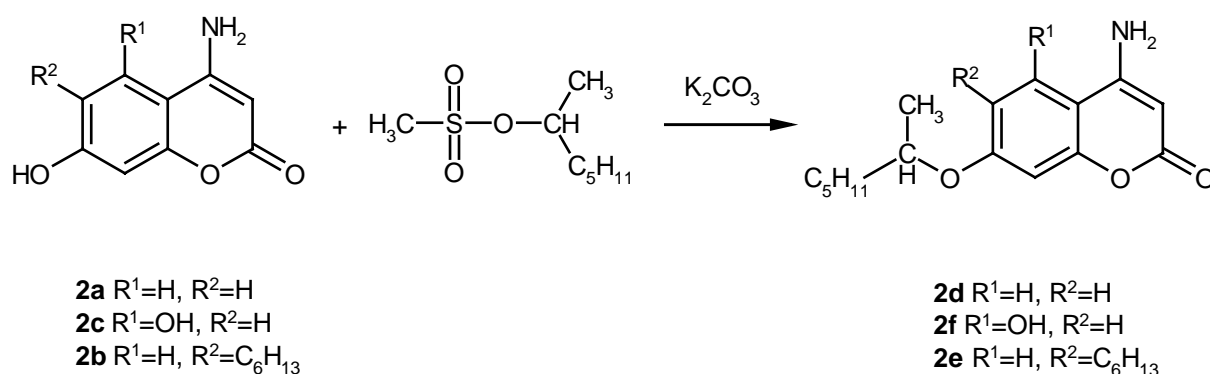
Während 4-Amino-7-hydroxycumarin **2a** und 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin **2c** während der Reaktion als Hydrochloride ausfallen und isoliert werden können, ist die Isolierung des 4-Amino-6-hexyl-7-hydroxycumarin **2b** nur durch Umsetzung mit Eis/Wasser und Extrahieren der wäßrigen Phase mit Ether mit schlechterer Ausbeute darstellbar (siehe Experimenteller Teil).

### 3.2 Alkylierung von 4-Aminocumarinen

Sonn alkylierte 4-Amino-7-hydroxycumarin **2a** und 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin **2c** mit Dimethylsulfat im Überschuss und erhielt die entsprechenden O-Methylderivate. Wegen der geringeren Nucleophilie der Enaminstruktur unterblieb die N-Alkylierung (Sonn 1917).

Press et al. entwickelten eine Methode zur Umsetzung von 5,7-Dihydroxy-2,2-dimethylchromanon durch Einsatz von Alkylhalogeniden in Aceton mit  $K_2CO_3$  zu den entsprechenden 5-Hydroxy-7-alkoxy-4-chromanon-Derivaten (Press und Birnberg 1985). Unter diesen Bedingungen reagieren die 4-Aminocumarinderivate zu einem Gemisch von Produkten, deren Isolierung und Reinigung leider nicht möglich war. Bindra beschrieb 1946 eine Methode zur selektiven Alkylierung des 5,7-Dihydroxy-2,2-dimethylchromanons in 7-Stellung mit verschiedenen Methansulfonsäureestern in N,N-Dimethylformamid (DMF) und  $K_2CO_3$  als Base (Bindra 1946). Heber und Berghaus (1994) übertrugen diese selektive Alkylierung auf die 4-Amino-5,7-dihydroxycumarine und erhielten die entsprechenden Phenolether (Heber 1994).

Durch die Reaktion der 4-Aminocumarine mit Methansulfonsäure-2-heptylester in Dimethylformamid und  $K_2CO_3$  bei 120 °C erhält man die an der 7-Position veretherten Derivate (Abb.3.2.1).



**Abb. 3.2.1:** Umsetzung von 4-Aminocumarinen mit Methansulfonsäure-2-heptylester

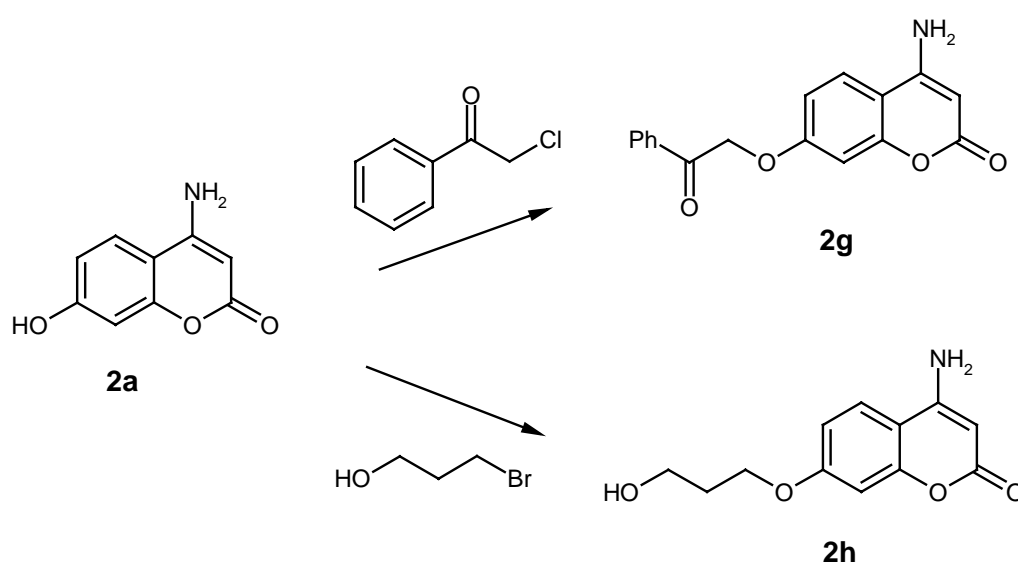
Die schlechteren Ausbeuten der Monoalkylprodukte der 4-Aminocumarine gegenüber den Alkylierungsderivaten des 5,7-Dihydroxy-chromanons lässt sich durch die Nebenreaktion an der Aminogruppe erklären, da hier ebenfalls eine Alkylierung stattfinden kann.

Der Ester der Methansulfonsäure ist durch die Reaktion von Methansulfonsäurechlorid mit 2-Heptanol zugänglich. Da der langkettige Methansulfonsäureester sehr instabil ist und sich

häufig bei der Destillation zersetzte, wurde er als Rohprodukt eingesetzt (Sekera 1933, Williams 1954).

Die Synthesen von 4-Amino-7-(3'-hydroxy)propoxycumarin **2h** und 4-Amino-7-phenacyloxycumarin **2g** erfolgten nach der Williamson-Ethersynthese mit 3-Brompropanol bzw.  $\omega$ -Chloracetophenon mit guter Ausbeute (Tietze 1981) (siehe Abb. 3.2.2).

Die Umsetzungen mit 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin lieferten Produktgemische, die sich nicht isolieren ließen. Sie konnten ebenfalls nicht über die Dünnschichtchromatographie getrennt werden, ihre Entstehung kann aber durch die Massen- und die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Proben bewiesen werden.



**Abb. 3.2.2:** Williamson-Ethersynthese an 4-Amino-7-hydroxycumarin

### 3.3. Vilsmeier-Reaktionen an 4-Aminocumarinen

#### Vilsmeier Formylierung

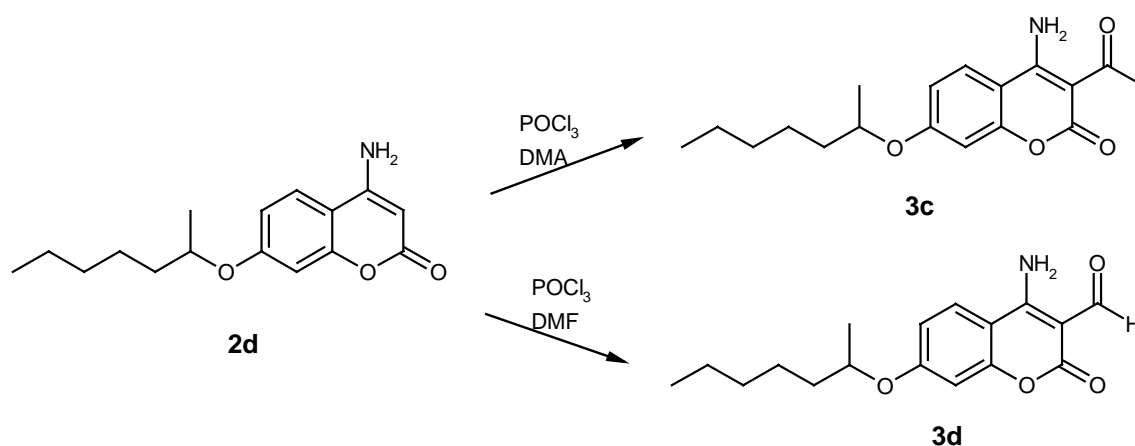
Die Vilsmeier-Reaktion ist eine elegante Methode zur Einführung einer Formyl- bzw. Acetylgruppe. Diese Reaktion ist auf reaktionsfähige Aromaten, vor allem Polycyclen, Phenole, Phenolether und reaktionsfähigere Heterocyclen anwendbar. Vinyloge Säureamide reagieren ebenfalls mit guten Ausbeuten zu ungesättigten Aldehyden.

Die Vilsmeier-Formylierung an 4-Aminocumarinen wurde bereits 1987 von Heber durchgeführt. Durch die Umsetzung von 4-Benzylaminocumarin mit dem Vilsmeier-Reagenz erhielt er das entsprechende 4-Benzylaminocumarin-3-carboxaldehyd in guten Ausbeuten (Heber 1987). Tabakovic et al. veröffentlichten ebenfalls die Umsetzung N-substituierter 4-Aminocumarine zu den entsprechenden Aldehyden (Tabakovic 1986).

### Vilsmeier Acetylierung

Im Gegensatz zu der Vilsmeier-Formylierung mit Formamiden findet die Reaktion mit Säureamiden zur Darstellung von Ketonen weniger Anwendung. Bosshardt und Zollinger untersuchten die Formylierung und Acetylierung von Dimethylanilin als nucleophiler Komponente unter Vilsmeier-Bedingungen mit N,N-Dimethylacetamid und N-Methylacetamid. Sie erhielten jedoch schlechte Ausbeuten, während aromatische Benzamide gut zu Benzophenonderivaten reagierten (Bosshardt 1959). Die Vilsmeier-Acetylierung eignet sich gut zur Umsetzung von Pyrrolen und Indolen zu den entsprechenden Ketonen, wobei jeweils die 3-Stellung angegriffen wird. Als Säureamide wurden N,N-Dimethylacetamid, N,N-Dimethylpropionamid oder N,N-Dimethylchloracetamid eingesetzt (Anthony 1960).

Die Reaktion von 4-Aminocumarinderivaten mit Vilsmeier-Reagenz führt zur Formylierung bzw. Acetylierung in der 3-Stellung (Berghaus 1989) (Abb 3.3.1).



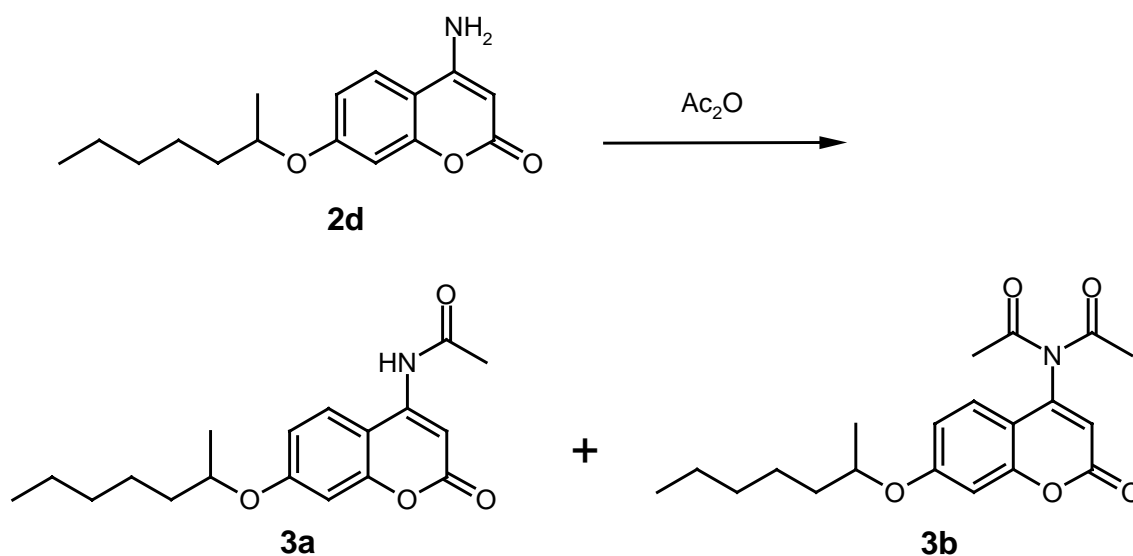
**Abb. 3.3.1:** Vilsmeier Reaktionen an substituierten 4-Aminocumarinen

Als Amidkomponenten dienen hier N,N-Dimethylformamid (DMF) und N,N-Dimethylacetamid (DMA), als Säurechlorid Phosphoroxychlorid. Im ersten Reaktionsschritt greift Phosphoroxychlorid am Sauerstoff der Amidkomponente an. Das so entstandene Iminiumsalz lagert sich zum Salz des Säurechlorides als reaktives Vilsmeier-Reagenz um

und reagiert mit den 4-Aminocumarinen. Sowohl die Formylierungs- als auch die Acetylierungsreaktionen waren bei der Umsetzung mit 4-Amino-6-hexyl-7-(1'-methyl)hexyloxycumarin (**2e**) erfolglos. Auch unterschiedliche Variationen führten zu keiner Verbesserung.

### Acetylierungsreaktionen an 4-Aminocumarin

Die Acetylierung von 4-Aminocumarin in Acetanhydrid führt sowohl mit als auch ohne Zusatz von Basen wie Pyridin oder 4-Dimethylaminopyridin zum Monoacetylierungsprodukt (Abb.6). Da es sich bei 4-Amino-7-(1'-methyl)-hexyloxycumarin (**2d**) um eine Enaminteilstruktur handelt, ist es denkbar, dass durch die Reaktion mit Acetanhydrid ein Angriff am C-Atom in der 3-Stellung des Cumarins stattfindet. Die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren des N-Acetylamincumarins schliessen diese Möglichkeit allerdings aus. (siehe spektroskopischer Teil). Bei dieser Reaktion wurde außerdem ein geringer Anteil des diacetylierten Produktes isoliert (siehe experimenteller Teil).



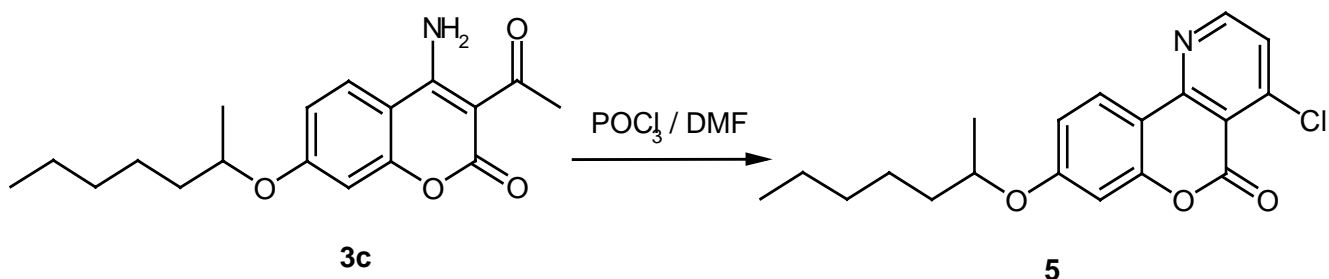
**Abb. 3.3.2:** Umsetzung von 4-Aminocumarin mit Acetanhydrid

### Anellierte 4-Chlorpyridine durch Vilsmeier-Haack-Synthese

In umfangreichen Studien haben Meth-Cohn et al. den Reaktionsverlauf der Vilsmeier-Synthese an aromatischen Amiden sowie Enamiden untersucht. Sie haben festgestellt, dass diese Synthese über ringoffene primäre Produkte durch Cyclisierung zu 2-Chlorpyridinen führt (Meth-Cohn 1978, 1981). Heber und Berghaus (1994) übertrugen nun diese von Meth-

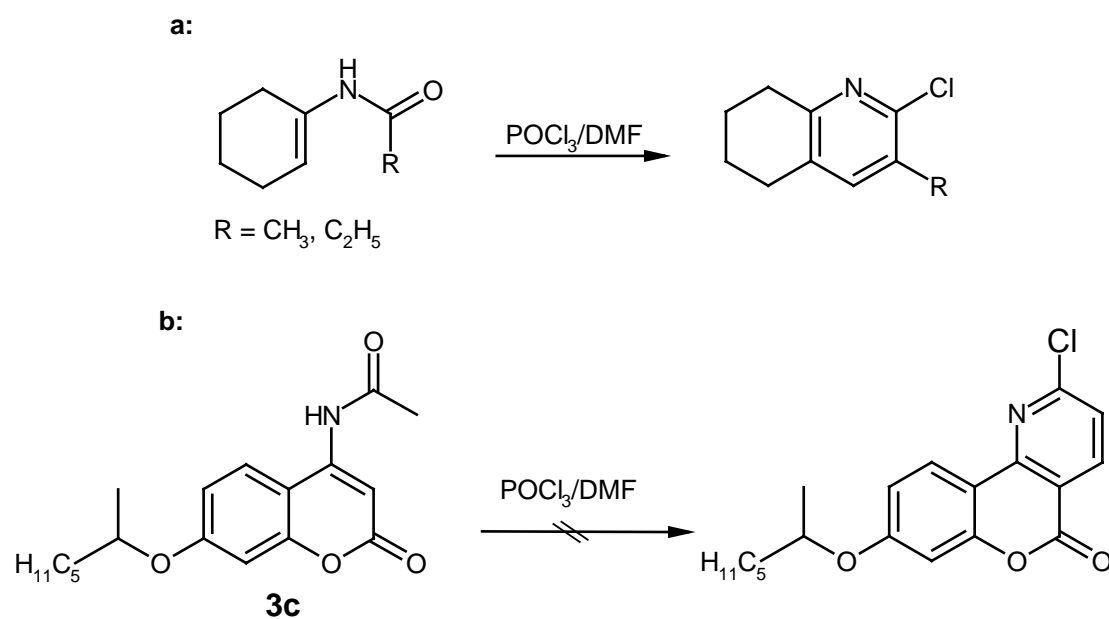
Cohn erarbeitete Ringschlußreaktion auf die vinylogenen Säureamide und konnten entsprechend substituierte anellierte 4-Chlorpyridinderivate isolieren.

Durch die Reaktion von 3-Acetyl-4-aminocumarin **3c** mit Phosphoroxchlorid in DMF erhält man das 4-Chlorpyridinderivat (Abb. 3.3.3).



**Abb. 3.3.3:** Ringschluß-Reaktion an **3c**

Meth-Cohn et al. konnten zeigen, dass bei der Verwendung von sekundären Enaminen wie 1-Acetylamincyclohexen und 1-Propionylaminocyclohexen 2-Chlor-5,6,7,8-tetrahydrochinolin bzw. 2-Chlor-3-methyl-5,6,7,8-tetrahydrochinolin dargestellt werden kann. (Abb. 3.3.4 Teil a). In Anlehnung an diese Arbeit haben wir versucht, das entsprechende 2-Chlorpyridin herzustellen. Zu diesem Zweck wurde **3a** mit Vilsmeier-Reagenz umgesetzt, was allerdings nicht zu dem gewünschten Produkt führte. Auch durch Variationen der Reaktionsbedingungen konnten keine besseren Ergebnisse erzielt werden (Abb. 3.3.4 Teil b).



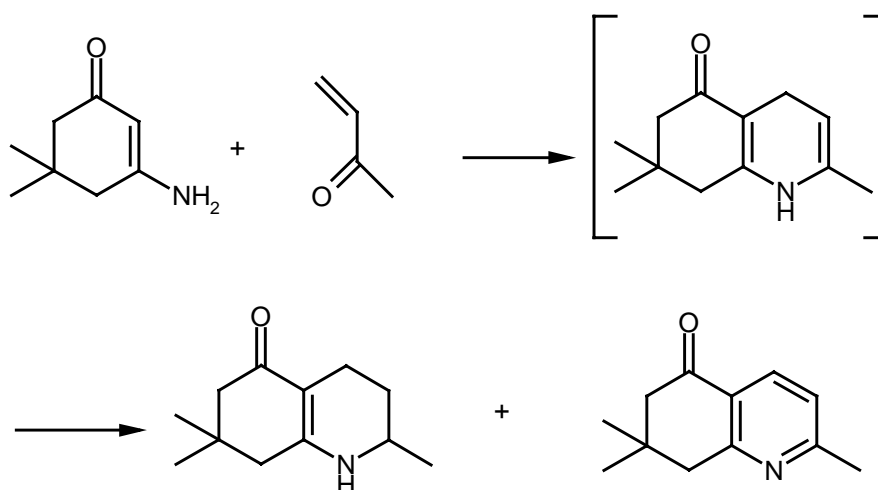
**Abb. 3.3.4 :** Ringschluß-Reaktion

### 3.4. Michael-Additionen an substituierte Aminocumarinen

#### Reaktionen vinyloger Carbonsäureamide mit $\alpha,\beta$ -ungesättigtem Keton

Von besonderer präparativer Bedeutung für die vorliegende Arbeit sind Additionsreaktionen CH-acider Verbindungen an vinyloge Carbonylverbindungen.

Bei der Umsetzung von 3-Amino-5,5-dimethylcyclohex-2-enon mit Methylvinylketon in siedender Propionsäure erhielten Greenhill und Mohamed ein Gemisch aus 2,7,7-Trimethyl-7,8-dihydrochinolin-5(6H)-on und 2,7,7-Trimethyl-1,2,3,4,7,8-hexahydrochinolin-5(6H)-on (Greenhill et al. 1979). Die Autoren erklärten dies über die Disproportionierung eines vermutlich primär entstandenen Tetrahydrochinolinderivates, welches nicht isoliert werden konnte (Abb. 3.4.1).

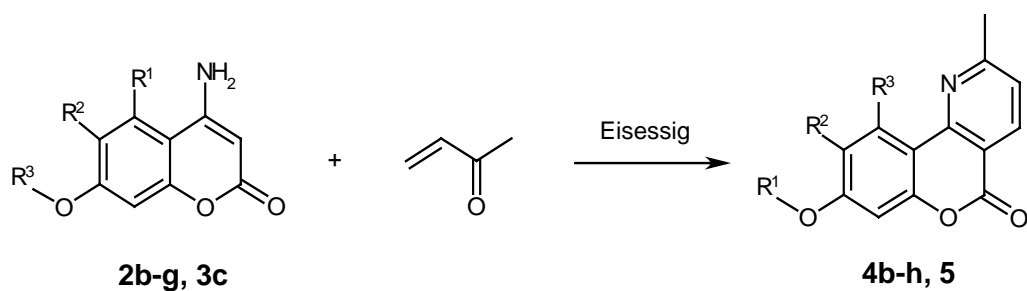


**Abb. 3.4.1:** Umsetzung von Methylvinylketon mit einem Enaminon zu Chinolinderivaten (Greenhill et al. 1979)

Die Reaktionen von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketonen mit vinylogen Amiden führten ebenfalls zu den Tetrahydropyridinen und Pyridinen (Heber und Berghaus 1994).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Reihe von substituierten 4-Aminocumarinen zu den entsprechenden Pyridinen umgesetzt (siehe Abb. 3.4.2).





Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
<b>4b</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H
<b>4c</b>	H	H	OH
<b>4e</b>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H
<b>4f</b>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH
<b>4g</b>	CH <sub>2</sub> COPh	H	H
<b>4h</b>	CH <sub>2</sub> COPh	H	OH

**Abb. 3.4.2:** Michael-Addition an substituierte 4-Aminocumarine

Vermutlich wird zunächst unter den Synthesebedingungen im Sinne einer Michael-Addition am C-3 des Coumarinringes alkyliert. Der Ringschluß erfolgt dann unter Wasserabspaltung durch den Angriff des freien Elektronenpaares des Stickstoffs an der Carbonylgruppe.

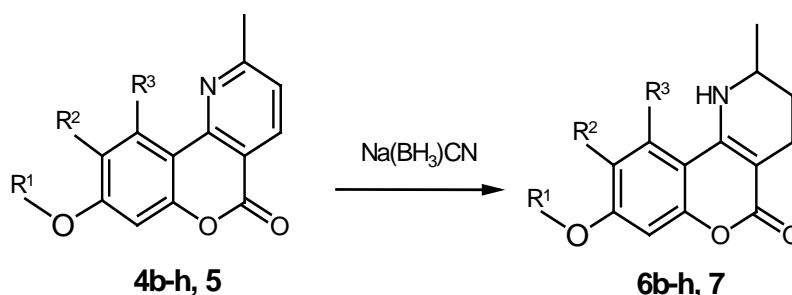
Die Aufarbeitung der Tetrahydropyridinderivate stellte sich als äußerst schwierig heraus, da diese sich während der Aufarbeitung sofort zu einer öligen Substanz umsetzten, deren Isolierung und Reinigung erfolglos blieb. Ihre Entstehung konnte jedoch mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Da die erwünschten Produkte aber durch Hydrierung der entsprechenden Pyridinderivate zugänglich waren, erübrigte sich die Isolierung aus dieser Reaktion.

### 3.5 Hydrierung von Pyridinen mit Natriumcyanoborhydrid

Cyanoborhydride sind milde Reduktionsmittel, die je nach den Reaktionsbedingungen sehr selektiv eingesetzt werden können. Es existieren neben unzähligen Einzelveröffentlichungen Übersichtsarbeiten von Borch (1971) und Lane (1973).

Die Umsetzungen von Chinolin und Isochinolin mit Natriumcyanoborhydrid  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  zu 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin und 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin wurden bereits 1975 von Gribble und Heald beschrieben. Hutchins zeigte die Selektivität von  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  in Reaktionen mit Pyridinium-Salzen mit elektronenanziehenden Substituenten in 4-Stellung (Hutchins 1979). Sie erhielten ausschließlich die entsprechenden Tetrahydropyridinderivate, die funktionellen Gruppen blieben erhalten.

Die Reaktion von Benzopyranopyridinen mit  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  in Eisessig lieferten die entsprechenden Tetrahydroderivate (siehe Abb. 3.5.1).

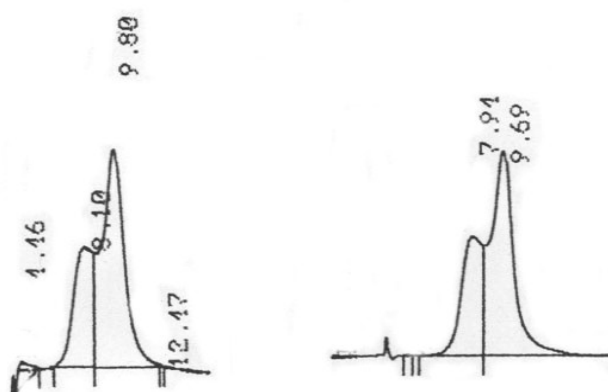


Verbindung	$\text{R}^1$	$\text{R}^2$	$\text{R}^3$
<b>6b</b>	H	$\text{C}_6\text{H}_{13}$	H
<b>6c</b>	H	H	OH
<b>6d</b>	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$	H	H
<b>6e</b>	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$	$\text{C}_6\text{H}_{13}$	H
<b>6f</b>	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$	H	OH
<b>6g</b>	$\text{CH}_2\text{COPh}$	H	H
<b>6h</b>	$\text{CH}_2\text{COPh}$	H	OH

**Abb 3.5.1:** Reduktionsreaktion an Benzopyranopyridinen

Es ist anzunehmen, dass sich zunächst ein Pyridiniumacetat bildet, welches mit  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  zum Dihydropyridin reduziert wird. Eine erneute Salzbildung führt zum Tetrahydropyridin. Bei der Aufarbeitung erwies sich die Isolierung und Reinigung der Amine als schwierig, sie wurden meistens mittels Säulenchromatographie gereinigt. Da sie teilweise als Öl isoliert wurden, konnte in solchen Fällen auf eine Elementaranalyse verzichtet und die angenommenen Strukturen durch hochaufgelöste Massenspektren bestätigt werden.

Aufgrund der chiralen Zentren am C2 bzw. am C1' der Seitenkette ist es möglich, Stereoisomere zu erhalten. Im Falle von **6f** konnte gezeigt werden, dass ein Diastereomerengemisch vorliegt. Die Untersuchung durch Hochleistungsflüssigchromatographie zeigte im Chromatogramm zwei Signale bei 8.1 min und 9.8 min (siehe Abb. 3.5.2). Zudem waren einige Signale im  $^{13}\text{C}$ -Spektrum doppelt aufgetreten, was ebenfalls auf ein Diastereomerengemisch hinwies.

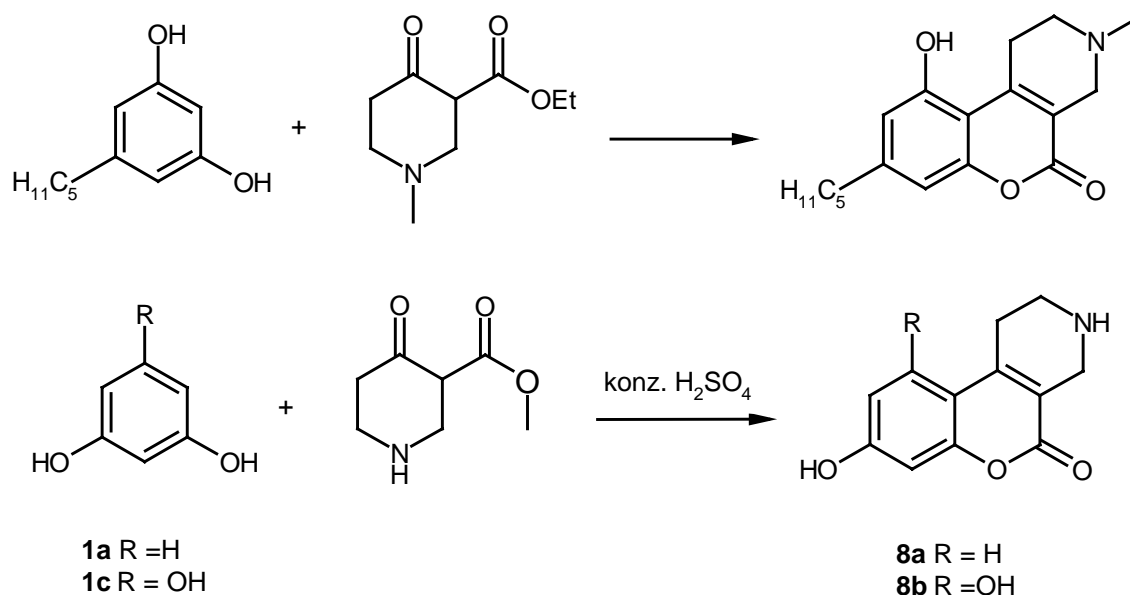


**Abb. 3.5.2** : Ausschnitten aus den Chromatogrammen der Verbindung **6f**

### 3.6. Synthese azaanaloger Tetrahydrocannabinolderivate

#### Anellierte Tetrahydropyridine

Anker und Cook gelang die erste Synthese eines stickstoffhaltigen Tetrahydrocannabinols (Anker et al. 1946). Die Reaktion von Olivetol und 3-Carbethoxy-1-methyl-4-piperidonhydrochlorid lieferte in Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure und Phosphoroxychlorid das anellierte Cumarin (siehe Abb. 3.6.1). Conner et al. beschrieben 1984 die Kondensation verschiedener Phenole mit 3-Carbethoxy-4-piperidon und haben festgestellt, dass die Reaktion für Phenole mit einem elektronenliefernden Substituenten (+I) an der meta-Stellung zu der Hydroxygruppe gut verläuft, da diese Funktion die para-Position besser aktiviert und damit die Reaktion mit dem Ketoester initiiert (Conner et al. 1989 und Unangst et al. 1997).



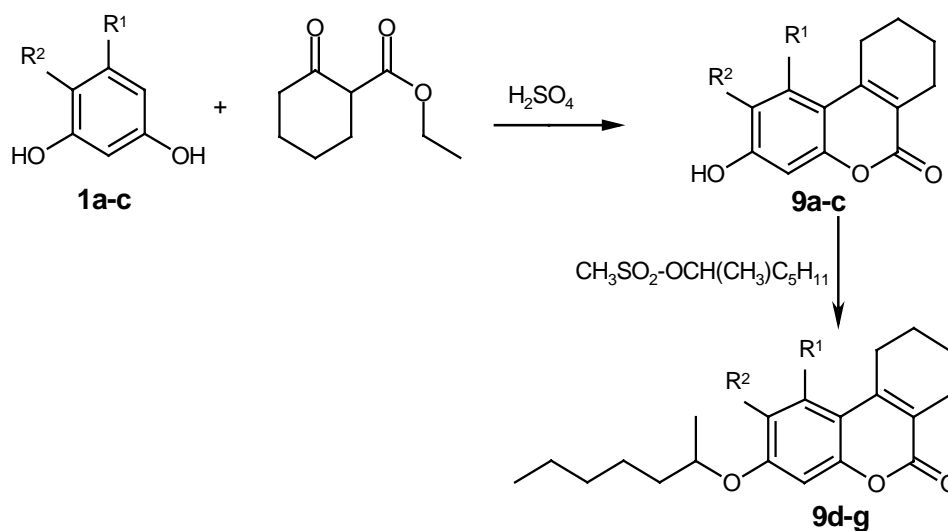
**Abb. 3.6.1:** Synthese anellierter Tetrahydropyridine

Aufgrund unserer Überlegungen zur Aufstellung einer Struktur-Wirkungs-Beziehung zu den Inhibitoreigenschaften der Tetrahydrobenzopyrano[3,4-b]pyridinen an der CDK1, sollte eine Antwort auf die Frage nach der Stellung des Stickstoff gegeben werden. Daher übernahmen wir diese Reaktion zur Synthese entsprechender Tetrahydrobenzopyrano[3,4-c]pyridine.

Durch Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure auf eine Mischung von Resorcin bzw. Phloroglucin mit 3-Carboethoxy-1-methyl-4-piperidon-hydrochlorid in trockenem Ether bei 0 °C sind die Verbindungen 8a und 8b in relativ guten Ausbeuten erhältlich. 4-Hexylresorcin **1b** reagierte überraschenderweise nicht. Auch die Variation der Versuchsbedingungen ergab kein anderes Ergebniss. Da aber die ersten Substanzen keine Wirkung auf das CDK1 –Enzym hatten, wurde diese Reaktion nicht weiterverfolgt und optimiert.

### 3.7. Synthese mit Cyclohexanoncarbonsäureethylester

Eine weitere Überlegung zur Struktur-Wirkungs-Beziehung war die Frage, ob im tricyclischen Ringsystem überhaupt ein Stickstoffatom erforderlich ist. Zu diesem Zweck führten wir Kondensationsreaktionen durch, die zu 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromen führten (Abb.3.7.1).



Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
<b>9a</b>	H	H
<b>9b</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>
<b>9c</b>	OH	H
<b>9d</b>	H	H
<b>9e</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>
<b>9f</b>	OH	H
<b>9g</b>	OCH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H

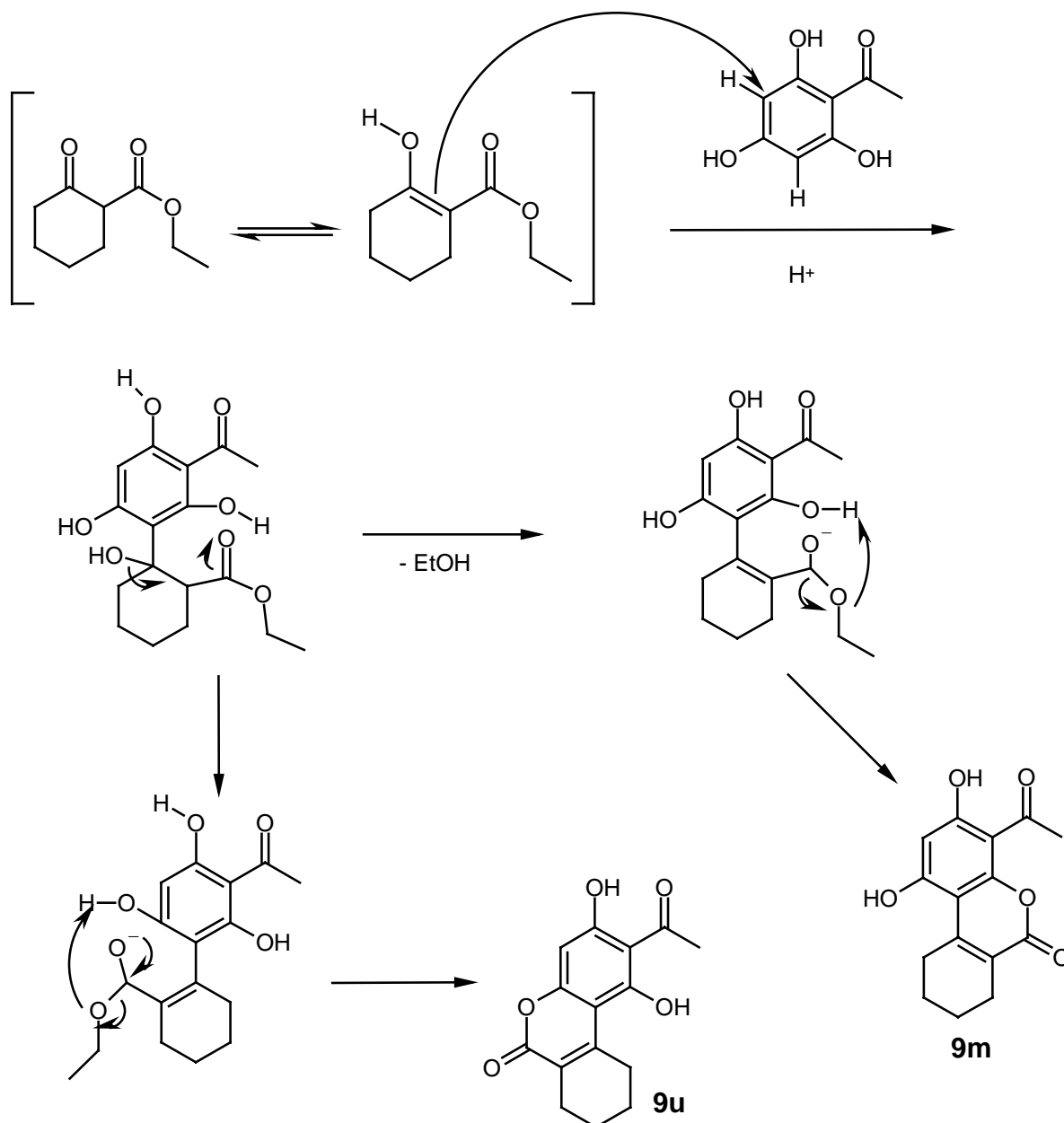
**Abb. 3.7.1:** Synthese von 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromenderivat

Die Pechmann-Reaktion ist eine der bekanntesten Cumarinsynthesen. Durch die Kondensation eines Phenols mit  $\beta$ -Oxocarbonsäureestern werden Cumarine erhalten (Pechmann 1884). Sethna et al. entwickelten in Anlehnung zur Pechmann-Kondensation eine Methode zur Herstellung von 7-Hydroxy-4-methyl-cumarin (Sethna 1953).

Durch die Reaktion von Resorcin, Hexylresorcin bzw. Phloroglucin in trockenem Ether mit konzentrierter Schwefelsäure bei 0 °C erhält man die entsprechenden 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromenderivate in guter Ausbeute (Abb.3.7.1).

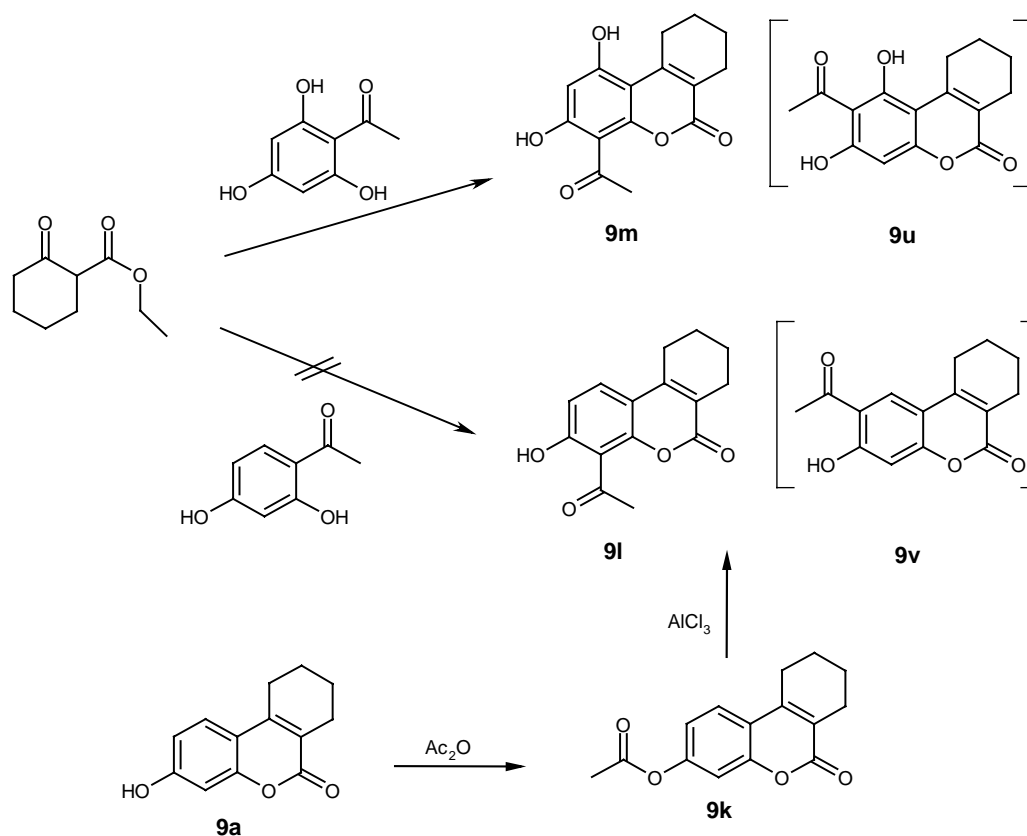
Um eine Analogie zu den Benzopyrano[4,3-b]pyridinen zu erreichen, wurden die 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromene in den folgenden Reaktionsschritten mit Methansulfonsäure-2-hexylester umgesetzt (siehe Alkylierungsreaktionen an 4-Aminocumarinen). Die Alkylierung von 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]-chromen-6-on (**9c**) lieferte zwei Produkte, das mono- und das di-alkylierte Produkt. Diese beiden Verbindungen wurden mittels Säulenchromatographie getrennt (siehe experimenteller Teil dieser Arbeit).

Die Molecular-Modelling Rechnungen zeigten, dass mit einer Acetyl-Gruppe in der 2-Position möglicherweise bessere Wechselwirkungen mit dem Rezeptor erzielt werden könnten. Dies veranlasste uns, die oben genannte Kondensationsreaktion mit Trihydroxyacetophenon in der Hoffnung durchzuführen, dass der Ringschluß zu der von uns erwünschten Stellung stattfindet (siehe Mechanismus Abb. 3.7.2).



**Abb. 3.7.2:** Postulierter Reaktionsmechanismus der Kondensation von Trihydroxyacetophenon mit Cyclohexanoncarbonsäureethylester in Anwesenheit von konz. Schwefelsäure.

Um festzustellen, welches Isomer nun entstanden ist, wurden die NMR spektroskopischen Methoden herangezogen. Es konnte gezeigt werden, dass bei der Umsetzung mit Trihydroxyacetophenon **9m** als einziges Produkt entstanden war (siehe Spektroskopie).



**Abb. 3.7.3:** Synthese der anellierten Coumarine **9m** und **9l**. In Klammern dargestellte Verbindungen (**9u** und **9v**) sind mögliche Isomere, die bei Reaktion entstehen können.

Die Umsetzung von Cyclohexanoncarbonsäure mit Dihydroxyacetophenon führte nicht zu dem erwarteten Produkt. 4-Acetyl-3-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[*c*]chromen-6-on **9l** konnte aber durch Acetylierung von **9a** mit Acetanhydrid und anschließender Umlagerung nach Fries isoliert werden (Confalone et al. 1982).

Nachdem durch die Testung an der CDK1 festgestellt wurde, dass sich **9c** als mögliche Leitstruktur für die Blockade dieser Proteinkinase anbietet, haben wir versucht, durch verschiedene Abwandlungen am Grundgerüst eine Vielfalt von Substanzen der 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromen-6-on-Reihe zu erhalten (Abb. 3.7.4 Reaktionen mit **9c**).

In einem ersten Schritt wurde versucht, die Position 2 des Aromaten durch eine elektrophile Substitution mit einer Acetyl-Gruppe zu besetzen. Wir wählten die Friedel-Crafts-Acylierung,



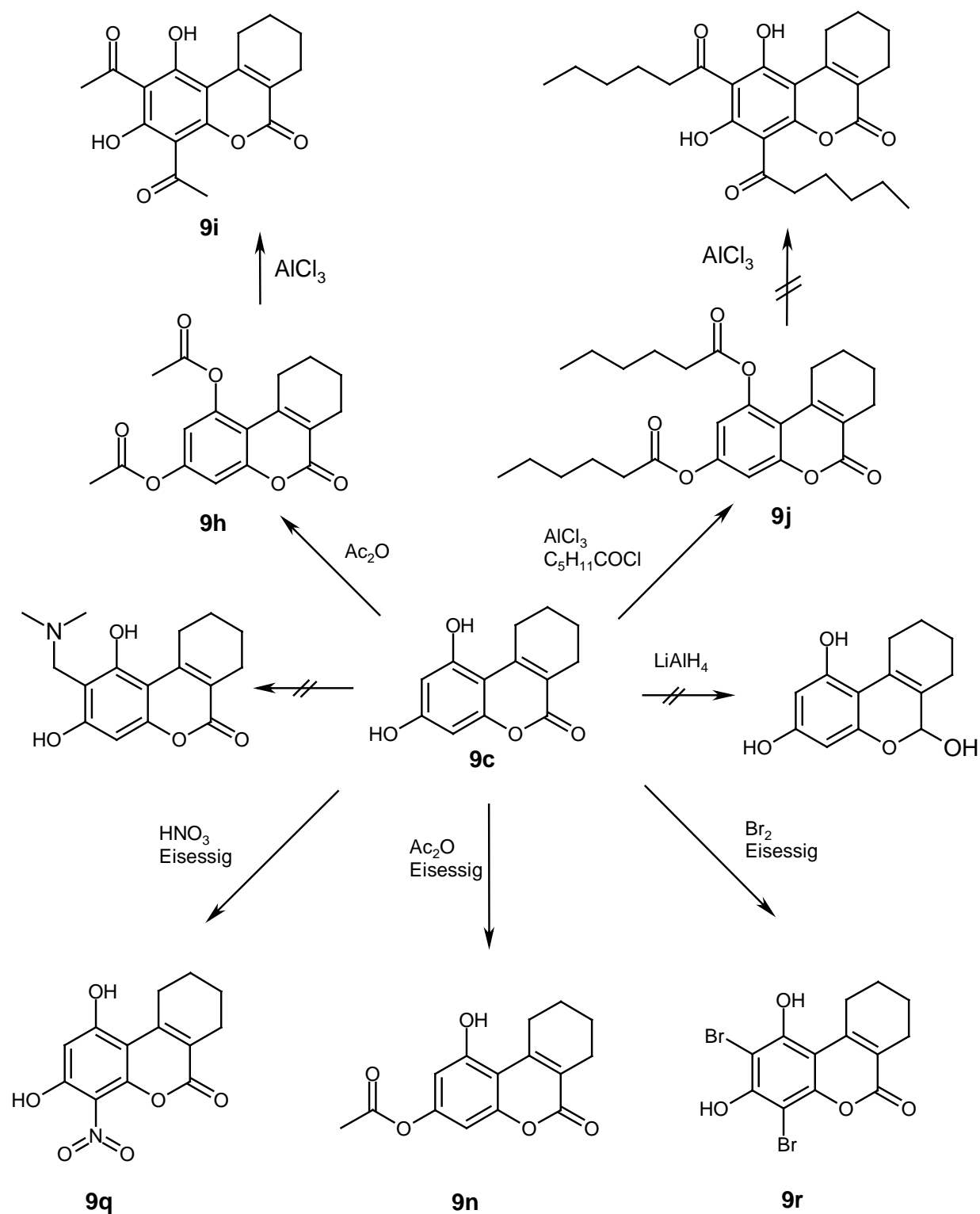
die aber wegen der Anwesenheit der phenolischen Hydroxygruppen fehlschlug. Die Reaktion führte zur Acetylierung der beiden Hydroxygruppen an der 1- und der 3-Position. Die diacetylierte Verbindung **9h** lässt sich allerdings auch durch einfache Umsetzung mit Acetanhydrid herstellen. Eine anschließende intermolekulare Umlagerung (Fries-Umlagerung, Henecka 1973 und Kwart et al. 1969) des Diesters sollte das gewünschte Produkt (2-Acyl-1,3-dihydroxy..) liefern. Amin et al. beschrieben eine Methode, die durch Umsetzung von Hydrochinondiacetat mit Aluminiumchlorid bei 160-165 °C zu 2,5-Dihydroxyacetophenon führt (Amin 1972). Die Umsetzung mit Aluminiumchlorid bei 160 °C führte zu der Verschiebung der beiden Acetylgruppen auf die 2- bzw. 4-Position **9i**.

Um die Lipophilie der Substanzklasse zu erhöhen und auch eine weitere Analogie zu den Benzopyranopyridinen mit langkettigen Alkylresten zu erreichen, wurde ein 1,3-Diacylderivat des Chromenons **9j** synthetisiert. Die Reaktion von **9c** und Hexansäurechlorid in Methylenchlorid unter Zusatz von Aluminiumchlorid ergab **9j** in 50%iger Ausbeute. Versuche zur Umlagerung der beiden Acylreste gelangen nicht. Bei den Reaktionstemperaturen von über 160 °C zersetzte sich die Mischung sofort, **9c** konnte isoliert werden. Bei Temperaturen unter 160 °C reagierte die Verbindung nicht.

Eine Monoacetylierung an **9c** wurde durch Umsetzung mit Acetanhydrid in Eisessig als Lösungsmittel erzielt. Die Umlagerung an 3-Acetyloxy-1-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on **9n** führte ebenfalls zu 4-Acetyl-1,3-dihydroxy-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on **9m**.

Bei den Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen am Molekül **9c** sollten auch Versuche zur Einführung elektronenziehender Substituenten unternommen werden.

Durch die positiven mesomeren Effekte der Hydroxygruppe wird die Nitrierung begünstigt, wobei die eintretende Nitrogruppe in o- und p-Stellung dirigiert wird. Aromatische Hydroxyverbindungen werden bereits von stark verdünnter, wässriger Salpetersäure nitriert, wenn die Salpetersäure salpetrige Säure enthält. Ist dies nicht der Fall, so wird eine Induktionsperiode durchlaufen, in welcher die Bildung kleiner Mengen salpetriger Säure in bislang ungeklärter Weise stattfindet (Houben-Weyl). Bei den üblichen Nitrierungsmethoden wurde die Reaktionsmischung sofort braun. Mit 40%iger Salpetersäure in Eisessig lief die Nitrierungsreaktion mit 38%iger Ausbeute (siehe Experimenteller Teil für die genauen Angaben zur Reaktion).



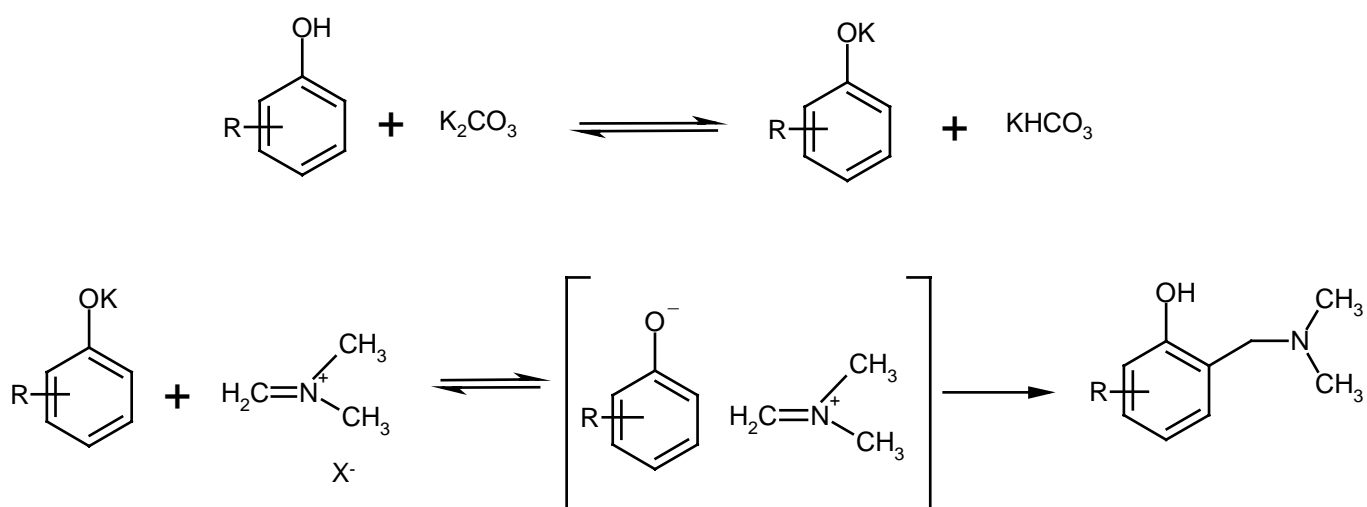
**Abb. 3.7.4:** Reaktionen mit der Verbindung **9c**

Die elektrophile Substitution von Brom fand ohne Katalysator statt. Im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Vorschriften führte die Umsetzung von **9c** mit äquimolaren

Mengen an Brom in Eisessig bei Raumtemperatur zu der dibromierten **9r** und nicht wie erwartet zu der monobromierten Verbindung (Houben-Weyl; Adams et al 1956, Organikum 1992).

Weiterhin haben wir versucht, die Lacton-Gruppierung in **9c** zu einem Alkohol zu reduzieren. Alle Reaktionen mit  $\text{NaBH}_4$  und  $\text{LiAlH}_4$  in Ether blieben leider erfolglos (Semet und Longaray 1978).

Zur weiteren Funktionalisierung wurden Versuche zur Einführung einer basischen Seitenkette in der Position 2 unternommen. Pochini et al. beschrieben eine Synthesemethode zu selektiven Darstellung von Phenol-Mannichbasen unter Einsatz eines Fest-Flüssig-Phasen Transfer-Katalysators (Pochini 1983). Die Reaktion von Phenolen in Methylenechlorid (oder Toluol) in Anwesenheit von  $\text{K}_2\text{CO}_3$  als fester Base und festem Methyleniminiumsalz (Eschenmoser Salz) bei Raumtemperatur führte über ein Kaliumsalz des Phenols zu dem ortho-monoaminomethylierten Produkt (Abb.3.7.5).

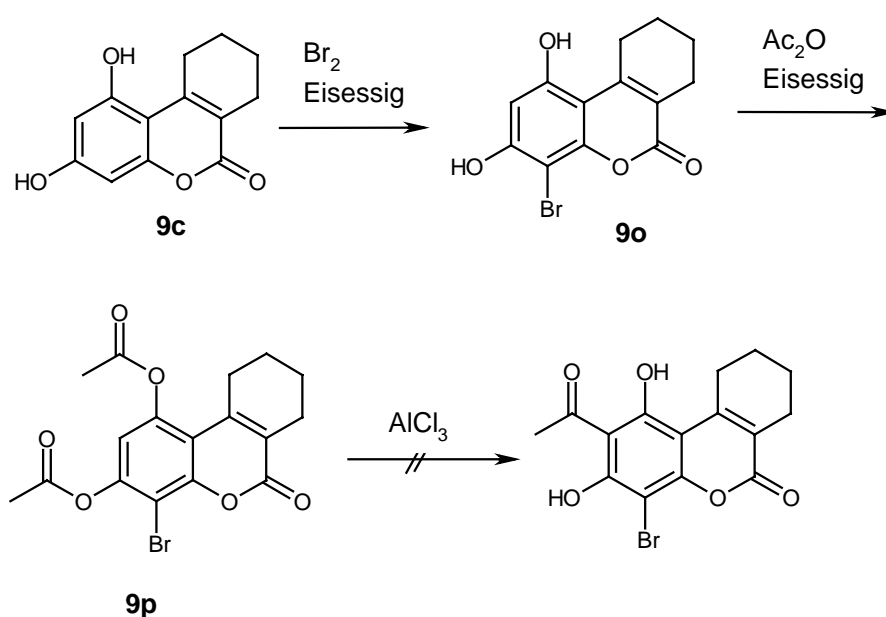


**Abb. 3.7.5:** Reaktionsmechanismus der Mannichreaktion an Phenolen (Pochini 1983)

Wir übernahmen diese Reaktion und haben durch mehrere Variationen versucht, das gewünschte Produkt zu synthetisieren. Eine möglicher Grund, dass **9c** unter diesen Bedingungen nicht reagiert, ist die schlechte Löslichkeit des **9c** in Methylenechlorid und Toluol. Aber auch die Reaktionen in weiteren Lösungsmitteln führten nicht zum gewünschten Produkt.

Um eine Substitution an der Position 2 zu erzielen, haben wir einen weiteren Syntheseweg erarbeitet (siehe Abb.3.7.6). Die Monobromierung an **9c** gelingt in 38% iger Ausbeute nicht durch die äquimolare Menge an Brom, sondern durch den Brom-Überschuß (1: 0.8 mmol) (verdünnt in Eisessig) und sehr langsames Zutropfen zu der Reaktionsmischung.

Die Acetylierung erfolgte durch Umsetzung von 4-Bromo-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[*c*]chromen-6-on **9o** mit Acetanhydrid bei 120-130 °C. Diesem Schritt sollten eine Fries-Umlagerung und eine anschließende Dehalogenierung folgen. Die Synthese scheiterte aber bereits bei der Umlagerung, da sich die Substanz bei 160 °C zersetzte.

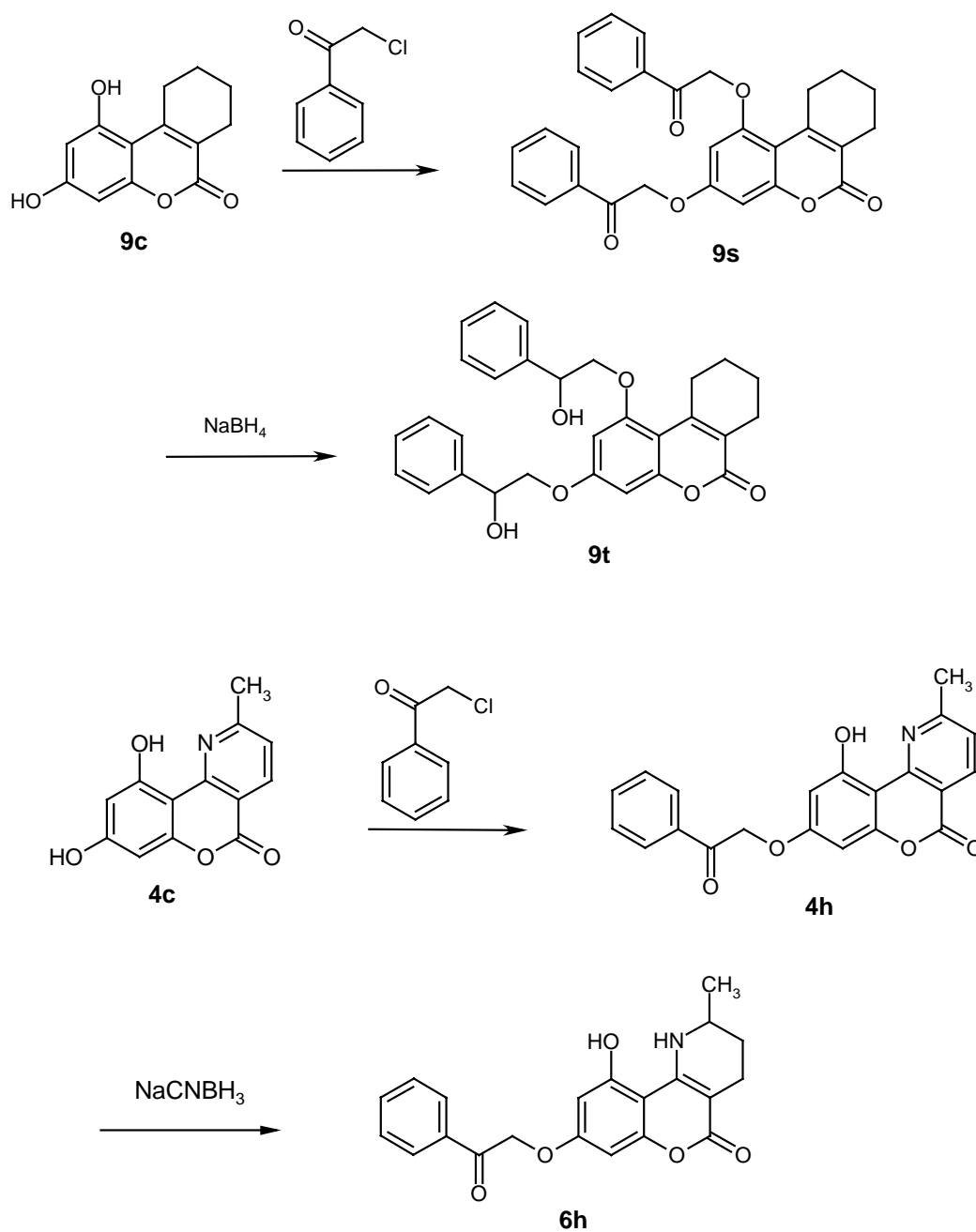


**Abb. 3.7.6:** Monobromierung und anschließende Acetylierung an **9c**

Die Reaktion von Chloracetophenon mit **9c** in trockenem Aceton lieferte in Anwesenheit von K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> als Base ausschließlich die (unerwünschte) Veretherung der beiden Hydroxygruppen in guten Ausbeuten, während die gleiche Reaktion mit 8,10-Dihydroxy-2-methylbenzopyrano[3,4-*c*]pyridin **4c** die (erwünschte) Veretherung an der Hydroxygruppe in Position 8 ergab (siehe Abb. 3.7.7). Es ist denkbar, dass sich durch Wechselwirkungen (z. B. eine Wasserstoff-Brücken-Bindung) zwischen der Hydroxy-Gruppe an der Position 10 und dem Stickstoff an der Position 1 kein Kaliumsalz bildet und folglich keine Alkylierung stattfindet.

Die anschließende Reduktion der Carbonylgruppe mit NaBH<sub>4</sub> führte zu 1,3-Bis-(2-hydroxy-2-phenylethoxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on **9t** (Abb 3.7.7). Auf diesem Weg

konnten wir sowohl zwei Chiralitätszentren in das Molekül einbauen, um durch die beiden Hydroxy-Gruppen möglicherweise bessere Wechselwirkungen mit dem Rezeptor zu erzielen.



**Abb. 3.7.7** : Reaktion von **9c** mit Chloracetophenon und anschließende Reduktion

Die weitere Reduktion von **6h** ist noch nicht gelungen, da die Ausbeute der ersten Hydrierung sehr schlecht ist, so dass keine weiteren Versuche möglich sind.

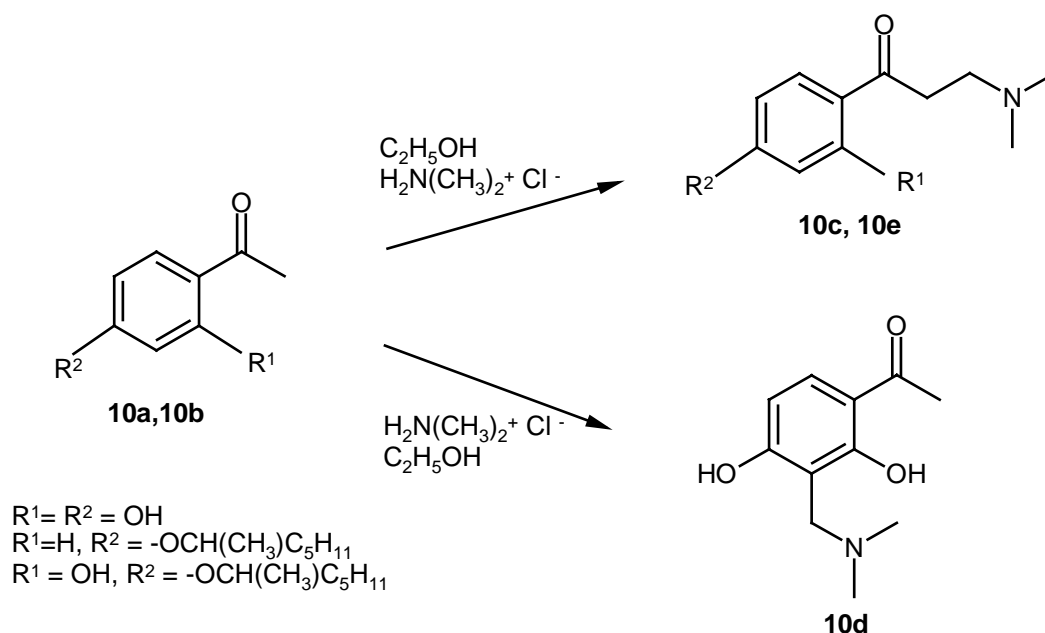
### 3.8. Synthese von bicyclischen Verbindungen

Ein weiteres Ziel der Arbeit ist eine Antwort auf die Frage, ob bicyclische Verbindungen, die einige Strukturmerkmale der Benzopyranopyridine aufweisen, ebenfalls eine inhibitorische Eigenschaft gegenüber der CDK1 zeigen.

Der erarbeitete Syntheseweg sah ausgehend von Dihydroxyacetophenon über Mannichbasen die Darstellung substituierter Pyridine vor, die anschließend zur Tetrahydropyridinstruktur hydriert werden.

#### Mannich-Reaktionen

Mannichreaktionen unter Standardbedingungen an Dihydroxyacetophenon führten zu 2,4-Dihydroxy-3-(N,N-dimethylaminomethyl)acetophenon **10d**, welches in der 3-Stellung aminomethyliert ist (Organikum 1993). Zymalkowski et al. beschrieben eine Vorschrift zur Darstellung von  $\beta$ -Dimethylamino-2,4-dihydroxy-propiofenon (Zymalkowski 1965). Die Synthese unterscheidet sich gegenüber den üblichen Methoden nur darin, dass der Reaktionsansatz nach der Reaktion mit Dimethylammoniumhydrochlorid und Formaldehyd mit der 6-fachen äquimolaren Menge an heißem Aceton versetzt und anschließend für drei Tage bei 4 °C aufbewahrt wird. Das Produkt kristallisiert in 7-11% iger Ausbeute aus (Abb. 3.8.1).



**Abb. 3.8.1 :** Mannich-Reaktionen an alkoxysubstituierten Acetophenonen

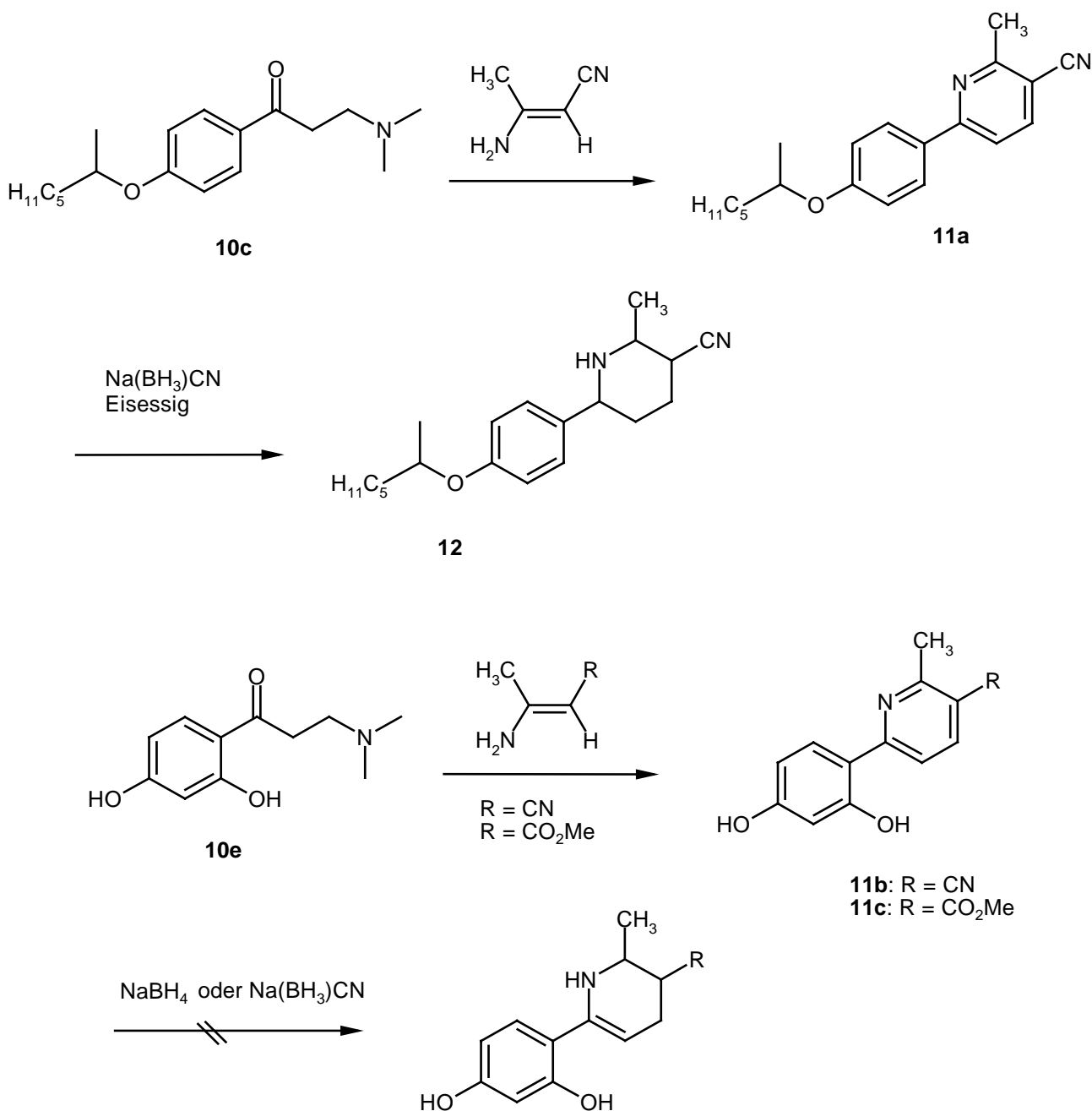
**10a** und **10b** wurden durch Alkylierung mit Methansulfonsäure-2-heptylester hergestellt. Während **10a** glatt zu **10c** reagierte, gelang die Umsetzung von **10b** zu der entsprechenden Mannichbase nicht. Werner beschrieb 1976 eine Methode, die in einer Eintopfreaktion von 2-Hydroxyacetophenon mit Paraformaldehyd und Dimethylammoniumchlorid in einem polaren aprotischen Lösungsmittel wie DMF über eine intermediär entstandene Bis-Mannichbase zur 4-Chromanon-Mannichbase führte (Werner 1976). Über eine ähnliche Reaktion berichteten auch Rehse et al. (Rehse 1975, siehe auch Cox et al. 1989). Demnach wird die am Aromaten unsubstituierte Mannichbase unter den Reaktionsbedingungen aus 1-(2-Hydroxyphenyl)-3-phenyl-1,3-propandion gewonnen. Auch die Reaktionen mit N,N-Dimethylmethyleniminiumchlorid (das entsprechende Iodid wird als Eschenmosersalz bezeichnet) in unterschiedlichen Lösungsmitteln (DMF, Eisessig, Ethanol) brachten keine weiteren Ergebnisse. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Hydroxygruppe an der 2-Position mit der Carbonylgruppe über eine Wasserstoffbrücken-Bindung in Wechselwirkung steht, so dass **10b** nicht als CH-acide Komponente reagieren kann.

Versuche, die gleiche Reaktion mit Trihydroxyacetophenon durchzuführen, blieben auch bei Einsatz von Eschenmosersalz erfolglos. In allen Fällen zersetzte sich die Reaktionsmischung zu braunem polymerem Material.

### Umsetzungen mit $\beta$ -Aminocrotonsäurederivaten

Zur Cyclisierung der Mannichbasen wurde eine von Troschütz erarbeitete Methode herangezogen (Roth und Troschütz 1977, Heber 1979). Er untersuchte Reaktionen von Enaminen mit Keton-Mannichbasen und zeigte, dass Enamine im Sinne einer Michael-Addition am intermediär gebildeten Acrylophenon angreifen.

Unter der Annahme, dass bei den Reaktionsbedingungen eine thermische Amineliminierung stattfindet, entsteht in situ eine  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Carbonylverbindung, die elektrophil das Enamin ( $\beta$ -Aminocrotonsäurenitril bzw.  $\beta$ -Aminocrotonsäuremethylester) am C-2 angreift und so zu den substituierten Pyridinen (**11a-c**) kondensiert (Abb. 3.8.2).



**Abb. 3.8.2:** Umsetzungen von Keton-Mannichbasen mit  $\beta$ -Aminocrotonsäurenitril und anschließende Reduktion.



Die Reaktionen werden in Ethanol mit guter Ausbeute durchgeführt. Im Falle von **11a** mußte die Substanz mittels Säulenchromatographie gereinigt werden.

Der nächste Reaktionsschritt zum Tetrahydropyridin gelang leider nur bei **11a**. Die Pyridine **11b** und **11c** reagierten nicht. Hier wurde als Reduktionsmittel sowohl  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  als auch  $\text{NaBH}_4$  eingesetzt (Booker 1975, Kuthan 1965, 1971, siehe auch Hutchins 1979) (siehe Abb.3.8.2).

Es ist anzumerken, dass die in der genannten Literatur beschriebenen Reduktionsverfahren generell zu einem Tetrahydropyridin-Derivat führen. Bei der Reduktion von **11a** gelang eine vollständige Hydrierung des Pyridinrings (siehe im spektroskopischen Teil die Strukturaufklärung von **12**).

## 4. Spektroskopie

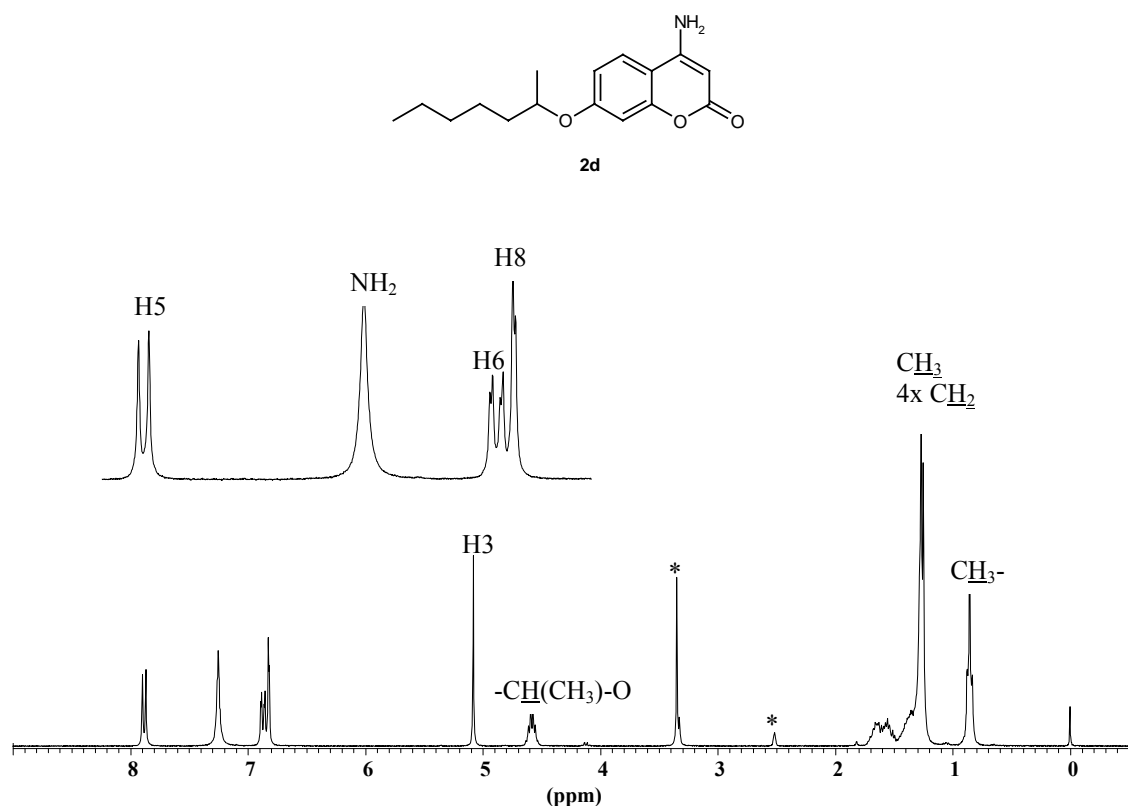
### 4.1. $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie

#### 4-Aminocumarine

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Cumarin ist das Auftreten eines AX-Systems (zwei Dubletts), das zu den beiden Protonen (H3 und H4) des Pyronrings gehört, charakteristisch. Da aber die 4-Position in den 4-Aminocumarinen besetzt ist, fehlen diese Signale im Protonenspektrum. Andererseits zeigen im 4-Amino-7-hydroxycumarin (**2a**) die Protonen H6 und H8 ein AB-System mit einer Kopplungskonstante von etwa 8 Hz. H3 zeigt eine chemische Verschiebung bei etwa 5.0 ppm.

Im 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin (**2c**) werden zwei breite Signale für die beiden Hydroxygruppen bei 10.1 ppm bzw. 11.1 ppm registriert. Der Hydroxygruppe an C5 wird das tieffeldverschobene Signal zugeordnet, da diese mit der benachbarten Aminogruppe eine Wasserstoffbrücke bildet.

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des am Sauerstoff veretherten 4-Aminocumarinderivates **2d** ist in der Abbildung 4.1.1. dargestellt.



**Abb. 4.1.1:** Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) von 4-Amino-7-(1'-methylhexyloxy)cumarin **2d**, \* 2.5 ppm Lösungsmittelsignal  $\text{DMSO-d}_6$ , 3.3 ppm HDO

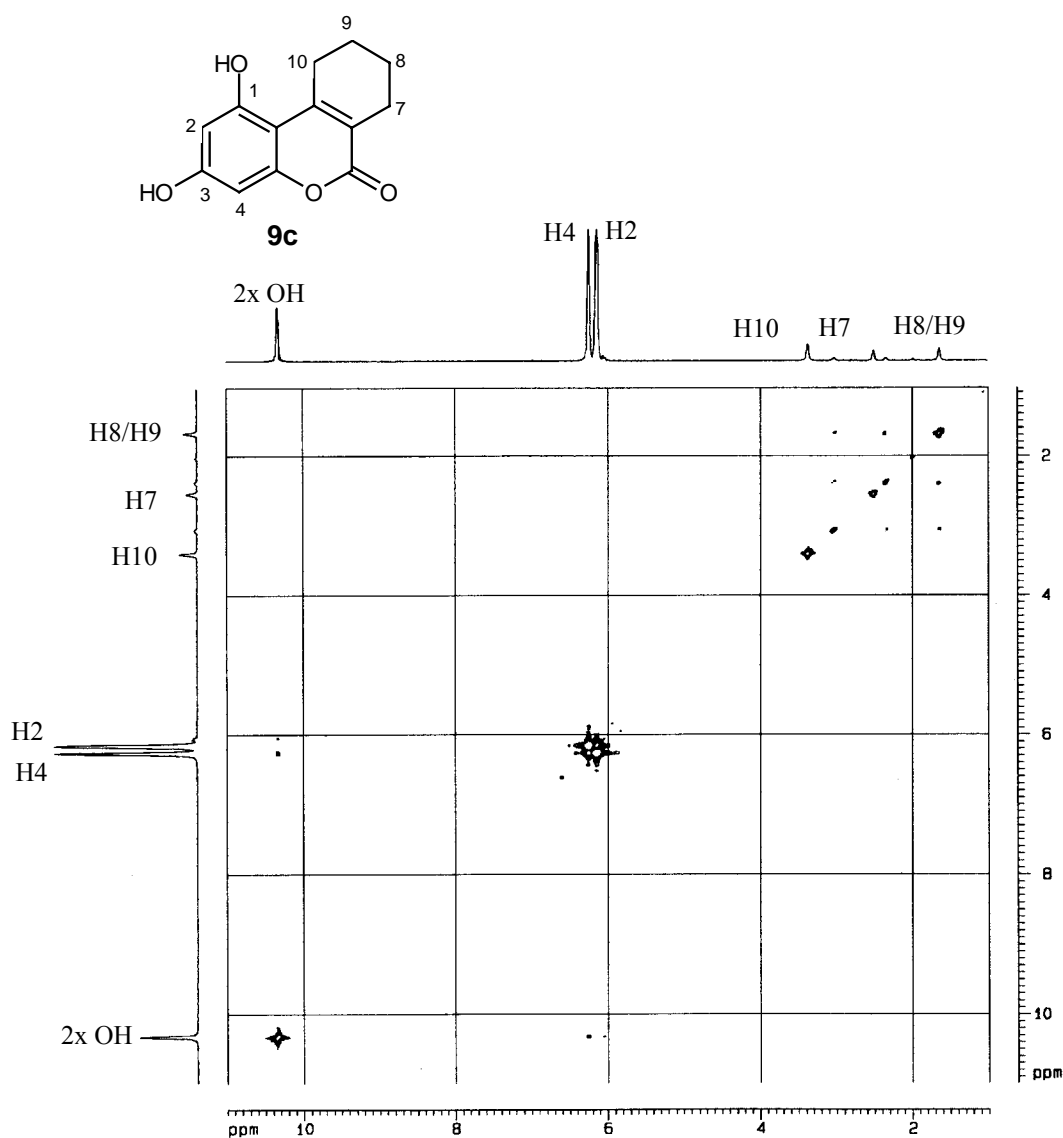
Die Signale der Protonen der aliphatischen Seitenkette sind im höheren Feld des Spektrums zu finden. Das Signal der endständigen Methylgruppe spaltet durch Kopplung mit der benachbarten Methylen-Gruppe zu einem Triplett auf ( $^3J = 6.4$  Hz). Die weiteren 4 Methylen- und die Methyl-Gruppen zeigen ein breites Multiplett. Im Aromatenbereich geben die Protonen H6 und H8 eine meta-Kopplung ( $^4J = 2.3$  Hz), wobei H6 eine weitere  $^3J$ -Kopplung mit H5 zeigt. Das breite Signal für die Aminofunktion entspricht zwei Protonen. Dies ist ein Beweis dafür, dass keine Alkylierungsreaktion am Stickstoff stattgefunden hat.

Auch die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der N-acetylierten (**3a**) und der am C3-acetylierten (**3c**) 4-Aminocumarine zeigen interessante Effekte. Da die beiden Substanzen das gleiche Molekulargewicht haben, war das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum eine wertvolle Methode zur Strukturaufklärung. Das Spektrum von **3c** zeigt für die Aminogruppe ein Signal mit dem Integral zwei ( $\delta = 6.39$  ppm, mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar). Dies war ein Beweis dafür, dass hier eine Acetylierung an C3 stattfand und die Aminogruppe nicht angegriffen wurde. Außerdem war das Signal des Protons H3 verschwunden.

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **3a**, der N-acetylierten Verbindung, zeigt gegenüber dem der Ausgangsverbindung für das H3 ein um 2 ppm tieffeldverschobenes Signal (bei 6.8 ppm). Die Elektronendichte am Stickstoff wird durch die Substitution eines Wasserstoffes durch die Acetylgruppe verringert. Dies kann sich wegen des Vinylogieprinzips auf H3 übertragen. Außerdem führt die Anisotropie der Carbonylfunktion zur eine geringeren Abschirmung des Protons H3, daher erscheint sein Signal im tieferen Feld.

**Tetrahydrobenzochromen-6-on**

Während sich die Signale der C-Atome mit Hilfe einer direkten C,H-Korrelation und eines C,H-COSY-Spektrums gut zuordnen ließen (siehe  $^{13}\text{C}$ -Spektroskopie), erwies sich die Zuordnung der Protonensignale als schwierig. Die beiden Signale für die Protonen im Aromaten-Bereich erscheinen sehr nahe beieinander (6.15 und 6.25 ppm), außerdem treten die beiden Hydroxygruppen meist als ein verbreitertes Signal oder als zwei Signale mit fast gleicher chemischer Verschiebung auf. Für die Zuordnung der Protonensignale wurden H,H-COSY-Spektren aufgenommen (Abb. 4.1.2). Ein COSY-Spektrum gibt Einblick in das Kopplungsnetzwerk des Spinsystems. Es eignet sich dazu, die strukturellen Nachbarschaftsbeziehungen zu studieren.

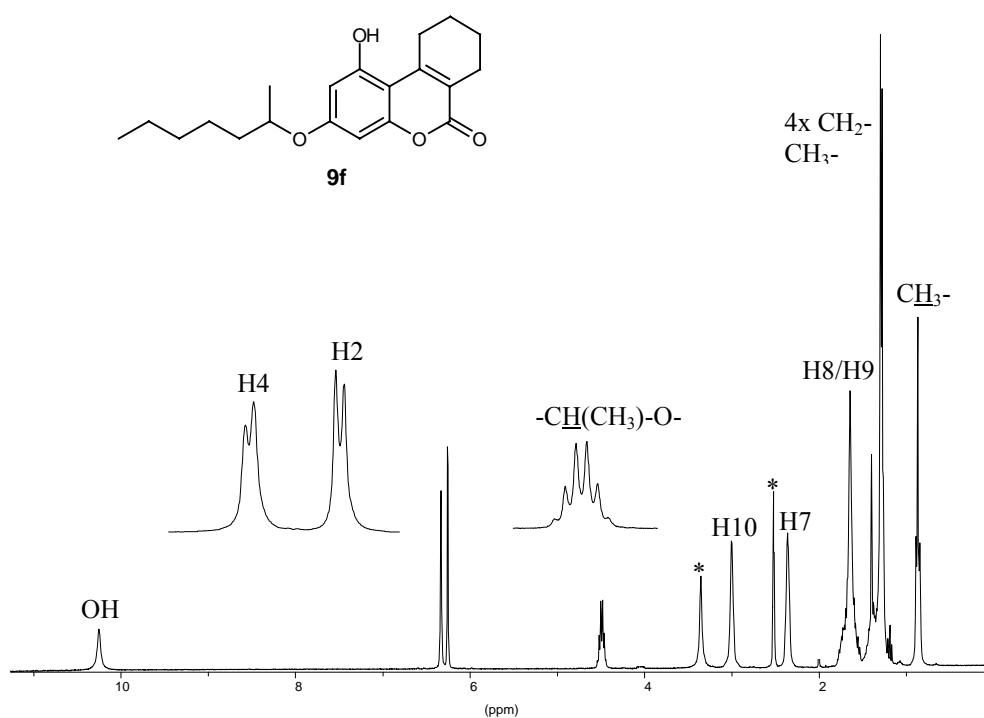


**Abb.4.1.2** : H,H-LR-COSY von 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on **9c**

Dadurch, dass die Signale der Hydroxygruppen zu einem breiten Singulett zusammengefallen sind, ist die Zuordnung der Signale erschwert (siehe Abb.4.1.2 H,H-COSY von **9c**). Aus dem Spektrum ist zu entnehmen, dass die Hydroxygruppe bei 10.3 ppm mit dem Proton der chemischen Verschiebung von 6.27 ppm koppelt. Die Zuordnung der Protonensignale erfolgte durch den Vergleich mit dem  $^1\text{H}$ -Spektrum des 3-Hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromons (**9b**). Die Zuordnung ist dem Spektrum zu entnehmen.

Den Beweis für eine Alkylierung zeigt die chemische Verschiebung des Protons an C1' des langkettigen Alkylrestes. Da sich dieses Proton in räumlicher Nachbarschaft zu einer Methyl- und einer Methylengruppe befindet, spaltet sich sein Signal mit einer mittleren Kopplungskonstante von  $^3J = 6.0 \text{ Hz}$  zu einem Triplett vom Quartetts auf.

Die Veretherungsreaktion von **9c** mit Methansulfonsäure-2-heptylester lieferte zwei Produkte (die mono- und dialkylierte Verbindung). Die Spektren der beiden isolierten Substanzen zeigen die für sie zu erwartenden Signale. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der einfach verethereten Verbindung **9f** wird bei etwa 4.5 ppm das Signal für H1' registriert (Abb.4.1.3). Das Spektrum der dialkylierten Verbindung zeigt zwei zum Quartett aufgespaltene Signale mit den chemischen Verschiebungen von 4.55 und 4.62 ppm.

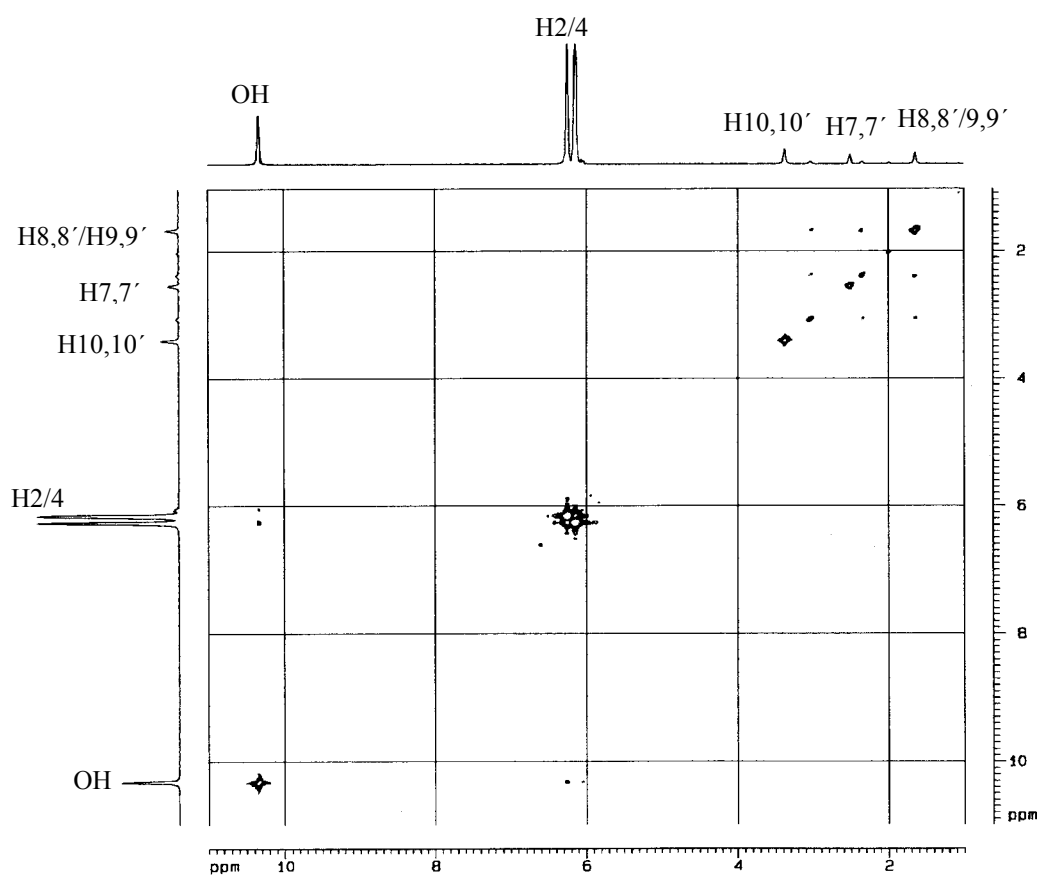
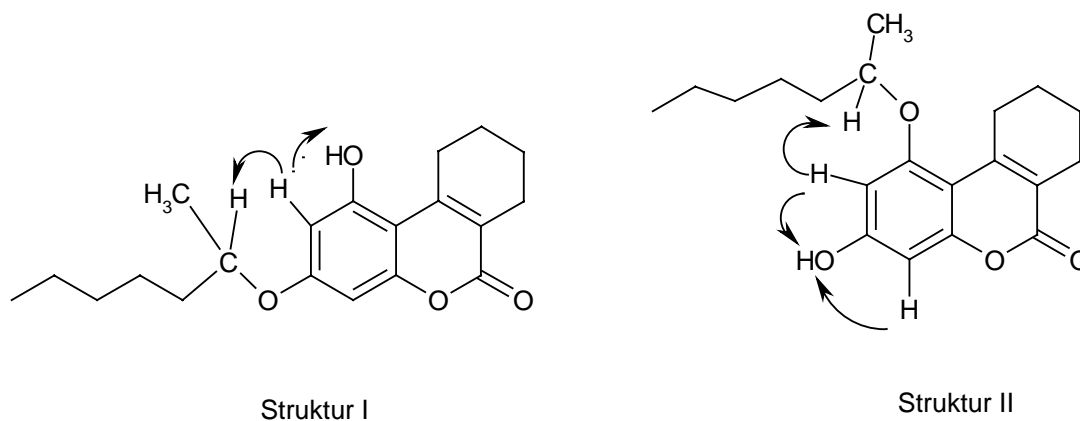


**Abb. 4.1.3** : Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) der Verbindung **9f**, \* 2.5 ppm Lösungsmittelsignal  $\text{DMSO-d}_6$ , 3.3 ppm HDO

Interessant ist zu klären, welche der beiden Hydroxygruppen verethert ist. Aus den Untersuchungen mit den Benzopyranopyridinen ist bekannt, dass die Hydroxygruppe an C8 (entspricht C3 im Tetrahydrobenzochromon) schneller verethert wird, während die Hydroxygruppe am C10 (entspricht C1 im Chromonsystem) wegen der Wasserstoffbrückenbindung zum Stickstoff nicht so leicht reagiert (Heber et al. 1994, siehe auch diese Arbeit Kap. Synthese).

Handelt es sich bei dem isolierten Monoalkylierungsprodukt um Struktur I (Abb. 4.1.4), kann H2 eine Fernkopplung zu der Methylgruppe an C1' und eine Kopplung zu der Hydroxygruppe in der Position 1 zeigen. Möglich ist auch eine Kopplung zu H1'. In Struktur II wäre aber das Kopplungsmuster komplizierter. Hier sollten neben Kopplungen von H2 zu H1' und zu der Hydroxygruppe an C3 auch eine Kopplung zwischen H4 und der OH-Gruppe an C3 zu registrieren sein.

Aus dem H,H-Longrange-COSY-Spektrum kann nur eine Kopplung zwischen dem Proton mit der Resonanzfrequenz 6.33 ppm zu H1' registriert werden. Kopplungen zu der Hydroxygruppe mit der chemischen Verschiebung  $\delta = 10.2$  ppm sind nicht zu finden. Im Falle der Struktur II hätte man möglicherweise mehrere Kopplungen erkennen müssen. Zum einen wird die Veretherung der Hydroxygruppe an C3 durch die Mesomerie zur Carbonylfunktion begünstigt wird, zum anderen spricht das Kopplungsmuster für die Struktur I (Abb.4.1.4).



**Abb. 4.1.4:** Mögliche Strukturen von Verbindung **9f**. Das H,H-Longrange-COSY-Spektrum des 1-Hydroxy-3-(1'-methylhexyloxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-ons (**9f**). Mit dem ersichtlichen Kopplungsmuster spricht für die Struktur I.

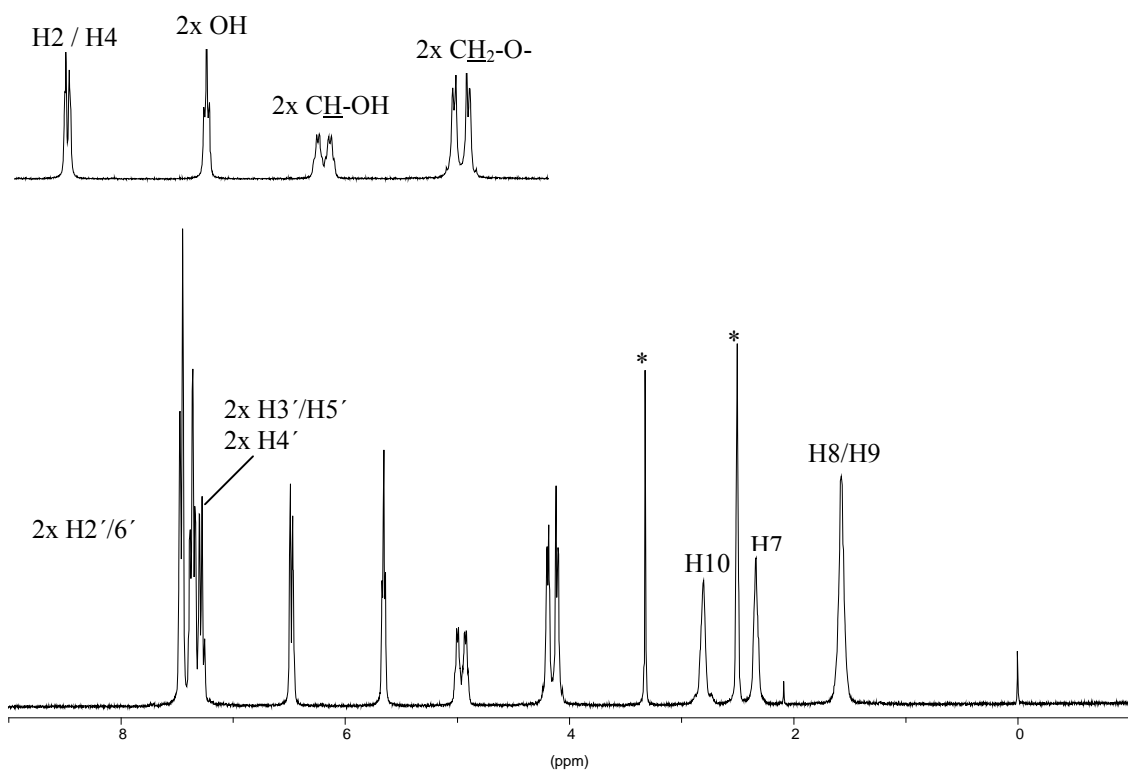
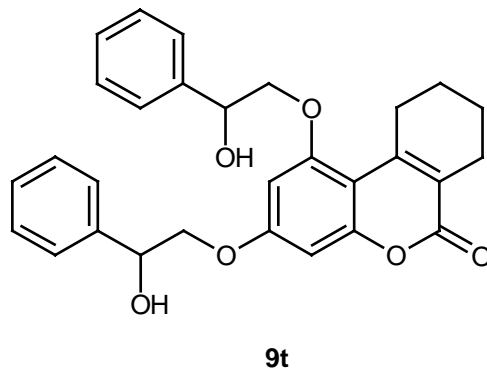
Die Umsetzung von **9c** mit  $\omega$ -Chloracetophenon lieferte ausschließlich das dialkylierte Produkt 1,3-Bisphenacyloxy-7,8,9,10-tetrahydrochromen-6-on **9s** (siehe Kap. Synthese). Die Tatsache, dass bei 5.66 und 5.74 zwei Singulettts auftreten, ist u.a. der Beweis für die dialkylierte Verbindung **9s**. Die Reduktion der Verbindung **9s** lieferte Verbindung **9t** (1,3-Bis(2-dihydroxy-2-phenylethoxy)-7,8,9,10-tetrahydrochromen-6-on), wobei die beiden Carbonylgruppen der Substituenten zum Alkohol reduziert werden. Dies wird ebenfalls durch das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bewiesen (Abb.4.1.5).

Die Protonen an C8 und C9 zeigen die gleiche chemische Verschiebung. Sie werden durch ein breites Singulett mit dem Integral 4 bei etwa 1.68 ppm registriert. Die Signale von H7 und H10 erscheinen im tieferen Feld des Spektrums, wobei die Resonanzfrequenz der Protonen am C10, bedingt durch den Anisotropie-Effekt der Doppelbindung und des aromatischen Rings, eine höhere Tieffeldverschiebung zeigt als die des C7.

Die Methylengruppe der Substituenten zeigen je ein Dublett bei etwa 4.1 ppm ( $^3\text{J} = 5.2$  Hz). Auch die Protonen am chiralen C-Atom zeigen je ein Dublett mit der Kopplung zu der Hydroxygruppe. Die Resonanzfrequenz der beiden Hydroxygruppen liegt bei 5.6 ppm und spaltet zu einem Triplett mit der Kopplungskonstante von 4.5 Hz auf (mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbar).

Die chemischen Verschiebungen der aromatischen Protonen sind wie erwartet im tieferen Feld des Spektrums zu finden. H2 und H4 zeigen je ein breites Singulett bei 6.46 und 6.48 ppm. Die Protonensignale der Phenylreste zeigen die für sie übliche Aufspaltung und chemische Verschiebung. Das Signal von H4' spaltet zu einem Triplett auf und erscheint bei 7.29 ppm. H3' und H5' zeigen ebenfalls ein Triplett bei 7.35 ppm, mit einer  $^4\text{J}$ -Kopplung von 1.6 Hz. Das Dublett für H'2 und H'6 liegt bei 6.46 ppm ( $^3\text{J} = 6.0$  Hz) (Abb.4.1.5).



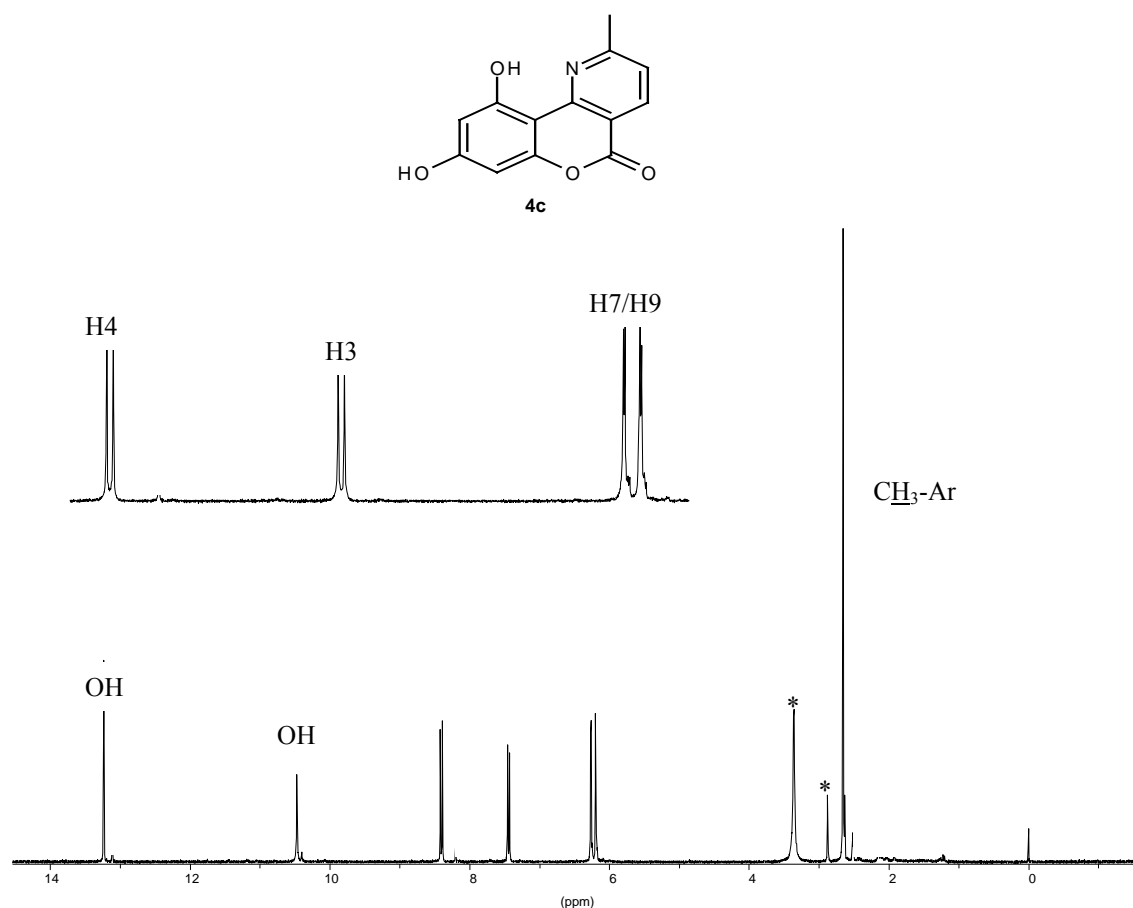


**Abb. 4.1.5:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (300 MHz,  $\delta$  in ppm,  $\text{DMSO-d}_6$ ) von 1,3-Bis-(2-dihydroxy-2-phenylethoxy)-7,8,9,10-tetrahydrochromen-6-on (**9t**), mit der Vergrößerung des Aromatenbereiches, \*2.5 ppm Lösungsmittelsignal  $\text{DMSO-d}_6$ , 3.3 ppm HDO

**Benzopyranopyridine:**

Bei der Auswertung der Spektren von Benzopyranopyridinen war zu klären, wo das Signal der Methylgruppe an der Position 2 registriert wird und ob Aussagen zur Stereochemie der Tetrahydropyridin-Teilstruktur getroffen werden können.

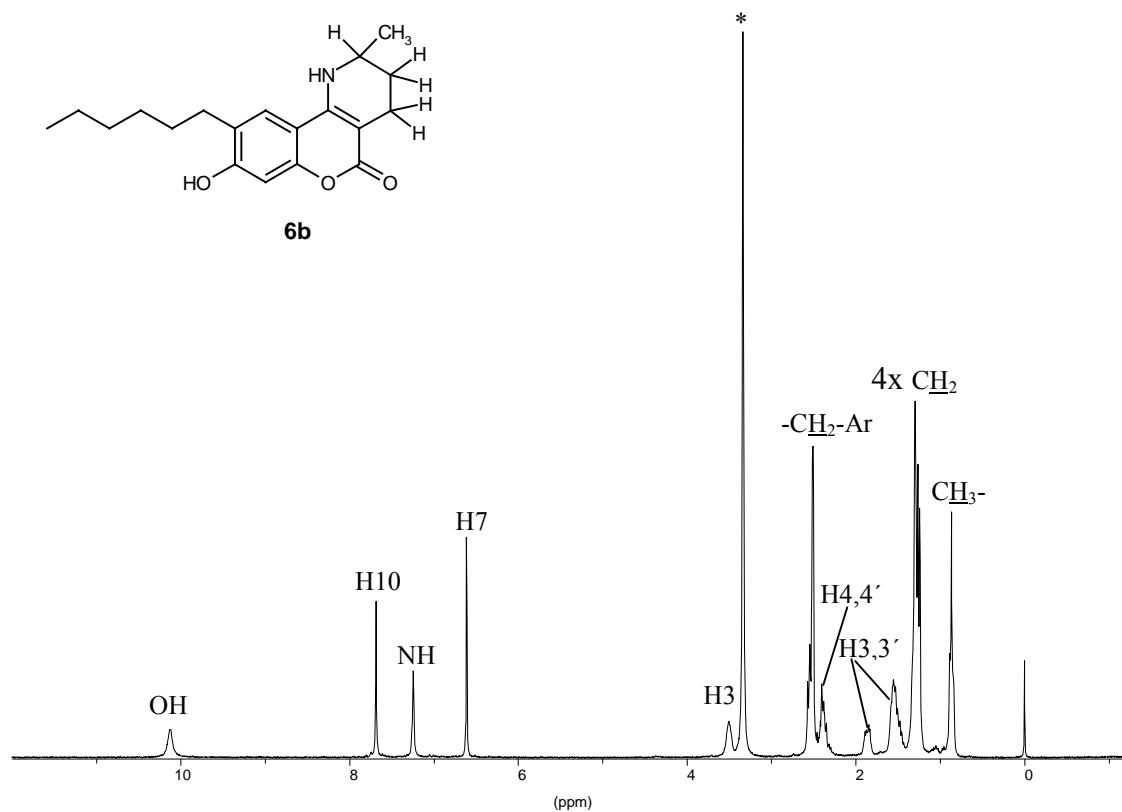
Der einfachste Vertreter der Benzopyranopyridine ist 8,10-Dihydroxy-2-methylbenzopyrano[4,3-b]pyridin (**4c**) (Abb.4.1.6  $^1\text{H-NMR}$ ). Die Methylgruppe an C2 zeigt ein Singulett bei 2.8 ppm. Die Resonanz von H3 und H4 (im Pyridinring) liegt in tieferem Feld ( $\delta = 7.4$  bzw.  $8.3$  ppm je ein Dublett  $^3J=8.1$  Hz) als die Resonanz von H7 und H9 ( $6.2$  bzw.  $6.1$  ppm). Die beiden Hydroxygruppen haben eine unterschiedliche chemische Verschiebung, ihre Signale liegen 3.5 ppm auseinander. Eine Wechselwirkung zwischen dem Stickstoff und der Hydroxygruppe in Position zwei führt zur Entschirmung des Wasserstoffs, so, dass das Signal bei 13.2 ppm dieser Hydroxygruppe zugeordnet wird (Abb.4.1.6).



**Abb. 4.1.6:** Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz,  $\delta$  in ppm, DMSO-d<sub>6</sub>) der Verbindung **4c**, \*2.5 ppm Lösungsmittelsignal DMSO-d<sub>6</sub>, 3.3 ppm HDO

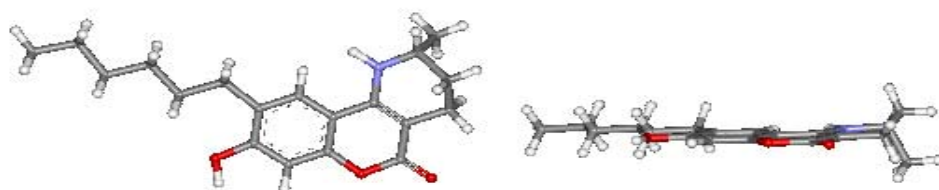
Auch in **4f**, der am Sauerstoff veretherten Verbindung, befinden sich die Signale der Protonen des Pyridinringes im tieferen Feld als die von H7 und H9 (das Spektrum ist nicht abgebildet). Dem Proton H4 in der para-Position zum Stickstoff wird das Signal bei 8.4 ppm zugeordnet, da Stickstoff einen höheren Einfluß auf die para-Position als auf das metaständige Proton bei 7.2 ppm ausübt ( $^3J_{H4-H3} = 11.3$  Hz). Die Lage des Signals der Methylgruppe bei 2.7 ppm in der 2-Position korreliert mit dem Signal von 2-Methylpyridin bei 2.5 ppm (Günther 1992). Diese Daten stimmen mit denen von Greenhill et al und Heber et al. überein und zeigen, dass die Michael-Addition an 4-Aminocumarinen mit  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketonen zu einer Ringschlußreaktion führt. Die Signale von H7 und H9 spalten zu je einem Dublett mit der  $^4J$ -Kopplung von 2.3 Hz auf und liegen bei etwa 6.6 und 6.4 ppm. Auffällig ist aber die Resonanz der Hydroxygruppe bei 10.4 ppm.

Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Tetrahydrobenzopyranopyridine zeigen im aliphatischen Bereich ein kompliziertes Muster. Bei den Verbindungen mit den langkettigen Alkylresten werden häufig die Signale von H3,3' und H4,4' überdeckt. Als Beispiel ist hier das Spektrum von der Verbindung **6b** (9-Hexyl-8-hydroxy-tetrahydrobenzopyrano[4,3-b]pyridin) abgebildet (Abb.4.1.7). Das Signal der endständigen Methylgruppe des Alkylrests spaltet zu einem Triplet bei 0.85 ppm auf. Die chemische Verschiebung der direkt am Aromaten gebundenen Methylengruppe liegt bei etwa 2.4 ppm und ist zu einem Triplet aufgespalten. Die vier weiteren Methylengruppen bilden erwartungsgemäß ein breites Multiplett im höheren Feld. Die Signale von H3,3' und H4,4' zeigen ebenfalls je ein Multiplett (siehe Abb.4.1.7). Die Resonanzfrequenz von H3 liegt im tieferen Feld des Spektrums (bei 3.5 ppm).



**Abb. 4.1.7** :  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (300 MHz,  $\delta$  in ppm,  $\text{DMSO-d}_6$ ) von 9-Hexyl-8-hydroxy-tetrahydrobenzopyrano[4,3-b]pyridin **6b**, \* Lösungsmittelsignal

Zur Veranschaulichung der geometrischen Verhältnisse in **6b** wurden mit HyperChem<sup>®</sup> 5.0 Rechnungen zur Geometrieoptimierung mit der semiempirischen Methode AM1 durchgeführt (Abb.4.1.8). Der teilhydrierte Pyridinring besitzt, wie erwartet, keine planare Struktur. Der Winkel C3-C4-C4a (zur planaren Ebene) beträgt  $108.7^\circ$ . Die Methylgruppe am C2 nimmt eine axiale Stellung ein und das Proton H2 hat sich equatorial orientiert. Der Wasserstoff der Aminogruppe ist ebenfalls equatorial angeordnet.



**Abb. 4.1.8:** Energetisch günstigste Konformation der Verbindung **6b** mit einer Bildungsenthalpie von -128.21 kcal/mol. Die Geometrieoptimierung der der Berechnung der Bildungsenthalpie zugrunde liegenden Strukturen erfolgte nach mechanischer Voroptimierung mit MM+ durch AM1 (Version HyperChem® 5.0), Farbcode: C grau, O rot, N blau, H weiß.

Die Auswertung des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums des 10-Hydroxy-2-methyl-8-(2-heptyloxy)-tetrahydrobenzopyrano[4,3-b]pyridins **6f** erwies sich als schwierig (Spektrum nicht abgebildet), da die Signale der H3,3' und H4,4' (im teilhydrierten Pyridinring) von den Signalen des langkettigen Alkylrests überlagert werden. Heber et al. führten zur Klärung der Konfiguration an C2 Einstrahlungsexperimente durch (siehe auch Berghaus 1989). Die Resonanz von H2 lag bei 3.32–3.36 ppm. Durch Kopplung mit der exocyclischen Methylengruppe spaltete dieses Signal zu einem Triplett auf. Es wurde angenommen, dass die Methylgruppe an der 2-Position bevorzugt eine quasi-axiale Stellung einnimmt (Berghaus 1989).

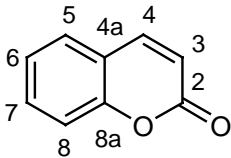
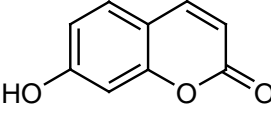
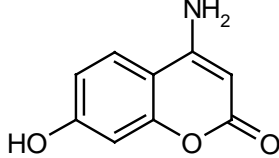
## 4.2. $^{13}\text{C}$ -NMR- Spektroskopie

### 4-Aminocumarine

Obwohl die 4-Aminocumarine seit langem bekannt sind (Sonn 1917), existieren aber keine  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten. Im folgenden sollen die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren des 4-Amino-7-hydroxycumarin (**2a**) diskutiert werden. Die weiteren Cumarine und ihre  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten, die in dieser Arbeit vorkommen, sind in Tabelle 4.2.1 abgebildet.

Um eine sichere Zuordnung der quartären C-Atome des 4-Amino-7-hydroxy- (**2a**) und 4-Amino-5,7-dihydroxycumarins (**2c**) zu erreichen, wurden direkte CH-COSY-Spektren aufgenommen (Abb. 4.2.2 CH-COSY von 4-Amino-7- hydroxycumarin **2a**).

Das Signal der Carbonylfunktion C2 in Cumarin liegt bei etwa 160 ppm (Duddeck 1982, Günther 1975). Die Einführung einer Hydroxygruppe führt zu einer Tieffeldverschiebung dieses Signals (Abb.4.2.1). Im 7-Hydroxycumarin liegt das Signal bei 161.2 ppm, während es bei den 4-Amino-hydroxycumarinen, z.B. **2a**, im etwas tieferen Feld, also bei etwa 162.1 ppm vorkommt. C4 hat eine chemische Verschiebung von 155.5 ppm und zeigt eine  $^3\text{J}$  Kopplung zu H5 und eine  $^2\text{J}$  Kopplung zu den Protonen der Aminofunktion.

		
		<b>2a</b>
C2 160.6    C6 124.4	C2 161.2    C6 113.4	C2 162.1    C6 111.8
C3 116.7    C7 131.8	C3 111.6    C7 161.4	C3 81.4    C7 161.0
C4 143.5    C8 116.8	C4 144.5    C8 102.5	C4 155.5    C8 102.2
C4a 118.9    C8a 154.1	C4a 111.6    C8a 155.8	C4a 106.4    C8a 156.0
C5 128.5	C5 129.8	C5 124.3

**Abb. 4.2.1:** Vergleich der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten ( $\delta$  in ppm) des Cumarins, des 7-Hydroxycumarins und des 4-Amino-7-hydroxycumarins

Die quartären C-Atome zeigen in substituierten Cumarinen generell eine Tieffeldverschiebung gegenüber Cumarin. Nur das Signal vom Kohlenstoffatom in Position 4a liegt bei höherem Feld als in Cumarin. C4a hat z. B. in 4-Amino-7-hydroxycumarin (**2a**)

eine chemische Verschiebung von 106.4 ppm (siehe Abb. 4.2.1.). In 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin (**2c**) ist dieses Signal durch die Anwesenheit der Hydroxygruppe in der 5- und der Aminogruppe in der 4-Position um ca. 15 ppm gegenüber dem Cumarin hochfeldverschoben und liegt bei 96.0 ppm.

In Cumarin zeigen die C-Atome C4 und C5 unterschiedliche Signallagen. C4 zeigt eine stärkere Tieffeldverschiebung als C5, was durch die Carbonylfunktion in Position 2 hervorgerufen wird. In den Cumarinen **2a**, **2b** und **2c** ist dies durch die Aminofunktion an der Position 4 stärker ausgeprägt, da die Aminogruppe ohnehin für eine Tieffeldverschiebung sorgt.

Interessant ist auch die Lage von C6 in 4-Amino-6-hexyl-7-hydroxycumarin (**2b**). Das Signal liegt bei 125.2 ppm und nicht wie erwartet, wie bei allen aromatischen C-Atome mit einem Alkylsubstituent, bei etwa 137 ppm. Grund ist die Nachbarschaft der Hydroxygruppe in der 7-Stellung, die durch ihren +M-Effekt die Hochfeldverschiebung verursacht.

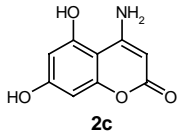
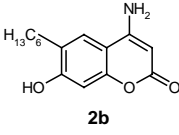
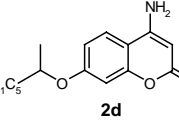
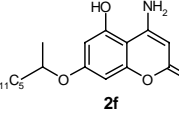
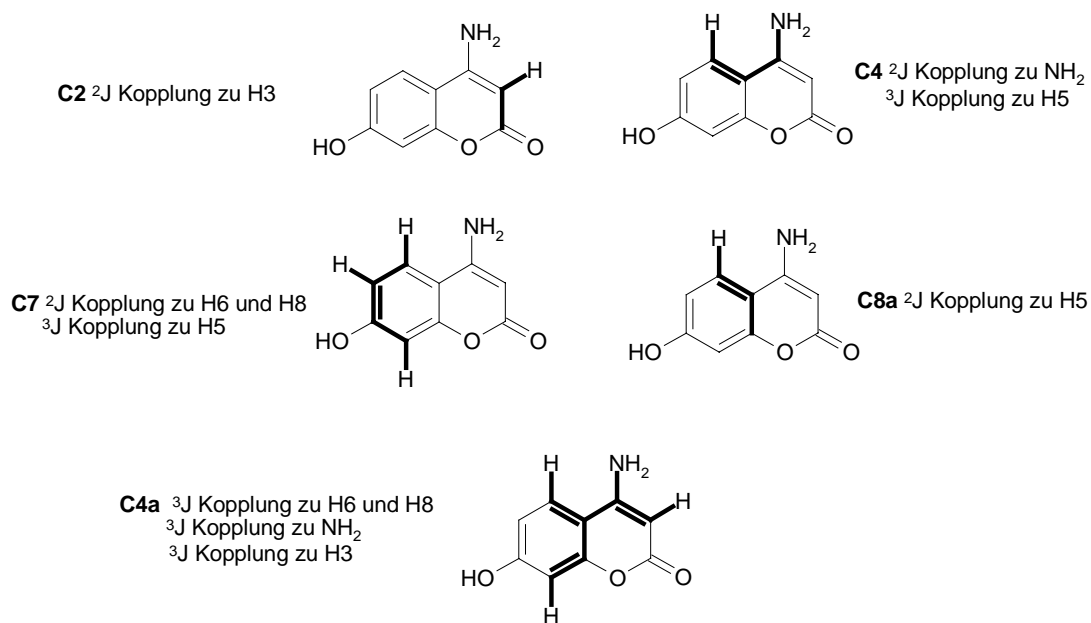
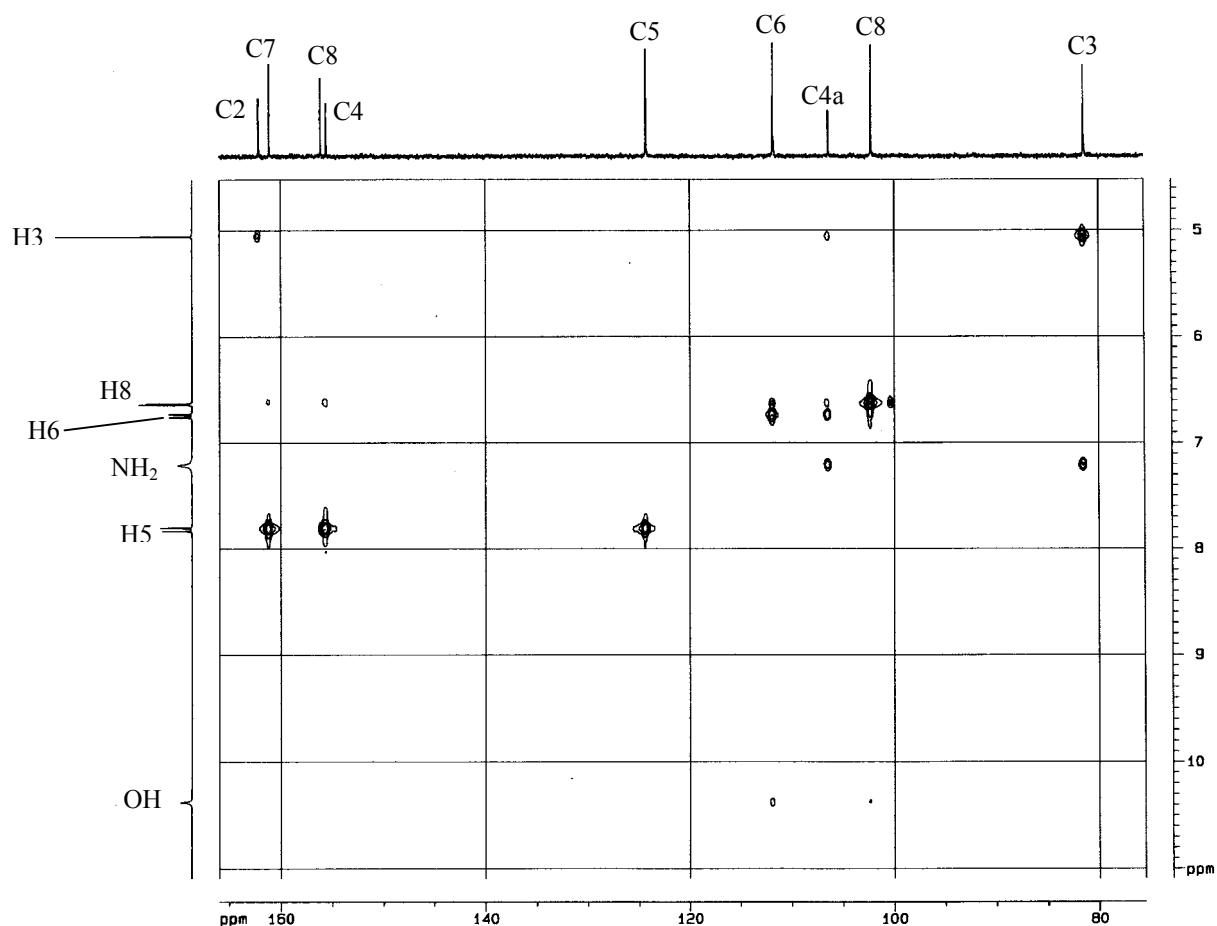
Verbindung	C2	C3	C4	C4a	C5	C6	C7	C8	C8a
 <b>2c</b>	161.63	79.66	157.68	96.01	157.02*	96,70	160.78	98.18	157.10*
 <b>2b</b>	162.23	81.38	153.50	105.95	123.56	125.22	158.82	101.64	156.12
 <b>2d</b>	160.93	81.69	155.51*	107.23	124.18	112.02	161.92	101.85	155.81*
 <b>2f</b>	161.18	80.32	157.24*	96.98	157.16*	95.64	161.20	96.61	157.17*

Tabelle 4.2.1:  $^{13}\text{C}$ -Chemische Verschiebungen (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  in ppm) der 4-Aminocumarinderivate, \* Da eine exakte Zuordnung nicht möglich ist, können diese Signale vertauscht sein.

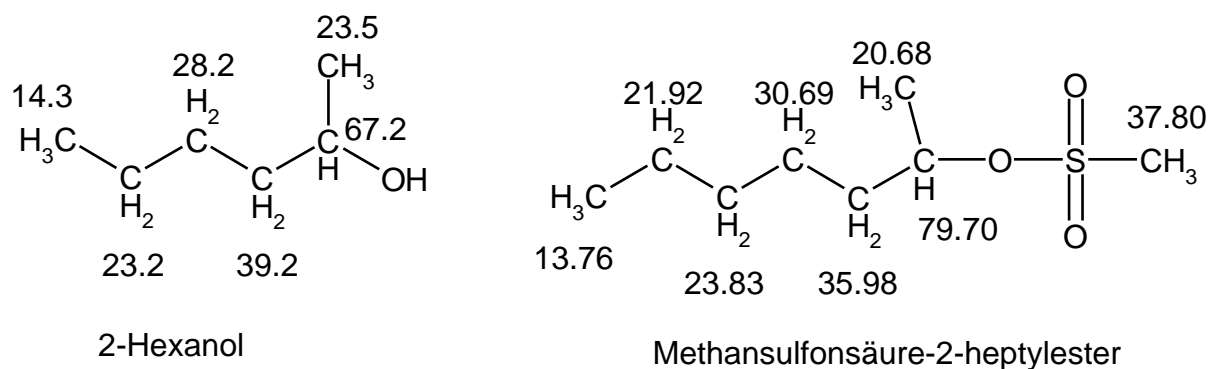


**Abb. 4.2.2:** Beobachtete C,H-Fernkopplungen im  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -COLOC-Spektrum des 4-Amino-7-hydroxycumarins (**2a**)



Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren der am Sauerstoff in Position 7 veretherten 4-Aminocumarine zeigen keine gravierenden Unterschiede zu den Ausgangsverbindungen. Durch die Veretherung liegt das C7-Signal im tieferen Feld. Es wird beobachtet, dass sich die Resonanzfrequenz von C7 in der gleichen Lage wie die der Carbonylfunktion (z.B. 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin (**2c**): C2 und C7 bei 161.18 und 161.20 ppm) oder sogar in tieferem Feld als die Carbonylgruppe befindet (z.B. 4-Amino-7-(1'-methylhexyloxy)cumarin (**2d**): C2 bei 160.93 ppm und C7 bei 161.92 ppm) (Cussans 1975, Wulff 1998). In manchen Fällen ist eine exakte Zuordnung der beiden Signale aufgrund der chemischen Verschiebung nicht möglich.

Während in den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren die Zuordnung der chemischen Verschiebung der Protonen des langkettigen Alkylrests aufgrund der Überlagerungen nicht möglich ist (siehe  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie), lassen sich die  $^{13}\text{C}$ -Signale zuordnen. In der Abb. 4.2.3 sind als Vergleichsverbindung das 2-Hexanol und der Methansulfonsäure-2-heptylester mit der chemischen Verschiebungen ihren C-Atome abgebildet ( $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie, Kalinowski 1984).



**Abb. 4.2.3** :  $^{13}\text{C}$ -chemische Verschiebungen ( $\delta$  in ppm) von 2-Hexanol und Methansulfonsäure-2-heptylester

Mit Hilfe von Inkrementen (Roberts 1970) und den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Methansulfonsäure-2-heptylestere können die Signale der C-Atome des Alkylrestes zugeordnet werden.

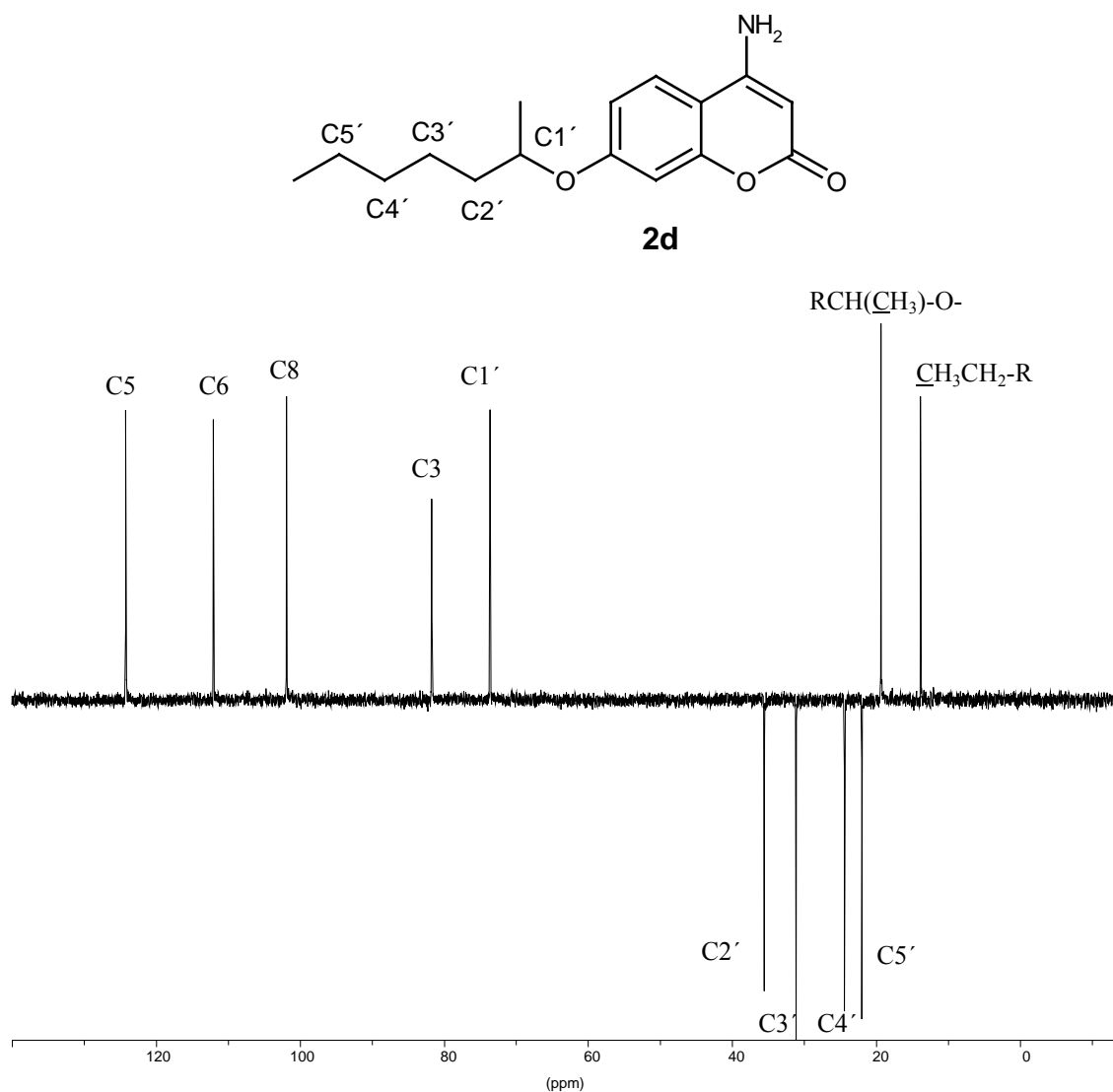
Alle C-Atome der Estergruppe bis auf C1' sind hochfeldverschoben. Betrachtet man die Signallage der C-Atome in 2-Hexanol und die des Esters als vorgegeben, korrelieren diese Signale mit denen der Seitenkette in 4-Amino-7-(2-heptyloxy)cumarin (**2d**). Die Signale der Methylengruppen liegen in höherem Feld, je weiter sie sich von der  $\alpha$ -Hydroxy- $\alpha$ -methylmethylengruppe entfernen. Das C1'-Signal zeigt eine Tieffeldverschiebung von ca. 8

ppm. Alle anderen C-Atome in der Seitenkette befinden sich im höheren Feld des Spektrums (zwischen 22 – 35 ppm).

Die Aufnahme eines DEPT-135 Spektrums erwies sich als wertvolle Hilfe bei der Zuordnung der aliphatischen C-Atome der Seitenkette (Abb. 4.2.4 DEPT-135 von **2d**).

Die Resonanz der endständigen Methylgruppe liegt in fast allen Spektren bei 13.5-14.0 ppm, während sich die Methylgruppe an C1' im tieferen Feld bei etwa 19.0 ppm befindet. Die Signale der C4' und C5' liegen bei etwa 21.9 und 24.3 ppm. Die Signale von C3' und C2' befinden sich bei tieferem Feld.

Das unmittelbar am Sauerstoff gebundene C-Atom zeigt, wie erwartet, die größte Tieffeldverschiebung und sein Signal wird bei etwa 73.5 ppm registriert.



**Abb. 4.2.4:** Das DEPT-135-Spektrum der Verbindung **2d**

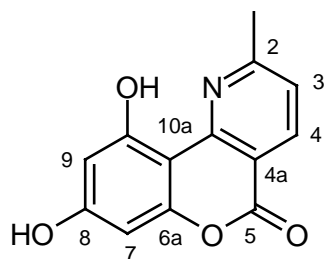
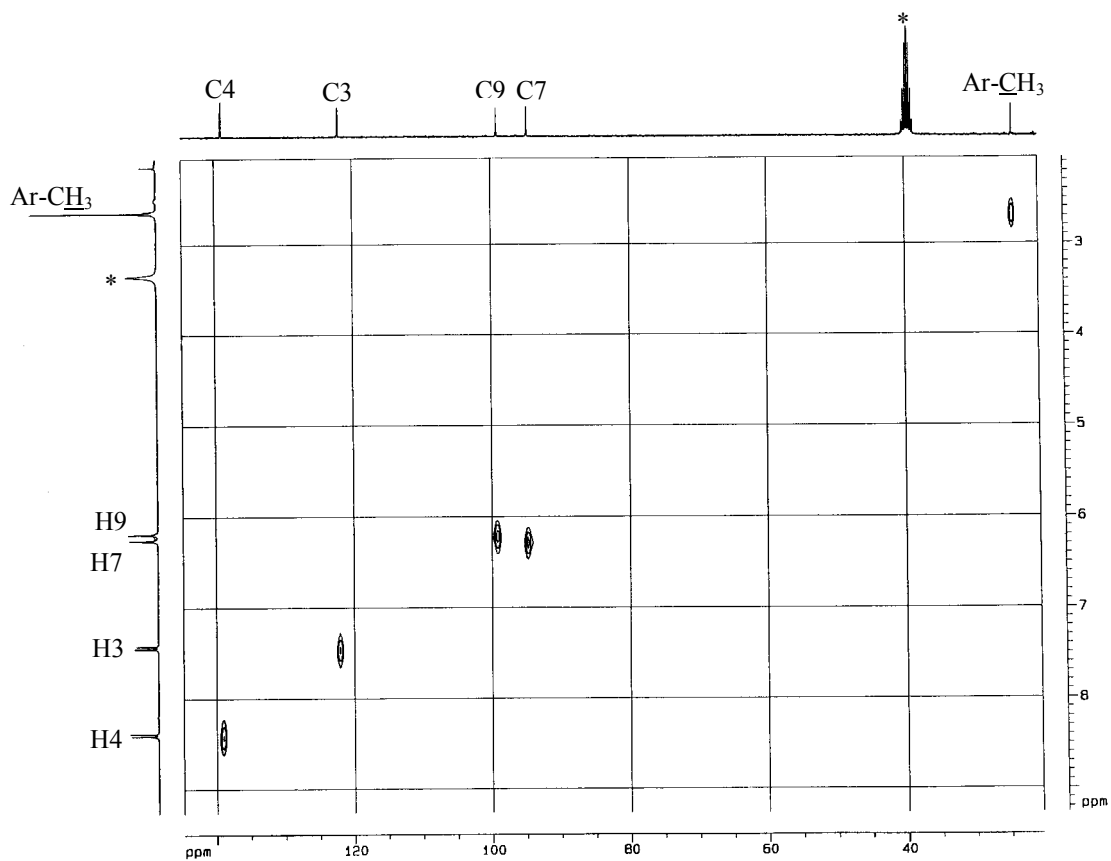
## Benzopyranopyridine

Zur Interpretation der  $^{13}\text{C}$ -Spektren der Benzopyranopyridine wird hier zunächst exemplarisch das Spektrum von 8,10-Dihydroxy-2-methylbenzopyrano[4,3-b]pyridin **4c** besprochen.

Die direkte C,H-Korrelation erlaubt die sichere Zuordnung der wasserstofftragenden C-Atome (C3, C4, C7 und C9). Die quartären Kohlenstoffe (C1a, C2, C4a, C5, C6a, C8, C10 und C10a) lassen sich mit Hilfe eines CH-COLOC-Experiments zuordnen (siehe Abb. 4.2.5 für die direkte CH-Korrelation von **4c** und Abb. 4.2.6 für das CH-COLOC).

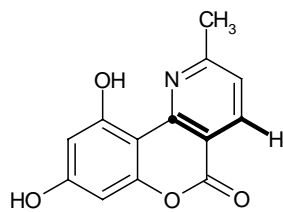
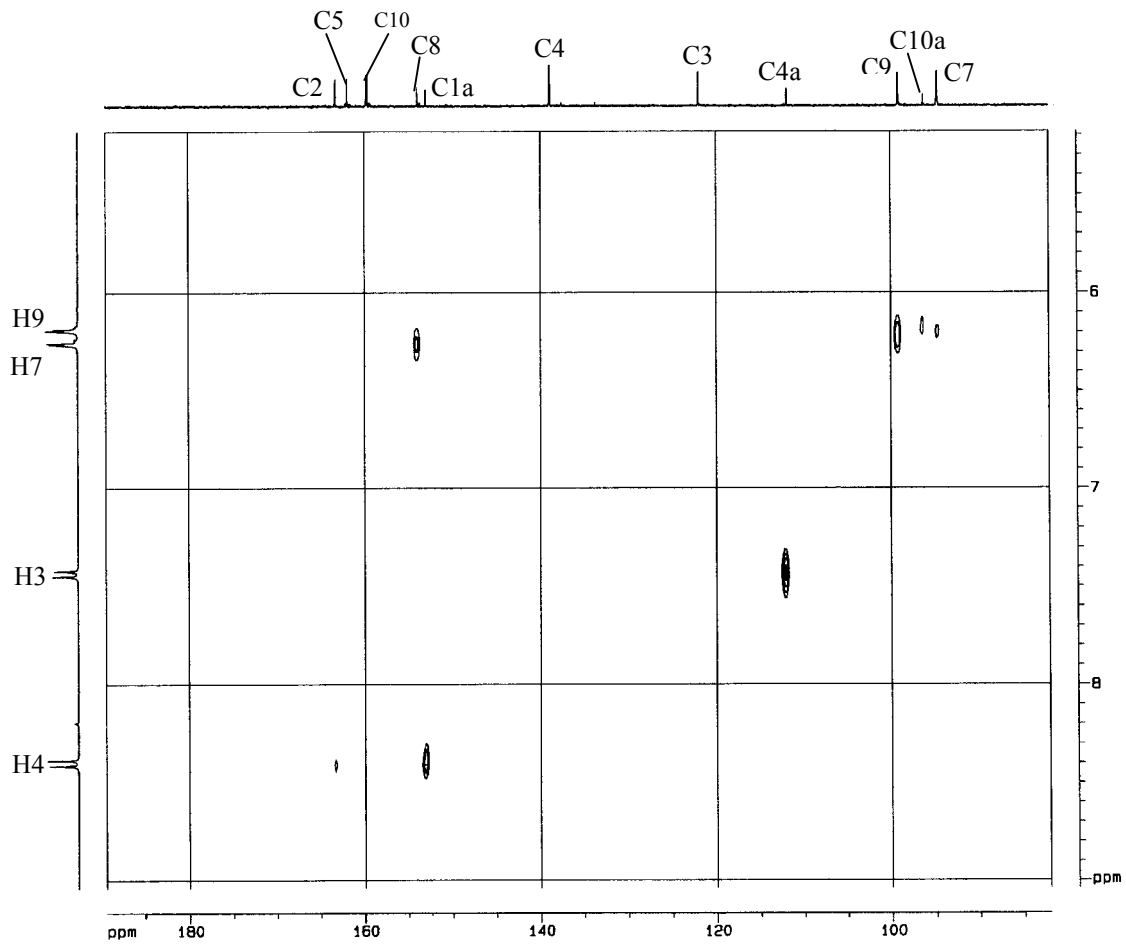
Durch ihre Position im Pyridinring zeigen C3 und C4 eine Tieffeldverschiebung gegenüber C7 und C9. Besonders letztere weisen eine sehr ähnliche chemische Verschiebung auf, so dass eine sichere Zuordnung zunächst schwierig erscheint. Im CH-COLOC-Experiment konnten jedoch  $^2\text{J}$ -Kopplungen zu den beiden Protonen der Hydroxygruppen festgestellt werden. Somit wurde die Resonanzfrequenz bei 99.15 ppm dem C-Atom C9 zugeordnet, da sich dieser Kohlenstoff in Nachbarschaft zu den beiden Hydroxygruppen befindet. C7 wurde das Signal bei 94.70 ppm zugeordnet, da im CH-COLOC nur eine  $^2\text{J}$ -Kopplung zu einer Hydroxygruppe festgestellt werden konnte.

Die  $^2\text{J}$ - und  $^3\text{J}$ -Kopplungen der quartären C-Atome sind in der Abb. 4.2.6 gezeigt. Interessant ist die  $^2\text{J}$ -Kopplung von C10 zu dem am Sauerstoff gebundenen Proton. Außerdem kann eine Kopplung von C6a zu der Hydroxygruppe (an Position 10) festgestellt werden. Diese Kopplung ist in der Vergrößerung nicht zu sehen, da diese Abbildung nur dem Bereich zwischen 2 bis 10 ppm darstellt.

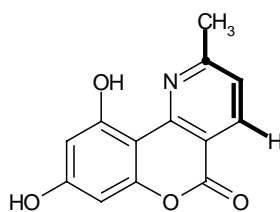


	$\delta (^{13}\text{C})$	$\delta (^1\text{H})$	
Ar-CH <sub>3</sub>	24.28	2.87	Ar-CH <sub>3</sub>
C3	121.98	7.42	H3
C4	138.94	8.39	H4
C7	94.70	6.25	H7
C9	99.15	6.18	H9

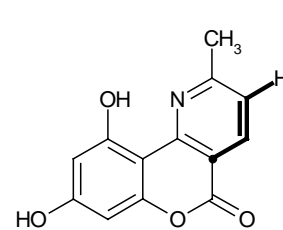
Abb. 4.2.5: Direkte C,H-Korrelation der Verbindung **4c**,  $\delta$  in ppm, \* Lösungsmittelsignal



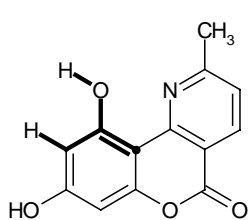
**C1a**  $^3J$  Kopplung zu H4



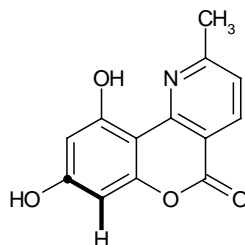
**C2**  $^2J$  Kopplung zu CH<sub>3</sub>  
 $^3J$  Kopplung zu H4



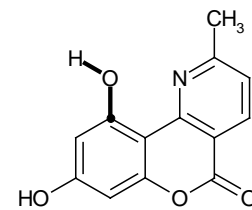
**C4a**  $^3J$  Kopplung zu H3



**C10a**  $^3J$  Kopplung zu H9  
 $^2J$  Kopplung zu OH



**C8**  $^2J$  Kopplung zu H7



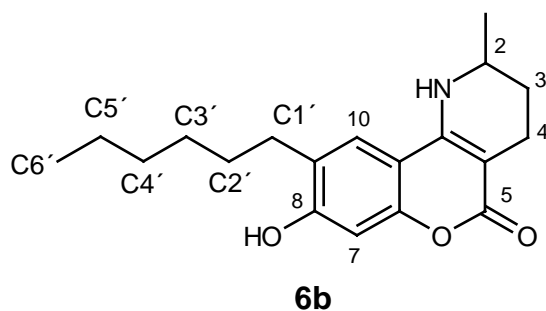
**C10**  $^2J$  Kopplung zu OH

**Abb. 4.2.6** : Ausschnitt aus dem  $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -COLOC-Spektrum der Verbindung **4c**

### Tetrahydrobenzopyranopyridine:

Die Teilhydrierung des Pyridinrings verursacht die Hochfeldverschiebung der Signale von C2, C3 und C4 im aliphatischen Bereich des Spektrums. Durch die direkte Bindung zum Stickstoff wird die Resonanz von C2 bei etwa 52.4 ppm (in 2-Methylpiperidin) erwartet. Das Signal des C4 wird sich ebenfalls im tieferen Feld befinden, da es in der para-Position zur Aminofunktion liegt. Die Resonanz von C3 wird aber im höheren Feld liegen. In der Tabelle 4.2.2. sind die chemischen Verschiebungen der Grundgerüste einiger Tetrahydrobenzopyranopyridin-Derivate aufgelistet. Die Signallagen der C-Atome des Benzopyranrings liegen im tieferen Feld des Spektrums als die des Tetrahydropyridinrings.

In der Abbildung 4.2.7 sind die  $^{13}\text{C}$ -NMR und DEPT-135-NMR-Spektren von 9-Hexyl-1,2,3,4,-tetrahydro-8-hydroxy-2-methylbenzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (**6b**) dargestellt. Mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums des 4-Hexylresorcins (**1b**) lassen sich die Signale des langkettigen Alkylrests gut zuordnen, da der Rest des Moleküls keinen Einfluß auf die chemische Verschiebung dieser Signale ausübt. Auffallend ist die im tieferen Feld gelegene Resonanzlage von C3. Das Signal des C2 erscheint meist bei etwa 45 ppm, während sich die Resonanz des C4 und des C3 im höheren Feld befindet.



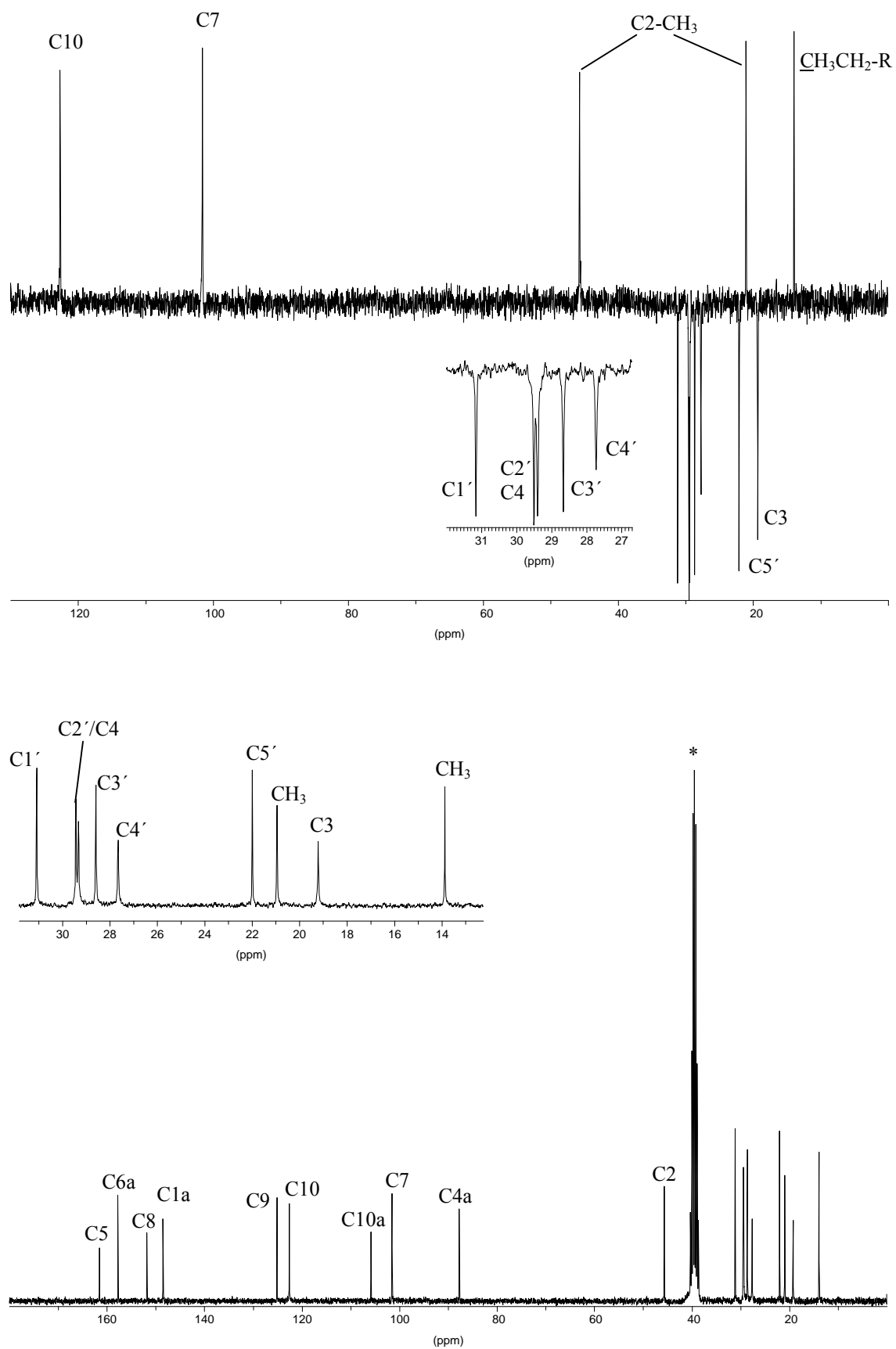
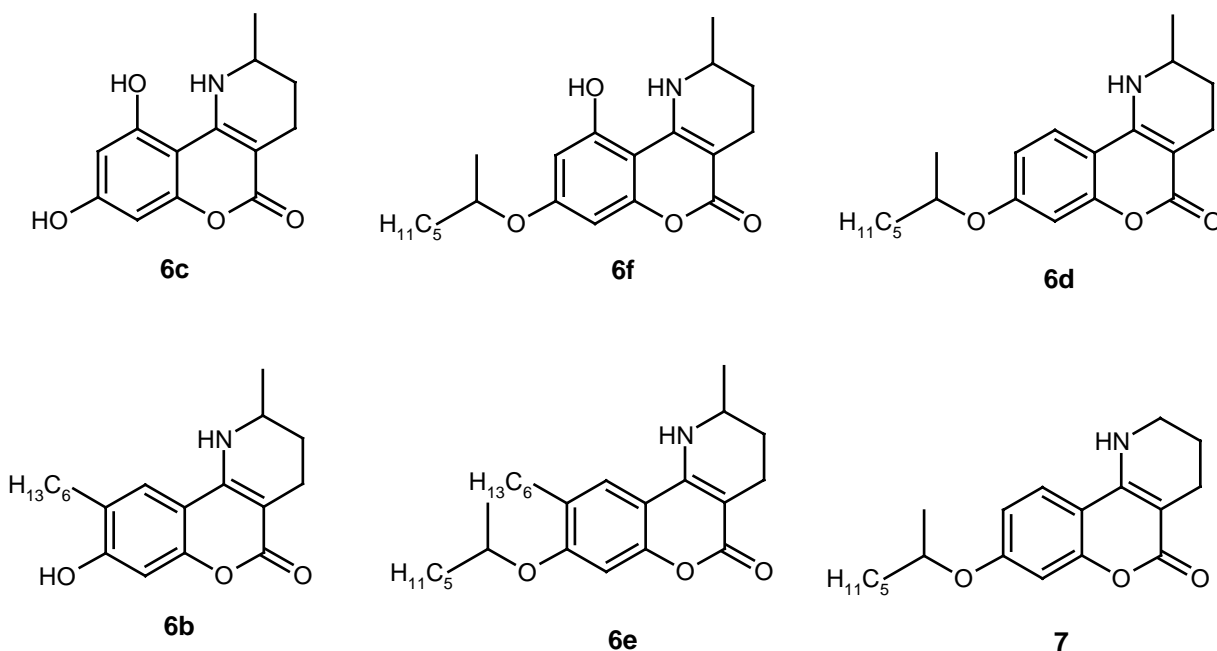


Abb. 4.2.7 :  $^1\text{H}$ -Breitband-entkoppeltes  $^{13}\text{C}$ -Spektrum (75.5 MHz) und DEPT-135 von **6b**,  
\*Lösungsmittelsignal

**Tabelle 4.2.1:**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten des Tetrahydrobenzopyrano[4,3-b]pyridin-Grundgerüsts: (75.5 MHz, DMSO- $d_6$  mit TMS als interner Standard); \* Da eine exakte Zuordnung (auch nicht mit Hilfe von COLOC) möglich war, können diese Signale vertauscht worden sein.



Verbindung	C1a	C2	C3	C4	C4a	C5	C6a	C7	C8	C9	C10	C10a
<b>6c</b>	150.95	45.30	19.39	27.37	95.83	161.01	159.82	93.93	155.36	98.41	157.63	84.68
<b>6f</b>	150.13	45.67	19.93	27.44	85.85	160.04*	155.30	95.57	160.60*	96.68	156.29	96.81
<b>6b</b>	148.48	45.62	19.28	29.49	87.69	161.56	157.69	101.49	151.74	125.05	122.55	105.80
<b>6e</b>	148.37	45.72	19.32	27.72	88.16	161.52	152.18	99.67	157.57	126.82	122.52	106.32
<b>6d</b>	148.28	45.69	19.26	27.62	88.25	161.35*	153.82	101.76	159.97*	111.80	123.21	107.26
<b>7</b>	148.62	39.92	22.00	24.41	88.17	160.00*	153.75	101.89	161.30*	112.00	122.90	107.27



## Tetrahydrobenzochromenone

Im folgenden sollen die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren von 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrochromen-6-on, einem monoalkylierten Produkt **9f** und einem dialkylierten Produkt **9t**, diskutiert werden.

Auch hier wurden zur sicheren Zuordnung der wasserstofftragenden C-Atome direkte C,H-Korrelations-Spektren und für die Zuordnung der quartären C-Atome COLOC-Spektren aufgenommen.

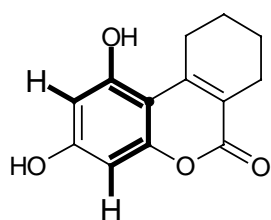
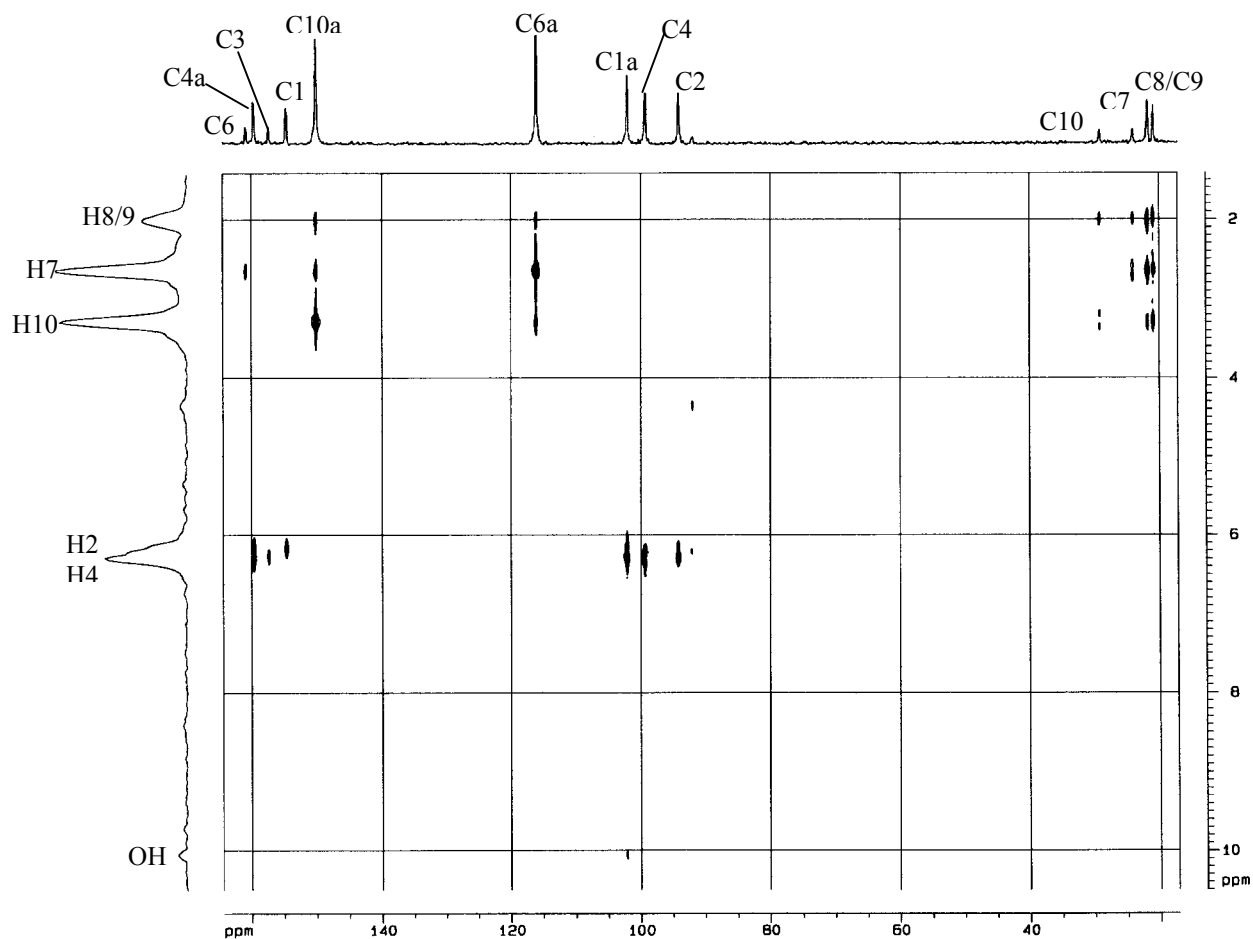
Abb.4.2.8 zeigt das C,H-COSY-Spektrum von 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9c**). Die Resonanz vom C1a liegt bei 102.0 ppm und zeigt Kopplungen zu H2 und H4. Die Signale der C2- und C4-Atome befinden sich im höheren Feld.

C6a und C10a zeigen beide die gleichen  $^2\text{J}$ - und  $^3\text{J}$ -Kopplungen zu den Protonen an C7, C8, C9 und C10. Aufgrund der Verteilung der Elektronendichte im Molekül und der Konjugation zur Carbonylfunktion ist es denkbar, dass das Signal von C6a im höheren Feld als das von C10a liegt. Eine genaue Zuordnung für die Signale von C8 und C9 ist nicht möglich, da ihre Protonensignale häufig überlagert sind und als ein breites Singulett im Spektrum erscheinen, so dass auch durch die direkte C,H-Korrelation keine Aussage getroffen werden kann.

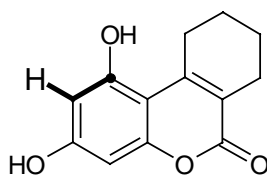
Die Alkylierung der Hydroxygruppe an Position 3 hat keinen gravierenden Einfluß auf die Signallagen der C-Atome im Ring. Eine sichere Zuordnung für die Signale von C3 und C4a ist nicht möglich, da sie beide eine  $^2\text{J}$ -Kopplung zu H4 zeigen. Unter der Annahme, dass die Alkoxygruppe an C3 einen  $-I$ -Effekt ausübt, sollte das Signal dieses C-Atoms im tieferen Feld des Spektrums erscheinen als die Resonanz von C4a (siehe Abb. 4.2.9  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum der Verbindung **9f**).

Für eine genaue Zuordnung der aliphatischen C-Atome, aber auch von C7, C8, C9 und C10 war die direkte C,H-Korrelation hilfreich (Das Spektrum ist nicht abgebildet). Interessant ist die Lage der Methylgruppe am C1' der Alkoxyseitenkette. Das Signal erscheint im höheren Feld als erwartet (24 ppm bei 2-Hexanol und hier 19 ppm).

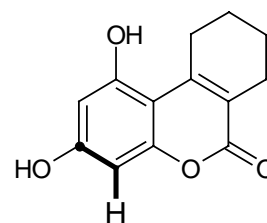
Die C-Atome der dialkylierten Verbindung **9g** zeigen etwa die gleiche Signallage wie die des monoalkylierten Produktes (siehe experimenteller Teil).



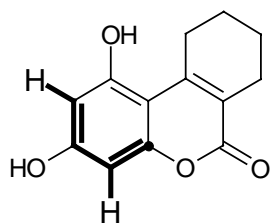
**C1a**  $^3J$  Kopplung zu H2 und H4  
 $^2J$  Kopplung zu OH



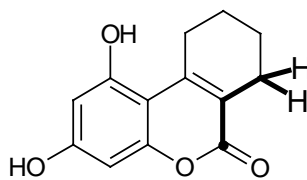
**C1**  $^2J$  Kopplung zu H2



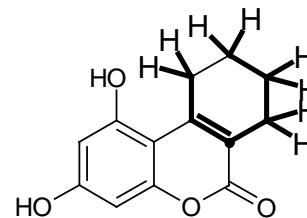
**C3**  $^2J$  Kopplung zu H4



**C4a**  $^2J$  Kopplung zu H4  
 $^4J$  Kopplung zu H2

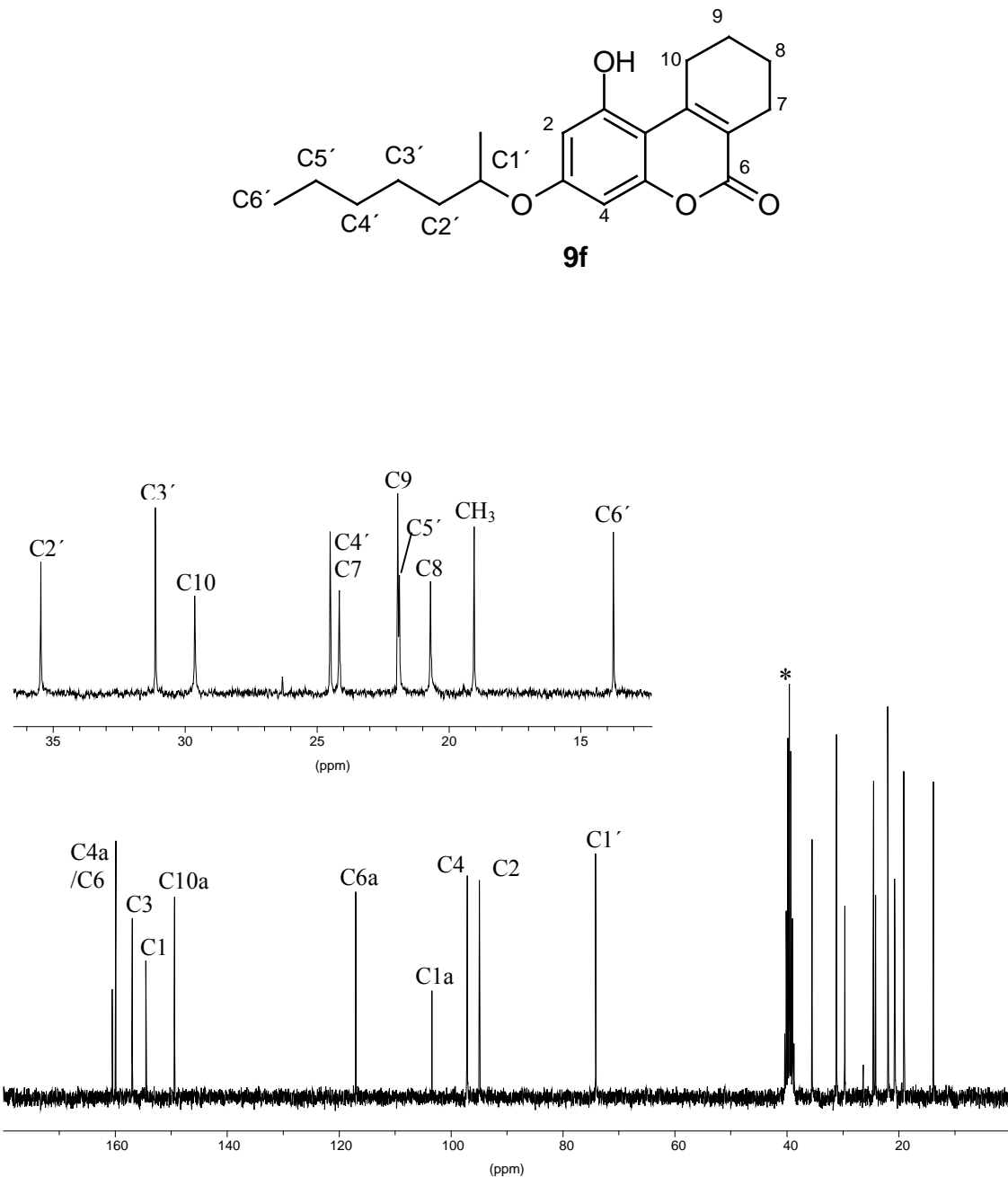


**C6**  $^3J$  Kopplung zu H7



**C6a**  $^3J$  Kopplung zu H8 / 9  
 $^2J$  Kopplung zu H7  
 $^3J$  Kopplung zu H10

**Abb. 4.2.8:** Das C,H-COLOC-Spektrum des 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-ons (**9c**)

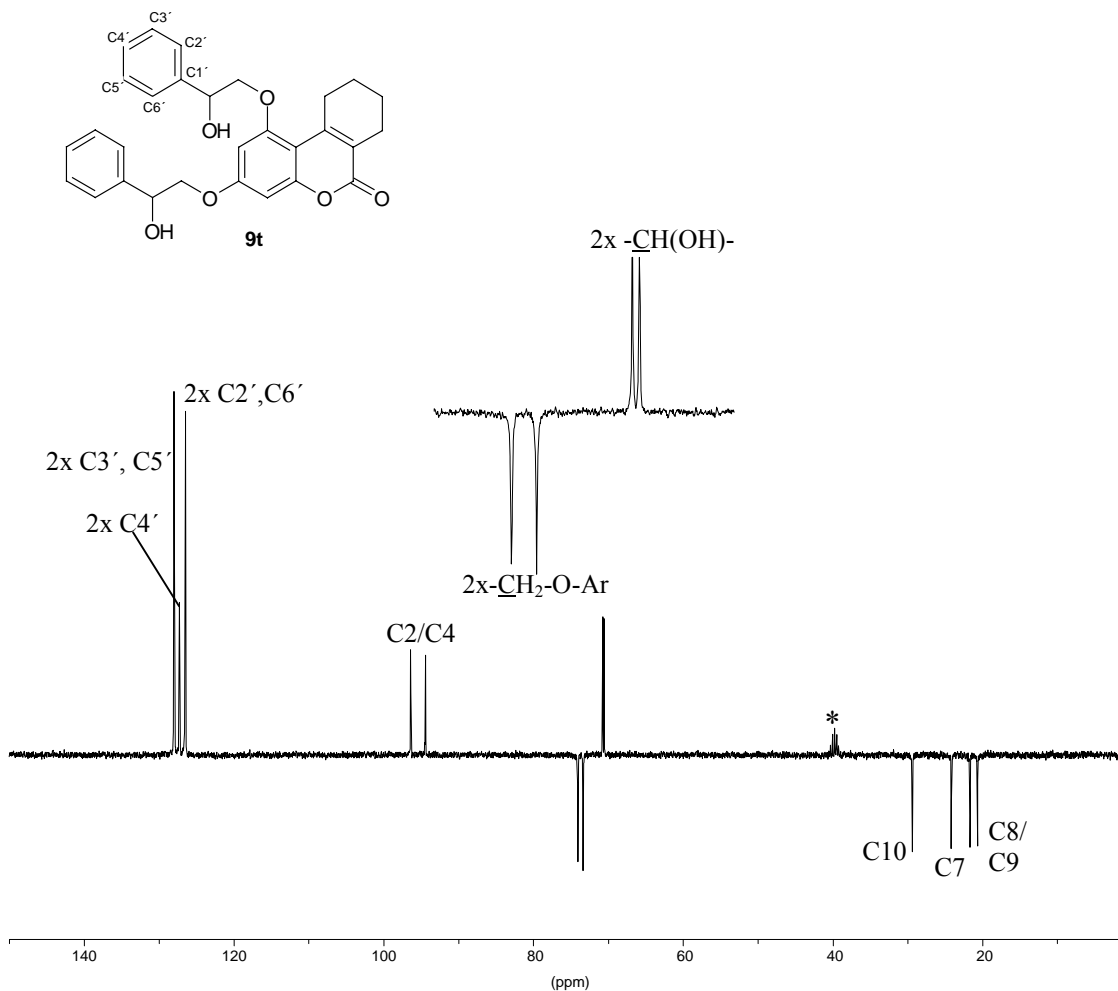


**Abb. 4.2.9** :  $^1\text{H}$ -Breitband entkoppeltes  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) des 7,8,9,10-Tetrahydro-1-hydroxy-3-(1'-methylhexyloxy)benzochromen-6-on (**9f**). Eine genaue Zuordnung der wasserstofftragenden C-Atome und die quartären C-Atome erfolgte mit Hilfe einer direkten CH- Korrelation und eines  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -COLOC.

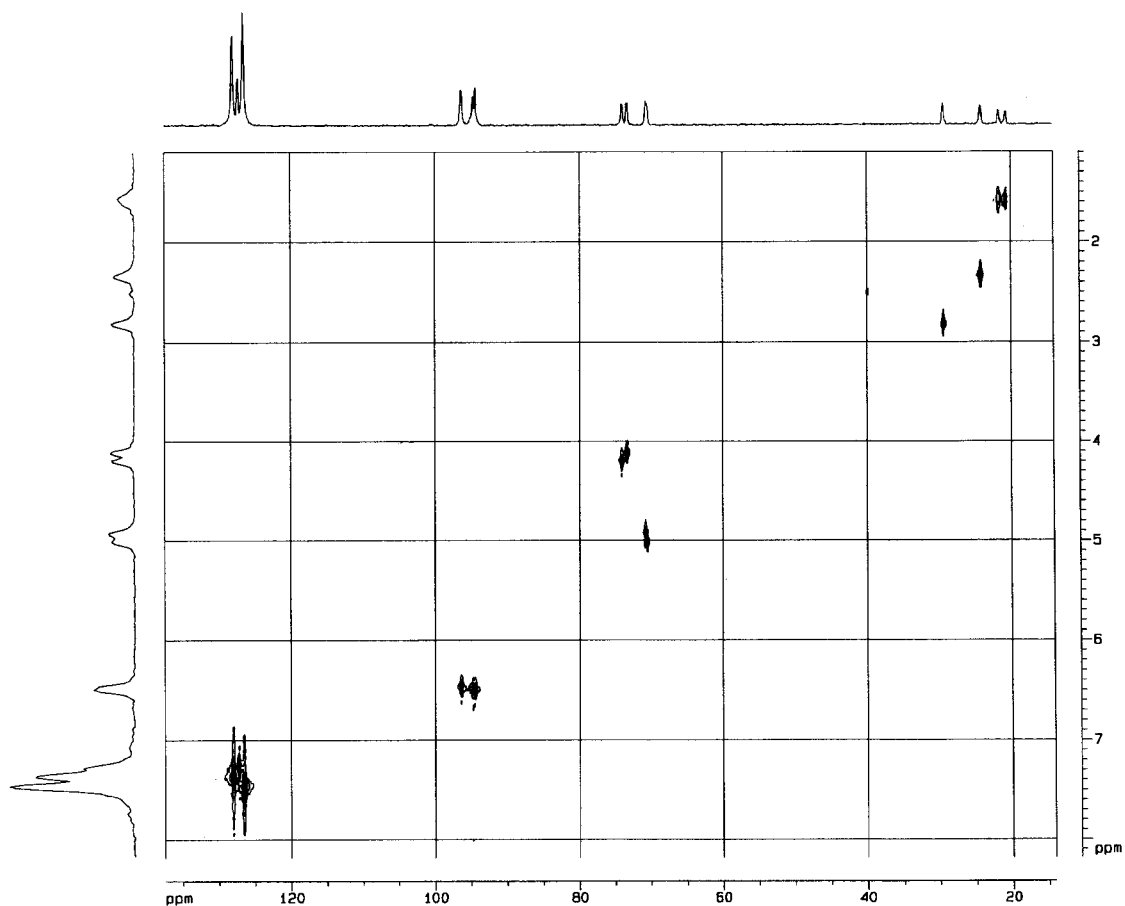
Im folgenden sind die direkte C,H-Korrelation und  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ -COLOC-Spektren von 1,3-Bis-(2-dihydroxy-2-phenylethoxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9t**) abgebildet.

Die Dialkylierung an den beiden Hydroxygruppen hat keinen gravierenden Effekt auf die Signallage der C-Atome des Ringes. Mit Hilfe des direkten C,H-Korrelationspektrums können alle Signale der protonen tragenden C-Atome bestimmt werden. Nur die Signale von C2 und C4 können nicht genau zugeordnet werden, da die dazugehörigen Protonen eine nahezu gleiche chemische Verschiebung zeigen (H2 und H4 bei 6.46 und 6.48 ppm).

Die Zuordnung der Carbonylfunktion und von C4a erwies sich als schwierig, da beide eine fast identische chemische Verschiebung zeigen (160.39 und 160.49 ppm). Alle anderen Signale und deren Zuordnung ist aus den Abbildungen 4.2.10-12 zu ersehen.

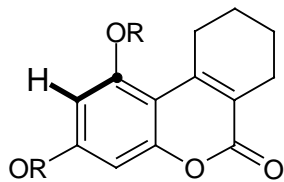
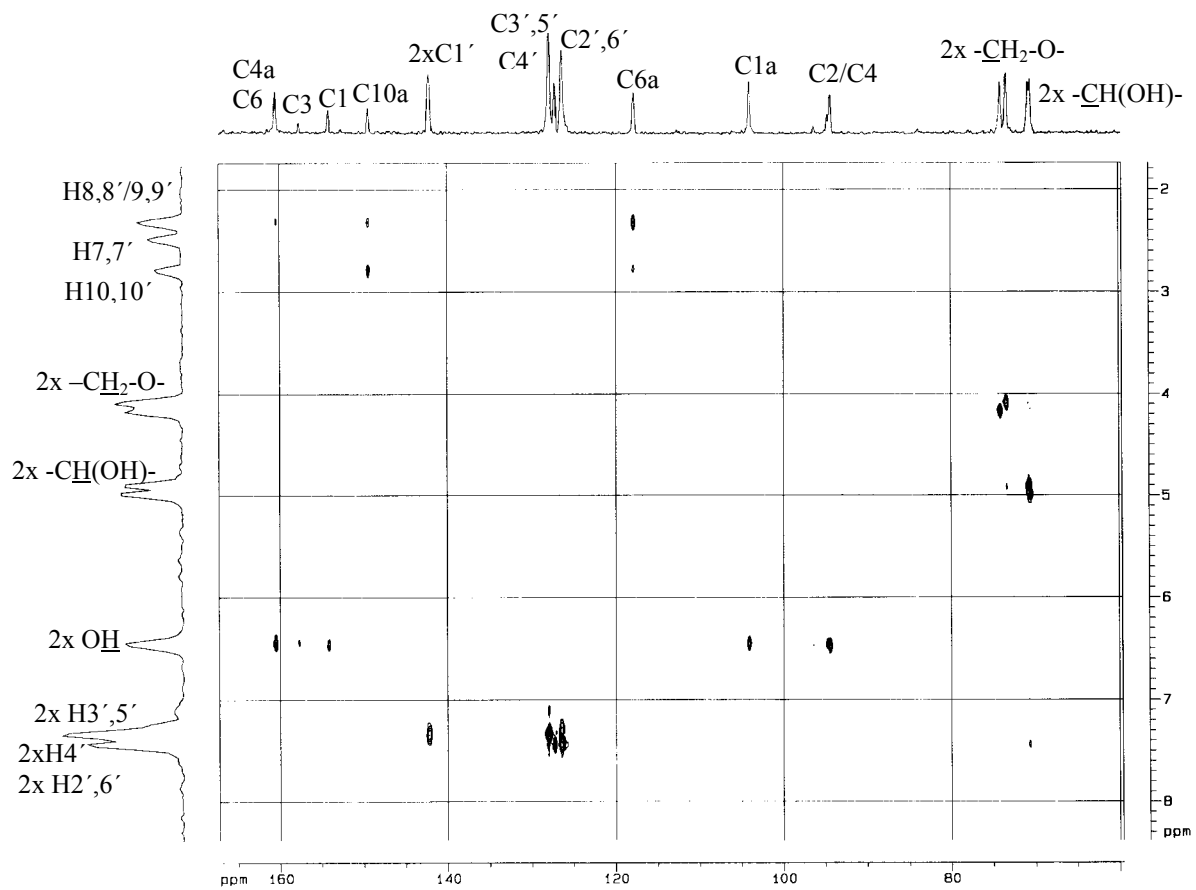


**Abb. 4.2.10:** Das DEPT-135-Spektrum (DMSO-d<sub>6</sub>) des 1,3-Bis(2-dihydroxy-2-phenylethoxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-ons (**9t**), \* Lösungsmittelsignal

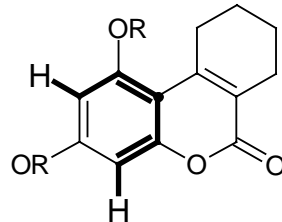


C-Atome	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ppm)	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ppm)	H-Atome
C2/C4	94.42 / 96.37	6.46 / 6.48	H2 / H4
C7	24.17	2.08	H7,7'
C8 / C9	20.68 / 21.68	1.60	H8,8' / H9,9'
C10	29.35	2.73	H10,10'
2x R- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-O-Ar}$	73.34 / 74.03	4.10 / 4.19	2x R- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-O-Ar}$
2x Ph- $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{OH})\text{-R}$	70.52 / 70.72	4.92 / 4.99	2x Ph- $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{OH})\text{-R}$
2x C2',6'	126.44 / 126.49	7.46	2x H2', H6'
2x C4'	127.23	7.35	2x H4'
2x C3', 5'	127.97 / 128.01	7.29	2x H3', H5'

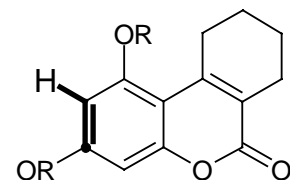
**Abb. 4.2.11** : Die direkte C-H-Korrelation der Verbindung **9t**



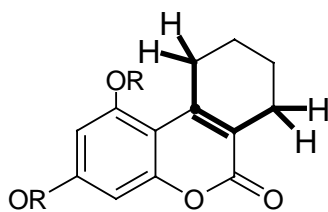
**C1**  $^2J$  Kopplung zu H2



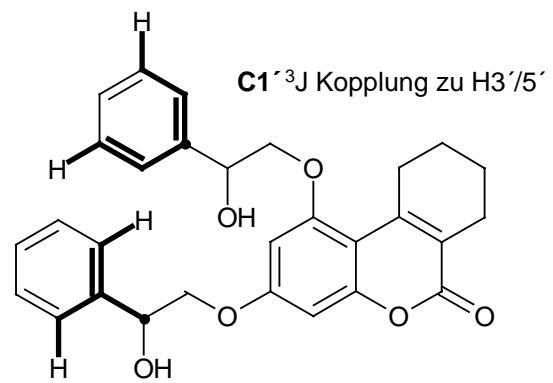
**C1a**  $^3J$  Kopplung zu H2  
 $^3J$  Kopplung zu H4



**C3**  $^2J$  Kopplung zu H2



**C10a**  $^3J$  Kopplung zu H7  
 $^2J$  Kopplung zu H10



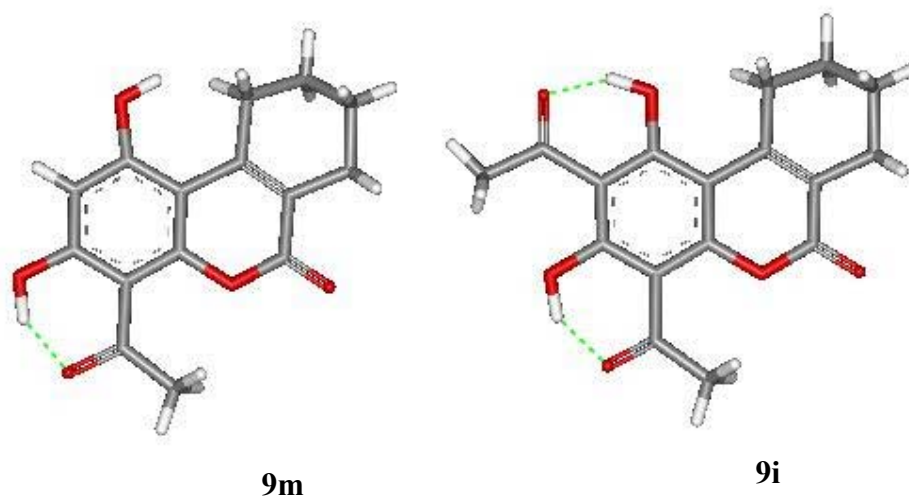
**C1**  $^3J$  Kopplung zu H3'/5'

**C**  $^3J$  Kopplung zu H2'/6

**Abb. 4.2.12:** Ausschnitt aus dem C,H-COLOC-Spektrum der Verbindung **9t**

In der Tabelle 4.2.3 sind die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von den 6 substituierten Chromen-6-on-derivaten aufgelistet.

Interessant sind die chemischen Verschiebungen von C3 und C4 im 4-Acetyl-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrochromen-6-on (**9m**). Durch die Substitution der Acetylgruppe an Position 4 zeigt C4a eine Hochfeldverschiebung, während C3 mehr entschirmt wird und im tieferen Feld des Spektrums erscheint. Der Sauerstoff der Acetylgruppe ist in der Lage, mit dem Wasserstoff der Hydroxygruppe an C3 eine Wasserstoffbrückenbindung zu bilden. (Siehe Abb. 4.2.13)



**Abb. 4.2.13** : Die Geometrieoptimierung der Berechnung der Bildungsenthalpien zugrundeliegenden Strukturen erfolgte nach mechanischer Voroptimierung mit MM+ durch AM1 (Version HyperChem<sup>®</sup> 5.0) Farbcode: C grau, O rot, H weiß

Der Abstand zwischen dem Sauerstoffatom der Acetylgruppe und dem Proton der Hydroxygruppe beträgt in der Verbindung **9m** 1.9 Å. Diese Wasserstoffbrückenbindung beeinflusst bestimmte Signallagen im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum. Das Signal dieses Wasserstoffs ist bei tieferem Feld zu finden und vollständiger H/D-Austausch ist erst nach mehreren Stunden zu beobachten.

Drastischer ist dieser Effekt in **9i**. Die beiden Acetylgruppen bilden mit den Hydroxygruppen Wasserstoffbrücken, was zur Folge hat, dass die Resonanz der beiden C1 und C3 Atome bei

etwa 170 ppm liegt. Im Protonenspektrum sind die Signale der beiden Hydroxygruppen bei etwa 16 ppm zu finden. Deren H/D-Austausch erfolgt langsamer.

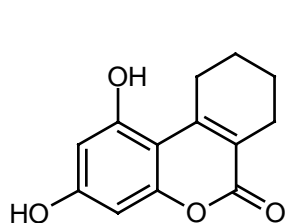
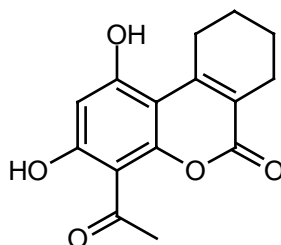
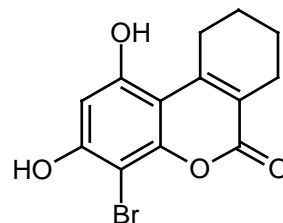
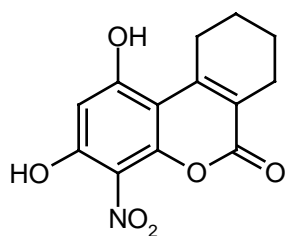
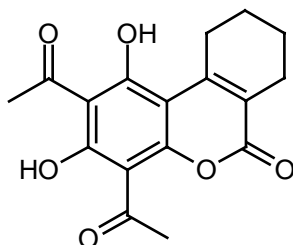
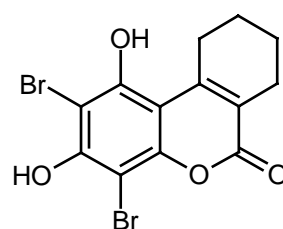
Eine Konformationsanalyse der beiden Verbindungen ergab, dass dies die energetisch stabilste Form der beiden Verbindungen ist (Abb.4.2.13).

Die Verbindung **9q** führt durch den Einfluß der Nitrogruppe zu einer generellen Hochfeldverschiebung der Signale, so dass die Carbonylfunktion eine chemische Verschiebung von ca 159 ppm zeigt. Die Resonanzfrequenz des C4, welches die Nitrogruppierung trägt, ist bei etwa 122 ppm. Dieses Signal liegt im höheren Feld als es üblicherweise für die Nitroverbindungen erwartet wird.

Auch durch eine Monobromierung am C4 der Verbindung **9c** werden die Signale des Grundgerüsts beeinträchtigt, so dass sie im höheren Feld des Spektrums erscheinen. C3 und C4a haben fast die gleiche Signallage bei 156.36 ppm und 156.12 ppm. Überraschend ist die chemische Verschiebung des C-Atoms C1a bei 87.09 ppm, die im Vergleich zu dem entsprechenden C-Atom des 7,8,9,10-Tetrahydroxy-1,3-dihydroxybenzochromen-6-ons (**9c**) um ca. 15 ppm hochfeldverschoben ist (siehe Tabelle 4.2.3). Die Zuordnung der Signale von C3, C4a und C6 erweist sich als schwierig, weil alle diese Signale im tieferen Feld des Spektrums (zwischen 156-160 ppm) liegen.



**Tabelle 4.2.3** :  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von substituiertes Chromen-6-on-Derivate; (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ , TMS als interner Standard); \* Eine exakte Zuordnung ist nicht möglich. Die Signale können vertauscht sein.

**9c****9l****9o****9q****9i****9r**

Verbindung	C1a	C1	C2	C3	C4	C4a	C6	C6a	C7	C8/C9	C10	C10a
<b>9c</b>	102.09	154.58	92.26	157.32	99.36	159.62	160.87	116.12	24.05	20.90 21.75	29.14	150.02
<b>9l</b>	102.00	157.70	93.97	165.21	106.18	159.97	162.00	117.05	23.81	20.49 21.51	28.96	149.93
<b>9o</b>	87.09	150.74	99.28	156.36*	103.23	156.12*	160.12	116.55	23.98	20.68 21.01	29.13	149.98
<b>9q</b>	102.04	159.32*	99.08	152.33	122.61	158.91*	159.22*	118.00	24.43	20.96 21.89	29.54	146.72
<b>9i</b>	102.48	170.90	103.17	171.40	106.29	159.26*	159.42*	119.24	24.36	20.88 22.22	30.12	151.10
<b>9r</b>	90.73	149.80	106.14	153.17	99.33	152.41	160.09	119.22	24.64	20.97 22.11	29.10	149.60

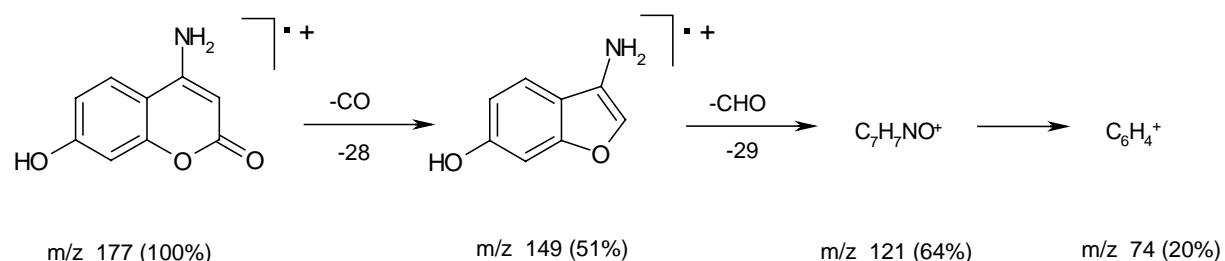
### 4.3. Massenspektrometrie

Von allen 4-Aminocumarinen, Benzopyranopyridinen und Tetrahydrochromonen wurden Massenspektren aufgenommen. Die genauen Daten befinden sich im experimenteller Teil der Arbeit. Daher werden hier nicht alle Spektren im Detail, sondern nur jede Substanzklasse exemplarisch besprochen.

#### 4-Aminocumarine

4-Aminocumarine sind wie die Cumarine stabile Heteroaromaten, so dass sie unter den üblichen Bedingungen der Elektronenstoßionisation (EI) bei 70 eV einen deutlichen Molekülpeak liefern, der häufig der Basispeak ist. Für die meisten Cumarin–Massenspektren ist die Abspaltung von CO (28 amu) charakteristisch (Budzikiewicz 1964). Die Bildung des stabilen CO findet aus der Carbonylgruppe des Cumarins statt, wobei sich der Benzopyranring verengt. Die 4-Aminocumarine zeigen die typischen Zerfallsprodukte der Cumarine.

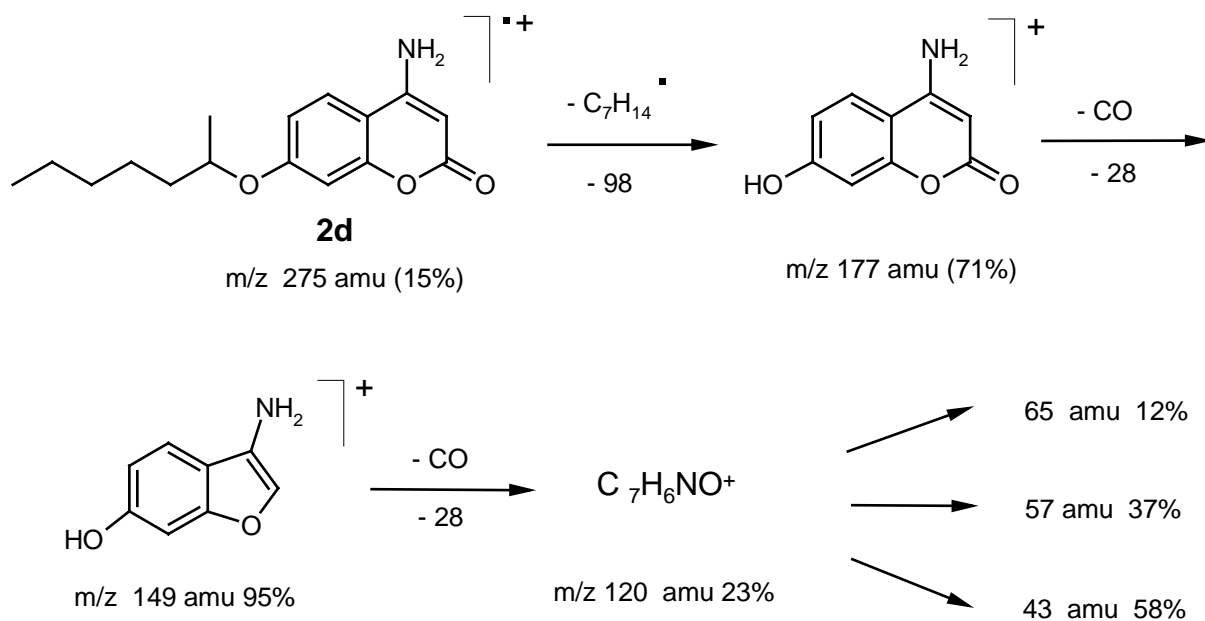
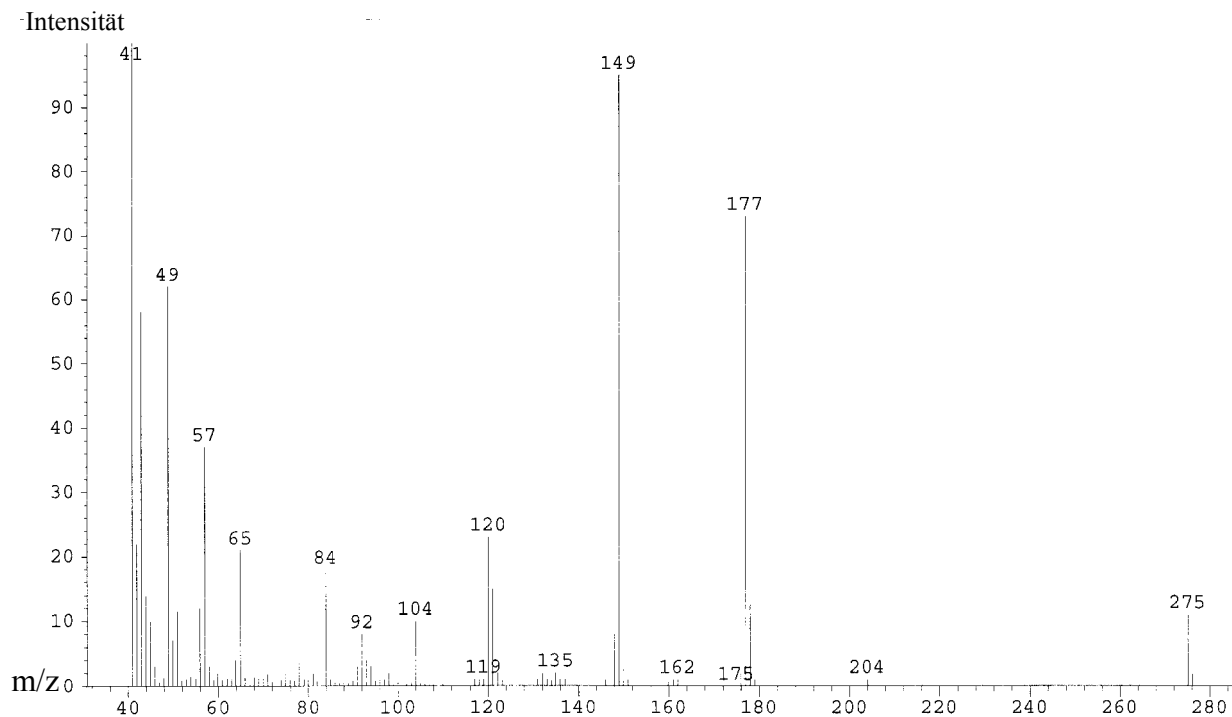
4-Amino-7-hydroxycumarin liefert in dem Massenspektrum einen sehr intensiven Molekülpeak der gleichzeitig der Basispeak ist. Durch den CO-Verlust verengt sich der Pyranring. Der weitere Zerfall erfolgt unter Abspaltung von CHO (29 amu)(siehe Fragmentierungsschema Abb.4.3.1).



**Abb. 4.3.1:** Fragmentierungsschema des 4-Amino-7-hydroxycumarins (**2a**)

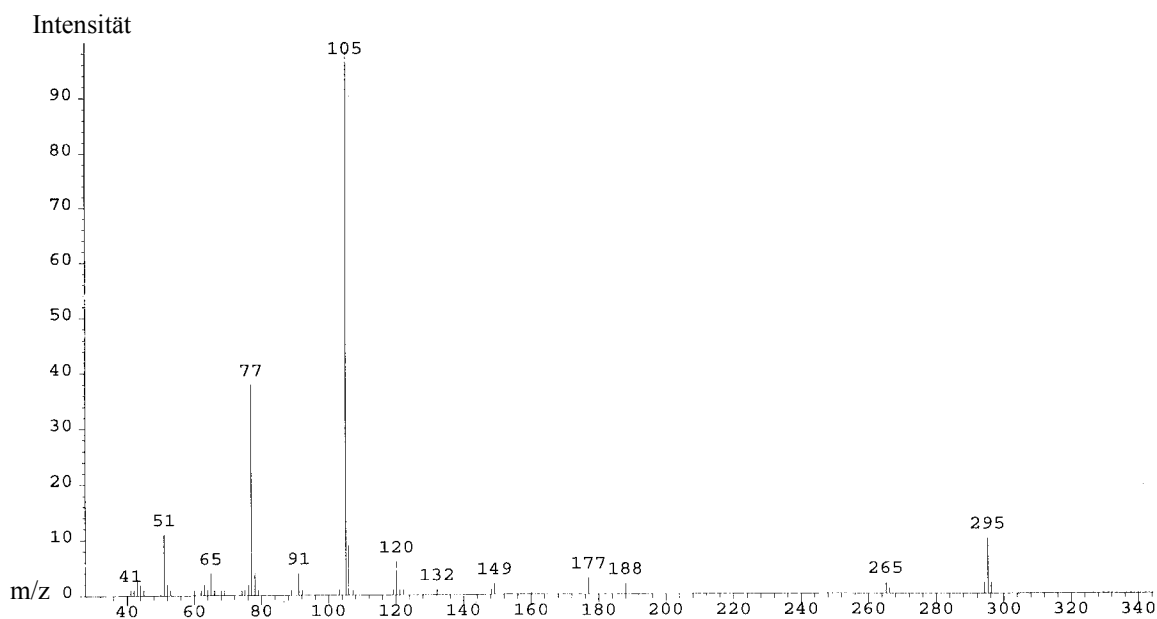
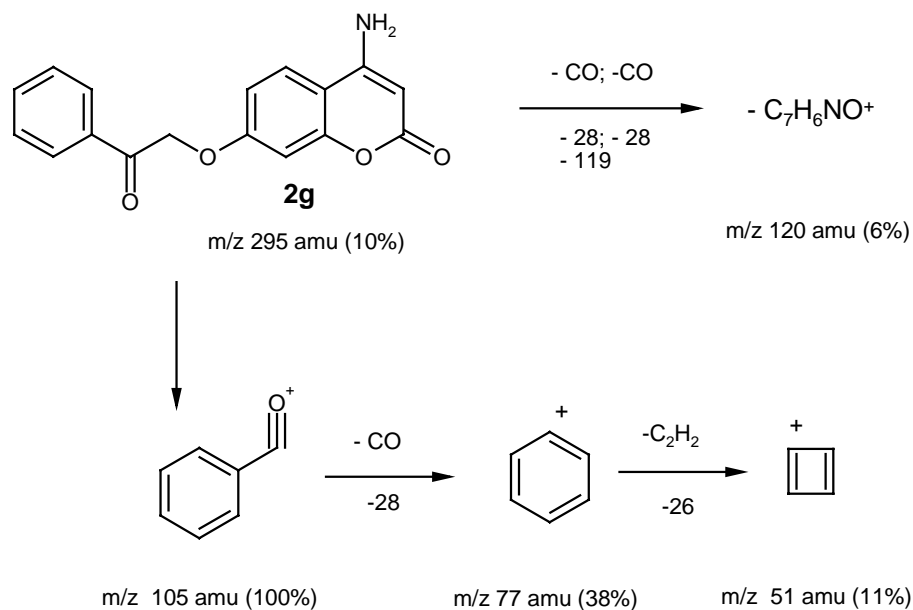
Bei den O-alkylierten 4-Aminocumarinen geht die  $\alpha$ -Spaltung der Seitenkette der charakteristischen CO-Abspaltung des Pyronringes voraus. In Abhängigkeit von der Seitenkette sehen die Spektren sehr unterschiedlich aus. In 4-Amino-7-(1'-methylhexyloxy)cumarin (**2d**) spaltet sich zunächst der langkettige Alkylrest ab, wobei ein intensiver Peak bei 177 amu registriert wird (71%). Der Basispeak entsteht aber erst nach dem

Verlust von CO 28 amu. Die Abspaltung des restlichen Sauerstoffs erfolgt in Form von CHO (29 amu). Ab dann zerfällt das Molekül in kleinere Fragmente 65 amu (möglicherweise ein Cyclopentadienylkation  $m/z = 65$ ), 57 amu und 43 amu.



**Abb. 4.3.2** : Das Massenspektrum (EI 70 eV) und Fragmentierungsschema des 4-Amino-5-(1'-methylhexyloxy)cumarins (**2d**)

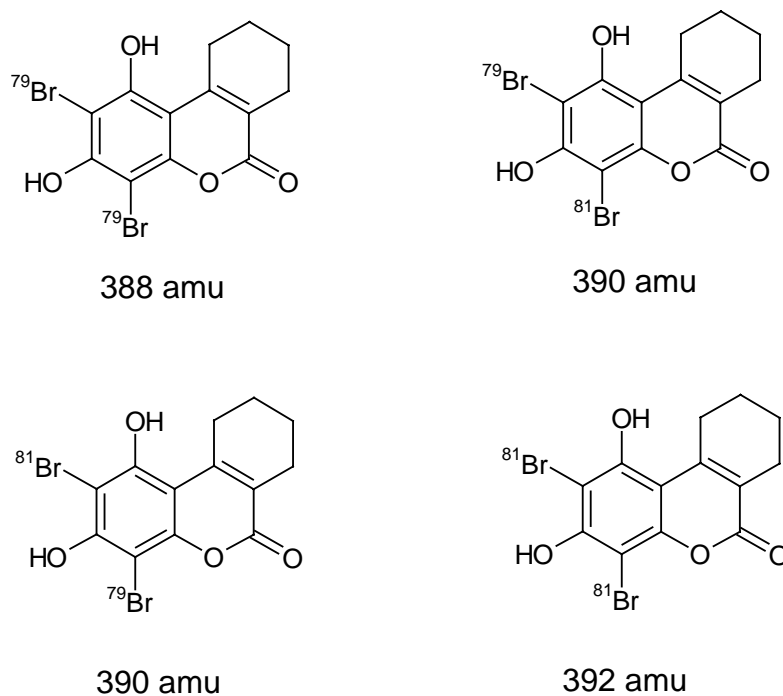
Ein anderes Spektrum liefert 4-Amino-7-phenacyloxyumarin (**2g**). Nach dem Molpeak bei 295 amu ist ein schwacher Peak bei 120 amu der Intensität von 6% zu finden. Dies weist auf eine zweimaligen Abspaltung von CO (28 amu) und die Fragmentierung des Phenacylrestes hin. Das Ion  $m/z = 105$  amu ist das intensivste Signal des Spektrums, das aus der  $\alpha$ -Spaltung der Phenacylgruppe hervorgeht. Aus  $m/z = 105$  amu wird unter CO-Verlust ( $m/z = 77$ ) und daraus durch Acetylen-Abspaltung  $m/z = 51$  gebildet.



**Abb. 4.3.3:** Das Massenspektrum (EI, 70 eV) von der Verbindung **2g** und das Fragmentierungsschema

**2,4-Dibrom-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (9r)**

Einen wichtigen Hinweis zur Strukturaufklärung der zweifach bromierten Verbindung **9r** liefert das Massenspektrum. Brom besitzt zwei stabile Isotope;  $^{79}\text{Br}$  (50.50%) und  $^{81}\text{Br}$  (49.5%). Es existieren also vier Isotopen-Kombinationen, die gleich wahrscheinlich sind (siehe Abb.4.3.4).

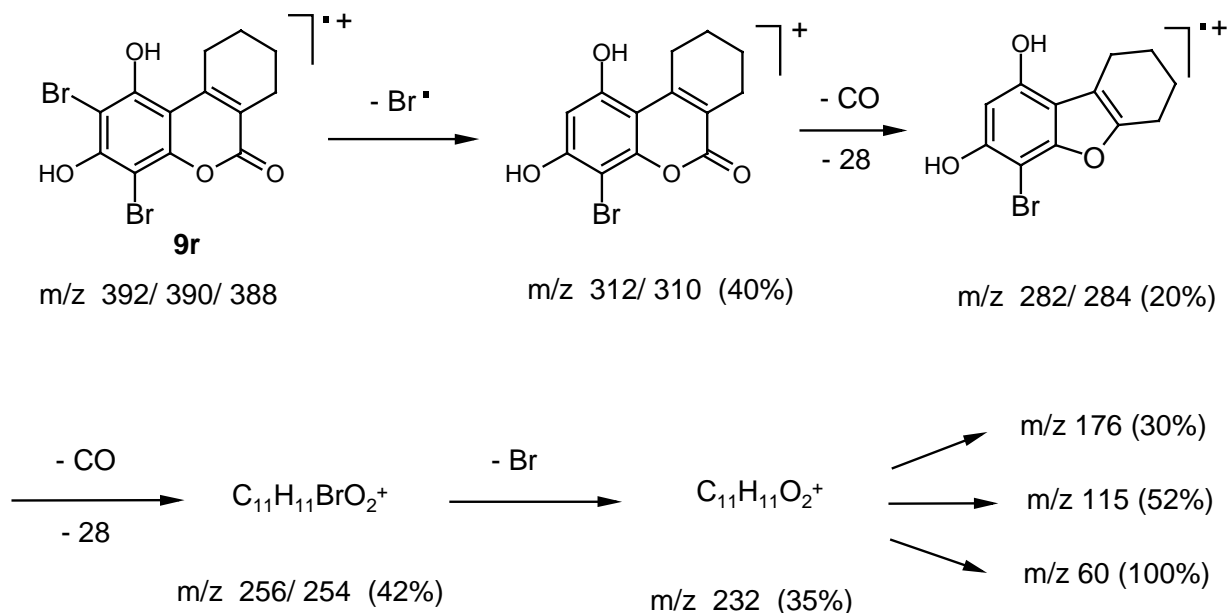


**Abb.4.3.4:** Isotopenverteilung des Broms in 2,4-Dibrom-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9r**)

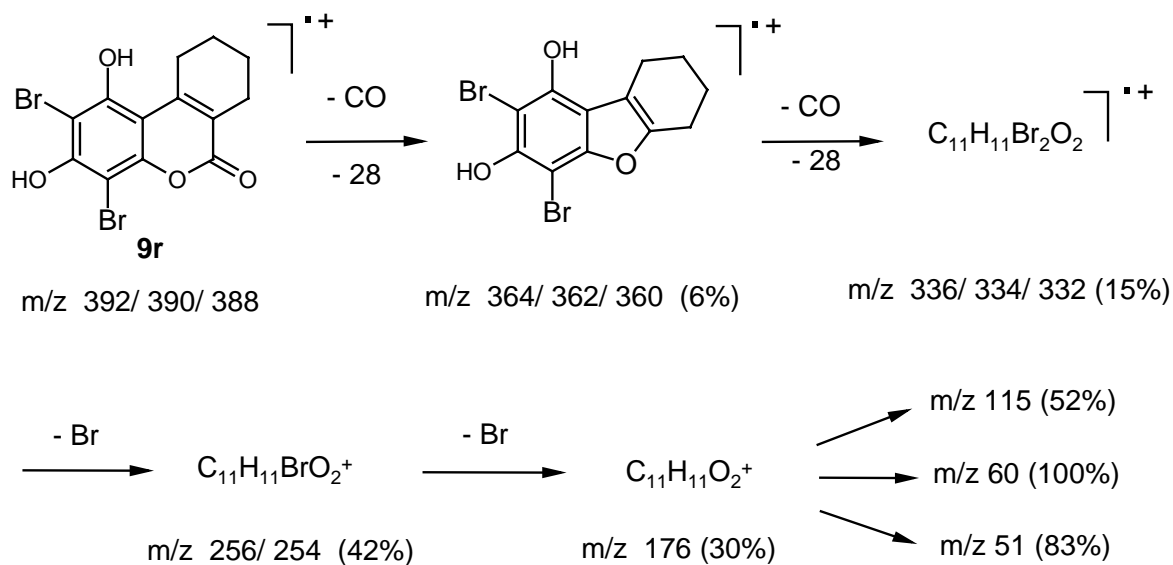
Hiermit ergeben sich für **9r** die Molpeaks 388 : 390 : 392 mit der Intensität von ca. 1:2:1. Tatsächlich ist im Massenspektrum unter den Bedingungen der Elektronenstoßionisation (EI) bei 70 eV diese Verteilung wiederzufinden (siehe Abb.4.3.5 das Massenspektrum). Für die Fragmentierung des Moleküls können zwei Wege vorgeschlagen werden. (siehe Abb. Fragmentierungsschema **9r**). Im ersten Weg wird zunächst ein Brom abgespalten. Diesem Schritt folgt zweimalige CO-Abspaltung. Aus diesem Fragment  $m/z = 256/254$  wird das

zweite Brom abgespalten. Der zweite mögliche Fragmentierungsweg beginnt mit der charakteristischen CO-Abspaltung. Diesem folgen dann die Abspaltung der beiden Bromatome. Der Basispeak ist das Fragment bei  $m/z = 69$  amu (100%).

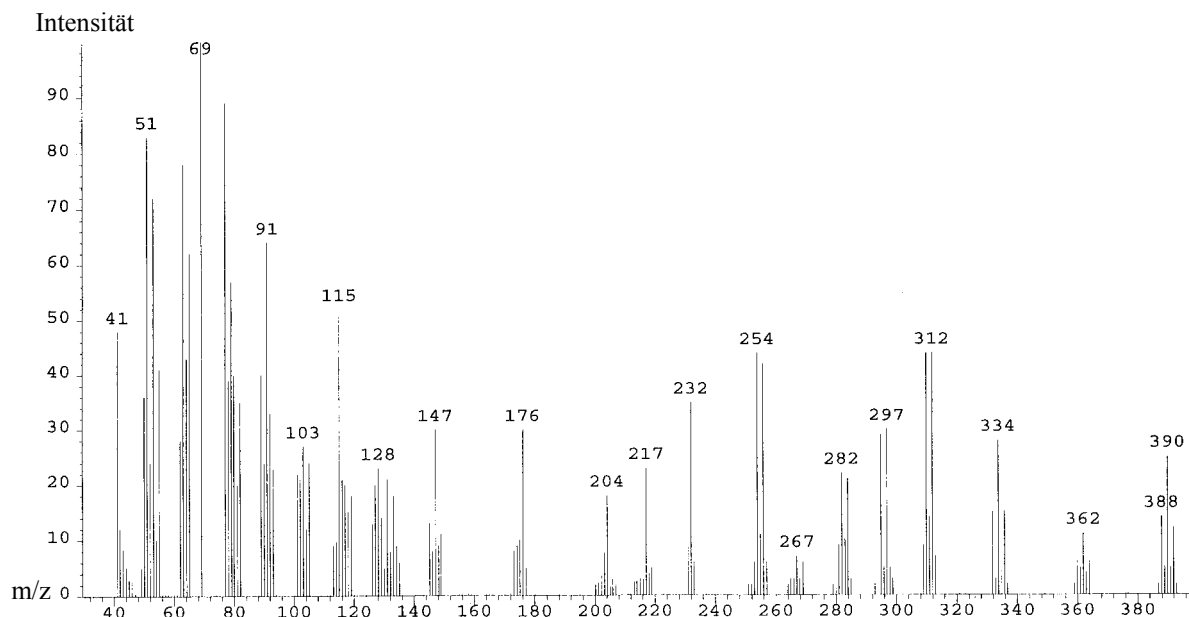
**Weg A:**



**Weg B:**



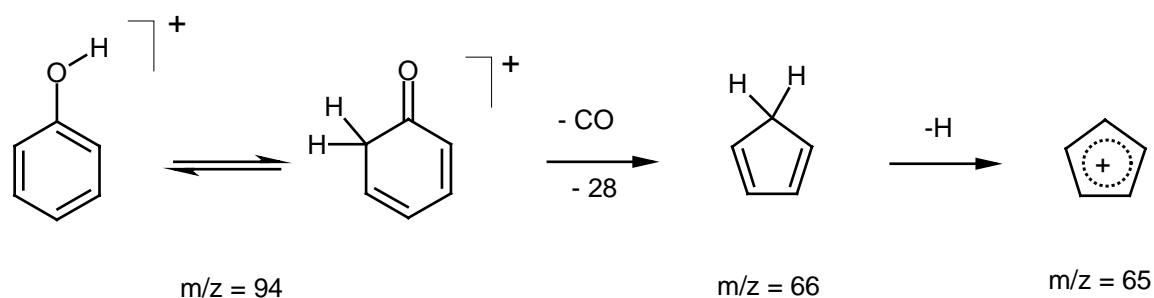
**Abb.4.3.5** : Postuliertes Fragmentierungsschema des 2,4-Dibrom-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-ons (**9r**)



**Abb. 4.3.6** : Das Massenspektrum (EI: 70 eV) der Verbindung **9r**

Auch die acetylierten Benzopyrane liefern interessante Massenspektren. Bei den O-acetylierten Verbindungen beginnt die Fragmentierung mit dem charakteristischen Signal von  $m/z = 43$  amu; ( $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}^+$ ). Die C-acetylierten Verbindungen zeigen unterschiedliche Zerfallswege. Parallel zum Beispiel der dibromierten Verbindung geht hier erst die Abspaltung der Acetylgruppe der typischen CO-Abspaltung bevor und gleichzeitig sind auch Fragmente zu sehen, die auf eine Abspaltung von  $m/z = 28$  amu (CO) und anschließend auf den Zerfall der Acetylgruppe deuten.

In den O-alkylierten Benzopyranen geht meist die  $\alpha$ -Spaltung der charakteristische CO-Spaltung voran. Dies liefert häufig den intensivsten Peak des Spektrums. Wenn mehrere CO-Gruppen in einem Molekül vorhanden sind, können sie nacheinander eliminiert werden. Verbindungen mit Hydroxygruppen sind manchmal auch in der Lage, CO abzuspalten (siehe Hesse 1992) Dies kann bedeuten, dass das Fragment CO in den Hydroxy- bzw. Dihydroxybenzopyranen viermal abgespalten wird (siehe Abb.4.3.7).



**Abb. 4.3.7:** CO-Abspaltung im Phenol und Bildung des Cyclopentadienyl-Kation unter dem Verlust eines H• -Radikals (Hesse 1992)

Weniger charakteristisch für die 7,8,9,10-Tetrahydrochromenon-Derivate ist das Erscheinen der Peaks bei 69 amu, 57 amu und 41 amu. 69 amu ist möglicherweise ein thermisches Fragment aus dem Zerfall der Kohlenstoffgruppe C7-C10a zu einem Cyclopentyl-Ion ( $m/z = 69$ ).

### Benzopyranopyridine

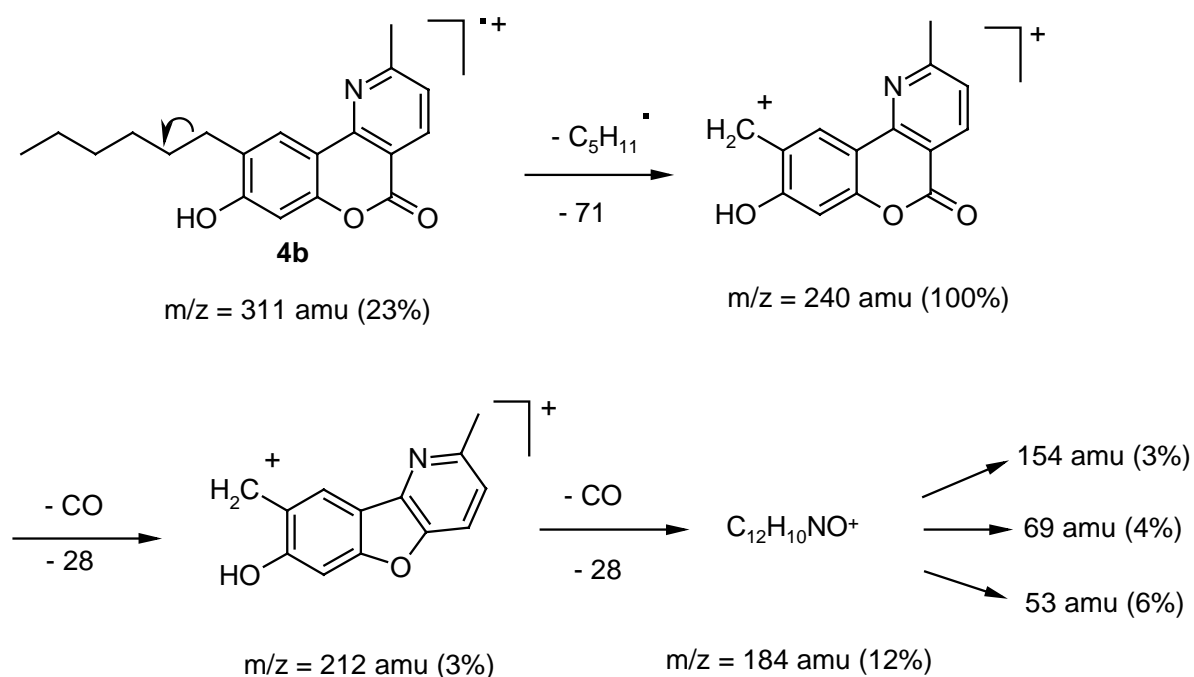
Die Benzopyranopyridine und Tetrahydrobenzopyranopyridine sind, wie aus ihren Bildungsenthalpien hervorgeht, thermisch stabile Verbindungen (Tabelle 4.3.1 mit  $\Delta G$ ). Massenspektren dieser Substanzklasse zeigen in Abhängigkeit der Substituenten eine sehr unterschiedliche Fragmentierung.

Verbindung	Bildungsenthalpie
<b>4b</b>	-97.50 kcal/mol
<b>4c</b>	-101.02 kcal/mol
<b>4f</b>	-91.61 kcal/mol
<b>6b</b>	-128.21 kcal/mol
<b>6c</b>	-123.05 kcal/mol
<b>6f</b>	-162.60 kcal/mol

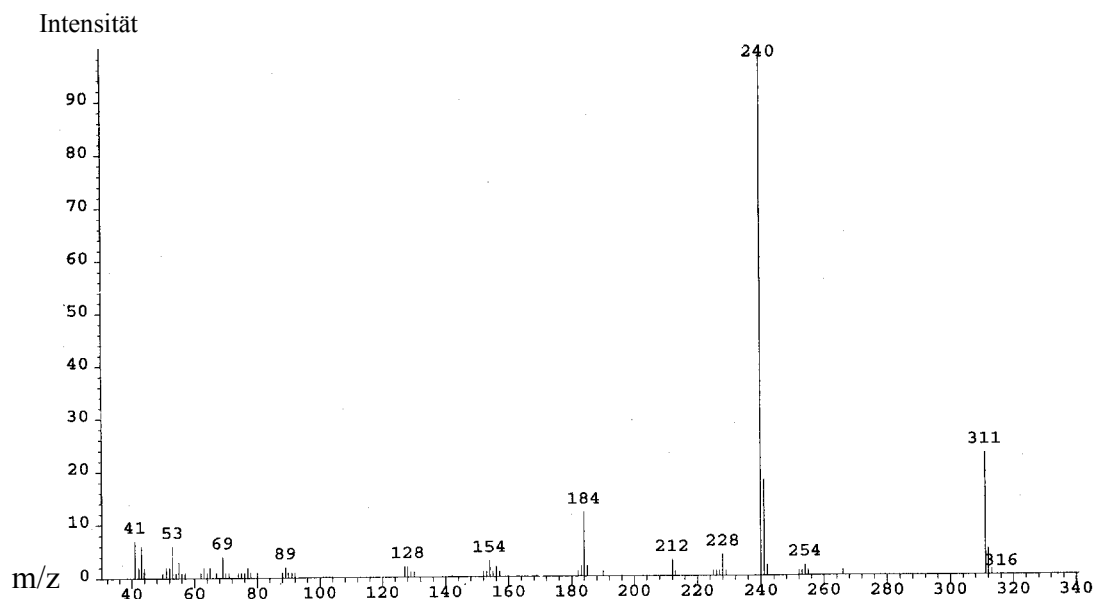
**Tabelle 4.3.1:** Bildungsenthalpien einiger Benzopyrano- und Tetrahydrobenzopyranopyridine (nach mechanischer Voroptimierung mit MM+ wurden die Strukturen mit AM1 optimiert).



Im folgenden sollen hier die Verbindungen **4b**, **4e** und **6e** besprochen werden. In **4b** beginnt der Zerfall mit der Abspaltung der Seitenkette (Abb.4.3.8). Einen aktivierenden Einfluß, der zur  $\alpha$ -Spaltung führt, haben aromatische Kerne auf die benzylicischen Bindungen. Somit ist dies der Beginn der Fragmentierung. Durch die Spaltung der C-C-Bindung entsteht unter dem Verlust des Pentylradikals der intensivste Peak des Spektrums ( $m/z = 240$ , 100%). Nach der charakteristischen CO-Abspaltung zerfällt das Molekül in kleine Fragmente, wie 69, 53 und 43 amu (siehe Abb. 4.3.9 Das Massenspektrum der Verbindung **4b**).



**Abb. 4.3.8** : Postulierte Mechanismus des Zerfalls des 9-Hexyl-8-hydroxy-2-methylbenzopyrano[4,3-b]pyridins (**4b**)

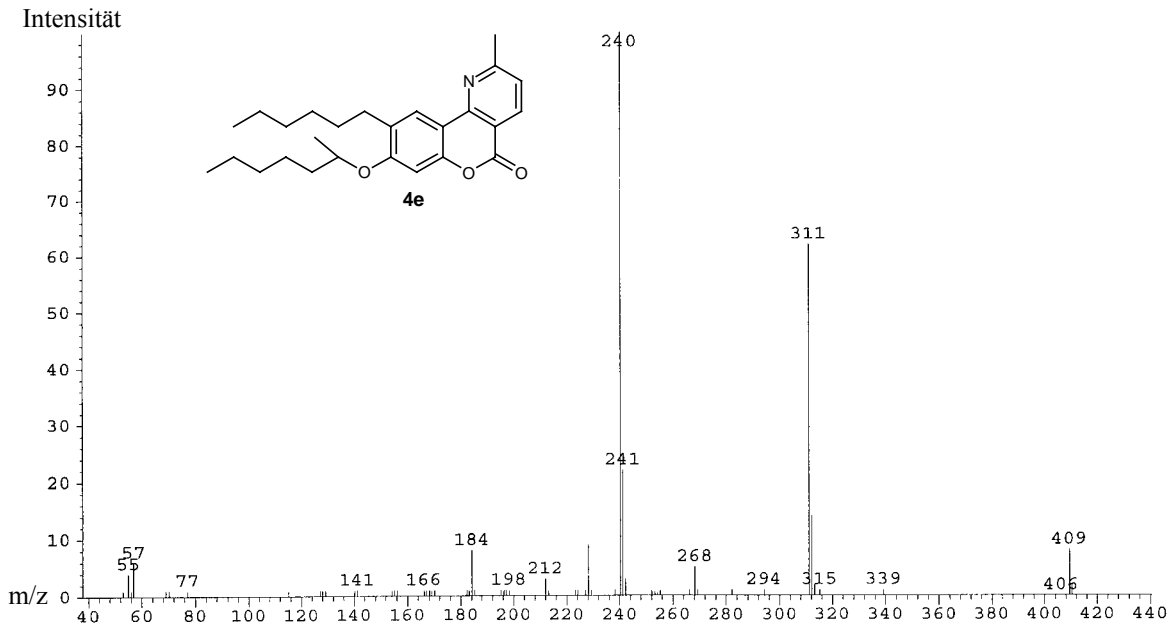


**Abb.4.3.9:** Das Massenspektrum (EI, 70 eV) der Verbindung **4b**

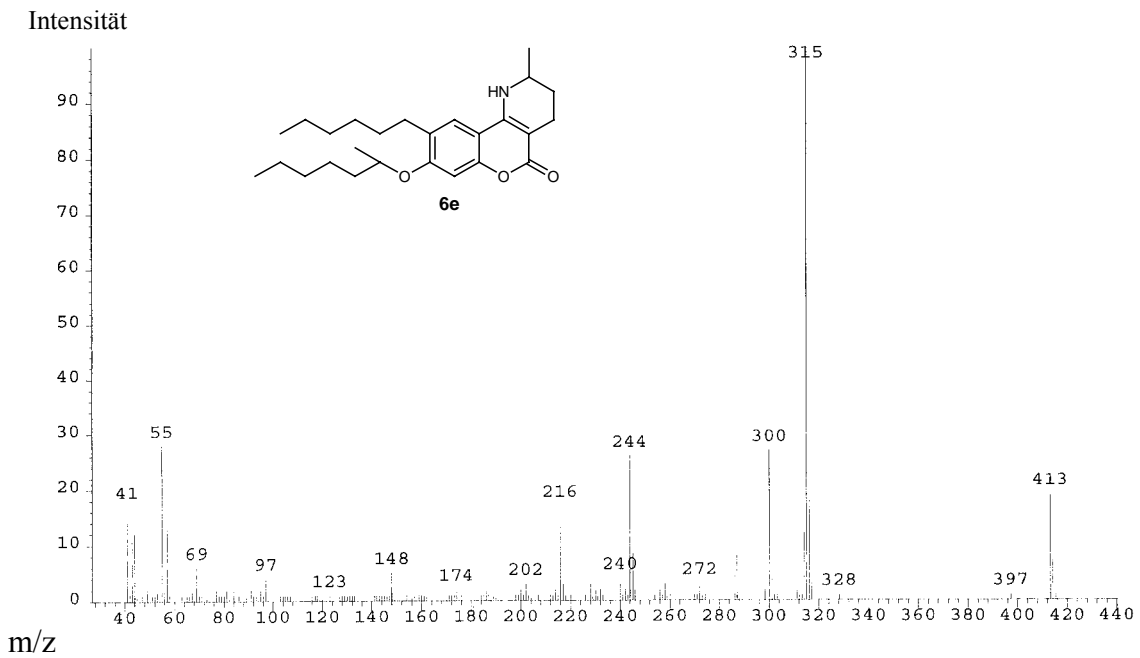
Interessanter ist das Massenspektrum von **4e**. Hier konkurrieren die  $\alpha$ - und die benzyliche C-C-Spaltung. Dabei geht die  $\alpha$ -Spaltung der Seitenkette am Sauerstoff der Spaltung der C-C-Bindung voraus. Dies wird durch den Peak bei 311 amu (62%) gezeigt (siehe Abb. 4.3.10 das Massenspektrum der Verbindung **4e**). Der Verlust des Pentyradikals liefert den Basispeak bei 240 amu (100%). Nach der Abgabe des CO-Teilchens zerfällt das Molekül in kleinere Fragmente.

Für die Fragmentierung von **6e** können zwei verschiedene Wege postuliert werden. Wie bei den anderen Verbindungen mit O-alkyliertem Rest beginnt die Fragmentierung durch die  $\alpha$ -Spaltung am Sauerstoff. Dies liefert den intensivsten Peak des Spektrums von 315 amu (100%). Ab hier können zwei unterschiedliche Wege folgen. Die erste Möglichkeit ist die Spaltung der benzylichen C-C-Bindung. Der charakteristische CO-Verlust liefert dann den Peak  $m/z = 216$  amu. Danach sind nur kleinere Fragmente zu registrieren.

Der zweite Weg geht über die Abspaltung einer Methylgruppe, die den mittelintensiven Peak bei 300 amu liefert. Anschließend werden zwei CO-Teilchen abgespalten (Abb. 4.3.11).



**Abb. 4.3.10:** Das Massenspektrum (EI, 70 eV) der Verbindung **4e**



**Abb. 4.3.11:** Das Massenspektrum (EI, 70 eV) der Verbindung **6e**

#### 4.4. Strukturaufklärung von 3-Cyano-2-methyl-6-(1'-methylhexyloxy)phenyl-piperidin (12)

Nach der Hydrierungsreaktion von **11a** war zunächst die Struktur des isolierten Produkts nicht gesichert. Im folgenden Kapitel soll die Strukturaufklärung mittels spektroskopischer Methoden erklärt werden.

##### Massenspektrometrie

Einen wichtigen Hinweis zur Strukturaufklärung liefert das Massenspektrum. Das nach der Reduktion zu erwartende Produkt 3-Cyano-2-methyl-6-(1'-methylhexyloxy)phenyl-2,3,4-tetrahydropyridin) hat ein Molekulargewicht von 312.2 g/mol. Der in dem EI Massenspektrum bei 70 eV gefundene Molekülpeak liegt bei 314 amu (16%). Auch das CI-Massenspektrum lieferte als  $[M+H^+]$  315 amu. Hieraus ergab sich die Überlegung, dass möglicherweise durch die Hydrierungsreaktion eine vollständige Hydrierung des Pyridins eingetreten ist und nicht wie erwartet das Tetrahydropyridin (siehe Abb. 4.4.1 Massenspektrum und möglicher Strukturen für **12**).

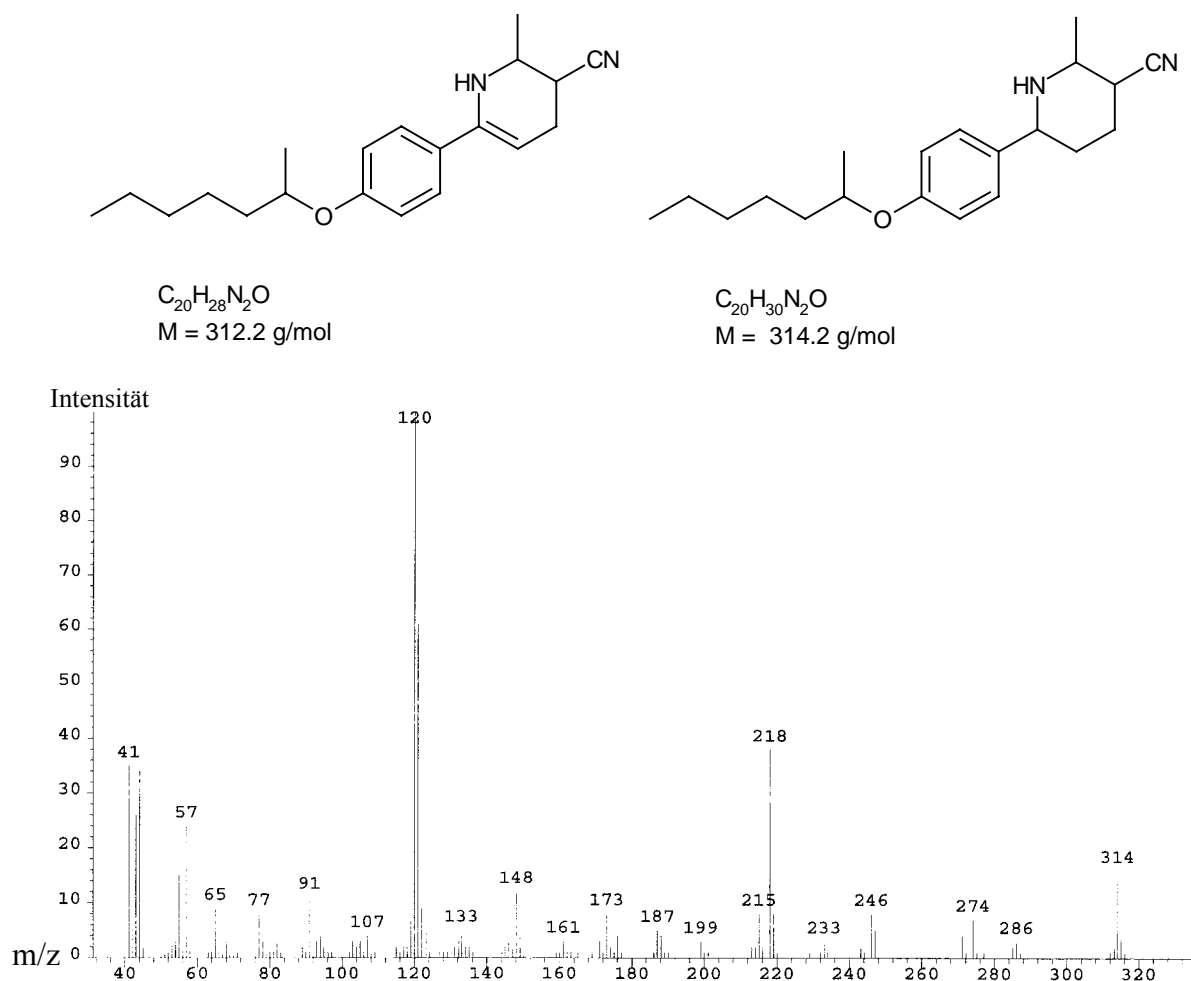
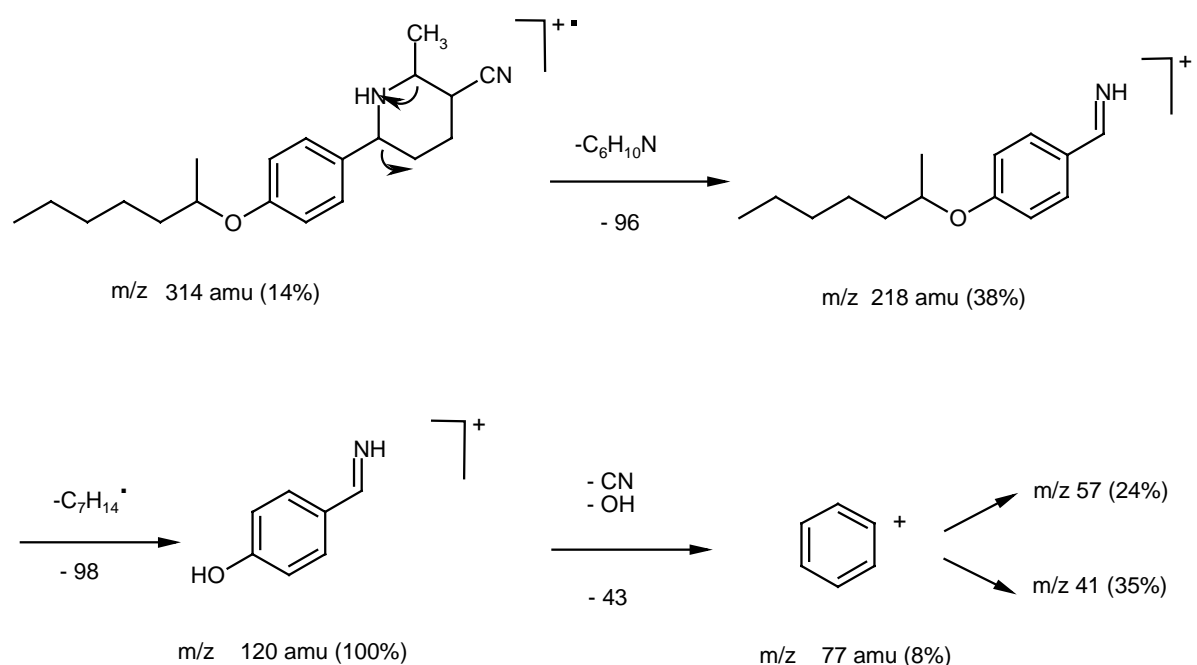


Abb. 4.4.1 : Das Massenspektrum von **12** und die möglichen Strukturen

Die  $\alpha$ -Bindungen zu den Heteroatomen werden bevorzugt gespalten, wobei die Ladung durch das Heteroatom stabilisiert wird. Durch die gleichzeitige  $\alpha$ - und die C-C-(die benzyliche C-C-Bindung am C6 des Pyridinringes) Spaltung beginnt die Fragmentierung mit dem Zerfall des Piperidinringes und nicht, wie bei den O-alkylierten Verbindungen üblich, mit der Abspaltung der Seitenkette. Dies geschieht im folgenden Zerfallsschritt und dieses Fragment ist der Basispeak ( $m/z$  120 amu 100%). Das Molekül zerfällt endgültig, entweder unter Bildung des Tropylium-Ions ( $m/z = 91$  amu, 11%) und/oder unter Phenyl-Spaltung ( $m/z = 77$  amu, 8%).

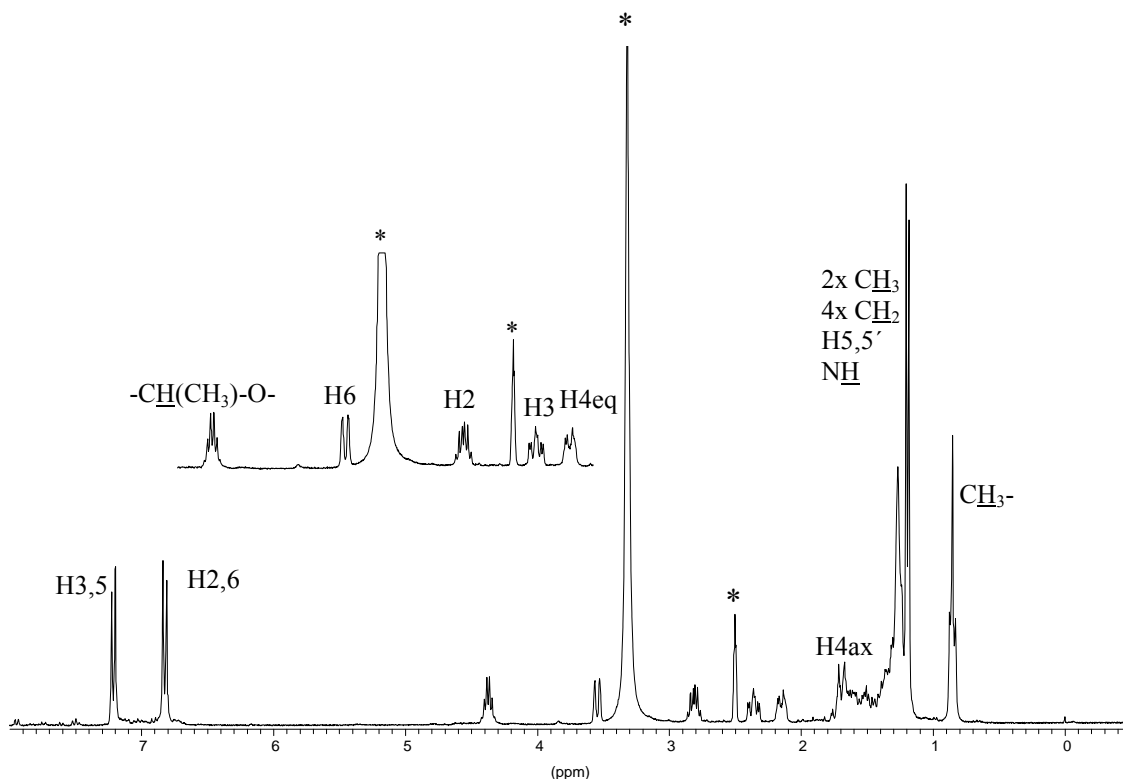


**Abb. 4.4.2** : Fragmentierungsschema von **12**

### $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie

Saupe untersuchte bereits 1980 die Stereochemie substituierter Hexahydrobenzopyranopyridine. Durch spektroskopische Untersuchungen bewies er, dass die Signale der Protonen an C4 unterschiedliche chemische Verschiebungen zeigen (Saupe 1980). Das Signal des Wasserstoffs in der äquatorialen Stellung befindet sich im tieferen Feld des Spektrums als das des axialständigen Wasserstoffs. Der Vergleich des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums von **12** mit den von

Saupe beschriebenen Spektren war eine große Hilfe zur Signalzuordnung. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des teilhydrierten Produkts müssten ein Triplett für H5 und ein Dublett für H2 im tieferen Feld des Spektrums zu finden sein. H3 und H4 müssten auch als Multipletts erscheinen. Das  $^1\text{H}$ -Spektrum bot aber ein kompliziertes Kopplungsmuster. (siehe Abb.4.4.3 mit dem  $^1\text{H}$ -Spektrum). Die endständige Methylgruppe der Seitenkette erscheint wie erwartet bei 0.85 ppm. Von 1.20-1.71 ppm ist ein kompliziertes Multiplett zu sehen mit dem Integral von 17 Protonen. Durch die Signale des langkettigen Alkylrests werden all anderen Signale im Aliphatenbereich des Spektrums überdeckt. Unter der Annahme, dass sowohl die Signale der H5,5' als auch der Wasserstoff der Aminogruppe ebenfalls im höheren Feld erscheinen müssen, wurden diese Signale zu diesen Multipletts zugeordnet (NH bei Piperidinen bei  $\delta = 1.6$  ppm, siehe high resolution NMR-spectra catalog piperidine). Das Signal von H2 zeigt ebenfalls ein Multiplett, da dieses Proton sowohl mit H3 zu einem Dublett als auch mit den Protonen H4,4' zu einem Triplett aufspaltet. Die Resonanzfrequenz der Protonen am C2 und C6 liegen im tieferen Feld des Spektrums. Das Multiplett bei 4.4 ppm gehört dem C1  $\underline{\text{H}}$ - der Seitenkette. Die aromatischen Protonen zeigen ebenfalls die für sie üblichen chemischen Verschiebung bei etwa 6.8 und 7.2 ppm (Dubletts  $^3J = 8.6$  Hz).



**Abb. 4.4.3 :**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (300 MHz,  $\delta$  in ppm,  $\text{DMSO-d}_6$ ) von der Verbindung **12**,

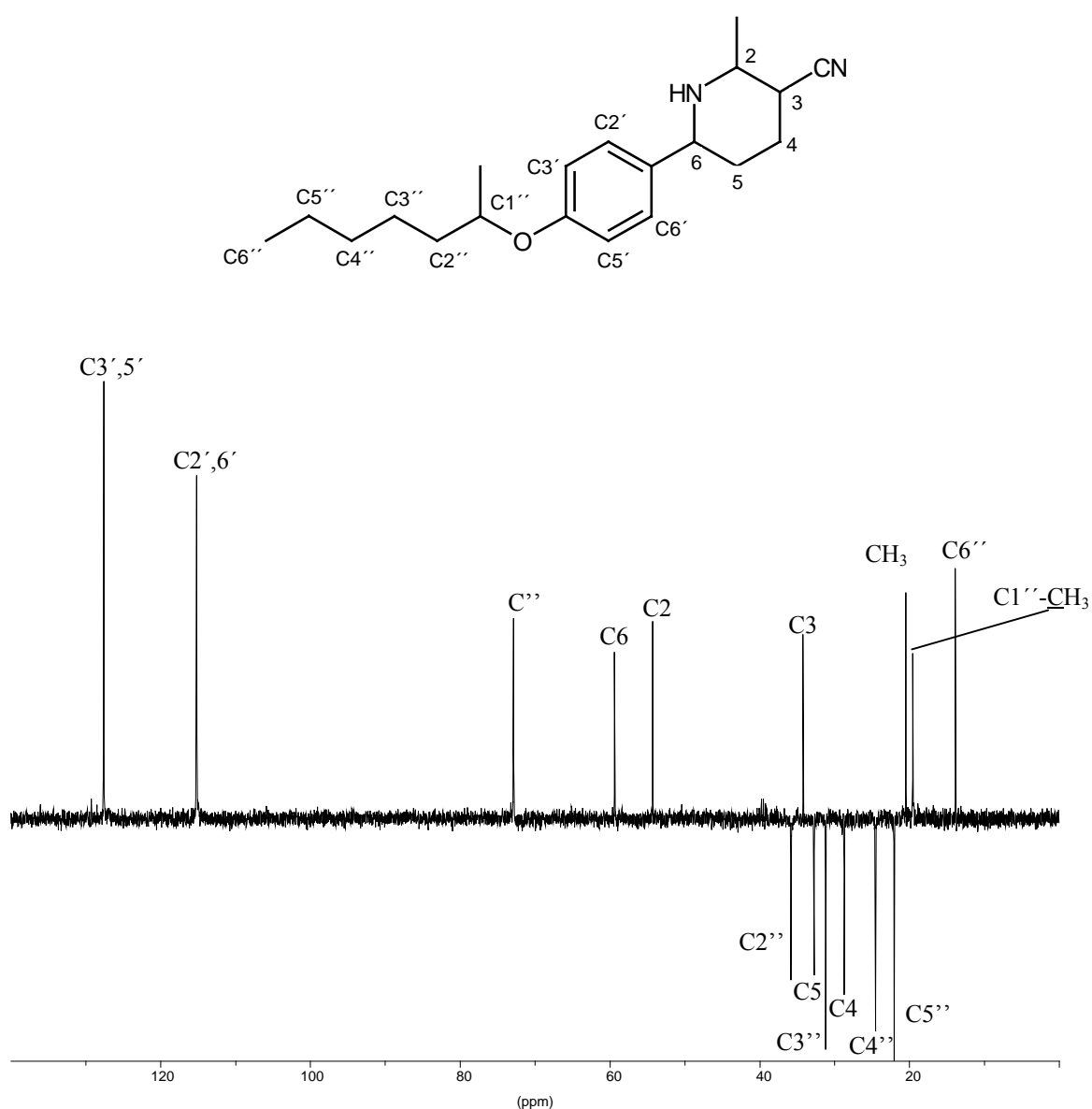
\* Lösungsmittelsignal

**<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie**

Das <sup>13</sup>C-NMR- und das DEPT-135-Spektrum waren weitere Beweise für die angenommene Struktur (siehe Abb. 4.4.4 DEPT-135- Spektrum).

Das DEPT-135-Spektrum der Verbindung **12** zeigte 6 Methylensignale, von denen vier der Alkylkette zuzuordnen sind. Die Signale bei 28.7 und 32.73 werden C4 und C5 zugeordnet. Die chemischen Verschiebungen von C2 und C6 liegen im tieferen Feld des Spektrums. Die Resonanzfrequenz des Kohlenstoffes der Cyanogruppe liegt bei 121 ppm, ein typischer Wert für eine Cyanogruppe, die an einen aliphatischen Rest gebunden ist (Hesse 1992).

Das Signal des C4' zeigt durch die O-Alkylierung ein Tieffeldverschiebung und wird bei etwa 156.7 ppm registriert.



**Abb. 4.4.4** : DEPT-135-Spektrum des 3-Cyano-2-methyl-6-(1'-methylhexyloxy)phenylpiperidins (**12**)

Weiterhin ist interessant, welche Konformation das substituierte Piperidin hat. Die Konformationsanalyse von Piperidin und N-Methylpiperidin durch Tieftemperatur  $^{13}\text{C}$ -NMR-Untersuchungen ergeben für Piperidin eine Bevorzugung der equatorialen Position, während das N-Methyl-Derivat ausschließlich ( $-\Delta G^\circ = 10.1 \text{ KJ/mol}$ ) mit equatorial angeordneter Methylgruppe vorliegt (Kalinowski 1984, Eliel 1975,1980).



Die Berechnung mit der semiempirischen Methode AM1 (Dewar 1985) zeigt für den Piperidinring eine Sesselkonformation an. Die Methylgruppe am C2 und die Cyanogruppe am C3 sind axial angeordnet, während sich die Protonen an diesen C-Atom equatorial anordnen (Abb. 4.4.5). Der Wasserstoff der Aminogruppe nimmt ebenfalls eine equatoriale Stellung ein.



**Abb. 4.4.5:** Energetisch günstigste Konformation der Verbindung **12** mit einer Bildungsenthalpie von  $-33.49 \text{ kcal/mol}$ ; Die Geometrieoptimierung der der Berechnung der Bildungsenthalpie zugrunde liegenden Strukturen erfolgte nach mechanischer Voroptimierung mit MM+ durch AM1 (Version HyperChem<sup>®</sup> 5.0). Farbcode: C grau, H weiß, O rot und N blau.



## 5. Struktur-Wirkungs-Beziehung

Im folgenden sollen zunächst die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Benzopyranopyridine und Chromenone miteinander verglichen werden.

Es ist anzumerken, dass einige Substanzen (**13-20**), die in diesem Kapitel besprochen werden, nicht im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert worden sind (Berghaus 1989), deren  $IC_{50}$ -Werte sollen hier aber aufgrund der Analogie zu den Benzopyranopyridinen besprochen werden. Die Synthese dieser Verbindungen wurde bereits von Heber und Berghaus veröffentlicht (Heber 1994, Berghaus 1989).

Es ist weiterhin anzumerken, dass die Testung der Substanzen im Rahmen einer Kooperation mit CNRS\*, Station Biologique de Roscoff durchgeführt worden sind und wir die Genehmigung zur Veröffentlichung der Testergebnisse haben.

### 5.1 Die Testmethode: CDK1/Cyclin B-Histone H1 Kinase-Assay

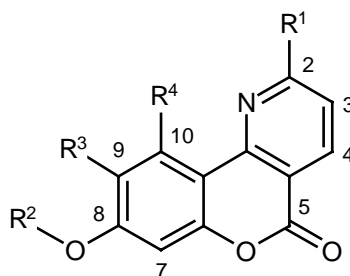
CDK1/Cyclin B werden aus der M-Phase des Zellzyklus der Oocyten des Seesterns *Marthasterias glacialis* durch Affinitätschromatographie an p9-Sepharose-Partikeln isoliert, indem es mit freiem p9 eluiert wird (Baratte 1992). Die CDK1-Assay-Lösung (Endvolumen: 30  $\mu$ l) enthält: 0.5-1  $\mu$ l isoliertes Enzym (CDK1), 5  $\mu$ l Histon H1 (5 mg/ml), 5  $\mu$ l [ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP (15  $\mu$ M, 3000 Ci/mmol, 1 mCi/ml) und 3  $\mu$ l des Inhibitors (0.1-1000  $\mu$ M) in der Puffer C-Lösung (60 mM  $\beta$ -Glycerolphosphat, 15 mM p-Nitrophenyl-Phosphat, 25 mM MOPS, pH 7.2, 5 mM EGTA, 15 mM  $MgCl_2$ , 1 mM Dithiothreitol, 1 mM Natriumvanadat, 1 mM Phenylphosphat, 10  $\mu$ g/ml Leupeptin, 10  $\mu$ g/ml Aprotinin, 10  $\mu$ g/ml Soybean (Soja Bohnen) Trypsin Inhibitor, 100  $\mu$ M Benzamidin). Für die Bestimmung des maximalen radioaktiven Phosphats in der Mischung wird die Pufferlösung anstatt Inhibitor verwendet. Die Assays starten mit der Zugabe von radioaktivem ATP und nach 10 min Inkubation bei 30 °C werden 25  $\mu$ l dieser Lösung entnommen und auf ein 2.5 x 3.0 cm großes Whatman P81-Phosphocellulose-Filter gegeben. Nach 20 min wird der Filter fünfmal jeweils eine Minute lang mit 0.1 % Phosphorsäure gewaschen. Anschließend wird der Wert an  $^{32}$ P-Radioaktivität mit Hilfe eines Packard-Tri-Crab-Counters gemessen. Zur Kontrolle wird das Experiment noch in der gleichen Verdünnung mit DMSO durchgeführt, da für alle Stammlösungen der Testsubstanzen DMSO als Lösungsmittel verwendet wird (100 mM Lösung). Die maximale Konzentration an DMSO im Assay beträgt 1%. Die Kinase-Aktivität wird durch die Abnahme

des radioaktiven Phosphors (in pmol) registriert. Alle Substanzen werden dreimal getestet und mit Hilfe der Dosis-Wirkungskurven können die  $IC_{50}$  Werte berechnet werden (siehe auch Azzi 1992, Rialet 1991).

## 5.2. Benzopyranopyridine

Die  $IC_{50}$ -Werte geben an, bei welcher Konzentration die Aktivität des Enzyms auf die Hälfte reduziert ist.

Aus der Reihe der Benzopyranopyridine zeigen die beiden Verbindungen mit langkettigen Alkylresten **4b** und **4e** die niedrigsten  $IC_{50}$ -Werte. Diese Substanzen gehören zu den lipophilsten Substanzen (Da diese Verbindungen sehr lipophil sind, war eine Lipophilie-Messung nach der Kapillarelektrophorese (CE) nicht möglich). Auch **4c** zeigt eine schwache Aktivität in dem CDK1/Cyclin B-Kinase-Assay, obwohl hier die lipophilen Substituenten (die langkettigen Alkylreste) fehlen. In **13** ist die lipophile Seitenkette durch eine Methylgruppe ersetzt (siehe Tabelle 5.2.1) und dabei ist kaum eine inhibitorische Wirkung zu registrieren. Die Verbindungen **14** und **15** zeigen ebenfalls kaum Aktivitäten. Da viele starke Protein-Liganden-Wechselwirkungen durch intensive lipophile Kontakte gekennzeichnet sind, können wir feststellen, dass die Erhöhung der lipophilen Oberfläche des Liganden in diesem Fall (**4b**, **4e**) zu einer Verbesserung der Bindungsaffinität führt. Erstaunlich ist hierbei, dass die Anwesenheit der Hydroxygruppe in Position 8 in **4b** keinen gravierenden Einfluß auf die Wirksamkeit der Verbindung mit sich bringt, obwohl **4b** dadurch hydrophiler ist als **4e**.

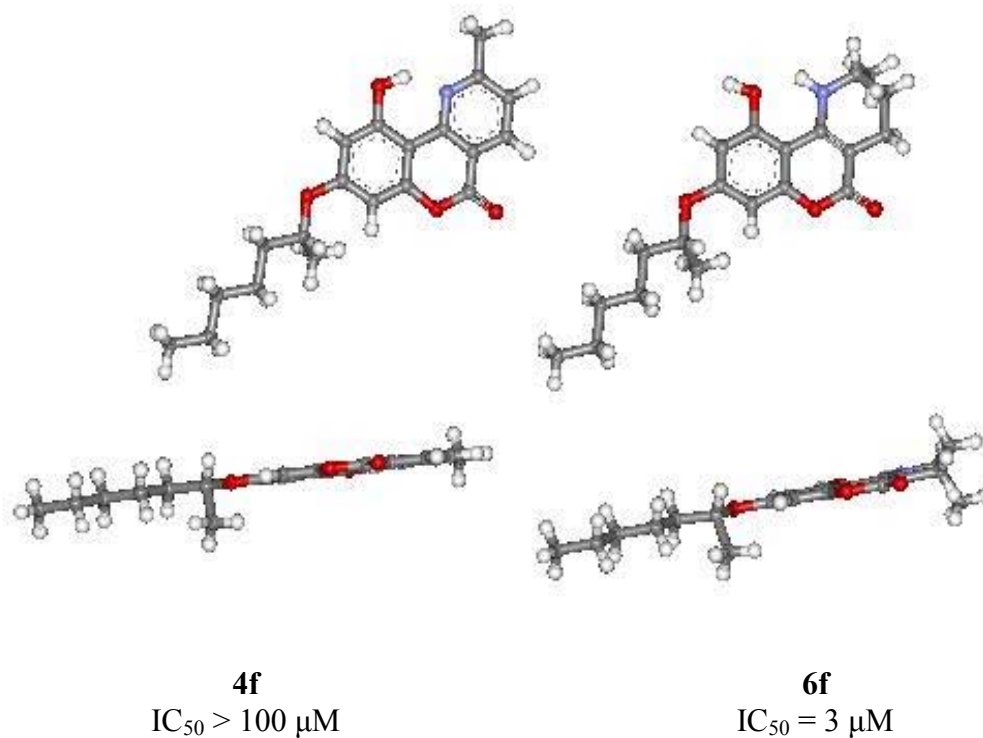


Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	IC <sub>50</sub> in μM
<b>4b</b>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	80
<b>4c</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	OH	100
<b>4e</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	70
<b>4f</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	> 100
<b>13</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	OH	1000
<b>14</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	1000
<b>15</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	1000

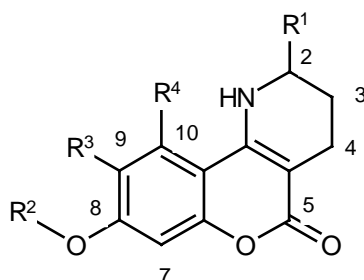
**Tabelle 5.2.1** : IC<sub>50</sub>-Werte der Benzopyranopyridine

### 5.3. Tetrahydrobenzopyranopyridine

Eine bessere Wirksamkeit als die Pyridin-Derivate zeigen die teilhydrierten Pyridine im CDK1-Kinase Assay. Alle Verbindungen besitzen mindestens ein chirales Zentrum am Kohlenstoffatom C2. Im Falle von **6d-f** und **18** sind die Moleküle mit einem weiteren chiralen C-Atom versehen. Die Struktur des gesamten Ringsystems unterscheidet sich von der der Benzopyrane dadurch, dass durch die Teilhydrierung des anellierten Pyridin-Rings die Planarität des Moleküls teilweise verloren geht. Der Tetrahydropyridin-Ring ist nicht planar und der Winkel C2-C3-C4- ragt aus der flachen Ebene heraus (Abb. 5.3.1).



**Abb. 5.3.1:** Geometrioptimierte Strukturen (AM1, voroptimiert mit MM+, HyperChem<sup>®</sup>, Version 5.0) der Verbindungen **4f** und **6f**. Während 10-Hydroxy-2-methyl-8-(1'-methylhexyloxy)benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (**4f**) eine planare Struktur mit equatorial orientierter Methylgruppe am Kohlenstoffatom C2 zeigt, ist der teilhydrierte Pyridinring in 1,2,3,4-Tetrahydro-10-hydroxy-2-methyl-(1'-methylhexyloxy)-benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (**6f**) nicht mehr planar. Die Methylgruppe am C2 orientiert sich hier axial. Farbcode: C grau, N blau, O rot, H weiß.

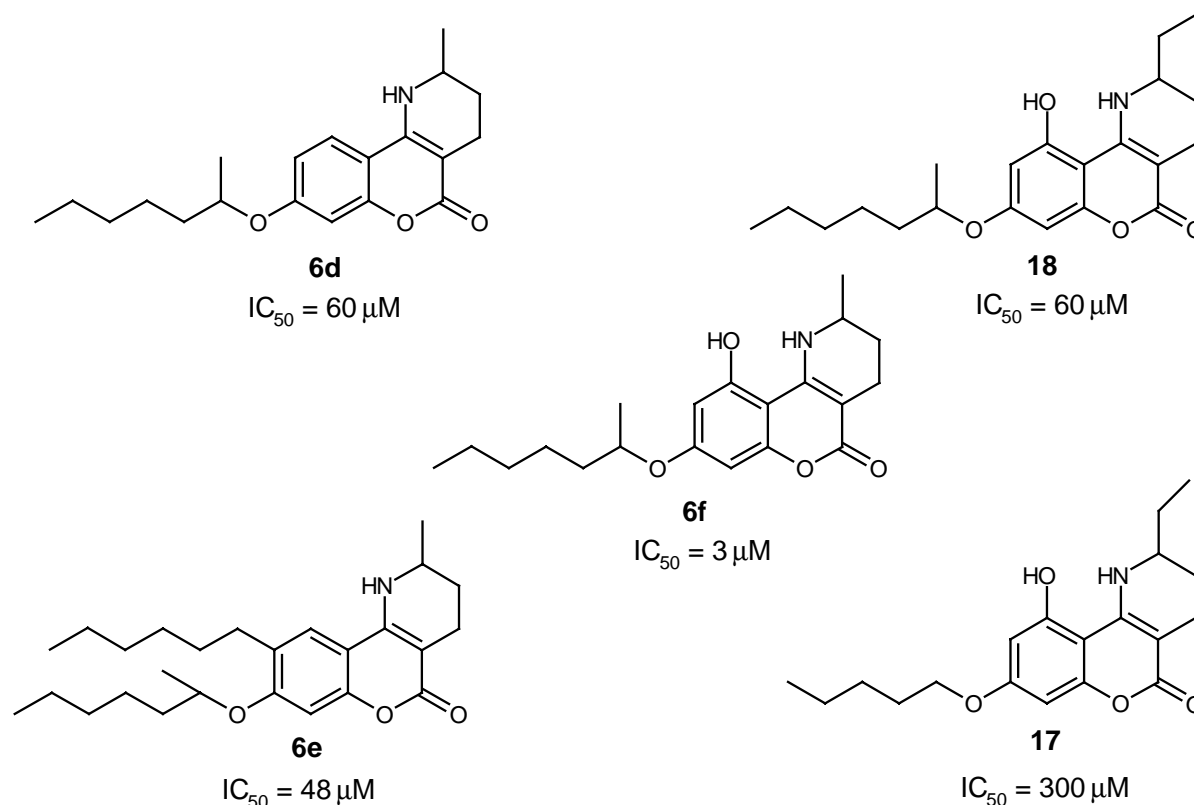


Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	IC <sub>50</sub> in μM
<b>6b</b>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	40
<b>6c</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	OH	100
<b>6d</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	H	90
<b>6e</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	48
<b>6f</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	3
<b>16</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	500
<b>17</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	H	300
<b>18</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	60

**Tabelle 5.3.1** : IC<sub>50</sub>-Werte der Tetrahydrobenzopyranopyridine

Auffallend sind zunächst die IC<sub>50</sub>-Werte der Verbindungen **6c** und **16**. Bei den beiden Verbindungen fehlen die aliphatischen Seitenketten an Position 9 und am phenolischen Sauerstoffatom. In Analogie zu den Ergebnissen der Benzopyranopyridine macht sich die Lipophilie der Substanzen in Verbindung mit der Wirkstärke bemerkbar. Die Wirksamkeit der Verbindungen **6b** und **6e** korreliert genau wie die der homologen Strukturen von **4b** und **4e** miteinander, allerdings sind **6b** und **6e** wirksamer. Der Unterschied liegt in der teilhydrierten Struktur, was möglicherweise das bessere Ergebnis gegenüber den nicht hydrierten Pyridin-Derivaten verursacht.

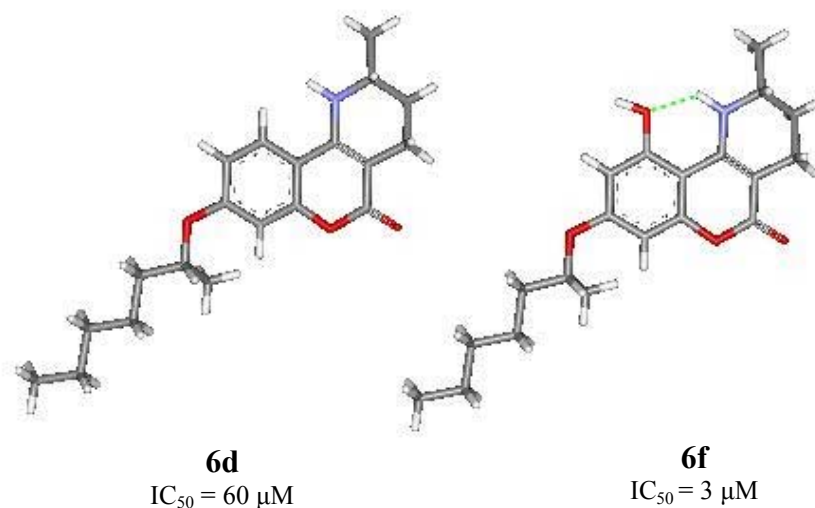
Betrachten wir die übrigen Heterocyclen genauer, fallen enge Struktur-Wirkungs-Beziehungen auf. Kleine Abwandlungen der Substituenten verursachen nahezu dramatisch unterschiedliche Ergebnisse (Abb. 5.3.2)



**Abb. 5.3.2** : Potentielle Inhibitoren der CDK1

**6d** unterscheidet sich von **6f** in der Hydroxygruppe an Position 10. Die inhibitorische Wirkung ist in **6d** dramatisch zurückgegangen. Aus den quantenmechanischen Rechnungen via HyperChem<sup>®</sup> wissen wir, dass in **6f** zwischen dem Sauerstoff der Hydroxygruppe und dem Proton am Stickstoff des Tetrahydropyridinringes eine Wasserstoffbrückenbindung existiert. Dies bedeutet, dass hier eine starre Struktur vorliegt (siehe Abb. 5.3.3). Hieraus können sich folgende Überlegungen ergeben: Durch die große starre Struktur kann sich **6f** räumlich viel besser im aktiven Zentrum des Enzyms einlagern. Die Protonen am Sauerstoff und Stickstoff bieten sich den Aminosäuren-Seitenketten des katalytischen Zentrums als mögliche Partner zu weiteren Wasserstoffbrückenbindungen an. In **6d** fehlt der polare Substituent an Position 10. Durch den teilhydrierten Ring ist die basische Eigenschaft des Stickstoffes zwar gestiegen, aber trotzdem kann keine Wechselwirkung zwischen dem Proton

in Position 10 und dem Stickstoff stattfinden. Außerdem ist der Abstand zwischen diesen beiden Atome größer als für jegliche Wechselwirkung möglich.

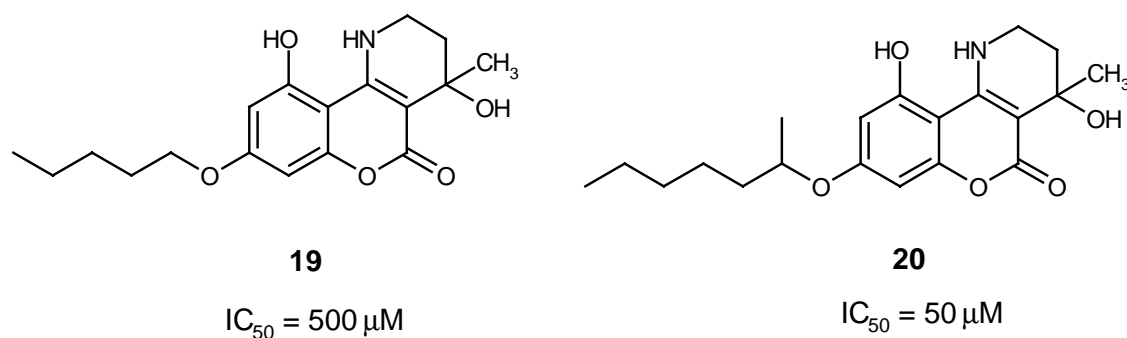


**Abb. 5.3.3** : Die Wasserstoffbrückenbindung als möglicher Grund für die Wirksamkeit von 10-Hydroxy-2-methyl-(1'-methylhexyloxy)-1,2,3,4-tetrahydrobenzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (**6f**). Farbcode: C grau, H weiß, O rot und N blau.

**6e** zeigt eine bessere Wirkung im Vergleich zu **6d**. Hier spielt möglicherweise die aliphatische Seitenkette an Position 9 eine wichtige Rolle (Erhöhung der lipophilen Oberfläche und damit stärkere hydrophobe Wechselwirkung). Wie aus der Gegenüberstellung der  $IC_{50}$ -Werte hervorgeht, könnten die Positionen 9 und 10 mögliche Bindestellen an das Protein sein, da die Anwesenheit oder Abwesenheit der Gruppierungen an diesen Stellen zu drastischen Änderungen (meist Rückgang) der Hemmwirkung führt.

Der Ersatz der Methylgruppe am Kohlenstoffatom C2 durch einen Ethylrest (**17** und **18**) führt zum Rückgang der inhibitorischen Wirkung. Wenn wir annehmen, dass die Methylgruppe in einer hydrophoben Wechselwirkung mit den Aminosäuren-Seitenketten des CDK1-Enzyms steht, würde es bedeuten, dass die Verlängerung des Substituenten sich sterisch weniger günstig auswirkt. Weitere sterische Änderungen, z. B. die Verkürzung der Seitenkette am Sauerstoff in **16** bzw. keine Verzweigung am C1' in **17** führen ebenfalls zum Rückgang der Hemmwirkung (z.B.  $IC_{50} = 300 \mu\text{M}$  für **17**).

Daß die Verzweigung der Seitenkette (und möglicherweise die Chiralität am C1') am phenolischen Sauerstoff sehr bedeutend ist, zeigen die Test-Ergebnisse der Verbindungen **19** und **20** (siehe Abb.5.3.4). Sie unterscheiden sich von den übrigen anellierten Benzopyranen in der Substitution der Tetrahydropyridinringe. Das Kohlenstoffatom C4 ist jeweils mit einer Methyl- und einer Hydroxygruppe besetzt. Das Fehlen der Verzweigung in der Seitenkette bewirkt einen Rückgang der inhibitorischen Wirkung an CDK1/Cyclin B um den Faktor zehn.



**Abb. 5.3.4** : Verbindungen **19** und **20** im Vergleich. Die  $IC_{50}$ -Werte verdeutlichen die Bedeutung der Verzweigung der Seitenkette.

Die Ergebnisse des Kinase-Assays machen deutlich, dass drei Stellen in der Grundstruktur der Tetrahydrobenzopyranopyridine einen wichtigen Beitrag zu der Bindungsaffinität zum Protein liefern, nämlich die Hydroxygruppe an Position 10 und der langkettige Alkylrest am C9 des aromatischen Grundgerüsts bzw. der am phenolischen Sauerstoffatom gebundene 2-Heptyl-Rest. Die beiden Gruppierungen sind keinesfalls equivalent. Während die Hydroxygruppe der Aminosäureseitenketten die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen anbietet, sind die langkettigen Alkylreste dazu da, hydrophobe Wechselwirkungen aufzubauen.

Da aus den Protein-Modelling-Studien keine Aussagen über die Wechselwirkungen zwischen dem Protein und **6f** getroffen werden können (siehe das Kapitel Protein Modelling) und keine Röntgenstrukturanalysen vorliegen, können nur Hypothesen zu den möglichen Bindestellen zum Protein und deren Wechselwirkungen formuliert werden. Sollte **6f** tatsächlich als



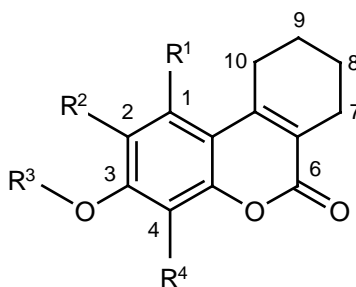
kompetitiver Inhibitor in das katalytische Zentrum des Enzyms gelangen, dann ist die inhibitorische Wirkung annähernd wie Olomucine ( $IC_{50} = 4 \mu\text{M}$ ) (siehe Einleitung).

Möglicherweise wirkt **6f** allerdings allosterisch, d.h. dass das Molekül an anderen Stellen an das Enzym und nicht im aktiven Zentrum bindet und die 3-dimensionale Struktur des Enzyms verändert. Dies kann dann die Ausbildung einer für die Katalyse erforderlichen Konformation des Enzyms verhindern und zu einer Abschwächung der katalytischen Aktivität führen.

Die enge Struktur-Wirkungsbeziehung zeigt, dass 1) mit der Methylgruppe am C2 die optimale Länge des Substituenten erreicht ist, 2) die Hydroxygruppe an C10 eine nahezu essentielle Rolle spielt und 3) die Verzweigung der Seitenkette ebenfalls von großer Bedeutung ist.

## 5.4 Tetrahydrobenzochromen-6-one

Zur Erweiterung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen waren die Synthesen derjenigen tricyclischen Verbindungen erforderlich, die die Strukturmerkmale der Benzopyranopyridine tragen, aber keinen Stickstoff im Ring (siehe Problemstellung). Daher wurde eine Reihe von Tetrahydrobenzochromen-6-onen hergestellt, jeweils mit den Abwandlungen an den Positionen 1, 2, 3 und 4. Die  $IC_{50}$ -Werte aller an CDK1/Cyclin B getesteten Verbindungen sind aus der Tabelle 5.4.1 zu entnehmen.



Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	IC <sub>50</sub> in $\mu$ M
<b>9a</b>	H	H	H	H	70
<b>9b</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	H	5.3
<b>9c</b>	OH	H	H	H	5
<b>9d</b>	H	H	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	75
<b>9e</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	60
<b>9f</b>	OH	H	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	35
<b>9g</b>	OCH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	200
<b>9h</b>	O(CO)CH <sub>3</sub>	H	COCH <sub>3</sub>	H	> 100
<b>9i</b>	OH	COCH <sub>3</sub>	H	COCH <sub>3</sub>	100
<b>9j</b>	O(CO)C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	COC <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	87
<b>9k</b>	H	H	COCH <sub>3</sub>	H	> 100
<b>9l</b>	H	H	H	COCH <sub>3</sub>	63
<b>9m</b>	OH	H	H	COCH <sub>3</sub>	> 100

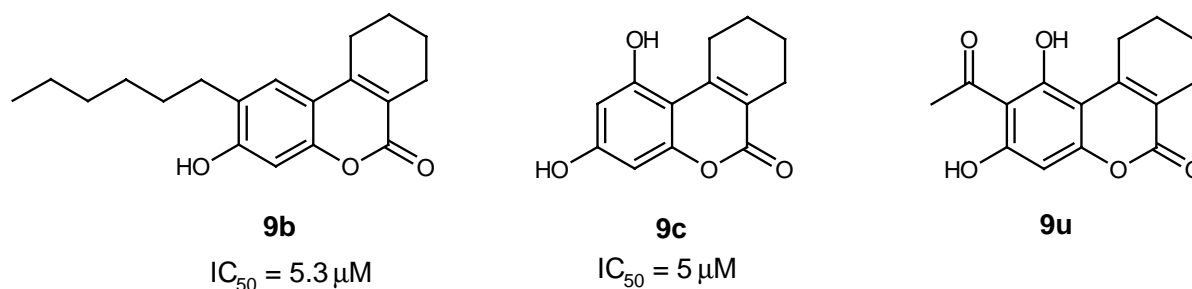
**Tabelle 5.4.1:** IC<sub>50</sub>-Werte von substituierten 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromen-6-on - Derivaten

Das Chromen-6-on-Derivat ohne jeden Substituenten (**9a**) besitzt einen  $IC_{50}$ -Wert von 70  $\mu M$ . Die Einführung einer Hydroxygruppe an Position 1 zeigt eine Verbesserung der Wirksamkeit (**9c**;  $IC_{50} = 5 \mu M$ ). Auch die Substitution des C2 mit einem langkettigen Alkylrest führt zu besseren Ergebnissen (**9b**;  $IC_{50} = 5.3 \mu M$ ).

Interessant sind die gravierenden Unterschiede der Wirkstärke zwischen **9b** und **9e**. Die Veretherung des Sauerstoffs in Position 3 in Verbindung **9e** führt zu einem drastischen Rückgang der inhibitorischen Wirkung. Die Alkylierung der Verbindung **9c** ist ebenfalls mit einem Verlust an inhibitorischer Aktivität verbunden (**9f**;  $IC_{50} = 35 \mu M$ ), wenn auch nicht so drastisch wie in **9e**. Bei der dialkylierten Verbindung **9g** ist in dem CDK1/Cyclin B-Assay kaum eine Hemmung zu registrieren. Dies zeigt, dass die Tetrahydrobenzochromen-6-on-Derivate eine freie Hydroxygruppe in ihrem Grundgerüst für eine Wechselwirkung mit dem CDK1-Cyclin B-Komplex benötigen, um möglicherweise eine Wasserstoffbrückenbindung aufbauen zu können.

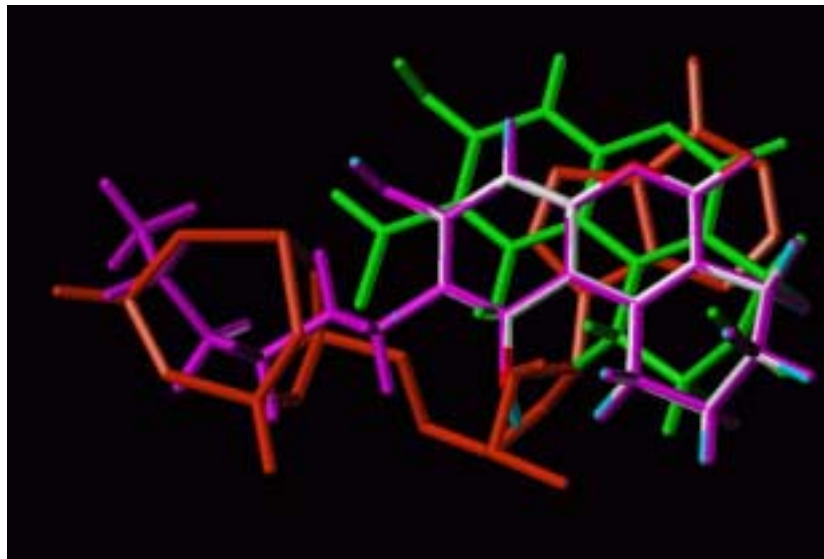
Die Acetylierung der Chromenone (**9h**, **9j**, **9k**) sowie die Umlagerung der Acetylgruppen und damit die Besetzung der Positionen 2 und 4 in Verbindungen **9i**, **9l** bringen eher negative Ergebnisse mit sich. Auch 4-Acetyl-1,3-dihydroxytetrahydrobenzochromen-6-on (**9m**) zeigt überraschenderweise keine inhibitorische Wirkung, obwohl aus der Analogie zu **9c** eine bessere Wirkung zu erwarten wäre.

Die Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser Substanzklasse wie auch die der Tetrahydrobenzopyranopyridine machen deutlich, dass die Ab- oder Anwesenheit der Hydroxygruppe an Position 10 bzw. des langkettigen Alkylrests an Position 9 zur dramatischen Veränderungen der Hemmwirkung auf den CDK1-Cyclin B-Komplex führen. Dies veranlasste uns, die Verbindung **9u** mit den beiden genannten Gruppierungen darzustellen (siehe Experimenteller Teil)(Abb.3.7.2), da hier möglicherweise bessere Testergebnisse zu erwarten waren. Auch die Molecular-Modelling-Studien ließen diesen Schluß zu (siehe Abb. 5.4.1).



**Abb. 5.4.1** : Inhibitoren der CDK1 aus der Tetrahydrobenzochromenon-Substanzklasse (die Synthese der Verbindung **9u** gelang nicht).

Leider gelang die Synthese dieser Verbindung **9u** nicht (siehe Kapitel Synthese). Die Docking-Experimente dieser Verbindung an das katalytische Zentrum des CDK1-Modells (siehe auch Kapitel Protein Modelling) zeigten für diese Verbindung Wechselwirkungen mit der Aminosäure-Seitenkette Leu83. Wechselwirkungen mit dieser Aminosäure in dem aktiven Zentrum des Enzyms führt u. a. zur Hemmung der Kinase Aktivität (siehe Kim et al. 1998, Schultz et al. 1999, Zaharevitz 1999).



**Abb. 5.4.2** : Überlagerung der möglichen Inhibitoren **9b**, **9c** und **9u** mit ATP, Farbcode : ATP in Komplex mit  $Mg^{2+}$  rot; **9b** magenta; **9c** Atom-Farben C weiß, H cyan, O rot ; **9u** grün.

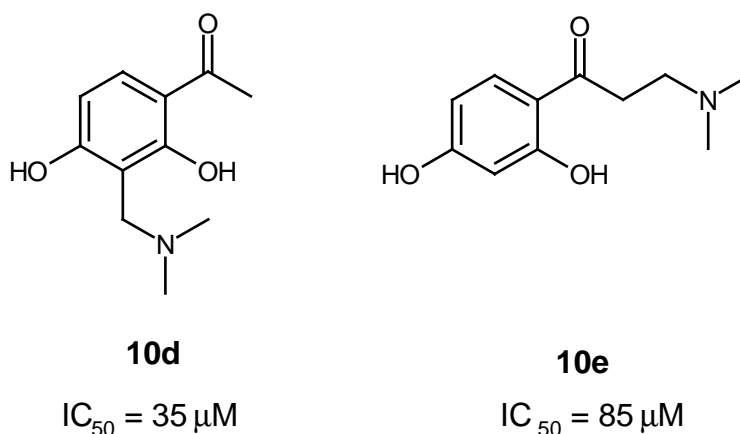
Die Konformationsanalyse macht deutlich, dass die Strukturen von **9b** und **9c** mit ATP (als natürlicher Ligand) überlagert werden können (siehe Abb. 5.4.2), was auf eine gute Wechselwirkung im aktiven Zentrum des CDK1-Enzyms hinweisen kann. Die Protein-Liganden-Wechselwirkung-Studien haben gezeigt, dass **9b** und **9c** gut in das aktive Zentrum der CDK1 plaziert werden können (siehe Kapitel Protein Modelling). Der langkettige Alkylrest in **9b** überlagert sich mit der Triphosphatkette des ATPs und kann zu hydrophoben Wechselwirkungen mit den Aminosäuren-Seitenketten führen.

In **9c** ist die Hydroxygruppe an Position 1 äquivalent mit der Hydroxygruppe des Kohlenstoffatoms C2' der Ribose im ATP und kann entsprechend zu Wasserstoffbrückenbindungen mit den Aminosäuren-Seitenketten (Asp86, Gln131) führen, was zur inhibitorischen Wirkung dieser Substanz führt (siehe Kapitel Protein Modelling für genaue Wechselwirkungen zwischen **9b** und **9c** und den Aminosäuren im katalytischen Zentrum des CDK1-Modells).

## 5.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen verschiedener Verbindungen

Außer den bisher angesprochenen Substanzklassen der azaanalogen Cannabinoid-Derivaten und der Tetrahydrobenzochromen-6-on-Derivate wurden weitere Substanzklassen, die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt worden sind, auf ihre inhibitorische Eigenschaft im CDK1-Cyclin-B-Assay geprüft.

Die bicyclischen Verbindungen (**11a-c** und **12**) zeigen keine inhibitorische Aktivität. Ihre  $IC_{50}$ -Werte liegen weit über  $200 \mu\text{M}$ , so dass sie als potente Leitstrukturen nicht in Frage kommen. Interessant sind die Testergebnisse der in der Vorstufe zur Synthese der Bicyclen hergestellten Keton-Mannichbasen (**10d** und **10e**) (Abb. 5.5.1). Sie zeigen eine relativ gute Wirksamkeit. Diese beiden Verbindungen eröffnen eine weitere Substanzklasse, deren inhibitorische Eigenschaft noch erforscht werden soll.



**Abb. 5.5.1:** Keton-Mannichbasen **10d** und **10e** und ihre  $IC_{50}$ -Werte aus dem CDK1/CyclinB-Kinase-Assay

Zu der inhibitorischen Wirkung der 4-Aminocumarin-Derivate kann zur Zeit keine Aussage gemacht werden, da sich diese Verbindungen noch in der Testung befinden. Aus dieser Substanzklasse ist bisher nur die am Stickstoff der Aminofunktion in Position 4 acetylierte Verbindung (**3a**) getestet worden. Der  $IC_{50}$ -Wert liegt bei  $>100 \mu\text{M}$ , so dass auch bei dieser Substanzklasse keine gravierende inhibitorische Aktivität zu dem CDK1-CyclinB Komplex erwartet wird.

## 6. Lipophiliebestimmungen mittels Kapillarelektrophorese (CE)

Viele quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen belegen die Rolle der Lipophilie im Hinblick auf die Beschreibung der Abhängigkeit biologischer Wirkungen von der chemischen Struktur. Da die biologischen Systeme aus wässrigen Phasen, die durch Lipidmembranen getrennt sind, bestehen, wird der Transport und die Verteilung von Molekülen in solchen Systemen von deren Lipophilie abhängen. Für polare Substanzen stellen Lipidmembranen Barrieren dar, die sie nicht überwinden können. Lipophile Substanzen sind in wässrigen Phasen schlecht löslich, sie verbleiben in den Membranen. Nur Substanzen mittlerer Lipophilie haben eine gute Chance, sowohl Wasser- als auch Lipidphase zu durchwandern und in ausreichender Konzentration an den Wirkort zu gelangen (Böhme 1996, Pilska 1996).

Als kapillarelektrophoretische Methode zur Lipophiliebestimmung wurde die elektrokinetische Chromatographie mit Phospholipid-Liposomen als pseudostationärer Phase und Puffer als mobile Phase (Kaup 1996) eingesetzt, mit der sich auch sehr lipophile Substanzen bestimmen lassen.

### 6.1. Material und Methoden

Die verwendete Methode ist ausführlich in der Dissertation von Kaup beschrieben (Kaup 1996).

Kapillarelektrophoresegerät:	P/ACE System 2100 der Firma Beckman
Kapillare:	unbelegte fused silica Kapillaren der Firma CSK, Innendurchmesser: 75 µm, Außendurchmesser 360 µm; Gesamtlänge 57 cm (effektiv: 50 cm).
Software:	System Gold 7.11

Die neu eingebauten Kapillaren benötigen eine relativ lange Konditionierungszeit. Erst nach mindestens 1-2 Wochen sind reproduzierbare Ergebnisse erhältlich.

Die Pufferlösung, die als mobile Phase dient, hat folgende Zusammensetzung:

10 mM Borsäure krist. p.a (Merck), 0.2 % Phospholipon 80 (Nattermann Phospholipid GmbH), 0.04% Dicetylphosphat und 5.7% Ethanol abs. .

Zur Einstellung des pH-Wertes auf 7,2 wurde 0.1 N NaOH (Titrisol, Merck) verwendet. Die Herstellung erfolgte gemäß Kaup (1996).

Die Probenlösungen (1-2 mM) wurden alle in Methanol Lichrosolv (Merck) hergestellt.

Die Trennung wurde bei einer konstanten Spannung durchgeführt. Die Temperatur der Kühlung war auf 25°C festgelegt. Die Detektion erfolgte bei 280 nm sowie 300 nm. Da bei diesen Wellenlängen die meist als interner Standard verwendete Substanz, p-Brom-n-butylbenzaldehyd, nicht absorbiert, wurde eine der lipophilsten Verbindungen der Tetrahydrobenzochromen-6-on-Derivate **9j** als interner Standard (auch  $t_{mc}$  = Micellmarker) definiert. Zwischen den einzelnen Messungen wurde die Kapillare zwei Minuten mit Puffer gespült.

Einige der zu untersuchenden Substanzen waren zu lipophil bzw. zu hydrophil, so dass keine  $\log k'(CE)$ -Werte ermittelt werden konnten. In diesen Fällen werden die mit dieser Methode gerade noch zu bestimmenden Grenzwerte ( $\geq 4.3$ ,  $\leq -1.6$ ) angegeben. Die ermittelte  $\log k'$ -Werte sind Mittelwerte aus jeweils drei Messungen.

## 6.2. Ergebnisse

Der Logarithmus des Kapazitätsfaktors  $k'(CE)$ , der in der Praxis als Maß für die Lipophilie angegeben wird, errechnet sich nach folgender Gleichung:

$$\log k'(CE) = \log \frac{t_R - t_0}{t_0(1 - t_R/t_{mc})}$$

$t_R$  = Migrationszeit des Analyten

$t_0$  = Migrationszeit von Methanol (EOF)

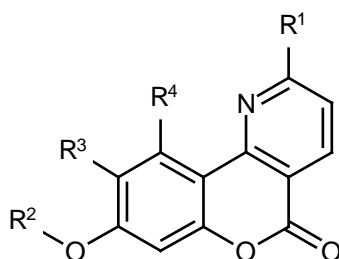
$t_{mc}$  = Migrationszeit von internem Standard

Je höher der  $\log K'(CE)$ -Wert ist, desto größer ist die Migrationszeit des Analyten und damit seine Lipophilie. In den Tabelle 6.2.1-3 sind die  $\log K'$ -Werte von allen gemessenen Substanzen aufgelistet.

Eine aussagekräftige Beurteilung der Substanzklassen der Benzopyranopyridine und Tetrahydrobenzochromenone kann nicht gemacht werden, da die meisten Substanzen zu lipophil sind, so dass sie unter diesen Bedingungen nicht vermessen werden können. **6f** als die

wirksamste Substanz zeigt einen mittleren Wert für die Lipophilie, was die oben genannte Aussage unterstützt. Aus der Substanzklasse der Tetrahydrobenzochromenone wurden ebenfalls Messungen durchgeführt. Auch hier waren die Substanzen mit den langkettigen aliphatischen Alkylresten nicht meßbar.

Interessant ist jedoch die Tatsache, dass die beiden Verbindungen **6f** und **9c** ( $IC_{50} = 3$  bzw.  $5 \mu M$ ) nahezu gleiche  $\log k'$ -Werte (0.873 bzw. 0.872) besitzen, obwohl sie kaum eine strukturelle Verwandtschaft aufweisen. Die  $\log k'$ -Werte aller anderen Substanzen liegen entweder höher oder niedriger.

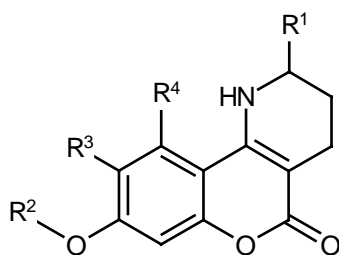


Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Log K'	IC <sub>50</sub> in $\mu M$
<b>4b</b>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	> 4.3	80
<b>4c</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	OH	0.629	100
<b>4e</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	> 4.3	70
<b>4f</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	> 4.3	>100
<b>4h</b>	CH <sub>3</sub>	PhCOCH <sub>2</sub> -	H	OH	1.44	n. b.*
<b>4g</b>	CH <sub>3</sub>	PhCOCH <sub>2</sub> -	H	H	1.14	n. b.

**Tabelle 6.2.1:**  $\log k'$ - und  $IC_{50}$ -Werte der Benzopyranopyridine

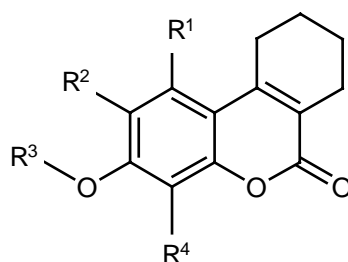
\* n. b. nicht bestimmt, Diese Substanzen befinden sich noch in der Testphase.





Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Log k'	IC <sub>50</sub> in μM
<b>6b</b>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	> 4.3	40
<b>6c</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	OH	0.598	100
<b>6d</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	H	> 4.3	90
<b>6e</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	> 4.3	48
<b>6f</b>	CH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	OH	0.873	3

**Tabelle 6.2.2:** log k' - und IC<sub>50</sub> -Werte der Tetrahydrobenzopyranopyridine



Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	log k' (CE)	IC <sub>50</sub> in μM
<b>9a</b>	H	H	H	H	0.455	70
<b>9b</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	H	> 4.3	5.3
<b>9c</b>	OH	H	H	H	0.872	5
<b>9d</b>	H	H	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	> 4.3	75
<b>9e</b>	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	> 4.3	60
<b>9f</b>	OH	H	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	> 4.3	35
<b>9g</b>	OCH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	> 4.3	200
<b>9h</b>	O(CO)CH <sub>3</sub>	H	COCH <sub>3</sub>	H	- 0.242	> 100
<b>9i</b>	OH	COCH <sub>3</sub>	H	COCH <sub>3</sub>	0.458	100
<b>9j</b>	O(CO)C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	COC <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	> 4.3	87
<b>9k</b>	H	H	COCH <sub>3</sub>	H	- 0.114	> 100
<b>9l</b>	H	H	H	COCH <sub>3</sub>	0.293	63
<b>9m</b>	OH	H	H	COCH <sub>3</sub>	0.442	> 100
<b>9n</b>	OH	H	COCH <sub>3</sub>	H	0.442	n. b.
<b>9o</b>	OH	H	OH	Br	1.139	n. b.
<b>9p</b>	O(CO)CH <sub>3</sub>	H	COCH <sub>3</sub>	Br	0.392	n. b.
<b>9q</b>	OH	H	H	NO <sub>2</sub>	0.245	n. b.
<b>9r</b>	OH	Br	H	Br	0.115	n. b.
<b>9s</b>	OCH <sub>2</sub> COPh	H	CH <sub>2</sub> COPh	H	> 4.3	n. b.
<b>9t</b>	OCH <sub>2</sub> CH(OH)Ph	H	CH <sub>2</sub> CH(OH)Ph	H	> 4.3	n. b.

**Tabelle 6.2.3:** log k' und IC<sub>50</sub> –Werte von substituierten 7,8,9,10-Tetrahydrobenzochromen-6-on -Derivate

## 7. Homologes Protein-Modelling

### 7.1 Material und Methoden:

Das Homologie-Modelling für CDK1 wurde mit MODELLER 4 durchgeführt. Diese Software wurde von Šali und Sanchez entwickelt und dient zur Modellierung eines Proteins, dessen Aminosäuresequenz zwar bekannt ist, aber nicht eine 3-dimensionale (3-D) Struktur (Šali 1993, 1995, 1997). Existieren Sequenz-homologe Proteine mit bekannter 3-D Struktur, so lässt sich mit Hilfe von MODELLER ein 3D-Modell erstellen. Das Docking der Liganden in das aktive Zentrum des Proteins wurde mit dem Programm FLEXX 1.8 durchgeführt (Rarey 1996, 1997). Die Konstruktionsmethode dieses Programms basiert auf dem Inkrementsystem und hilft beim computergestützten Wirkstoff-Design. Das Inkrementsystem besteht aus drei Stufen. Die erste Stufe ist die Selektion eines Teils des Moleküls (des Liganden) als Basisfragment (sog. „*base fragment*“). Im nächsten Schritt lagert das Programm das Basisfragment in das aktive Zentrum des Proteins und berechnet abschließend eine Rekonstruktion des kompletten Moleküls.

Zur Energieminimierung der Liganden und zur graphischen Betrachtung wurde SYBYL 6.5 (Tripos. Inc.) verwendet. Die Aminosäuresequenzen der Cyclin-abhängigen Protein-Kinasen (Cyclin-dependent kinases CDKs) wurden der PKR (The Protein Kinase Resource PKR)-Webseite entnommen (für die URLs siehe Literaturverzeichnis, siehe auch Hanks 1991, 1994). Die Koordinaten der Kristallstrukturen der CDK2 (PDB Code 1hck) und CDK6 (PDB Code 1lbx) wurden aus der Protein-Daten-Bank (PDB) entnommen (für die URLs siehe Literaturverzeichnis). Sämtliche Berechnungen wurden auf einer Silicon Graphics OCTANE Workstation (UNIX-Betriebssystem) durchgeführt.

### 7.2 Homologie-Modelling

Im folgenden Abschnitt soll die Proteinmodellierung der CDK1 erläutert werden. Der erste Schritt im Homologie-Modelling ist die Identifizierung von Referenzproteinen (Templaten). Anschließend erfolgt dann das Sequenzalignment, die Bildung des 3D-Modells und die Auswertung des Modells.

Zunächst werden Proteine ausgesucht, deren 3-dimensionale Struktur schon durch Röntgenstrukturanalyse gesichert ist und deren Aminosäuresequenz mit der des Zielproteins homolog ist.

Bei sehr hoher Homologie und nur wenig Mutationen ist der Modellaufbau relativ einfach durchzuführen. Wenn die Sequenzidentität mehr als 90% beträgt, lassen sich Modelle mit sehr geringen Fehlern erstellen. Hier reicht die Sicherheit an die Fehlergrenzen der experimentellen Methoden zur Bestimmung der Struktur (Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie, Röntgenstrukturanalyse) heran (für die experimentelle Methoden der Bestimmung der Struktur siehe Würthrich 1986, Bundell 1976, Glukser 1994). Bei einer Identität der Aminosäure-Sequenz von 50% kann der mittlere Fehler der Koordinaten einige Angström betragen. Problematisch ist dann die Modellierung von Ketten-Insertionen (Kettenverlängerungen). Unterhalb einer Identität von 25-30% wird das Erkennen struktureller Verwandtschaft sehr problematisch (Šali 1994, Böhme 1996).

Die Suche nach Referenz-Proteinen mit bekannter 3-D-Struktur und ähnlicher Aminosäure-Sequenz kann sowohl mit MODELLER4 als auch manuell stattfinden. Das Programm kann in der Protein-Daten-Bank (PDB) nach den Proteinen suchen.

Da die Cyclin-abhängigen Kinasen (CDKs) große Homologie in ihrer Aminosäuresequenz zeigen, wurde nach den 3-D-Strukturen von Vertretern dieser Proteinfamilie gesucht. De Bond et al. gelang 1993 die Kristallisation der CDK2 als Apoenzym (De Bondt et al. 1993, Rosenblatt et al.1993). Schulze et al. konnten CDK2 sowohl als Apoenzym als auch im Komplex mit ATP kristallisieren, und Kim et al. gelang auch die Kristallisation der CDK2 mit ATP und mit drei weiteren potentiellen Inhibitoren (Schulze et al. 1995, 1996, Kim et al.1996 ). Brotherton et al. berichteten 1998 über die Kristallisation der CDK6 im Komplex mit dem inhibitorischen Protein INK4D (Brotherton et al.1998).

Wenn nicht nur eine sondern mehrere 3-D Strukturen von Mitgliedern einer homologen Proteinfamilie bekannt sind, versucht man durch multiple Sequenz-Vergleiche ein repräsentatives Profil zu erstellen. Aus diesem Grund wurden CDK2 und CDK6 als Referenzproteine gewählt.

Nachdem die Referenzproteine ausgesucht sind, werden ihre Aminosäuresequenzen mit der Primärstruktur (Aminosäuresequenz) des Zielproteins verglichen und die zu modellierende Sequenz gebildet.

Zu diesem Zweck wird ein Sequenzalignment durchgeführt, d.h. in Abhängigkeit vom strukturellen Kontext werden Aminosäuren entfernt oder hinzugefügt (und dadurch eine Verlängerung oder Verkürzung der Peptidkette durchgeführt). Zwischen den homologen Proteinen befinden sich die Unterschiede in der Sequenz meist an der Oberfläche. Bei dem

Aminosäure-Austausch ist es wichtig, dass sich die hydrophoben Aminosäurereste eher in das Innere des Proteins und die Aminosäuren mit hydrophilen Resten nach außen orientieren (Böhme 1996).

Folgende Abbildung zeigt das Resultat der Aminosäure-Vergleiche. Es wurden fünf Modelle gebildet. Große Homologie zeigen in der N-terminalen Domäne die Aminosäuren an den Positionen 70-100 und in der C-terminalen Domäne die Aminosäuren an den Positionen 210-240. Alle Modelle haben bzgl. 1hck und 1lhx die gleiche Sequenzhomologie. Die Modelle zeigen 68% Übereinstimmung mit dem 1hck- und 44% mit 1lhx-Modell.

```

_aln.pos      10      20      30      40      50      60
1hck      FQKVEKI-GEGTYG-----VVKARNKL-TG-E--V-VALKKIR-----TEG--VP
1blx      YECV-A-EIG---EGAYGKV-FKARD--LK--NGGRFVALKR-----VRVQ
Mod1      YTKIEKI-GEGTYG-----VVKGRHKT-T-GQ--V-VAMKKIRLES---E--EEG--VP
Mod2      YTKIEKI-GEGTYG-----VVKGRHKT-TG-Q--V-VAMKKIR---LESE--EEG--VP
Mod3      YTKIEKI-GEGTYG-----VVKGRHKT-TG-Q--V-VAMKKIR---LESE--EEG--VP
Mod4      YTKIEKI-GEGTYG-----VVKGRHKT-TG-Q--V-VAMKKIR---LESE--EEG--VP
Mod5      YTKIEKI-GEGTYG-----VVKGRHKT-TG-Q--V-VAMKKIRL---E--SEEEG--VP
_consvd          *   *   *           ** *

```

```

_aln.pos      70      80      90      100     110     120
1hck      -----STAIREISLLKEL---NHPNIVKLLDVIH-TE-----NKL-YLVFEFLHQDLK
1blx      TGEEMPLSTIREVAVLRHLETFEHPNVVRLFDVC-TVSRDRETK-LTLVFEHVDQDLT
Mod1      -----STAIREISLLKEL---RHPNIVSLQDVLM-QD-----SRL-YLIFEFLSMDLK
Mod2      -----STAIREISLLKEL---RHPNIVSLQDVLM-QD-----SRL-YLIFEFLSMDLK
Mod3      -----STAIREISLLKEL---RHPNIVSLQDVLM-QD-----SRL-YLIFEFLSMDLK
Mod4      -----STAIREISLLKEL---RHPNIVSLQDVLM-QD-----SRL-YLIFEFLSMDLK
Mod5      -----STAIREISLLKEL---RHPNIVSLQDVLM-QD-----SRL-YLIFEFLSMDLK
_consvd          ***  *  *      *** * * **      * **      **

```

```

_aln.pos      130     140     150     160     170     180
1hck      KFMDASAL-T-G--IPLPLIKSYLFQLLQGLAFCHSHRVLHRDLKPQNLLINTEGAIKLA
1blx      TYLDKV--PEPG--VPTETIKDMMFQLLRGLDFLHSHRVVHRDLKPQNILVTSSGQIKLA
Mod1      KYLDSIPP-G-QY-MDSSLVKSYLEYQILQGIVFCHSRRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLA
Mod2      KYLDSIPP-G-QY-MDSSLVKSYLEYQILQGIVFCHSRRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLA
Mod3      KYLDSIPP-G-Q-YMDSSLVKSYLEYQILQGIVFCHSRRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLA
Mod4      KYLDSIPP-G-QY-MDSSLVKSYLEYQILQGIVFCHSRRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLA
Mod5      KYLDSIPP-G-QY-MDSSLVKSYLEYQILQGIVFCHSRRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLA
_consvd      *           *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *

```

```

_aln.pos      190     200     210     220     230     240
1hck      DFGLARAFGVPVRT-----Y--THEVVTLWYRAPEILLGCKYYSTAVDIWSLGCIFAEMV
1blx      DFGL--A-R-----IYSFQMALTSVVTLWYRAPEVLLQSS-YATPVDLWSVGCIFAEMF
Mod1      DFGLARAFGIPIRV-----Y--THEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELA
Mod2      DFGLARAFGIPIRV-----Y--THEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELA
Mod3      DFGLARAFGIPIRV-----Y--THEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELA
Mod4      DFGLARAFGIPIRV-----Y--THEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELA
Mod5      DFGLARAFGIPIRV-----Y--THEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELA
_consvd      ****  *           *   *****  **  **      *  *  *  *  *  *  *

```

```

aln.pos      250      260      270      280      290      300
lhck         TRRALFPGDSEIDQLFRIFRTLGTDPDEEV-WPGVT-SM-PDYK-PSFVK-WARQDFSKVV
l1bx         RRKPLFRGSSDQVQLGKILDVIGLPGE--ED--W-PR-DVALPRQ-AFHSKSAQPIEKFV
Mod1         TKKPLFHGDSEIDQLFRIFRALGTPNNEV-WPEVE-SL-QDYK-NTFPK-WKPGSLASHV
Mod2         TKKPLFHGDSEIDQLFRIFRALGTPNNEV-WPEVE-SL-QDYK-NTFPK-WKPGSLASHV
Mod3         TKKPLFHGDSEIDQLFRIFRALGTPNNEV-WPEVE-SL-QDYK-NTFPK-WKPGSLASHV
Mod4         TKKPLFHGDSEIDQLFRIFRALGTPNNEV-WPEVE-SL-QDYK-NTFPK-WKPGSLASHV
Mod5         TKKPLFHGDSEIDQLFRIFRALGTPNNEV-WPEVE-SL-QDYK-NTFPK-WKPGSLASHV
_consrvd     ** * *  ***  *   * * *

```

```

aln.pos      310      320      330
lhck         PPLDEDGRSLLSQMLHYDPNKRISAKAALAHPPF
l1bx         TDIDELGKDLLLKLTFNPAKRISAYSALSHPYF
Mod1         KNLDENGLDLLSKMLIYDPAKRISGKMALNHPYF
Mod2         KNLDENGLDLLSKMLIYDPAKRISGKMALNHPYF
Mod3         KNLDENGLDLLSKMLIYDPAKRISGKMALNHPYF
Mod4         KNLDENGLDLLSKMLIYDPAKRISGKMALNHPYF
Mod5         KNLDENGLDLLSKMLIYDPAKRISGKMALNHPYF
_consrvd     ** *  **   *   * ***** ** * *

```

**Abb. 7.2.1** : Sequenzalignment der CDK1-Modelle (Mod1-5) mit den Referenzproteinen. lhck und l1bx sind die PDB Codes des CDK2 bzw. CDK6. Die konservierten Positionen sind mit \* gekennzeichnet. Die Aminosäuresequenzen sind im üblichen Einbuchstabencode dargestellt (für die Struktur, Dreibuchstaben- und Einbuchstabencodes der natürlichen Aminosäuren siehe Anhang).

An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass bei weiteren Überlegungen wegen der höheren Homologie von CDK1 zu CDK2 nur CDK2 bei der Homologiemodellierung berücksichtigt wird und auf das CDK6-Modell verzichtet wird.

Die Aminosäure-Sequenzen der beiden Cyclin-abhängigen Protein-Kinasen 1 und 2 weisen sehr große Ähnlichkeiten auf (Hanks 1991, De Bondt 1993).

Über 189 Aminosäuren sind in den lhck und CDK1 (Mod4) identisch. Während in der N-terminalen Domäne Lücken in der Aminosäuresequenz zu erkennen sind (z. Bsp. 45-55 , 97-110 und 125-140), finden sich größere Übereinstimmungen in der C-terminalen Region (Abb. 7.2.2).

```

aln.pos      10      20      30      40      50      60
lhck         FQKVEKI-GEGTYG-----VVKARNKL-TG-E--V-VALKKIR-----TEG--VP
Mod4         YTKIEKI-GEGTYG-----VVKGRHKT-TG-Q--V-VAMKKIR---LESE--EEG--VP
_consrvd     * ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

aln.pos      70      80      90      100     110     120
lhck         -----STAIREISLLKEL---NHPNIVKLLDVIH-TE-----NKL-YLVFEFLHQDLK
Mod4         -----STAIREISLLKEL---RHPNIVSLQDVLM-QD-----SRL-YLIFEFLSMDLK
_consrvd     * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

aln.pos      130     140     150     160     170     180
lhck         KFMDASAL-T-G--IPLPLIKSYLFQLLQGLAFCHSHRVLHRDLKPQNLLINTEGAIKLA
Mod4         KYLDSIPP-G-QY-MDSSLVKSILYQILQGI VFCSSRVLHRDLKPQNLLIDDKGTIKLA
_consrvd     * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

aln.pos      190     200     210     220     230     240
lhck         DFGLARAFGVPVRT-----Y--THEVVTLWYRAPEILLGCKYYSTAVDIWSLGCIFAEMV
Mod4         DFGLARAFGIPIRV-----Y--THEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELA
_consrvd     * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

aln.pos      250     260     270     280     290     300
lhck         TRRALFPGDSEIDQLFRIFRTLGTPEEV-WPGVT-SM-PDYK-PSFPK-WARQDFSKVV
mod4         TKKPLFHGDSEIDQLFRIFRALGTPNNEV-WPEVE-SL-QDYK-NTFPK-WKPGSLASHV
_consrvd     * ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

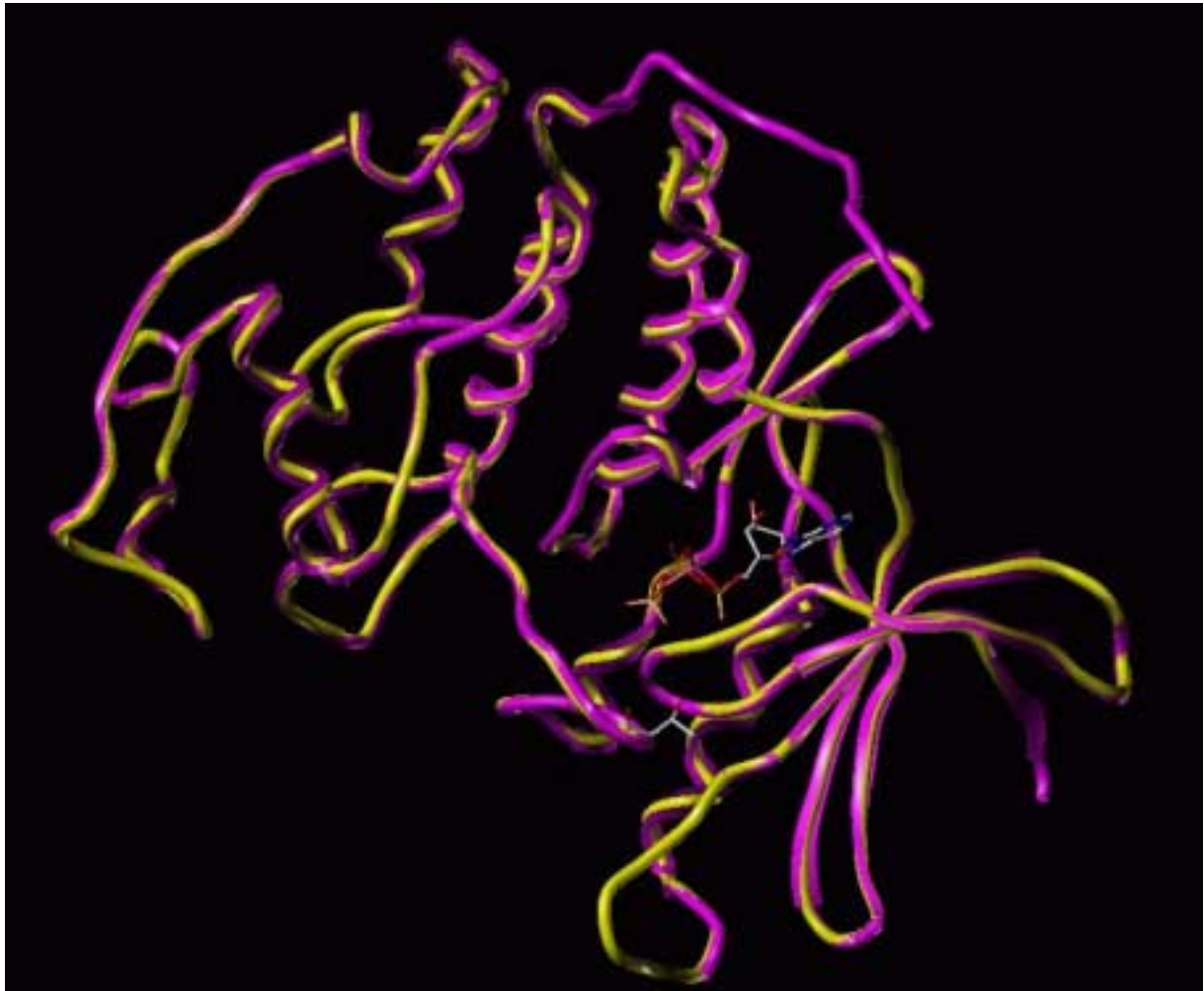
aln.pos      310     320     330
lhck         PPLDEDGRSLLSQMLHYDPNKRISAKAALAHPPF
Mod4         KNLDENGLDLLSKMLIYDPAKRISGKMALNHPYF
_consrvd     * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

```

**Abb. 7.2.2 :** Die Aminosäuresequenz des CDK1-Modells (Mod4) im Vergleich zur Sequenz der CDK2. lhck ist der PDB Code der CDK2; konservierte Regionen sind mit \* gekennzeichnet.

Der nächste Schritt ist die 3D-Modellbildung. Das Programm leitet zunächst verschiedene Atomabstände und Atomwinkel vom Referenzprotein ab und überträgt sie auf das Zielprotein. Hier wird die Konformation der Regionen, die durch die Kettenverlängerung entstanden sind, meist durch den Vergleich mit der Konformation dieser Regionen in dem Referenzprotein ermittelt. Die Optimierung des 3D-Modells erfolgt durch Molekular-Dynamische Methoden (Betrachtungen im kartesischen Koordinatensystem) und Molekular-Mechanische Methoden (Energiminimierung durch konjugierte Gradienten) (für die MM und MD siehe Kunz 1991).

Durch die 3D-Modellbildung werden gleichzeitig die Positionen aller Atome optimiert. Es werden fünf 3D-Modelle gebildet. Die Modelle enthalten alle Atome außer Wasserstoff. Das repräsentativste Modell besitzt die höchste Konformationsübereinstimmung mit den Referenzproteinen. In Abb. 7.2.3 sind die Strukturen der CDK1 mit CDK2 miteinander überlagert. Sie zeigen eine Deckung von 68%.



**Abb. 7.2.3:** Das 3-D Modell der CDK1, hier mit dem der CDK2 überlagert. Das ATP-Molekül befindet sich in dem aktiven Zentrum. Thr 14, eine bei Phosphorylierungs-Reaktionen wichtige Aminosäure aus dem Protein-Rückgrad (*Backbone*) des Proteins, ist in Stick-Projektion gezeigt. Farbcode: CDK1 gelb; CDK2 magenta; ATP und Thr 14 in üblichen Atomfarben N: blau, C: hellgrau, O: rot, P: orange (CPK-Farben).

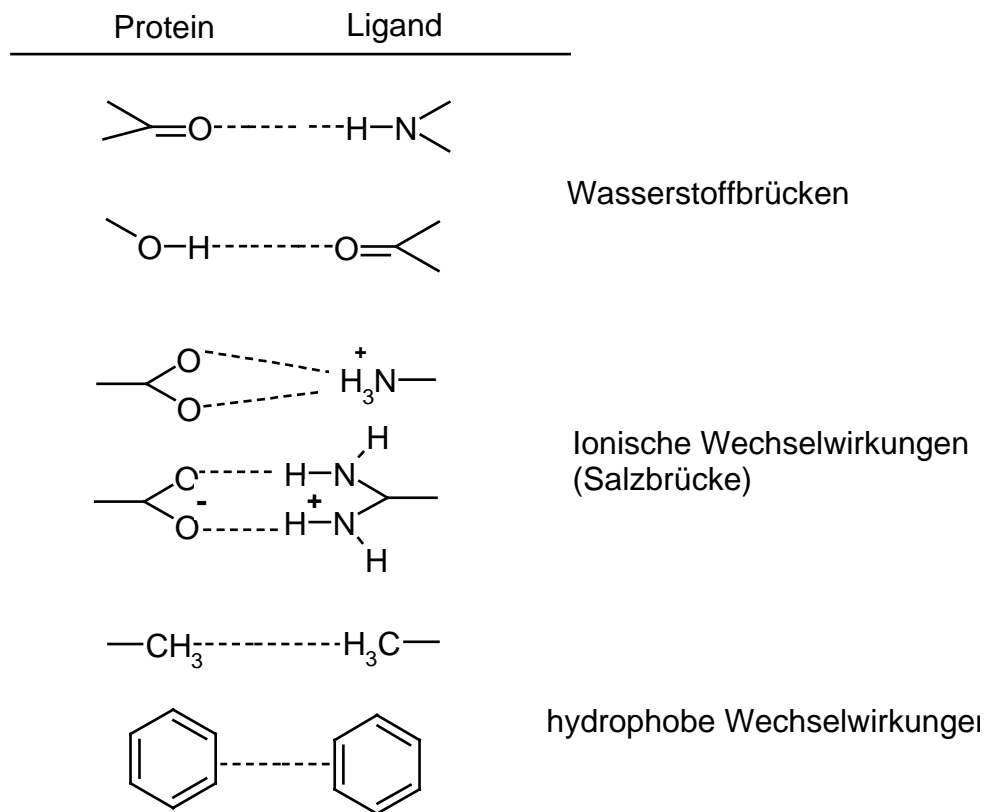


Das aktive Zentrum des Proteins (auch Bindetasche genannt) befindet sich zwischen der N- und der C-terminalen Domäne. Die kleine N-terminale Domäne besteht überwiegend aus einer  $\beta$ -Faltblatt-Struktur und die größere C-terminale Domäne enthält in erster Linie  $\alpha$ -Helices.

Die Studien aus den Röntgenstrukturanalysen des CDK2-Apoenzym und des CDK2-ATP-Komplexes zeigen, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Strukturen (3-D-Strukturen der CDK2 mit und ohne ATP) in der Orientierung der Domänen und der Konformation der Aminosäuren-Seitenketten gibt (Kim et al. 1996, Schulze et al. 1996).

### 7.3 Protein-Liganden Wechselwirkung

Organische Moleküle können sich über verschiedene Arten der Wechselwirkung an Proteine binden. Sie können mit dem Protein sowohl über eine chemische Bindung als auch über eine nichtkovalente Bindung verbunden sein. Im folgenden sollen nur die nichtkovalenten Bindungen betrachtet werden. Diese können in unterschiedliche Kategorien aufgeteilt werden (siehe Abb. 7.3.1). Eine der wichtigsten Wechselwirkungen zwischen Liganden und Protein ist die Wasserstoffbrückenbindung. Hier nähert sich ein Protonenakzeptor (elektronegative Elemente wie N, O) einem Wasserstoffatom so, dass der Atomabstand die Summe der Van-der-Waals Radien unterschreitet. Dieses führt zu einer höheren elektrostatischen Wechselwirkung zwischen den beiden Bindungspartnern. Neben ionischen Wechselwirkungen (Salzbrücken), Metallkomplexierungen, Kation- $\pi$ -Wechselwirkungen sind auch hydrophobe Wechselwirkungen von Interesse. Sie entstehen durch die Nachbarschaft zwischen unpolaren Aminosäureseitenketten und den lipophilen Gruppen des Liganden. Lipophile Teile der Oberfläche des Proteins bzw. des Liganden sind die Bereiche, die keine Wasserstoffbrücke bzw. keine polare Wechselwirkung ausbilden können.

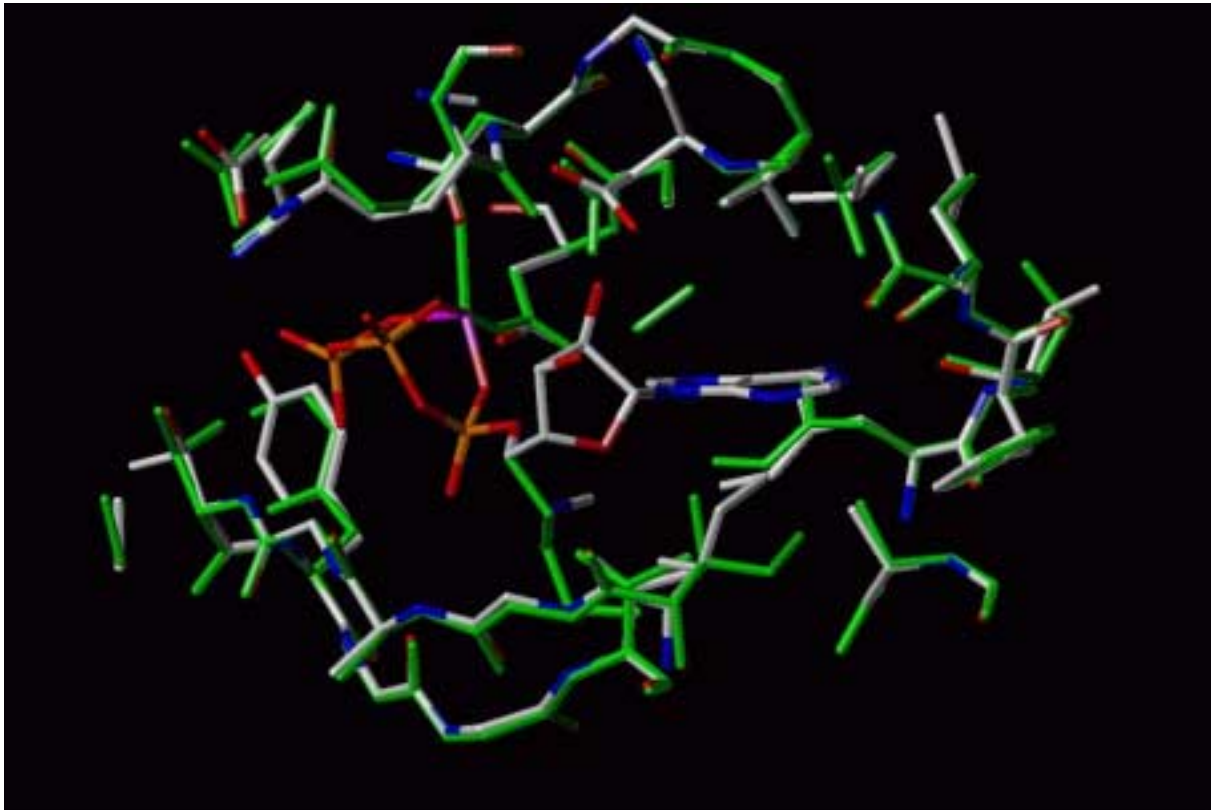


**Abb. 7.3.1** : Mehrfach auftretende Protein-Liganden Wechselwirkungen (nach Böhme 1996).

Es hat sich gezeigt, dass die hydrophobe Wechselwirkung für Liganden mit großen lipophilen Gruppen einen wichtigen Beitrag zur Bindungsaffinität liefert (für weitere Erklärungen siehe Böhme 1996).

Da aus den Arbeiten von Schulze et al. und Kim et al. die Wechselwirkungen zwischen ATP und CDK2 bekannt waren, wurde das gemodelte CDK1-Modell auf Übereinstimmungen bzgl. der beschriebenen Wechselwirkungen mit ATP untersucht, um feststellen zu können, ob das Homologie-Modell plausibel erscheint. Hierfür wurden zunächst die aktiven Zentren der beiden Proteine miteinander verglichen.

Wie bei den meisten homologen Proteinen sind wenige Unterschiede im aktiven Zentrum der beiden Enzyme zu registrieren. In dem CDK1-Modell unterscheiden sich die Konformationen der Aminosäureseitenketten in einigen Fällen von denen der CDK2 3D-Struktur (Abb. 7.3.2).



**Abb. 7.3.2:** Überlagerung der aktiven Zentren von CDK1 und CDK2 mit einem ATP-Molekül in der Bindetasche. Die umgebenden Aminosäuren befinden sich max 8 Å vom katalytischen Zentrum entfernt, das vom dargestellten ATP-Molekül definiert wird. Daher sind einige der Aminosäurenreste nicht vollständig abgebildet. Alle Aminosäuren sind als „capped Sticks“ dargestellt. Farbcode: CDK1 grün, CDK2 CPK-Farbe.

Die Studien aus der Röntgenstrukturanalyse des CDK2-Apoenzym und des CDK2-ATP-Komplexes zeigen, dass beide Strukturen kaum Unterschiede aufweisen (Schulze et al. 1996). Interessant ist die Einlagerung der Wassermoleküle in den aktiven Zentren der beiden Strukturen. Im aktiven Zentrum des CDK2-Apoenzym wurden 12 Wassermoleküle und im CDK2-ATP-Komplex 5 Wassermoleküle registriert. Signifikante Unterschiede in der Konformation zeigen die Seitenketten der Aminosäuren Lys33, Lys129 und Asn132 (Schulze et al. 1996, Kim et al. 1996)(siehe Abb 7.3.4 Teil a).

Die oben genannten Konformationsänderungen der Seitenketten dieser Aminosäuren sind auch in dem CDK1-ATP-Modell zu finden. (siehe Abb. 7.3.3 und Abb.7.3.4 Teil b)

In dem CDK2-ATP-Komplex und in dem CDK1-Modell positioniert sich das NZ-Atom des Lys33 in der Nähe der  $\alpha$ -Phosphatgruppe des ATPs und der Carboxylgruppe des Asp145, wobei es sich von seiner ursprünglichen Position im CDK2-Apoenzym um mehrere Angströms entfernt (für die Bezeichnung der Atome in den Aminosäuren siehe den Anhang). Der gemessene Abstand zwischen NZ-Atom des Lys33 und dem Sauerstoff O $\alpha$ 1 (der  $\alpha$ -Phosphatgruppe) beträgt im CDK2-ATP-Komplex 2.92 Å (Schulze et al. 1995). In dem CDK1-Modell wird für den selben Abstand ein Betrag von 2.41 Å gefunden (Abb. 7.3.4 Teil a und b).

Die Konformationsänderung der Seitenkette des Lys129 durch ATP-Bindung ist geringer. Im Apoenzym ist das NZ-Atom des Lys129 mit dem Abstand einer Wasserstoffbrückenbindung von dem Sauerstoffatom der Carboxylgruppe des Asp127 entfernt (Schulze et al.1996). Im CDK2-ATP-Komplex und im CDK1-Modell wird eine Verschiebung zu dem Sauerstoff O $\gamma$ 3 der  $\gamma$ -Phosphatgruppe des ATP beobachtet. Dieser Abstand im CDK2-ATP-Komplex beträgt 2.91 Å und im CDK1-ATP-Modell 2.96 Å (siehe Abb 7.3.4).

Die Seitenkette der Aminosäure Asn132 in dem Komplex der CDK2 mit ATP koordiniert das Magnesium Mg<sup>2+</sup>. In der Bindetasche des CDK2-Apoenzym bildet diese Seitenkette eine Wasserstoffbrücke zum Stickstoff des Lys129 (Schulze et al.1996). Diese Bindung wird ebenfalls in dem CDK1-ATP-Modell gefunden. Hier koordiniert der Sauerstoff OD des Asn132 das Magnesium und bildet eine Wasserstoffbrücke mit dem Sauerstoff O $\beta$ 2 der  $\beta$ -Phosphatgruppe (Abb.7.3.3 und 7.3.4 Teil a und b).

Im ATP-Molekül verbindet Ribose den Purinring mit der Triphosphatkette. Die Ribose nimmt dabei eine C'2-endo Konformation ein. Charakteristisch für die hydrophile Eigenschaft des ATP-Moleküls ist, dass die meisten Wasserstoffbrücken und die Salzbrücken in der Triphosphatseitenkette zu finden sind, während das Adenin und die Ribose nur vier solche Bindungen zeigen (siehe Abb.7.3.4 Teil a und b). Das oktaedrisch koordinierte Mg<sup>2+</sup> ist sowohl an drei Sauerstoffatome jeder Phosphatgruppe als auch an die Sauerstoffatome der Asn132- und Asp145-Seitenketten und ein Wassermolekül gebunden (Kim et al. 1996). Es ist zu erwähnen, dass die Röntgenstrukturen der CDK2 und die der CDK2-Liganden-Komplexe Wassermolekülen enthalten.\* In dem CDK2-ATP-Komplex sind Wasserstoffbrücken zu den

---

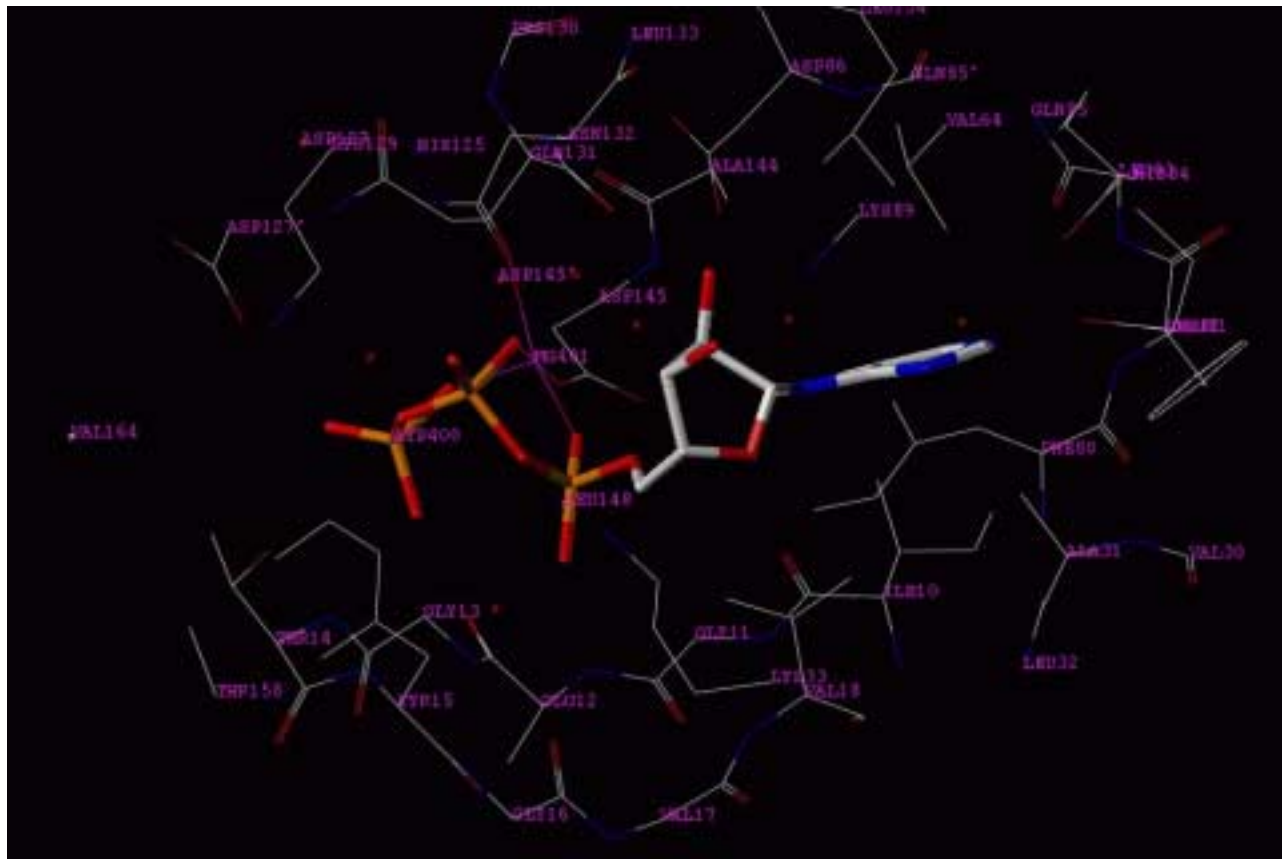
\* Proteinkristalle enthalten mehr als 20% Wasser im Kristall.

eingelagerten Wassermoleküle zu finden (Schulze et al.1995, Kim 1996). Bei der Modellbildung wurden die Wassermoleküle jedoch nicht berücksichtigt und berechnet. Daher können bei den gemodellten Versionen keine Wechselwirkungen mit Wasser beobachtet werden.

Beim Einpassen des ATP-Moleküls an das CDK1-Modell wurde die Konformation des ATPs aus dem Komplex mit der CDK2 übernommen (für die Wechselwirkungen zwischen ATP und CDK1 siehe Abb. 7.3.4 Teil b).

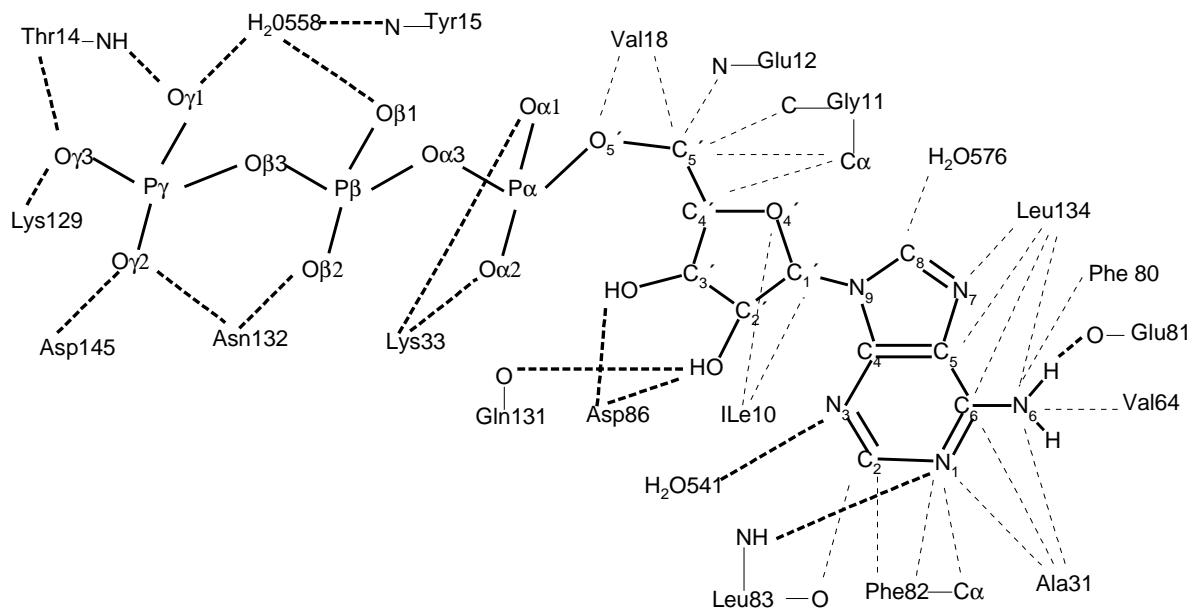
ATP bildet tatsächlich zehn Wasserstoffbrücken mit den Aminosäure Seitenketten in der CDK1. Sowohl das Homologiemodelling (vorliegende Arbeit) als auch die Sequenzalignment-Studien (Furet et al. 2000) zeigen, dass sich die katalytischen Zentren der beiden Cyclin-abhängigen Kinasen 1 und 2 nicht sehr von einander unterscheiden. In der Aminosäuresequenz unterscheiden sie sich in zwei Aminosäuren (in Positionen 84 und 85, in der CDK1 Ser84 und Met85 und in der CDK2 His84 und Gln85) (siehe auch Furet 2000). Weiterhin ist in der Bindetasche des CDK1-Modells Phe82 gegen Gly13 und Asp127 ausgetauscht.

Der Vergleich des katalytischen Zentrums des CDK1-ATP-Komplexes mit dem der CDK2-ATP-Röntgenstrukturanalyse zeigt plausible Übereinstimmungen. Daher ist das CDK1-Modell durchaus für die weiteren Protein-Ligand-Docking-Versuche geeignet.

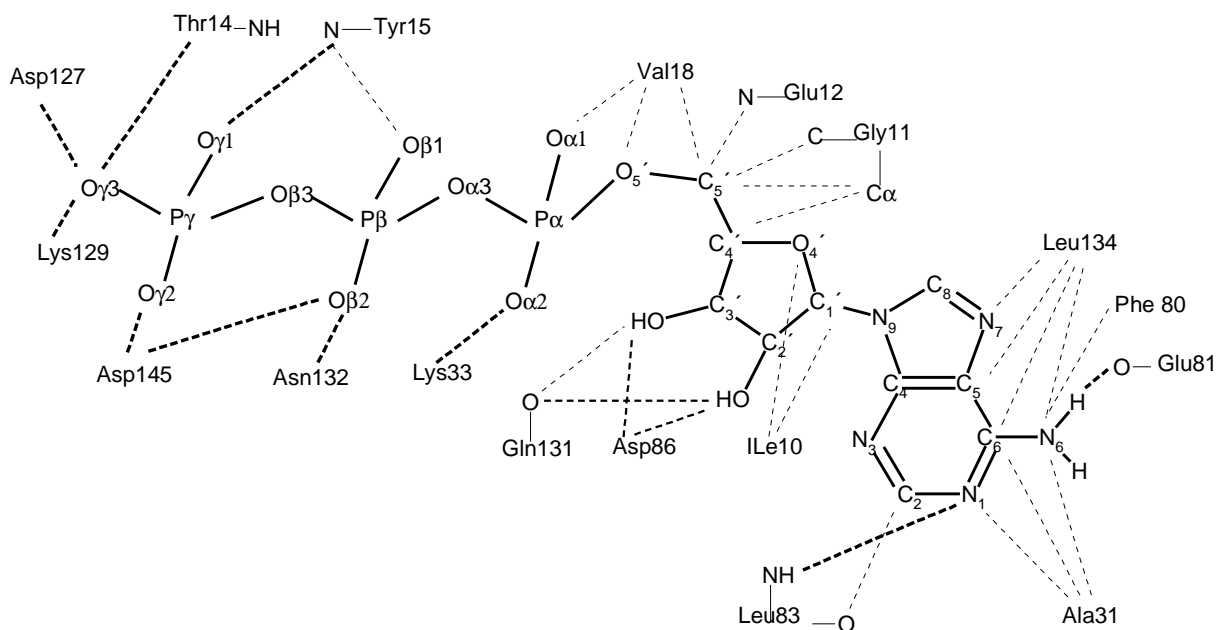


**Abb. 7.3.3 :** Das aktive Zentrum des CDK1-Modells mit dem ATP-Molekül. Für eine bessere Übersicht wurde das katalytische Zentrum des Proteins dargestellt, daher sind einige Aminosäurereste nicht vollständig abgebildet. Magnesium ist mit je einem Sauerstoffatom jeder Phosphatgruppe als auch mit den Sauerstoffatomen der Seitenketten der Aminosäuren Asp145 und Asn132 verbunden. Farbcode: Alle Aminosäuren sind in als „Linie“ in der üblichen Dreibuchstaben-Abkürzungen in den Atomfarben dargestellt. (N: blau, C: weiß, O: rot, S: gelb). ATP-Molekül ist als „capped Sticks“ dargestellt (P: orange,  $Mg^{2+}$ : lila).

## Teil a:



## Teil b:

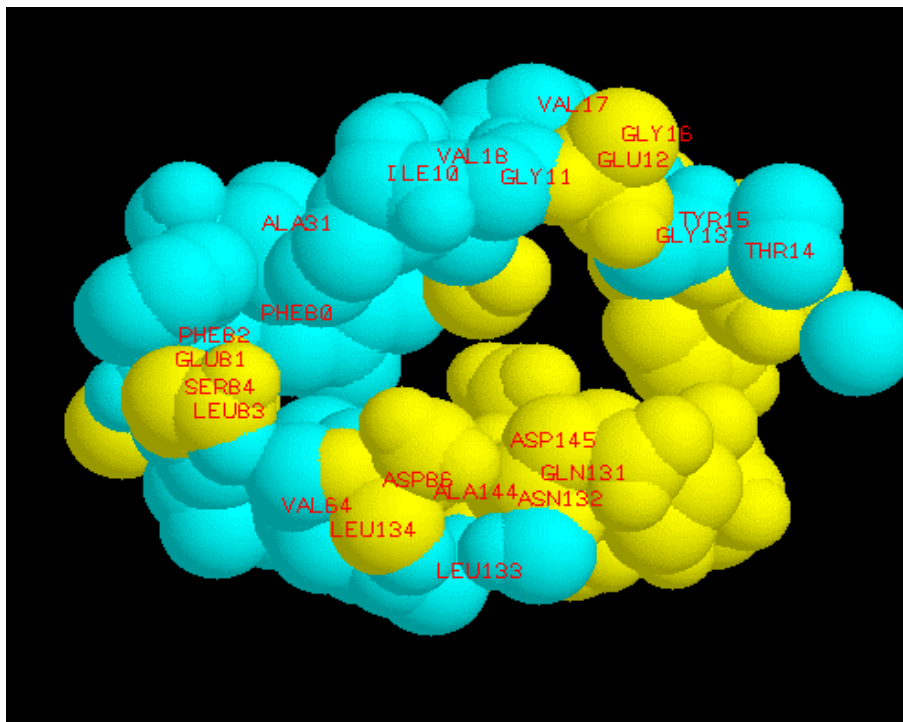


**Abb. 7.3.4:** Wechselwirkungen des ATP in den katalytischen Zentren der CDK1 und der CDK2. Über die Hälfte der Wasserstoffbrückenbindungen befinden sich in den Triphosphatseitenketten. Teil a : Wechselwirkungen mit der CDK2 (Kim et al. 1996); Teil b : Postulierte Wechselwirkungen mit der CDK1; die dunkel geschtrichelten Linien sind die Wasserstoffbrückenbindungen, und die hellgrauen Linien zeigen die Van-der-Waals Kontakte.

Im Gegensatz zu den Wechselwirkungen der Triphosphatseitenkette mit den Aminosäuren-Seitenketten (im katalytischen Zentrum des Enzyms) sind die des Adenins des ATP-Moleküls meist hydrophober Natur. Zwei Wasserstoffbrückenbindungen werden ausgebildet (Leu83-N zum Wasserstoff am Stickstoffatom N1 des ATPs und Gln81-O zum Proton vom Stickstoffatom N6). Die Tatsache, dass sich diese Bindungen in einer hydrophoben Umgebung befinden, wodurch sich die Wechselwirkungsenergie zwischen zwei Dipolen erhöht, trägt wahrscheinlich zur guten Bindungsaffinität bei.

Betrachtet man das aktive Zentrum der CDK1, wird deutlich, dass die Aminosäuren, die dort lokalisiert sind, sowohl hydrophobe als auch polare Seitenketten besitzen (siehe Abb. 7.3.5).

Die polaren Aminosäuren im aktiven Zentrum des CDK1-Enzyms sind Asp86, Asp145, Glu12, Glu81, Lys33, Asn132, Gln131, Thr14, Gly11, Gly13, Gly16, Ser84, Tyr15. Die hydrophoben Aminosäuren sind folgende: Ala31, Ala144, Val17, Val18, Val64, Leu83, Leu133, Leu134, Phe80, Phe82, Ile10 (Abb. 7.3.5).

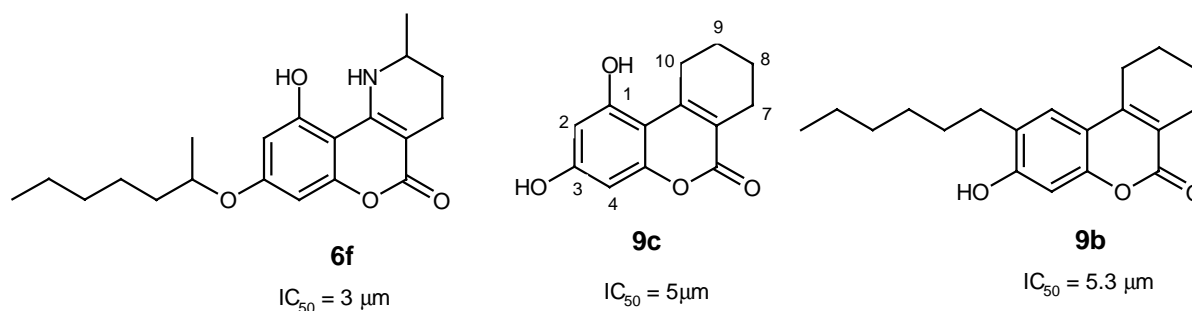


**Abb. 7.3.5:** Das katalytische Zentrum der CDK1, zur besseren Übersicht sind nur die Aminosäuren im katalytischen Zentrum abgebildet. Daher sind einige Reste der Aminosäuren außerhalb des aktiven Zentrums zu sehen. Farbcode: Hydrophobe Aminosäuren cyan, polare Aminosäuren gelb, die Aminosäuren sind in ihrer Dreibuchstaben-Abkürzung mit ihren Nummern aus der Sequenz der CDK1 in rot abgebildet.



Wenn Substanzen als kompetitive Inhibitoren an das aktive Zentrum des Enzyms binden, dann müssen sie zwei Eigenschaften besitzen. Sie sollen lipophile Reste im Molekül haben, um möglichst eine Vielzahl an hydrophoben Wechselwirkungen mit den Aminosäuren-Seitenketten ausbilden zu können, und sie müssen polare Gruppierungen besitzen, wie Hydroxy- oder Aminogruppen, um Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden zu können (siehe Protein-Liganden Wechselwirkungen).

Im folgenden wird das Docking potentieller Inhibitoren an die CDK1 betrachtet. Wir wählten aus den an CDK1/CyclinB getesteten Substanzen diejenigen mit den besten Inhibitoreigenschaften aus (Abb.7.3.6). Alle Strukturen wurden zunächst Geometrie-optimiert (Triposkraftfeld in SYBYL 6.5) und anschließend in das aktive Zentrum des Enzym-Modells angedockt (Abb.7.3.7 und Abb.7.3.8).

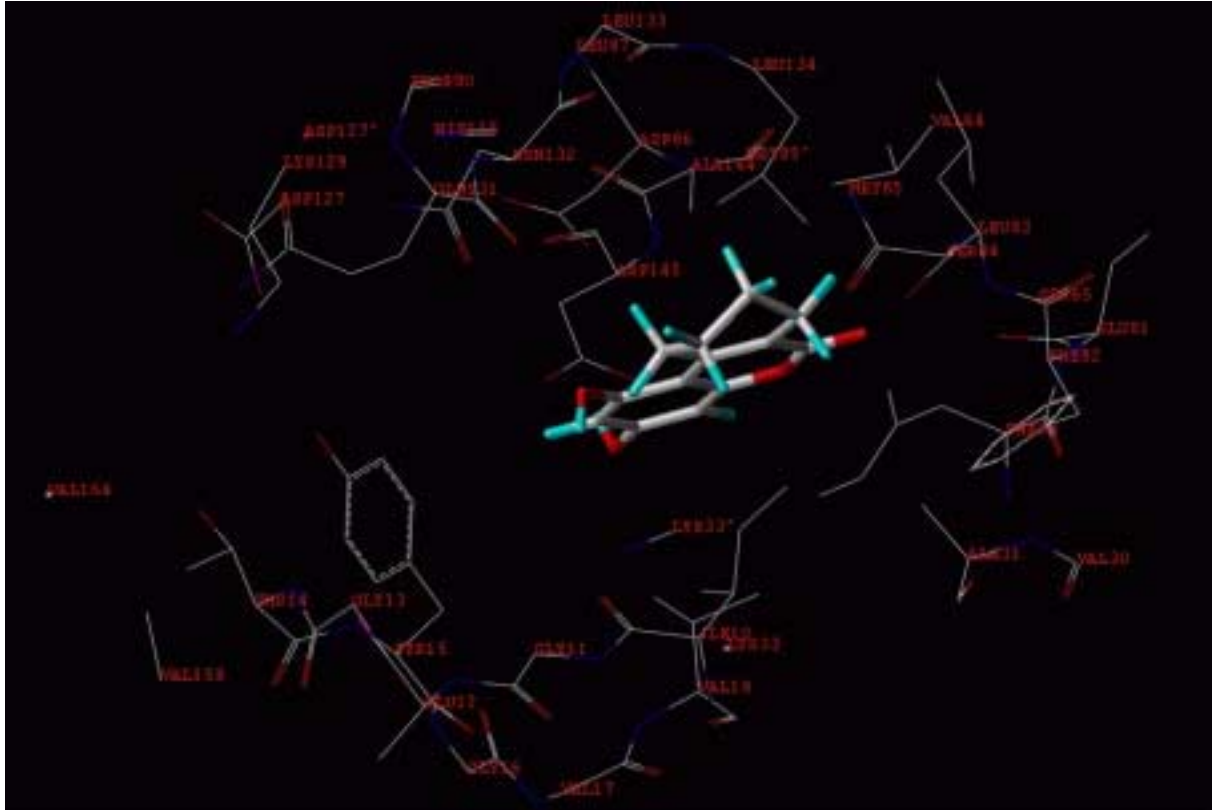


**Abb. 7.3.6.:** Strukturformeln der potentiellen Inhibitoren mit ihren IC<sub>50</sub>-Werte der CDK1/CyclinB-Testung

Es ist anzumerken, dass alle Docking-Versuche der Substanz **6f** nicht zum Erfolg führten, da das Programm nicht in der Lage war, das Molekül in das aktive Zentrum einzulagern. Möglicherweise war dies durch die lange Seitenkette der Verbindung erschwert.

1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9c**) zeigt ähnliche Strukturelemente wie das Chloro-flavopyridol, eines der besten CDK-Inhibitoren (Sedlack et al 1996). Die Röntgenstrukturanalyse des Chloro-flavopyridol zeigt, dass das Molekül im aktiven Zentrum der CDK2 mehr als fünf Wasserstoffbrücken ausbildet (Kim et al. 1996, 1998). Die Wasserstoffbrücken binden zu den Seitenketten der Aminosäuren Glu81, Leu83, Asp145,

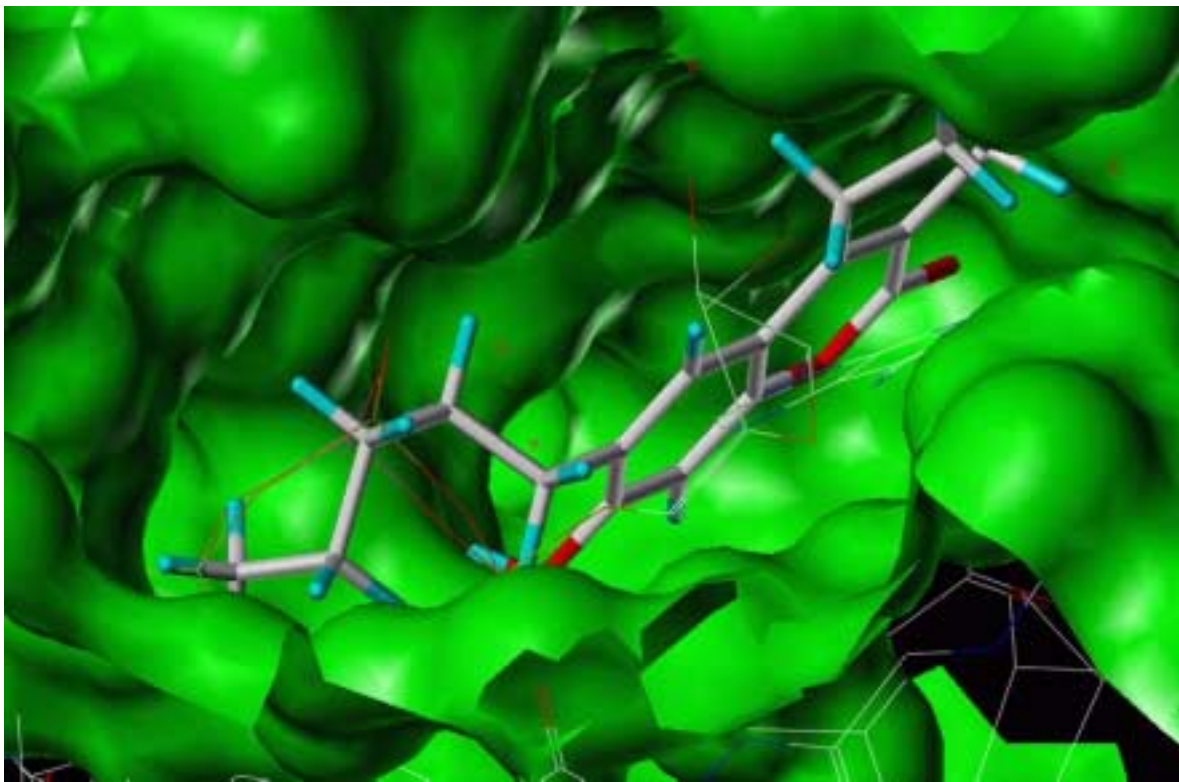
Lys33 (Die Abstände zwischen dem Wasserstoffdonor und dem -akzeptor beträgt hier im Durchschnitt 2.8 bis 3.3 Å) und zu zwei weitere Wassermoleküle (siehe Kim 1996, 1998).



**Abb. 7.3.7:** 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9c**) in dem aktiven Zentrum des CDK1-Modells. Für eine bessere Übersicht sind nicht alle Aminosäure-Seitenketten abgebildet und einige Aminosäuren sind nicht vollständig dargestellt. Alle Aminosäuren sind als „Linie“ und **9c** als „Capped Sticks“ in Atomfarben abgebildet (C: weiß, O: rot, H: cyan).

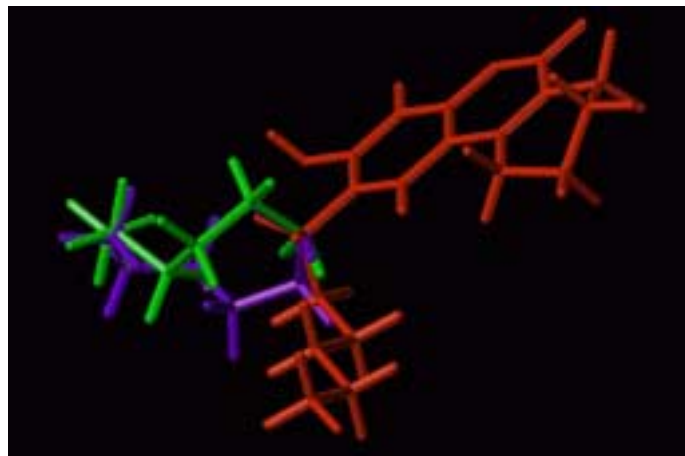
Bei der Betrachtung der Verbindung **9c** in der Bindetasche des CDK1 findet man die Wasserstoffbrücke zu Asp145 wieder (Abb.7.3.7). Der Abstand zwischen dem Sauerstoff der Carboxylgruppe des Asp145 und der Hydroxygruppe am C3 des Inhibitors beträgt 2.81 Å. Die Substanz **9c** besetzt mit dem Benzopyranring annähernd die gleiche Position wie der Purinring des ATP-Moleküls (siehe Abb.5.4.2 mit der Überlagerung der 3 Liganden mit ATP in der Bindetasche der CDK1). In dieser Position entsprechen der Sauerstoff an der Position 5

und das C1-Atom des Inhibitors dem C6 –Atom bzw. dem N9 im Adenin des ATP-Moleküls. Die Hydroxygruppe am C1 befindet sich dann, räumlich gesehen, an der gleichen Position wie die Hydroxygruppe an C2' des Riboseringes im ATP. Hiermit lässt sich dann die Wasserstoffbrückenbindung zu Gln131 erklären. Die zweite Wasserstoffbrückenbindung geht von Asp145 aus. Der Sauerstoff OD in der Seitenkette des Asp145 bewirkt die Wechselwirkung mit der Hydroxygruppe an der Position 3 des Inhibitors (Bei Wechselwirkungen der Verbindung **9b** mit den Aminosäuren-Seitenketten im aktiven Zentrum des Enzyms wird diese Wasserstoffbrücke ebenfalls wieder registriert).



**Abb. 7.3.8 :** Das katalytische Zentrum des CDK1-Modells mit 2-Hexyl-3-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9b**). Die Oberfläche des Enzyms ergibt sich aus der Berechnung der Van-der-Waals Radien. Die Aminosäuren am unteren Rand des Bildes sind als „Linie“ abgebildet. Für einen besseren Vergleich ist **9b** (als capped-sticks) mit einem ATP-Molekül (als Linie) überlagert. Die lange Seitenkette der Verbindung **9b** entspricht der Triphosphatkette des ATP. Farbcode: Enzymoberfläche: grün; ATP und Aminosäuren als Linie und **9b** als capped-Sticks in CPK-Farben (N: blau, C: weiß, O: rot, H: cyan, P: orange).

2-Hexyl-3-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9b**) plaziert sich in der Bindetasche des CDK1-Modells derart, dass der Benzopyran-Ring annähernd die gleiche Position einnimmt, wie der Purinring des ATP. Die lange Seitenkette der Verbindung **9b** besetzt dabei etwa die gleiche Stellung wie der Triphosphatrest des ATP besetzt (Abb 7.3.8). Die lange Seitenkette am C6 kann verschiedene Konformationen einnehmen, was aus einer Drehung um die C1'-C2'-Achse resultiert. Um die Position der Triphosphatkette einnehmen zu können, muß sich die Seitenkette in **9b** um 45° um die Achse drehen (Abb.7.3.9).



**Abb.7.3.9:** Die mögliche Konformation für die aliphatische Seitenkette der Verbindung **9b**.

Die aliphatische Seitenkette der Verbindung **9b** zeigt nur hydrophobe Wechselwirkungen mit den Aminosäure-Seitenketten. Die Kohlenstoffatome CD1 und CD2 der Leu134, CG2 der Val18 und CD1 der Ile10 stehen in hydrophober Wechselwirkung mit der Seitenkette der Verbindung **9b** (die Abstände betragen im Durchschnitt 3.7 bis 4.3 Å). Das Sauerstoffatom OD2 der Asp145 bildet mit der Hydroxygruppe am C3 des Inhibitors eine Wasserstoffbrückenbindung. Der Abstand beträgt 2.8 Å.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Bindetasche des CDK1-Modells eine erstaunlich hohe Kapazität für planare aromatische Reste bietet. Die meisten spezifischen Wechselwirkungen der CDK1-Inhibitoren finden zwischen den Substituenten am aromatischen Grundgerüst des Inhibitors und der peripheren Oberfläche des aktiven Zentrums des Enzyms statt. Dies haben sich auch die Röntgenstrukturanalysen der CDK2 mit den Liganden (Olomucine und Chloro-Flavopyridol) bestätigt (Kim et al. 1996, 1998, Schulze et al. 1996).

ATP als ein natürlicher Ligand kann als eine Pseudo-Leitstruktur für eine Struktur-basierte Wirkstoffdesign angesehen werden (siehe Einleitung Adenin-Basierte CDK-Inhibitoren). Das Wissen, wie ATP und andere Liganden in dem aktiven Zentrum des Enzyms liegen, kann uns helfen, ihre Wechselwirkungen mit dem Protein zu verstehen. Außerdem können Hypothesen zu möglichen Bindungsstellen des Liganden am Protein formuliert werden. Eine durch Liganden induzierte Konformationsänderung des Proteins ist schwer vorzusagen, eine sichere Aussage ist nur durch eine Röntgenstrukturanalyse möglich. Im Falle der CDK2 haben die Röntgenstrukturanalysen des Apoenzyms und die der Komplexe mit den Liganden gezeigt, dass keine gravierenden Unterschiede vorliegen (Kim 1998, Schulze 1996). Aus dieser Homologiemodelling können wir nur vermuten, dass auch hier keine signifikanten Unterschiede bzgl. der Struktur der Cyclin-abhängigen Kinase 1 als Apoenzym und im Komplex mit den Liganden vorliegen.

Die wenigen Wasserstoffbrücken zwischen den Aminosäuren-Seitenketten und den Liganden im katalytischen Zentrum des Enzyms lassen voraussagen, dass auch durch die Erhöhung der hydrophoben Wechselwirkungen, mehr Flexibilität in der Orientierung des Inhibitors in der Bindetasche und damit eine bessere Hemmung des Komplex erzielt werden kann.

## 8. Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit ist die erste Arbeit zur Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen der potentiellen inhibitorischen Eigenschaften der Benzopyranopyridine an den Cyclin-abhängigen Kinasen.

Daher waren zunächst sehr viele Fragen offen. Um feststellen zu können, welche der funktionellen Gruppen für die Hemmung der Kinase-Aktivität essentiell sind, wurde eine Reihe von Benzopyranopyridinen mit unterschiedlichen Substituenten (**6b-h,7**) hergestellt. Aus den Ergebnissen der CDK1/Cyclin B-Testungen wissen wir nun, dass

- die aromatischen Pyridine (**4b-h,5**) generell keine Wirkung zeigen,
- das Fehlen der Hydroxygruppe an Position 10 zu einem nahezu dramatischen Rückgang der inhibitorischen Wirkung führt,
- das die Verzweigung des am Sauerstoff an Position 8 gebundenen langkettigen Alkylrests wesentlich ist, und
- das die Methylgruppe am Kohlenstoffatom C2 ebenfalls einen wichtigen Beitrag zu den Protein-Liganden-Wechselwirkungen liefert.

Interessant wäre die Enantiomeren-Trennung der Substanz **6f** um festzustellen, welches der beiden Isomere das wirksamere ist bzw. ob die beiden Enantiomere gleich wirksam sind. Die quantenmechanischen Rechnungen haben gezeigt, dass das *S,S*-Isomere welches die energetisch günstigere Form darstellt ( $\Delta G = -162.60$  kcal/mol). Weiterhin wäre es interessant, die Seitenkette am Sauerstoff zu variieren. Anhand der Proteinmodellierung-Studien haben wir feststellen können, dass die langkettigen Alkylreste in hydrophober Wechselwirkung mit den Aminosäuren-Seitenkette stehen können. Daher wäre es zweckmäßig, diesen Rest durch andere Reste zu ersetzen, die eine oder mehrere Hydroxygruppen tragen (um auch die Möglichkeiten für Wasserstoffbrückenbindungen an das Enzym zu erhöhen), oder aber funktionelle Gruppen in die Seitenkette einzubauen, um möglicherweise an mehreren Stellen Wechselwirkungen mit dem Protein zu erreichen.

Um die Struktur-Wirkungsbeziehung zu erweitern, war die Frage interessant, welche Rolle der Stickstoff im Tetrahydropyridinring spielt. Aus diesem Grund wurden zunächst die Verbindungen **8a** und **8b** hergestellt. In diesen Verbindungen befindet sich der Stickstoff in

einer anderen Stellung im Ring als im Tetrahydrobenzopyranopyridin. Wegen der schlechten Testergebnisse wurde diese Substanzklasse nicht weiter verfolgt.

Die Tetrahydrobenzochromen-6-on-Derivate (**9a-t**) weisen einige Merkmale der Benzopyranopyridine auf. Diese Substanzklasse zeigte überraschende Ergebnisse. Die am Sauerstoff alkylierten Verbindungen zeigten weder eine wesentliche Verbesserung noch einen Rückgang der  $IC_{50}$ -Werte. Interessant waren die zunächst als Ausgangsverbindungen synthetisierten Substanzen **9b** und **9c** (mit den  $IC_{50}$ -Werte von 5 und 5.3  $\mu$ M). Die Proteinmodellierung-Studien an diesen beiden Verbindungen haben gezeigt, dass sie sich gut in das aktive Zentrum des Enzyms einlagern und verschiedene Wechselwirkungen (sowohl Wasserstoffbrückenbindungen als auch hydrophobe Wechselwirkungen) mit den Aminosäuren-Seitenketten aufweisen. Die Verbindung **9c** bot sich als eine Leitstruktur für weitere Untersuchungen an. Die während dieser Arbeit unternommenen Abwandlungen an der Struktur haben nicht zu gravierenden Änderungen der Ergebnisse geführt.

Auch wenn die dargestellten Benzopyranopyridin- und Tetrahydrobenzochromen-6-on-Derivate noch nicht die von einem Arzneistoff geforderte Wirksamkeit im nano-molaren Bereich besitzen, so können sie doch weiterhin als Leitsubstanzen zur weiteren Entwicklung von Inhibitoren der Cyclin-abhängigen Kinase eingesetzt werden.

Interessante Ergebnisse lieferten die Proteinmodellierung-Studien. Durch die 3-dimensionale Modellbildung der CDK1 wissen wir nun, dass sich das katalytische Zentrum der CDK1 um zwei Aminosäuren von dem der CDK2 unterscheidet (siehe auch Furet 2000). Wir konnten außerdem die möglichen Aminosäuren-Seitenketten in der Bindestelle des Enzyms feststellen, die in Wechselwirkung mit 9-Hexyl-8-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9b**) und 1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzochromen-6-on (**9c**) stehen.

Das 3-dimensionale Modell der CDK1 bietet uns die Möglichkeit, durch vergleichende Betrachtung der Protein-Liganden-Komplexe mehr Informationen über die Wechselwirkungen zwischen den unterschiedlichen funktionellen Gruppen des Inhibitors und der Aminosäuren-Seitenketten des Enzyms zu erhalten. Die hieraus resultierende rationale Optimierung kann durch gezielte Strukturabwandlungen an den Liganden zu einer Verbesserung der Wirkung beitragen.

Zur Zeit der Abgabe dieser Arbeit befinden sich noch weitere Verbindungen in der CDK1/Cyclin B-Testung, so dass leider keine Aussage zu deren inhibitorischer Eigenschaft gemacht werden kann. Bei den Substanzen handelt es sich in der Gruppe der Benzopyranopyridine um Verbindungen mit einem Phenacylrest (**4g,4h,6g**) und bei den Tetrahydrobenzochromenonen um die Derivate von **9c** (**9m-t**). Hier handelt es sich um bromierte und nitrierte Verbindungen. Diese Ergebnisse sind abzuwarten.

Weiterhin befinden sich die Verbindungen **6f**, **9b** und **9c** zur Zeit in der Testung an 60 verschiedenen Krebs-Zelllinien, so dass wir über inhibitorische Effekte dieser Substanzen nicht berichten können.



## 9. Experimenteller Teil

### 9.1 Allgemeine Hinweise

Schmelzpunkte: Schmelzpunktapparatur Büchi 510 und Mikroheiztisch Thermovar (Reichert). Die Schmelzpunkte wurden nicht korrigiert. Zers. : unter Zersetzung

Elementaranalysen: Institut für Anorganische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. (CHN-Autoanalyzer von Hewlett-Packard)

Dünnschichtchromatographie: DC-Folien POLYGRAM SIL G/UV254 aus Kieselgel, Schichtdicke : 0.2 mm, Macherey-Nagel

$R_f$  = Verhältnis der Laufstrecke der Verbindung zur Laufstrecke der Fließmittelfront

Die  $R_f$ -Werte sind nur in den Fällen angegeben, in denen das Produkt säulenchromatographisch gereinigt wird. Die Füllhöhe und der Säulendurchmesser werden in Klammern angegeben.

Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (63-200  $\mu$ M), Fa. Merck 7734

IR-Spektroskopie: Perkin Elmer 16 PC FTIR

Zur Charakterisierung der Banden werden folgende Abkürzungen verwendet:

w = schwach, m = mittel, s = stark, br = breit,  $\nu$  = Valenzschwingung,  $\delta$  = Deformationsschwingung, C=C : Ringschwingung

NMR-Spektroskopie:

$^1\text{H}$ -NMR-Spektren: Bruker ARX 300 (Meßfrequenz 300.13 MHz)

$^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren: Bruker ARX 300 (Meßfrequenz 75.47 MHz)

Es wurden folgende Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Dublett, dd = doppeltes Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quint = Quintett; tq = Triplett von Quartett, m = Multiplett, mc = Multiplettszentrum, br. = verbreitertes Signal, J = Kopplungskonstante in Hz, Ar = Aromat, Ph = Phenylrest, a = axial ständig, e = äquatorial ständig.

Als innerer Standard wurde Tetramethylsilan verwendet. Alle Angaben der chemischen Verschiebung  $\delta$  sind in ppm.

UV/VIS Spektroskopie: HP 8452A Dioden-Array Spectrophotometer Hewlett-Packard

Massenspektrometrie: Hewlett-Packard HP 5989A-MS-Engine,

Direkteinlaß : Schubstange IGT (Instrumente und Geräte Technik GmbH); Wolfram - Wendel

Temperatur der Ionenquelle: 250°C ; Quadropol Temperatur: 120 °C

Lösungsmittel Methanol, Ethanol oder Methylenchlorid

Thermospray-Einlaß: LC/MS Probe Hewlett-Packard 5955-7598

Hochaufgelöste Massenspektrometrie: Finnigan MAT 8230 MS (70 eV; Institut für organische Chemie) H.R.M.S. : High resolution mass spectrum

Chemikalien: Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen MERCK, FLUKA, SIGMA und LANCASTER bezogen.

Die verwendeten Lösungsmittel stammen aus Industrielieferungen an das pharmazeutische Institut und wurden vor der Verwendung nach den üblichen Verfahren getrocknet.

### 9.3 Allgemeine Synthesevorschriften:

#### Methode A: Synthese von 4-Aminocumarine

200 mmol Phenol werden in 40 ml trockenem Ether aufgelöst. Bei 0°C werden 17,2 g (200 mmol) Cyanessigsäure, gelöst in 20 ml trockenem Ether, und 10 g (73 mmol) wasserfreies Zinkchlorid in die Reaktionslösung gegeben. Die Reaktionsmischung wird solange unter Feuchtigkeitausschluß gerührt, bis sich alles gelöst hat. Anschließend wird trockenes Chlorwasserstoff-Gas in die Lösung eingeleitet (mittlere Stromstärke, für die Reaktionszeit siehe die jeweilige Synthesevorschrift). Während dieser Zeit fiel meist das Hydrochlorid aus. Die Reaktionsmischung wird einen Tag bei RT stengelassen. Der bereits ausgefallene Niederschlag wird von der Etherphase getrennt, mit 100 ml dest. Wasser und 100 ml Petrolether gewaschen. Das Rohprodukt wird aus den entsprechenden Lösungsmitteln umkristallisiert (siehe die einzelnen Synthesevorschriften).

#### Methode B: Alkylierungsreaktionen mit Methansulfonsäure-(2-methyl)-hexylester, Chloracetophenon und 3-Brompropanol

10 mmol des 4-Aminocumarinderivates, gelöst in 50 ml Dimethylformamid (DMF), werden bei RT mit 2.79 g  $K_2CO_3$  und 2 g (10 mmol) Methansulfonsäure-1-methylhexyloxyester versetzt und bei 110-120 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur erstarrt die Reaktionsmischung zum Teil. Nach dem Abkühlen auf RT wird die Mischung auf 150 g Eis/Wasser gegeben, mit 3N NaOH alkalisch gemacht und 15 min gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt, mit  $H_2O$  gewaschen und umkristallisiert. In den Ansätzen, in denen kein Niederschlag ausfiel, wird die wässrige Phase 3x mit Ether extrahiert und die organische Phase weiterverarbeitet. (Für die Reaktionszeit und Lösungsmittel siehe die Anmerkungen im Experimentellen Teil.).

Bei den Umsetzungen mit  $\omega$ -Chloracetophenon und 3-Brompropanol wird die Reaktion in trockenem Aceton bzw. trockenem Ethanol durchgeführt.

**Methode C: Synthese der Benzopyranopyridine**

2 mmol des 4-Aminocumarins werden in 10 ml Eisessig gelöst. Bei RT und unter kräftigem Rühren wird 0.4 ml (Dichte:0.852-0.855; 4 mmol) Methylvinylketon zugetropft. Die Reaktionsmischung wird nun auf 100 °C erhitzt und 4 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wird der Ansatz auf 100 g Eis/Wasser gegeben und gerührt. Diese Lösung wird dann 3x mit je 30 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Der Rückstand (das Rohprodukt) wird mittels Säulenchromatographie gereinigt. (Säulenhöhe, Lösungsmittel siehe die Anmerkungen im experimentellen Teil)

**Methode D : Reduktionsreaktionen mit Na(BH<sub>3</sub>)CN und NaBH<sub>4</sub>**

1 mmol des Benzopyranopyridinderivates werden in 10 ml Eisessig gelöst und portionsweise mit 380 mg (6 mmol) Na(BH<sub>3</sub>)CN versetzt. Die Reaktionsmischung wird dann 6 bis 10 h bei RT gerührt. In einigen Fällen wird die Reaktionslösung 4 h auf 60-80 °C erhitzt (siehe die Anmerkungen im experimentellen Teil). Zum Aufarbeiten wird der Ansatz auf 100 g Eis/Wasser gegeben und mit 3N NaOH alkalisch gemacht (pH 6-7). Der ausgefallene Niederschlag ölt bereits bei der Aufarbeitung aus. Diese Mischung wird 3x mit je 30 ml Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Das ölige Rohprodukt wird dann säulenchromatographisch isoliert und gereinigt.

**Methode E : Synthese anellierter Cumarine**

In einem Dreihalskolben werden 50 mmol Phenol-Derivat in 20 ml trockenem Ether gelöst und bei 0 °C langsam mit 7.9 ml (Dichte:1.07; 50 mmol) Ethyl-3-oxocyclohexanon-carboxylat versetzt. Unter ständigem Rühren werden 4.9 ml (Dichte: ; 0.1 mol) konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugetropft, so daß das Innenthermometer zwischen 0-10 °C anzeigt. Der Ansatz wird langsam auf RT erwärmt und einen Tag stengelassen. Der ausgefallene Niederschlag wird filtriert und mehrfach mit H<sub>2</sub>O und Ether gewaschen. Das Rohprodukt wird aus den angegebenen Lösungsmitteln umkristallisiert.

**Methode F : Acetylierungsreaktionen an anellierten Cumarinen und Fries-Umlagerung**

2 mmol Benzopyranderivat werden in 5 ml Acetanhydrid gelöst und 2 h auf 100 °C erhitzt. Der Ansatz wird auf RT abgekühlt, die ausgefallenen Kristalle werden abfiltriert und mit Ether gewaschen.

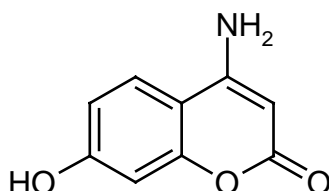
1 mmol des Acetylierungsprodukts wird mit 800 mg (7 mmol) AlCl<sub>3</sub> in einem trockenen Kolben gut vermischt. Der Kolben wird anschließend in ein Ölbad gehängt, das bereits auf 160-165 °C erhitzt ist. Es wird 2 ½ h bei dieser Temperatur erhitzt. Das entstandene HCl-Gas wird in ein Becherglas mit NaOH geleitet. Nach dem Abkühlen auf RT wird die gelb-braune Mischung vorsichtig auf 60 g Eis/Wasser gegeben und mit 6 ml 3N HCl versetzt und ½ h gerührt (nicht umgesetztes AlCl<sub>3</sub> geht in Lösung). Das ausgefallene Produkt wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus dem angegebenen Lösungsmittel umkristallisiert.

**Methode G: Umsetzungen mit β-Aminocrotonsäurenitril**

2 mmol Mannichbase eines Acetophenonderivates und 410 mg (3.5 mmol) β-Aminocrotonsäurenitril werden unter Feuchtigkeitsausschluß in 10 ml trockenem Ethanol gelöst und 8 h unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT wird das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Der Rückstand wird mit wenig Eis/Wasser umgesetzt und ½ h gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wird abfiltriert und aus dem angegebenen Lösungsmittel umkristallisiert.

### 9.3 Synthesen und physikalische Daten einzelnen Verbindungen

#### 4-Amino-2-hydroxycumarin (2a)



22.1 g (200 mmol) Resorcin (**1a**) werden in 40 ml trockenem Ether aufgelöst. Bei 0°C werden 17.2 g (200 mmol) Cyanessigsäure, gelöst in 20 ml trockenem Ether, und 10 g (73 mmol) wasserfreies Zinkchlorid in die Reaktionslösung gegeben. Es wird solange gerührt bis sich alles gelöst hat. Anschließend werden 2 h trockenes HCl-Gas eingeleitet. Bereits nach einer halben Stunde fällt ein weißer Niederschlag aus. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei RT stehen gelassen. Der Niederschlag wird von der Etherphase getrennt und mit 100 ml dest. Wasser und 50 ml Petrolether gewaschen. Das Rohprodukt wird aus Eisessig/ Wasser (2:1) umkristallisiert.

Ausbeute: 18,3 g (52 % d. Th.)  
Lit.: 33.9 % (Sonn 1917)

Schmelzpunkt: > 305 °C (Zers.)  
Lit: 340 °C Z. (Sonn 1917)

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3446 und 3342 (s, ν NH<sub>2</sub>), 3194 (s, ν OH), 1680 (s, ν C=O),  
1616 (m, ν C=C)

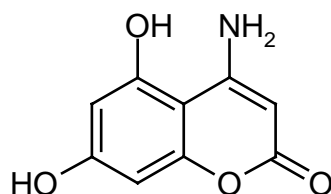
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.05 ppm (s, 1H, H-3), 6.63 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H-8/H-6</sub> = 2.3 Hz, H-8), 6.74 ppm (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-6/H-5</sub> = 8.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H-6/H-8</sub> = 2.3 Hz, H-6), 7.21 ppm (br. s, 2H, -NH<sub>2</sub>, austauschbar mit D<sub>2</sub>O), 7.81 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-5/H-6</sub> = 8.7 Hz, H-5), 10.37 ppm (br. s, 1H, -OH, austauschbar mit D<sub>2</sub>O).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 81.41 ppm (-C3), 102.24 ppm (-C8), 106.43 ppm (-C4a), 111.84 ppm (-C6), 124.30 ppm (-C5), 155.54 ppm (-C4), 156.08 ppm (-C8a), 161.07 ppm (-C7), 162.12 ppm (-C2).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten CH-Korrelation und eines CH-COLOC.

MS (70 eV):  $m/z = 177$  (100%,  $M^+$ ), 149 (51%,  $M^+ - CO$ ), 121 (33%,  $149 - CO$ ), 74 (20%,  $120 - 46$ ), 65 (21%), 52 (14%).

#### 4-Amino-5,7-dihydroxycumarin (2c)



6.3 g (50 mmol) Phloroglucin (**1c**) wird in 30 ml trockenem Ether suspendiert, mit 6.3 g (74.1 mmol) Cyanessigsäure, 2.5 g (18 mmol) trockenem Zinkchlorid 3 ½ h nach der Methode A umgesetzt. Der Niederschlag wird aus Ethanol/ Wasser (1:1) umkristallisiert.

Ausbeute: 12.5 g (31 % d. Th.)  
Lit: 49 % (Sonn 1917)

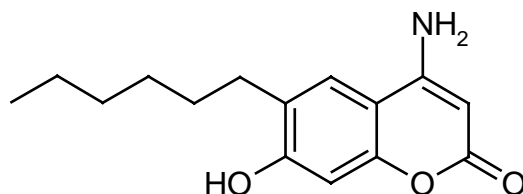
Schmelzpunkt: > 300 °C (Zers.)  
Lit: > 300 °C (Zers.) (Sonn 1917)

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 3490 und 3380 (s,  $\nu$   $\text{NH}_2$ ), 3110 (br. ,  $\nu$  OH), 1675 (m,  $\nu$  C=O)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 4.85$  ppm (s, 1H, H-3), 6.09 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H-6/H-8}} = 2.3$  Hz, H-6), 6.22 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H-6/H-8}} = 2.3$  Hz, H-8), 7.29 ppm (br. s, 2H,  $-\text{NH}_2$ , austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ ), 10.18 ppm (s, 1H, OH-7, austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ ), 11.18 ppm (s, 1H, OH-5, austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 79.66$  ppm (-C3), 94.70 ppm (-C6), 96.01 ppm (-C4a), 98.18 ppm (-C8), 157.02 ppm (-C5), 157.10 ppm (-C8a), 157.68 ppm (-C4), 160.78 ppm (-C7), 161.63 ppm (-C2).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten CH-Korrelation und eines CH-COLOC.

**4-Amino-6-hexyl-7-hydroxycumarin (2b) \***

19.4 g (0,1 mol) 4-Hexylresorcin (**1b**) werden in 40 ml trockenem Ether gelöst, unter Eiskühlung mit 8.3 g (0.1 mol) Cyanessigsäure, gelöst in 40 ml trockenem Ether, und 5,6 g (0.036 mol) Zinkchlorid 2 h nach der Methode A umgesetzt. Anschließend wird langsam auf RT erwärmt und einen Tag gerührt. Der Reaktionsansatz wird auf 300 g Eis/Wasser gegeben, mit 2N Natronlauge alkalisch gemacht und ½ h gerührt. Diese Lösung wird 3x mit je 50 ml Ether extrahiert und das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 3 g (11.5% d. Th.)

Schmelzpunkt: 172 – 173 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3456 und 3358 (s, v -NH<sub>2</sub>), 3200 (br., v OH), 2929 (w, v -CH<sub>2</sub>-aliphät) 1680 (s, v C=O), 1620, 1570 (m, v C=C), 1406(m)

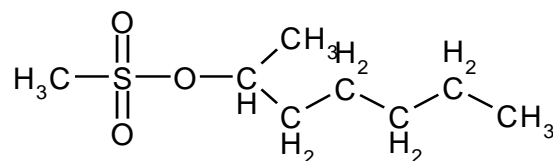
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.87 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J= 6.8 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-Ar), 1.30 ppm (br.s, 6H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> -), 1.56 ppm (quint., 2H, <sup>3</sup>J= 6.6 Hz, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.55 ppm (t, 2H, <sup>3</sup>J= 7.3 Hz, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar), 5.03 ppm (s, 1H, H-3), 6.64 ppm (s, 1H, H-8), 7.16 ppm (br. s, 2H, -NH<sub>2</sub>, austauschbar mit D<sub>2</sub>O), 7.69 ppm (s, 1H, H-5), 10.37 ppm (br. s, 1H, -OH, austauschbar mit D<sub>2</sub>O)

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ =13.91 ppm (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-Ar), 22.03 ppm (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-Ar), 28.54 ppm (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-Ar), 29.18 ppm (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Ar), 29.20 ppm (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 31.12 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 81.38 ppm (-C3), 101.64 ppm (-C8), 105.95 ppm (-C4a), 123.56 ppm (-C5), 125.22 ppm (-C6), 153.55 ppm (-C4), 156.12 ppm (-C8a), 158.82 ppm (-C7), 162.23 ppm (-C3).

MS (70 eV, EI): m/z = 261 (28%, M<sup>+</sup>), 190 (100%, M<sup>+</sup> -C<sub>5</sub>H<sub>11</sub><sup>+</sup>), 162 (13%, 190 -CO), 148 (30%), 69 (12%).

C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> (261.33) :	ber.:	C 68.94%	H 7.33%	N 5.36%
	gef.:	C 68.54%	H 7.55%	N 5.22%



**Methansulfonsäure-(2-methyl)-hexylester**

19,6 ml (0,25 mol) Methansulfonsäurechlorid werden in 60 ml Chloroform vorgelegt. 43 ml (0,3 mol) 2-Heptanol in 20 ml Chloroform werden unter Kühlung zugetropft. Bei 0°C wird dann 40 ml trockenes Pyridin langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird zunächst ½ h bei 0°C und 2 Tage bei RT gerührt. Zum Aufarbeiten wird zu dem Reaktionsansatz eine Mischung aus 200 g Eis und 70 ml konz. Salzsäure gegeben und ½ h gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt und 2x mit je 50 ml Wasser und einmal mit einer Lösung aus 50 ml Wasser und einer Spatelspitze Natriumhydrogencarbonat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird dann i. Vak. (Ölpumpe) destilliert.

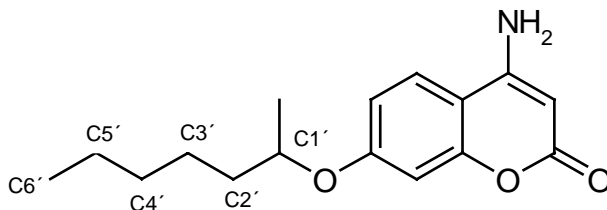
Ausbeute: 10.6 g (20.6 % d. Th.)  
Lit: 70 % (Williams 1954b)

Siedepunkt: 72-77 °C ( 0.5 Torr)  
Lit: 75-76 (0.5 Torr) (Williams 1954b)

$n_D^{20}$  : 1.4321  
Lit: 1.4338 (Williams 1954b)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.90 ppm (t, 3H,  $^3\text{J}$ = 12.5 Hz,  $^4\text{J}$ = 6.1 Hz,  $\text{CH}_3\text{-Alkyl}$ ), 1.31-142 ppm (m, 9H, Alkyl), 1.52-1.78 ppm (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2.99 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{-SO}_2\text{-OR}$ ), 4.79 ppm (tq, 1H,  $^3\text{J}$ = 6.2 Hz,  $-\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 13.76 ppm ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-}$ ), 20.68 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)\text{-O-}$ ), 22.92 ppm ( $\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-}$ ), 24.30 ppm ( $\text{C}_2\text{H}_5\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-}$ ), 30.69 ppm ( $\text{C}_3\text{H}_7\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-}$ ), 35.98 ppm ( $\text{C}_4\text{H}_9\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-}$ ), 37.79 ppm ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{SO}_2\text{-OR}$ ), 79.50 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)\text{-O-}$ ).

**4-Amino-7-(1'-methyl)-hexyloxycumarin (2d) \***

0.4 g (10 mmol) **2a** werden in 20 ml DMF gelöst. Bei RT wird die Lösung mit 0.7 g (5 mmol)  $K_2CO_3$  und 0.6 g (3 mmol) Sulfonsäureester versetzt und 2 h bei 120 °C gerührt. Dabei erstarrt die Reaktionsmischung. Es wird auf RT abgekühlt, unter Rühren auf 100 g Eis/Wasser gegeben, mit 3N NaOH alkalisch gemacht und 30 min gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt, mehrmals mit Wasser gewaschen und aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0.6 g (21.8% d. Th.)

Schmelzpunkt: 149- 150 °C

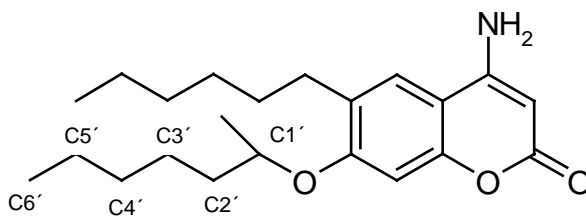
IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 3390 und 3204 (s,  $\nu$   $NH_2$ ), 2930 ppm (w,  $\nu$  OH), 1644 (s, Lacton), 1610 (m,  $\nu$  C=C), 1542(w), 1456(s)

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.85 ppm (t, 3H,  $^3J$  = 6.4 Hz,  $CH_3(CH_2)_5CH(CH_3)-O-Ar$ ), 1.25-1.47 (m, 9H,  $-CH_2-$ ), 1.49-1.67 ppm (m, 2H, R- $CH_2-CH_3$ ), 4.58 ppm (tq, 1H,  $^3J$  = 6.0 Hz, Ar-O $\underline{C}H(CH_3)C_5H_{11}$ ), 6.82 ppm (d,  $^4J_{H-6/H-8}$  = 2.3 Hz, H-8), 6.87 ppm (dd, 1H,  $^3J_{H-6/H-5}$  = 8.8 Hz,  $^4J_{H-6/H-8}$  = 2.3 Hz, H-6), 7.25 ppm (br.s, 2H,  $-NH_2$ , austauschbar mit  $D_2O$ ), 7.88 ppm (d, 1H,  $^3J_{H-5/H-6}$  = 8.8Hz, H-5).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.79 ppm (C6'), 19.31 ppm ( $C_5H_{13}CH(\underline{C}H_3)-O-Ar$ ), 21.27 ppm (C5'), 24.39 ppm (C4'), 31.09 ppm (C3'), 35.54 ppm (C2'), 73.60 ppm (C1'), 81.69 ppm (-C3), 101.85 ppm (-C8), 107.23 ppm (-C4a), 112.02 ppm (-C6), 124.18 ppm (-C5), 155.51 ppm (-C4), 155.81 ppm (-C8a), 160.93 ppm (-C2), 161.92 ppm (-C7).

MS (70 eV):  $m/z$  = 275 (11%,  $M^+$ ), 177 (73%,  $M^+-C_7H_{15}^+$ ), 149 (100%, 177  $-CO$ ), 120 (23%, 177  $-HCO$ ), 104 (10%, 120  $-NH_2$ ), 92 (8%,  $C_6H_4O^+$ ), 84 (18%), 65(21%).

$C_{16}H_{21}NO_3$ (275.35):	ber.: C 69.79%	H 7.68%	N 5.09%
	gef.: C 70.29%	H 7.94%	N 5.15%

**4-Amino-6-hexyl-7-(1'-methyl)-hexyloxy-cumarin (2e) \***

700 mg (2.7 mmol) **2b** werden in 20 ml DMF gelöst. Diese Lösung wird mit 800 mg (6 mmol)  $K_2CO_3$  und 0.6 g (3 mmol) Methansulfonsäureester nach der Methode B umgesetzt. Die Substanz wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 600 mg (83% d. Th.)

Schmelzpunkt: 222-224 °C

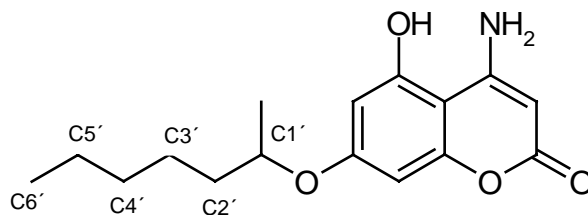
IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 3384 und 3196 (m,  $\nu$   $NH_2$ ), 2926 (m,  $CH_2$ - aliphatisch), 1704 (s, Lacton), 1616 (m,  $\nu$   $C=C$ ), 1372 (w)

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 0.89 ppm (br. s, 6H,  $CH_3(CH_2)_5$ -Ar,  $CH_3(CH_2)_5CH(CH_3)$ -O-Ar), 1.31-1.75 ppm (m, 19 H, , Ar-OCH( $CH_3$ ) $C_5H_{11}$ , 8x  $-(CH_2)-$ ), 2.60 ppm (t, 2H,  $^3J$ = 7.4 Hz,  $C_5H_{11}-CH_2$ -Ar), 4.41 ppm (tq, 1H,  $^3J$ = 5.9 Hz, -OCH( $CH_3$ ) $C_5H_{11}$ ), 4.98 ppm (br.s, 2H,  $-NH_2$ ,  $D_2O$  Austausch), 5.35 ppm (s, 1H, H-3), 6.73 ppm (s, 1H, H-8), 7.16 ppm (s, 1H, H-5).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 13.84 und 13.74 ppm ( $CH_3(CH_2)_5$ -Ar und  $C6'$ ), 19.11 ppm ( $C_5H_{11}CH(CH_3)$ -O-Ar), 21.96 und 22.00 ppm ( $CH_3CH_2(CH_2)_4$ -Ar und  $C5'$ ), 28.45 ppm ( $C_2H_5CH_2(CH_2)_3$ -Ar), 29.45 ppm ( $C_4H_9CH_2CH_2$ -Ar), 31.00 und 31.15 ppm ( $C_5H_{11}CH_2$ -Ar und  $C4'$ ), 35.65 ppm ( $C2'$ ), 73.23 ppm ( $C1'$ ), 81.38 ppm ( $-C3$ ), 99.39 ppm ( $-C8$ ), 106.35 ppm ( $-C4a$ ), 123.40 ppm ( $-C5$ ), 125.14 ppm ( $-C6$ ), 155.68 ppm ( $-C4$ ), 158.8.43 ppm ( $-C8a$ ), 161.56 und 162.46 ppm ( $-C2$  und  $-C7$ ).

MS (70 eV):  $m/z$  = 359 (20%,  $M^+$ ), 261(100%,  $M^+ -C_7H_{15}^+$ ), 233 (18%, 261  $-CO$ ), 218 (16%), 190 (98%, 261  $-C_5H_{11}^+$ ), 162 (11%, 190  $-CO$ ), 148 (24%, 162-14), 57 (25%).

$C_{22}H_{33}NO_3$ (359.51):	ber.: C 73.53%	H 9.19%	N 3.89%
	gef.: C 73.20%	H 8.74%	N 3.56%

**4-Amino-5-hydroxy-7-(1'-methyl)hexyloxy-cumarin (2f)**

2.5 g (13 mmol) **2c** werden in 20 ml DMF gelöst und mit 3.6 g (26 mmol)  $K_2CO_3$  versetzt. Anschließend werden noch 2.5 g (13 mmol) Methansulfonsäure-2-heptylester zugegeben und die Reaktionsmischung wird bei 100-110 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wird die Mischung auf 200 g Eis/Wasser gegeben, mit 3 N NaOH alkalisch gemacht und  $\frac{1}{2}$  h gerührt. Nach dem Filtrieren wird die wässrige Phase mit Ether extrahiert. Die wässrige Phase wird dann so lange mit 3 N HCl angesäuert, bis ein Niederschlag ausfällt. Er wird abgesaugt, mehrmals mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 1.5 g (40% d. Th.)

Lit.: 45.8% (Berghaus 1989)

Schmelzpunkt: 233-235 °C

Lit.: 232-234.5 °C (Berghaus 1989)

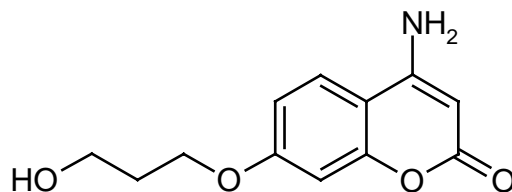
IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 3460 und 3320 (m,  $\nu$   $NH_2$ ), 3220 (br. ,  $\nu$  OH), 2940 (m,  $\nu$   $-CH_2$ -aliphatic), 1640 (s,  $\nu$   $C=O$ )

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 0.85 ppm (t, 3H,  $^3J$  = 6.4Hz,  $CH_3(CH_2)_4CH(CH_3)-O-Ar$ ), 1.27-1.39 ppm (m, 9H,  $CH_3(CH_2)_3CH_2CH(CH_3)-O-Ar$ ), 1.57-1.78 ppm (m, 2H,  $C_4H_9CH_2CH(CH_3)-O-Ar$ ), 4.58 ppm (tq, 1H,  $^3J$  = 5.9 Hz,  $C_5H_{11}CH(CH_3)-O-Ar$ ), 4.93 ppm (2, 1H, H-3), 6.24 ppm (1H,  $^4J_{H6-H8}$  = 2.1 Hz, H-6), 6.36 ppm (d, 1H,  $^4J_{H8-H6}$  = 2.1 Hz, H-8), 7.16 ppm (br. s, 2H,  $-NH_2$ ,  $D_2O$  Austausch), 10.48 ppm (br. s, 1H,  $-OH$ ,  $D_2O$  Austausch).

$^{13}C$ -NMR(75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 13.74 ppm ( $C6'$ ), 19.16 ppm ( $C_5H_{11}CH(CH_3)-O-Ar$ ), 21.89 ppm ( $C5'$ ), 24.41 ppm ( $C4'$ ), 30.97 ppm ( $C3'$ ), 35.23 ppm ( $C2'$ ), 75.62 ppm ( $C1'$ ), 80.32 ppm ( $-C3$ ), 95.64 ppm ( $-C6$ ), 96.61 ppm ( $-C8$ ), 96.98 ppm ( $-C4a$ ), 157.16 ppm ( $-C5$ ), 157.19 und 157.24 ppm ( $C4$  und  $C8a$ ), 161.18 und 161.20 ppm ( $C2$  und  $C7$ ).

Die genaue Zuordnung der Signale erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135 und in Analogie zu **2c**.

MS (70 eV):  $m/z$  = 291 (24%,  $M^+$ ), 193 (100%,  $M^+ - C_7H_{15}^+$ ), 165 (65%  $193 - CO$ ), 137 (12%,  $165 - CO$ ), 122 (4%), 69 (19%).

**4-Amino-7-(3'-hydroxy)-propyloxy-cumarin (2h) \***

1.69 g (9 mmol) **2d** werden in 20 ml trockenem Ethanol suspendiert, mit 1.10 g (9 mmol)  $K_2CO_3$  und 2 ml (25 mmol, Dichte 1.570 ) 3-Brom-1-propanol nach der Methode B umgesetzt. Das Rohprodukt wird dann aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 1.04 g (50% d. Th.)

Schmelzpunkt: 195-198 °C

IR (KBr,  $[cm^{-1}]$ ): 3348 (m,  $\nu$   $NH_2$ ), 3176 (m,  $\nu$  OH), 1645 (s,  $\nu$  C=O), 1614 (s, C=C), 1540, 1470 (w), 836, 812 (w,  $\delta$  =C-H ).

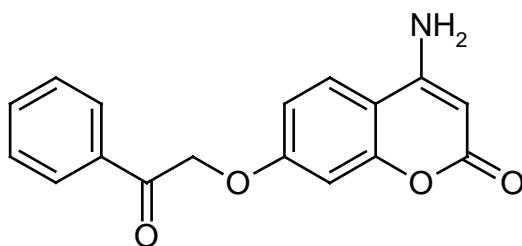
$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.89 ppm (quint., 2H,  $^3J$  = 6.3 Hz, HO-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -Ar), 3.58 ppm (q, 2H,  $^3J$  = 6.0 Hz,  $^3J$  = 5.2 Hz, (HO-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -Ar), 4.14 ppm (t, 2H,  $^3J$  = 6.3 Hz, HO-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -Ar), 4.59 ppm (t, 1H,  $^3J$  = 5.0 Hz, -OH, D $_2$ O-Austausch), 5.09 ppm (d, 1H,  $^4J_{NH_2/H-3}$  = 2.0 Hz, H-3), 6.84 ppm (d, 1H,  $^4J_{H-8/H-6}$  = 2.2 Hz, H-8), 6.90 ppm (dd, 1H,  $^4J_{H-6/H-8}$  = 2.3 Hz,  $^3J_{H-6/H-5}$  = 8.8 Hz, H-6), 7.27 ppm (br. s, 2H, -NH $_2$ , D $_2$ O-Austausch), 7.90 ppm (d, 1H,  $^3J_{H-6/H-5}$  = 8.8 Hz, H-5).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 31.87 ppm (HO-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -Ar), 57.13 ppm (HO-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -Ar), 65.21 ppm (HO-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -Ar), 81.79 ppm (-C3), 101.11 ppm (-C8), 107.46 ppm (-C4a), 111.37 ppm (-C6), 124.129 ppm (-C5), 155.45 ppm (-C4), 155.82 (Ar-C8a), 161.80 ppm (-C7), 161.95 ppm (-C2).

Die genaue Zuordnung der Signale erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135 und in Analogie zu **2a**.

MS (70 eV):  $m/z$  = 235 (48%,  $M^+$ ), 207(12%,  $M^+$  -CO), 177 (34%,  $M^+$  -59), 149 (100%, 177 -CO), 120 (38%, 149 -HCO), 104 (6%), 92 (7%), 72 (14%), 65 (20%).

$C_{12}H_{11}NO_4$ ( 233.23 ) :	ber.: C 61.27%	H 5.57%	N 5.96%
	gef.: C 60.91%	H 5.71%	N 5.83%

**4-Amino-7-phenacyloxy-cumarin (2g) \***

1.69 g (9 mmol) **2a** wurden in 20 ml trockenem Aceton suspendiert, mit 1.10 g (9 mmol)  $K_2CO_3$  und 1.5 g (9 mmol) Chloracetophenon, gelöst in 10 ml trockenem Aceton, nach der Methode B umgesetzt. Die Substanz wird aus Ethanol:Aceton (2:1) umkristallisiert.

Ausbeute: 1.83 g (68.87% d. Th.)

Schmelzpunkt: 206-207 °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 3366 und 3182 (m,  $\nu$   $NH_2$ ), 1716 (s,  $\nu$   $C=O$ ), 1645 (s,  $\nu$   $C=O$ ), 1608, 1448 (w,  $\nu$   $C=C$ ), 1120 (m), 758, 688 (w,  $\delta$   $=C-H$ )

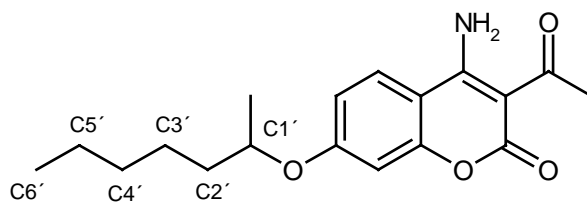
$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 5.11 ppm (s, 1H, H-3), 5.73 ppm (s, 2H,  $R-OCH_2COPh$ ), 7.00 ppm (dd, 1H,  $^3J = 8.8$  Hz,  $^4J = 2.5$  Hz, H-6), 7.30 ppm (br. s, 2H,  $-NH_2$ , austauschbar mit  $D_2O$ ), 7.59 ppm (br.t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, H-3', H-5'), 7.71 ppm (tt, 1H,  $^3J_{H-4'/H-3'} = 5.4$  Hz,  $^4J_{H-4'/H-2'} = 1.9$  Hz, H-4'), 7.92 ppm (d, 1H,  $^3J = 8.8$  Hz, H-5), 8.05 ppm (dd, 2H,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, H-2', H-6').

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 70.47 ppm ( $Ar-OCH_2COPh$ ), 81.90 ppm (-C3), 101.66 ppm (-C4a), 111.53 ppm (-C5), 127.88 ppm (-C3'/-C5'), 128.80 ppm (-C2'/-C6'), 133.85 ppm (-C4'), 134.25 ppm (-C1'), 155.36 ppm (-C4), 155.78 ppm (-C8a), 161.06 ppm (-C7), 161.87 ppm (-C2), 198.84 ppm ( $Ar-OCH_2COPh$ ).

MS (70 eV):  $m/z$  = 295 (10%,  $M^+$ ), 105 (100%,  $C_7H_6O^+$ ), 77 (38%,  $C_6H_5^+$ ), 51 (11%).

MS (70 eV, Thermospary):  $m/z$  = 354 (20%,  $M^+ + CH_3CO_2H$ ), 296 (26%,  $M^+ + H^+$ ), 236 (36%), 178(36%), 136 (16%).

$C_{17}H_{13}NO_4$ ( 295.30 ) :	ber.: C 69.14%	H 4.43%	N 4.74%
	gef.: C 68.77%	H 4.51%	N 4.45%

**3-Acetyl-4-amino-7-hexyloxyumarin (3c) \***

1.00 g (3.6 mmol) **2d** werden in 15 ml Dimethylacetamid gelöst. Unter Eiskühlung werden 0.75 ml (Dichte: 1.673-1.677, 7.4 mmol) POCl<sub>3</sub> so zugetropft, dass die Innentemperatur unter 10 °C bleibt. Die Reaktionslösung wird 15 min bei 0°C und ½ h bei RT gerührt. Anschließend wird unter Rückfluß 7 h erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird die Reaktionsmischung auf 50 ml Eis/Wasser gegeben und mit 3N NaOH alkalisch gemacht. Diese Lösung wird 3x mit je 50 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über CaCl<sub>2</sub> getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand (orange farbenes Öl) wird säulenchromatographisch gereinigt. (40x 3.5, Ethylacetat:Cyclohexan, 1:1, R<sub>f</sub> = 0.83).

Ausbeute: 600 mg (53 % d. Th.)

Schmelzpunkt: 214-216 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3326 und 3162 (m, ν NH<sub>2</sub>), 2932 (w, ν CH<sub>2</sub>-aliph), 1676 (s, C=O), 1618, 1488 (w, C=C), 768, 654(s, δ-CH<sub>2</sub>-aliph).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.88 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J=6.2 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 1.33-1.77 ppm (m, 11H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 2.69 ppm (s, 3H, Ar-COCH<sub>3</sub>), 4.44 ppm (tq, 1H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 6.39 ppm (br. s, 2H, -NH<sub>2</sub>, D<sub>2</sub>O Austausch), 6.72 ppm (s, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H.8/H.6</sub>= 2.1 Hz, H-8), 6.82 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H.6/H.8</sub>= 2.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H.6/H.5</sub>= 8.9Hz, H-6), 7.52 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H.5/H.6</sub>= 8.9Hz, H-5), 11.33 ppm (br. s, 1H, OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

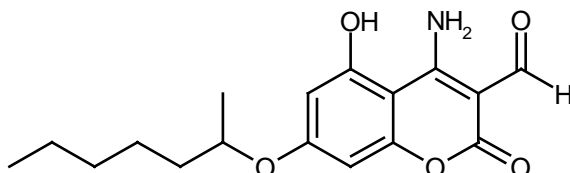
<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.79 ppm (C6'), 19.25 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 21.97 ppm (C5'), 24.35 ppm (C4'), 31.06 ppm (C3'), 32.56 ppm (Ar-COCH<sub>3</sub>), 35.48 ppm (C2'), 73.99 ppm (C1'), 93.78 ppm (-C3), 101.39 ppm (-C7), 106.05 ppm (-C4a), 113.06 ppm (-C6), 125.97 ppm (-C5), 154.94 ppm (-C4), 159.23 ppm (-C8a), 160.86 und 162.84 ppm (-C2 und -C7), 199.71 ppm (Ar-COCH<sub>3</sub>).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, direkte C,H-COSY und C,H-COLOC- Spektren.

MS (70 eV): m/z = 317 (26 %, M<sup>+</sup>), 218 (64%, M<sup>+</sup> -C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>), 204 (100%, 218 -14), 176 (4%, 204 -CO), 57 (24%).

C <sub>18</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub> ( 317.39 ):	ber.: C 68.12%	H 7.30%	N 4.41%
	gef.: C 67.82%	H 7.38%	N 4.20%

**4-Amino-3-formyl-5-hydrox-7-(2-heptyloxy)cumarin (4c) \***



600 mg (2.2 mmol) **2f** werden in 15 ml Dimethylformamid gelöst. Unter Eiskühlung werden 0.5 ml (Dichte: 1.673-1.677, 5.4 mmol) POCl<sub>3</sub> so zugetropft, dass die Innentemperatur unter 10 °C bleibt. Die Reaktionslösung wird 20 min bei 0°C und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wird unter Rückfluß 3 h erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird die Reaktionsmischung auf 50 ml Eis/Wasser gegeben, mit 3N NaOH alkalisch gemacht und 30 min gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt und aus Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute: 425 mg (59.1 % d. Th.)

Schmelzpunkt: 189-190 °C

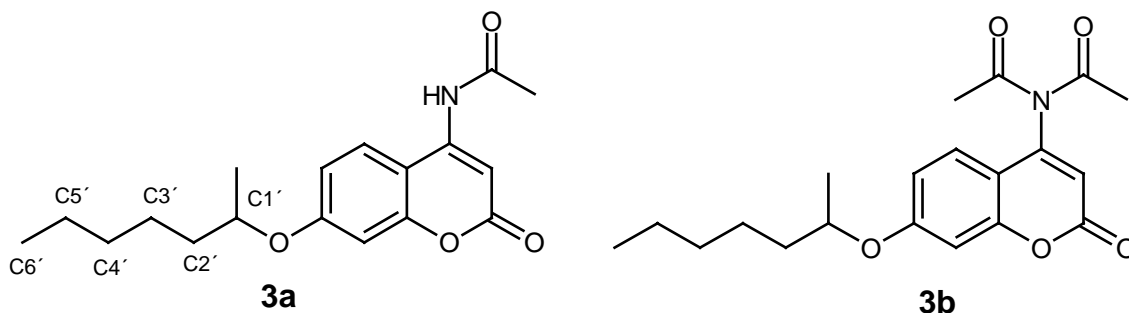
IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3428(m, v NH<sub>2</sub>), 3300 (br. w, v OH), 2930 (w, v CH<sub>2</sub>- aliph), 1684 (br s, C=O), 1618, (w, C=C), 1094(s).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.85 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J=6.5 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 1.28-1.66 ppm (m, 11H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 4.69 ppm (tq, 1H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 6.27 und 6.47 ppm (2H, H-6 und H-8), 8.55 ppm (2H, -NH<sub>2</sub>, D<sub>2</sub>O-Austausch), 9.87 ppm (s, 1H, Ar-CHO), 10.53 ppm (br. s, 1H, OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

H.R.M.S.:	ber.: C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>5</sub>	319.14197
	C <sub>16</sub> <sup>13</sup> CH <sub>21</sub> NO <sub>5</sub>	320.14532
	gef.: C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>5</sub>	319.14180
	C <sub>16</sub> <sup>13</sup> CH <sub>21</sub> NO <sub>5</sub>	320.14530



**4-Acetylamino-7-(2-heptyloxy)cumarin (3a)\* und 4,4-Diacetylamino-7-(2-heptyloxy)-cumarin (3b)\***



300 mg (1.1 mmol) **2a** werden mit 9 ml Acetanhydrid versetzt und 6 h bei 140 °C gerührt. Beim Abkühlen auf RT fiel ein farbloser Niederschlag (**3a**) aus. Der Niederschlag wird abgesaugt, mehrmals mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert (**3a**).

Das Filtrat wird auf 20 ml Eis/Wasser gegeben und 2 h gerührt. Anschließend wird 3x mit je 20 ml Ether extrahiert. Die Etherextrakte werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Der gelbe ölige Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (40 x 3.0, Methylenchlorid:Methanol, 9:1, R<sub>f</sub> = 0.73).

**3a:**

Ausbeute: 100 mg (29 % d. Th.)

Schmelzpunkt: 212-214 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3352 (s, ν NH<sub>2</sub>), 2932 (s, ν CH<sub>2</sub>-aliph), 1720 und 1674 (s, ν C=O), 1626 (s, ν C=C).

<sup>1</sup>H-NMR (300, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.88 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 1.32-1.74 ppm (m, 11 H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 2.33 ppm (br. s, 3H, Ar-COCH<sub>3</sub>), 4.41 ppm (q, 1H, <sup>3</sup>J = 6.0 MHz, Ar-OCH(CH<sub>3</sub>)C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>), 6.79 ppm (br. s, 1H, H-3), 6-8.3 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-6/H-5</sub> = 8.8 Hz, H-6), 7.30 ppm (br. s, 1H, H-8), 7.45 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-5/H-6</sub> = 8.8 Hz, H-5), 7.90 ppm (br. s, 1H, -NH, austauschbar mit D<sub>2</sub>O).

<sup>13</sup>C-NMR(75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.02 ppm (C6'), 19.50 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 22.59 ppm (C5'), 25.11 ppm (C4'), 25.15 ppm (Ar-COCH<sub>3</sub>), 31.70 ppm (C3'), 36.18 ppm (C2'), 74.88 ppm (C1'), 97.61 ppm (-C3), 102.89 ppm (-C8), 106.83 ppm (-C4a), 113.66 ppm (-C6), 121.85 ppm (-C5), 146.15 ppm (-C4), 155.58 ppm (-C8a), 161.86 ppm (-C2), 163.17 ppm (-C7), 169.74 ppm (Ar-COCH<sub>3</sub>).

MS (70 eV):  $m/z = 317$  (6%,  $M^+$ ), 219 (38%,  $M^+ - C_7H_{15}$ ), 177 (55%, 219  $-COCH_3$ ), 149 (30%, 177  $-CO$ ), 120 (5%, 140  $-CO$ ), 86 (9%), 60 (100%).

$C_{18}H_{23}NO_4$ ( 317.39 ):	ber.: C 68.12%	H 7.30%	N 4.41%
	gef.: C 68.24%	H 7.23%	N 4.22%

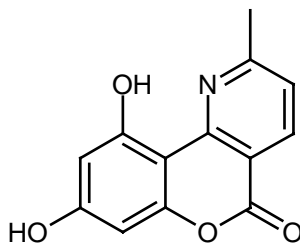
**3b:**

Ausbeute: 38 mg ( 10 % d.Th.)

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 0.88$  ppm (t, 3H,  $^3J = 6.2$  Hz,  $CH_3(CH_2)_5CH(CH_3)-O-Ar$ ), 1.22-1.75 ppm (m, 11H,  $CH_3(CH_2)_4CH(CH_3)-O-Ar$ ), 2.42 ppm (s, 6H, 2x  $Ar-COCH_3$ ), 4.44 ppm (q, 1H,  $^3J = 6.1$  MHz,  $Ar-OCH(CH_3)C_5H_{11}$ ), 6.19 ppm (s, 1H, H-3), 6.81 ppm (br.s, 1H, H-8), 6.84 ppm (br. s, 1H,  $^4J = 3.2$  Hz, H-6), 7.17 ppm (d, 1H,  $^3J_{H-5/H-6} = 8.6$  Hz, H-5).

MS (70 eV):  $m/z = 359$  (8%,  $M^+$ ), 317 (5%,  $M^+ -COCH_3^+$ ), 261 (16%, 317  $- C_7H_{15}^+$ ), 219 (100%, 216  $-COCH_3$ ), 177 (59%, 219  $-42$ ), 149 (27%, 177  $-CO$ ), 120 (5%, 142  $-CHO$ ).

Da die Substanz ein Nebenprodukt war und infolge ihrer geringen Ausbeute, wurde sie nicht weiter untersucht.

**8,10-Dihydroxy-2-methyl-5H-(1)benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (4c) \***

1 g ( 5.2 mmol) **2c** werden mit 1.5 ml (Dichte: 0.852-0.855, 11 mmol) Methylvinylketon in 10 ml Eisessig nach der Methode C umgesetzt. Der Niederschlag wird filtriert, mit kaltem Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 600 mg ( 47 % d. Th.)

Schmelzpunkt:  $> 300$  °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 3304 (m, v OH), 1708 (s, v C=O), 1642, 1608 (s, v C=C).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 2.87 ppm (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 6.18 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H}_9\text{-H}_7}$  = 1.8 Hz, H-9), 6.25 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H}_7\text{-H}_9}$  = 1.8 Hz, H-7), 7.42 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H}_3\text{-H}_4}$  = 8.1 Hz, H-3), 8.39 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H}_4\text{-H}_3}$  = 8.1 Hz, H-4), 10.36 ppm (s, 1H, -OH Austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ , Ar-OH 10), 13.21 ppm (s, 1H, -OH Austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ , Ar-OH 8).

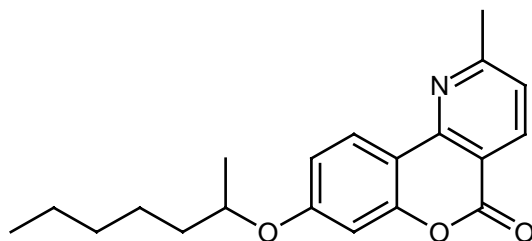
$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 24.29 ppm (Ar- $\text{CH}_3$ ), 94.70 ppm (-C7), 96.24 ppm (-C10a), 99.15 ppm (-C9), 111.98 ppm (-C4a), 121.98 ppm (-C3), 138.94 ppm (-C4), 152.95 ppm (-C1a), 159.35 ppm (-C6a), 159.62 ppm (-C10), 161.91 (-C5), 163.26 ppm (-C2).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten CH-Korrelation und eines CH-COLOC.

MS (eV 70):  $m/z$  = 243 (100%,  $\text{M}^+$ ), 215 (5%,  $\text{M}^+$  -CO), 187 (10%, 215 -CO), 173 (11%), 118 (14%), 69 (22%).

$\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_4$ (243.22):	ber.: C 64.19%	H 3.72%	N 5.76%
	gef.: C 63.29%	H 4.13%	N 5.25%

### **8-(1'-Methylhexyloxy)-2-methyl-5H-[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (4d)**



500 mg (2 mmol) **2d** werden mit 0.4 ml (0.3 g, Dichte: 0.852-0.855, 4 mmol) Methylvinylketon in 10 ml Eisessig nach der Methode C umgesetzt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (50x 3.0, Ethylacetat : Cyclohexan, 1:1,  $R_f$  = 0.67). Das Produkt ist ein gelbes Öl.

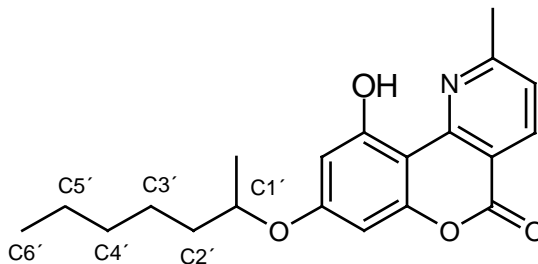
Ausbeute: 255 mg (40 % d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.89 ppm (t, 3H,  $^3J$  = 6.6 Hz,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 1.26-1.63 ppm (m, 11H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 2.77 ppm (br. s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 4.45 ppm (tq, 1H,  $^3J$  = 5.9 Hz,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O-Ar}$ ), 6.82 ppm (s, 1H, H-7), 6.90 ppm (dd, 1H,  $^3J_{\text{H-9/H-10}}$

=8.7 Hz,  $^4J_{\text{H-9/H-7}} = 2.0$  Hz, H-9), 7.25 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 8.1$  Hz, H-3), 8.40 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-4/H-3}} = 8.1$  Hz, H-4), 8.47 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-10/H-9}} = 8.7$  Hz, H-10).

MS (70 eV):  $m/z = 325$  (8%,  $M^+$ ), 227 (100%,  $M^+ - C_7H_{15}^+$ ), 199 (3%, 227 -CO), 149 (8%), 58 (8%).

**10-Hydroxy-2-methyl-8-(1'-methylhexyloxy)-1,2,3,4-tetrahydro-5H-[1]benzopyran[4,3-b]pyridin-5-on (4f)**



503 mg (1.7 mmol) **2f** werden in 15 ml Eisessig suspendiert und auf 60 °C erhitzt. Es wird solange gerührt, bis sich alles gelöst hat. Dann werden 3 ml (Dichte: 0.852-0.855, 3.5 mmol) Methylvinylketon zugegeben. Die Reaktionslösung wird 5 h bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz auf 80 g Eis/Wasser gegeben und 10 min gerührt. Anschließend wird 3x mit je 50 ml Ether extrahiert, die Etherextrakte werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. Entfernt. Der Rückstand wird dann zur säulenchromatographisch gereinigt (40x 2.5, Ethylacetat:Cyclohexan 1:1,  $R_f = 0.68$ ).

Ausbeute: 230 mg (34.4% d. Th.)

Schmelzpunkt: 175- 178 °C  
Lit.: 175.5-178.5 °C (Berghaus 1989)

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 3450 (m, v OH), 2635 (m, v  $-\text{CH}_2$ -aliphat), 1765 (s, v C=O).

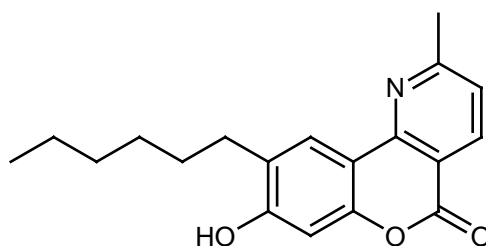
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.89$  ppm (t,  $^3\text{H}$ ,  $^3J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 1.32-1.73 ppm (m, 11H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 2.67 ppm (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 4.54 ppm (tq, 1H,  $^3J = 5.9$  Hz, Ar-OCH( $\text{CH}_3$ ) $\text{C}_5\text{H}_{11}$ ), 6.43 ppm (d, 1H,  $^4J = 2.1$  Hz, H-9), 6.50 ppm (d, 1H,  $^4J = 2.1$  Hz, H-7), 7.40 ppm (d, 1H,  $^3J = 8.1$  Hz, H-4), 8.37 ppm (d, 1H,  $^3J = 8.1$  Hz, H-3), 10.48 ppm (br. s, 1H, OH  $\text{D}_2\text{O}$ -Austausch).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 13.90$  ppm ( $\text{C6}'$ ), 19.24 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O-Ar}$ ), 22.11 ppm ( $\text{C5}'$ ), 24.40 ppm ( $\text{C4}'$ ), 25.05 ppm (Ar- $\text{CH}_3$ ), 31.41 ppm ( $\text{C3}'$ ), 36.09 ppm ( $\text{C2}'$ ), 74.95 ppm ( $\text{C1}'$ ), 95.73 ppm (-C7), 99.36 ppm (-C9), 101.89 ppm (-C10a), 112.28 ppm (-

C4a), 121.28 ppm (-C3), 137.29 ppm (-C4), 152.04 ppm (-C1a), 1155.18 ppm (-C7a), 158.57 ppm (-C10), 160.71 ppm und 160.80 ppm (-C7 und -C6), 164.53 ppm (-C2).

MS (70 eV):  $m/z = 341$  (7%,  $M^+$ ), 284 (4%), 270 (15%,  $M^+ - 71$ ), 243 (100%,  $M^+ - C_7H_{15}^+$ ), 227 (53%), 214 (6%, 243 -HCO), 186 (3%, 214 -CO), 69 (15%), 57 (19%), 43 (37%).

### 9-Hexyl-8-hydroxy-2-methylbenzopyran[4,3-b]pyridin-5-on (4b) \*



480 mg (1.8 mmol) **2b** werden mit 0.6 ml (Dichte: 0.852-0.855, 7.3 mmol) Methylvinylketon in 10 ml Eisessig nach der Methode C umgesetzt. Das gelbe Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 310 mg (55.5% d. Th.)

Schmelzpunkt: 219-220 °C

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 3366 (br.,  $\nu$  OH), 2924, 2852 (w,  $\nu$   $\text{CH}_2$ -aliphatisch), 1700 (s,  $\nu$  C=O), 1624, 1590 (s,  $\nu$  C=C), 1396 (s), 796, 724 (m,  $\delta$  - $\text{CH}_2$ -).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.89$  ppm (t, 3H,  $^3J=5.4$  Hz,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 1.24-1.39 ppm (m, 8H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 1.54-1.57 ppm (m, 2H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 2.67 ppm (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 6.78 ppm (s, 1H, H-10), 7.42 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-4/H-3}} = 8.0$  Hz, H-4), 8.13 ppm (s, 1H, H-7), 8.34 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 8.0$  Hz, H-3), 10.47 ppm (br.s, 1H, -OH austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ ).

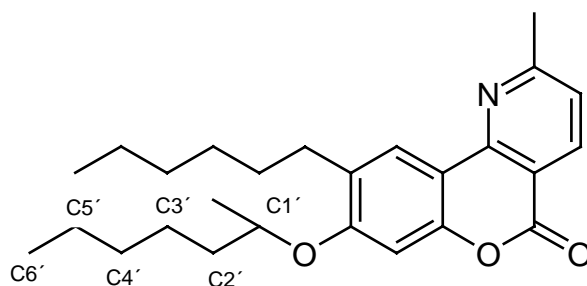
$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 13.92$  ppm ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3(\text{CH}_2)_5\text{-Ar}$ ), 22.04 ppm ( $\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_4\text{-Ar}$ ), 25.07 ppm ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-Ar}$ ), 28.55 ppm ( $\text{C}_2\text{H}_5\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_3\text{-Ar}$ ), 29.29 ppm ( $\text{C}_3\text{H}_7\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_2\text{-Ar}$ ), 29.32 ppm ( $\text{C}_4\text{H}_9\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 31.13 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_9\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ar}$ ), 102.07 ppm (-C7), 110.22 ppm (-C10a), 112.74 ppm (-C4a), 122.65 ppm (-C3), 124.58 ppm (-C10), 126.78 ppm (-C9), 137.81 ppm (-C4), 151.00 ppm (-C1a), 151.76 ppm (-C8a), 159.06 ppm (-C6a), 160.88 (-C5), 165.57 ppm (-C2).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten C,H-Korrelation und eines CH-COLOC

MS (70 eV): m/z = 311 (23%, M<sup>+</sup>), 240 (100%, M<sup>+</sup> -C<sub>5</sub>H<sub>11</sub><sup>+</sup>), 212 (3%, 240 -CO), 184 (12%, 212 -CO), 154(30%).

C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub> ( 311.39 ):	ber.: C 73.29%	H 6.80%	N 4.49%
	gef.: C 73.22%	H 6.98%	N 4.22%

**9-Hexyl-2-methyl-8-(1'-methylhexyloxy)benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (4e) \***



300 mg (1 mmol) **2e** werden mit 0.2 ml (2 mmol) Methylvinylketon in 10 ml Eisessig nach der Methode C umgesetzt und anschließend wird zur Reinigung des öligen Rohproduktes säulenchromatographisch gereinigt (40x 2.5 , Ethylacetat: Cyclohexan 1:1, R<sub>f</sub>= 0.68).

Ausbeute: 253 mg (61% d. Th.)

Schmelzpunkt: 69-71 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 2926 (s, v CH<sub>2</sub>-aliphat), 1732 (s, C=O), 1604 (w), 1394(m).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.90 ppm (t, 6H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, CH<sub>3</sub>C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>-Ar, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O-Ar), 1.34-1.84 ppm (m, 19 H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-Ar, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O-Ar), 2.68 ppm (t, 2H, <sup>3</sup>J= 7.5 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 2.73 ppm (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 4.44 ppm (tq, 1H, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O-Ar), 6.77 ppm (s, 1H, H-10), 7.25 ppm (br. s, 1H, H-3), 8.27 ppm (s, 1H, H-7), 8.41 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J= 8.1 Hz, H-4).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.07 und 14.19 ppm (CH<sub>3</sub>C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>-Ar, C6'), 19.50 ppm C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O-Ar), 22.68 und 22.69 ppm (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-Ar und C5'), 25.18 ppm (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Ar), 25.66 ppm (CH<sub>3</sub>-Ar), 29.38, 30.08 und 30.33 ppm (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 31.81 und 31.86 ppm (C4' und C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 36.35 ppm (C3'), 74.28 ppm (C1'), 100.10

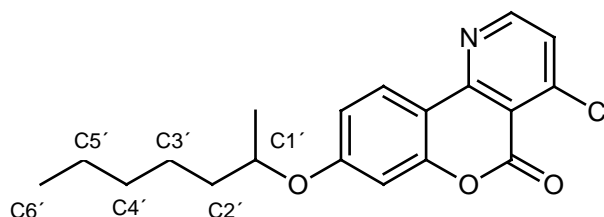
ppm (-C7), 111.33 ppm (-C10a), 113.43 ppm (-C6a), 122.46 ppm (-C3), 125.10 ppm (-C10), 129.88 ppm (-C9), 138.19 ppm (-C4), 152.06 ppm (-C1a), 152.59 ppm (-C8), 159.41 ppm (-C4a), 162.18 ppm (-C6), 165.96 ppm (-C2).

Die Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135 und in Analogie zu **2e**, **4b** und 4-Hexylresocin.

MS (70 eV): m/z = 409 (10%, M<sup>+</sup>), 311 (62%, M<sup>+</sup> -C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>), 240 (100%, 311-C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>), 212 (3%, 240 -CO), 184 (8%, 212 -CO).

H.R.M.S.	ber.:	C <sub>26</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>3</sub>	409.26169
		C <sub>25</sub> <sup>13</sup> CH <sub>35</sub> NO <sub>3</sub>	410.26505
	gef.:	C <sub>26</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>3</sub>	409.26140
		C <sub>25</sub> <sup>13</sup> CH <sub>35</sub> NO <sub>3</sub>	410.26490

#### 4-Chloro-8-(1'-methylhexyloxy)benzopyrano[4,3-b]-pyridin-5-on (5) \*



400 mg ( 1.3 mmol) **3c** werden in 10 ml DMF gelöst. Unter Eiskühlung wird langsam 0.4 ml (Dichte:1.673-1.677, 0.55 g, 3 mmol) POCl<sub>3</sub> zugetropft. Die Reaktionslösung wird ¼ h bei 0°C und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wird 5h bei 60 °C erhitzt. Die Mischung wird langsam auf RT abgekühlt, auf 100 ml Eis/Wasser gegeben und mit 3N NaOH alkalisch gemacht. Der ausgefallene Niederschlag wird abfiltriert und mehrmals mit Wasser und Petrolether gewaschen. Das Rohprodukt wird dann aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 200 mg (45% d. Th.)

Schmelzpunkt: 102-103 °C

<sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.89 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 1.25-1.82 ppm (m, 11 H, (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 4.44 ppm (m, 1H, Ar-OCH(CH<sub>3</sub>)C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>), 6.80 ppm (br. s, 1H, H-9), 6.91 ppm (dd, <sup>4</sup>J<sub>H-9/H-8</sub>=1.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H-9/H-10</sub> = 8.8 Hz, H-9), 7.42 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H2-H3</sub> = 5.1 Hz Ar-H2), 8.43 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-10/H-9</sub> = 8.8Hz, H-10), 8.72 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-3/H-2</sub> = 5.1 Hz, H-3).

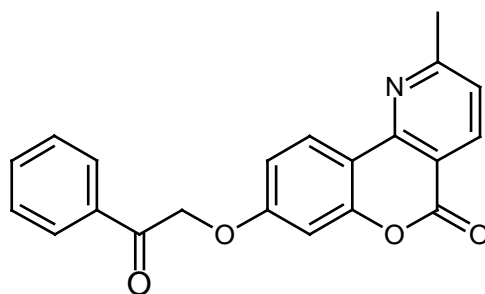
$^{13}\text{C}$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.05 ppm (C6'), 19.60 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(C $\underline{\text{C}}$ H<sub>3</sub>)-O-Ar), 22.63 ppm (C5'), 25.18 ppm (C4'), 31.78 ppm (C3'), 36.25 ppm (C2'), 74.84 ppm (C1'), 101.96 ppm (-C7), 111.59 ppm (-C10a), 114.30 ppm (-C9), 116.01 ppm (-C4a), 125.21 ppm (-C3), 126.81 ppm (-C10), 148.02 ppm (-C4), 154.07 und 154.84 ppm (-C1a und -C6a), 154.66 ppm (-C2), 157.00 ppm (-C8), 162.50 ppm (-C5).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135 und in Analogie zu **4c**.

MS (70 eV):  $m/z$  = 345 (7%,  $\text{M}^+$ ), 247 (100%,  $\text{M}^+$  -C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>), 213 (3%), 81 (16%), 69 (44%), 57 (49%).

H.R.M.S.: ber.:	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>35</sup> Cl	345.11316
	C <sub>18</sub> <sup>13</sup> CH <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>35</sup> Cl	346.11652
	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>37</sup> Cl	347.11023
	C <sub>18</sub> <sup>13</sup> CH <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>37</sup> Cl	348.11359
gef.:	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>35</sup> Cl	345.11320
	C <sub>18</sub> <sup>13</sup> CH <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>35</sup> Cl	346.11640
	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>37</sup> Cl	347.11000
	C <sub>18</sub> <sup>13</sup> CH <sub>20</sub> NO <sub>3</sub> <sup>37</sup> Cl	348.11360

### 8-Phenacyloxybenzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (4g) \*



600 mg (2 mmol) **2g** werden mit 3 ml Methylvinylketon für 3 h bei 90 °C nach der Methode C umgesetzt. Die Substanz wird anschließend aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 250 mg (36% d. Th.)

Schmelzpunkt: 195 °C

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 1734 und 1706 (s,  $\nu$  C=O), 1614 (s,  $\nu$  C=C), 1280(m), 1168(m).



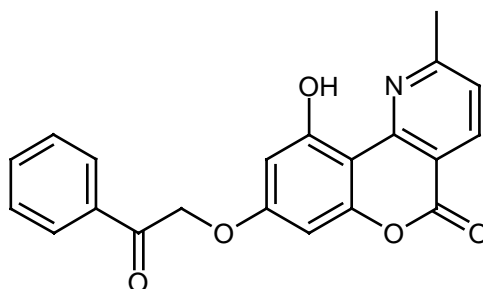
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 2.60 ppm (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 5.76 ppm (s, 2H,  $\text{PhCOCH}_2\text{-O-Ar}$ ), 7.08 ppm (m, 1H, H-7), 7.12 ppm (br. d, 1H,  $^4J_{\text{H-9/H-7}} = 2.4$  Hz, H-9), 7.48 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 8.0$  Hz, H-3), 7.59 ppm (br. t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^3J = 7.4$  Hz, Ph: H3'/5'), 7.72 ppm (br. t, 1H,  $^3J = 7.3$  Hz, Ph: H4'), 8.06 ppm (2x br. s, 2H,  $^3J = 7.3$  Hz, H-4 und H-10), 8.37 ppm (d, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, Ph: H2'/6').

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 25.08 ppm (Ar- $\text{CH}_3$ ), 70.58 ppm ( $\text{PhCOCH}_2\text{-O-Ar}$ ), 102.09 ppm (-C7), 112.31 ppm (-C4a), 113.02 ppm (-C9), 113.24 ppm (-C10a), 123.34 ppm (-C3), 125.23 ppm (-C10), 127.89 ppm (-C2' und -C6'), 128.81 ppm (-C3' und -C5'), 133.86 ppm (-C4'), 134.23 ppm (-C1'), 137.85 ppm (-C4), 150.57 ppm (-C1a), 153.59 ppm (-C8), 160.64 ppm (-C7a), 161.21 ppm (-C5), 165.74 ppm (-C2), 193.76 ppm ( $\text{PhCOCH}_2\text{-O-Ar}$ ).

MS (70 eV):  $m/z$  = 345 (5%,  $\text{M}^+$ ), 238 (4%,  $\text{M}^+ - 107$ ), 227 (11%,  $\text{M}^+ - \text{C}_8\text{H}_7\text{O}^+$ ), 199 (2%, 227 - CO), 171 (1%, 199 - CO), 105 (100%,  $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ ), 120 (6%), 77 (37%), 51 (10%).

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ ( 345.36 ):	ber.: C 73.03%	H 4.38%	N 4.06%
	gef.: C 73.14%	H 4.64%	N 3.75%

### 10-Hydroxy-8-phenacyloxybenzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (4h) \*



120 mg ( 0.5 mmol) **4c** werden in trockenem Aceton mit 0.5 g (4 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und 150 mg (1 mmol)  $\omega$ -Chloracetophenon nach der Methode B umgesetzt. Die Substanz wird aus Ethanol/Aceton (2:1) umkristallisiert.

Ausbeute: 90 mg (50% d. Th.)

Schmelzpunkt: 219-220 °C

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 3020 (br.,  $\nu$  OH), 1740 (s,  $\nu$  C=O), 1700 (s,  $\nu$  C=O Lacton), 1604 (s, C=C), 1380 (w), 1162 (s), 818, 756, 736 (s,  $\delta = \text{CH-}$ ).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 2.69$  ppm (br. s, 3H,  $\text{Ar-CH}_3$ ), 5.72 ppm (s, 2H,  $\text{PhCOCH}_2\text{-O-Ar}$ ), 6.50 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H-9/H-7}} = 2.3$  Hz, H-9), 6.62 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-7/H-9}} = 2.3$  Hz, H-7), 7.51 ppm (d, 1H,  $^3J = 8.1$  Hz, H-3), 7.71 ppm (t, 1H,  $^3J = 7.3$  Hz, Ph: H4'), 8.05 ppm (d, 2H,  $^3J = 8.4$  Hz, Ph: H3'/5'), 7.59 ppm (t, 2H, Ph: H2'/6'), 8.46 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-4/H-3}} = 8.1$  Hz, H-4), 13.29 ppm (s, 1H, -OH,  $\text{D}_2\text{O-Austausch}$ ).

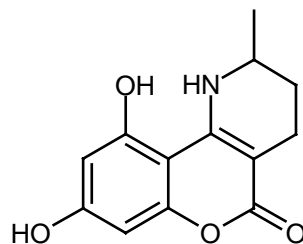
$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 24.28$  ppm ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-Ar}$ ), 70.49 ppm ( $\text{PhCOCH}_2\text{-O-Ar}$ ), 94.34 ppm (-C7), 97.77 ppm (-C10a), 98.66 ppm (-C9), 112.64 ppm (-C4a), 122.62 ppm (-C3), 127.88 ppm (Ph: C3'/5'), 128.77 ppm (Ph: -C2'/6'), 133.83 ppm (Ph-C4'), 134.19 ppm (Ph: C1'), 139.08 ppm (-C4), 152.75 ppm (-C1a), 153.82 ppm (-C10), 159.50 ppm (-C6a), 159.62 ppm (-C8), 161.85 ppm (-C5), 163.34 ppm (-C2), 193.71 ppm ( $\text{PhCOCH}_2\text{-OAr}$ ).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135 und in Analogie zu **4c**.

MS (70 eV):  $m/z = 361$  (7%,  $\text{M}^+$ ), 256 (2%), 243 (4%,  $\text{M}^+ - 118$ ,  $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}^+$ ), 105 (100%,  $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ ), 77 (39%), 51 (10%).

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{NO}_5$ (361.36):	ber.: C 69.80%	H 4.18%	N 3.88%
	gef.: C 69.43%	H 4.17%	N 3.48%

**8,10-Dihydroxy-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-5H-[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on**  
**(6c) \***



210 mg (0.82 mmol) **4c** werden mit 300 mg (4 mmol)  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  in 10 ml Eisessig nach der Methode D umgesetzt. Zur Reinigung des öligen Rohproduktes wird chromatographiert. (Methylenchlorid: Methanol:  $\text{NH}_3$ , 18:2: 1,  $R_f = 0.53$ ). Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 50 mg (25% d. Th.)

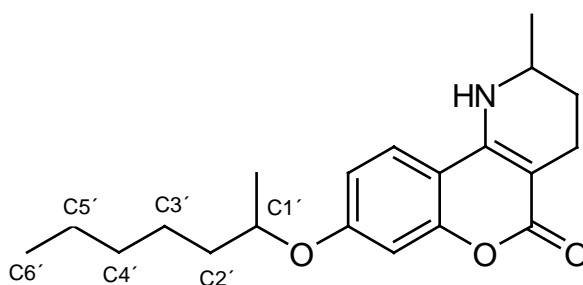
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 1.21$  ppm (d, 3H,  $^3J = 6.6$  Hz,  $\text{Ar-CH}_3$ ), 1.36-1.48 ppm (m, 1H, H3), 1.80-1.89 ppm (m, 1H, H3'), 2.25-2.44 ppm (m, 2H, H4/4'), 3.46 ppm (m, 2H, -NH- und H-2), 6.02 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H-7/H-9}} = 2.3$  Hz, H-7), 6.16 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H-9/H-7}} = 2.3$  Hz, H-9), 8.04 und 9.87 ppm (br. s, 2x -OH,  $\text{D}_2\text{O-Austausch}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 19.39 ppm (-C3), 21.38 ppm (Ar-CH $_3$ ), 27.37 ppm (-C4), 45.30 ppm (-C2), 84.68 ppm (-C10a), 93.83 ppm (-C7), 95.83 ppm (-C4a), 98.41 ppm (-C9), 150.95 ppm (-C1a), 155.36 ppm (-C8), 157.63 ppm (-C10), 159.82 und 161.01 ppm (-C5 und -C6a).

MS (70 eV):  $m/z$  = 247 (100%,  $M^+$ ), 218 (24%,  $M^+$  -CHO), 190 (7%, 118 -CO), 177 (15%), 115 (22%), 69 (42%).

H.R.M.S:	ber.: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$	247.08446
	$\text{C}_{12}^{13}\text{CH}_{13}\text{NO}_3$	248.08781
	gef.: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$	247.08420
	$\text{C}_{12}^{13}\text{CH}_{13}\text{NO}_3$	248.08780

**2-Methyl-8-(1'-methylhexyloxy)1,2,3,4-tetrahydro-5H-[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-on (6d) \***



500 mg (1.5 mmol) **4d** werden mit 620 mg (10 mmol)  $\text{Na}(\text{BH}_3)\text{CN}$  nach Methode D umgesetzt. Das so erhaltene Rohprodukt (gelbes Öl) wird 2x säulenchromatographisch gereinigt (40x 2.5, Methylenchlorid: Methanol:  $\text{NH}_3$ , 18:2:0.5,  $R_f$  = 0.45). Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 200 mg (40.5% d. Th.)

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.89 ppm (t, 3H,  $^3J$  = 6.2 Hz, Alkyl-CH $_3$ ), 1.21-1.25 ppm (m, 12H, -2x CH $_2$ , 2xCH $_3$ ), 1.50-1.62 ppm (m, 3H, -CH $_2$ -, H-3a), 1.84-1.87 ppm (m, 1H, -H-3e), 2.32-2.59 ppm (m, 2H, H-4/4'), 3.50 ppm (br. s, 1H, H-2), 4.37 ppm (tq, 1H,  $^3J$  = 5.9 Hz, Ar-OCH(CH $_3$ )C $_5\text{H}_{11}$ ), 4.95 ppm (br. s, -NH, Austauschbar mit  $\text{D}_2\text{O}$ ), 6.78 ppm (br.s, 2H, Ar-H-7/H-9), 7.13 ppm (br.s, 1H, H-10).

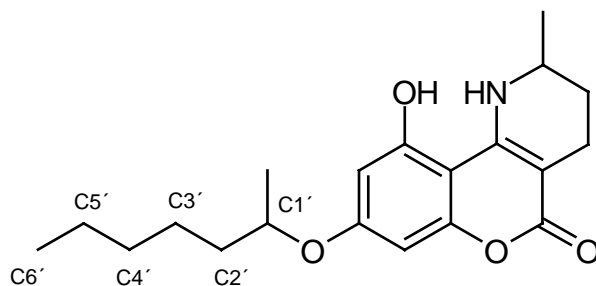
$^{13}\text{C}$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.72 ppm (C6'), 19.23 ppm (C $_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 19.26 ppm (-C3), 20.84 ppm (Ar-CH $_3$ ), 21.97 ppm (C5'), 24.39 ppm (C4'), 27.62 ppm (-C4), 31.11 ppm (C3'), 35.56 ppm (C2'), 45.69 ppm (-C2), 73.47 ppm (C1'), 88.25 ppm (-C10a),

101.76 ppm (-C7), 107.26 ppm (-C4a), 111.80 ppm (-C9), 123.21 ppm (-C10), 148.29 ppm (-C1a), 153.82 ppm (-C6a), 159.97 und 161.35 ppm (-C5 und -C8).

MS (70 eV):  $m/z = 329$  (29%,  $M^+$ ), 231 (100%,  $M^+ - C_7H_{15}^+$ ), 203 (26%, 231 -CO), 188 (7%, 203 - $CH_3^+$ ), 160 (10 %, 188 -CO), 57 (19%).

H.R.M.S:	ber.	$C_{20}H_{27}NO_3$	329.19910
		$C_{19}^{13}CH_{27}NO_3$	330.20245
	gef.:	$C_{20}H_{27}NO_3$	329.19900
		$C_{19}^{13}CH_{27}NO_3$	330.20080

**10-Hydroxy-8-(1'-methylhexyloxy)-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-5H[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin (6f)**



150 mg (0.44 mmol) **4f** werden mit 180 mg (3 mmol)  $Na(BH_3)CN$  in 10 ml Eisessig nach der Methode D umgesetzt. Das ölige Rohprodukt wird chromatographisch gereinigt (20x 1.0, Methylenchlorid:Methanol: $NH_3$ , 18:2:1,  $R_f = 0.4$ ).

Ausbeute: 30 mg (20% d. Th)

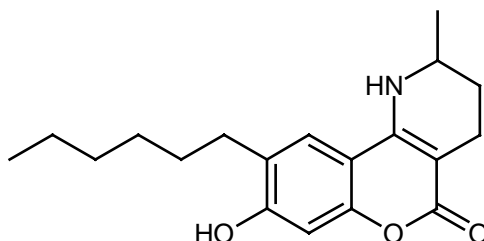
Schmelzpunkt: 155-156 °C  
Lit.: 155-158 °C (Berghaus 1989)

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 0.85$  ppm (m, 3H,  $CH_3$ -Alkyl), 1.15-1.44 ppm (m, 13H, 2x  $CH_3$ , 3x  $CH_2$ ), 1.64-1.76 ppm (m, 2H,  $-CH_2$ ), 1.88-1.93 ppm (m, 1H, H-3), 2.23-2.34 ppm (m, 1H, H-4), 2.42-2.51 ppm (m, 1H, H-4), 4.59 ppm (tq, 1H,  $^3J = 5.8$  Hz,  $-CH-O-Ar$ ), 6.22 ppm (d, 1H,  $^4J_{H-9/H-7} = 2.1$  Hz, H-9), 6.34 ppm (d,  $^4J_{H-7/H-9} = 2.1$  Hz, H-7), 7.55 ppm (d,  $J = 7.0$  Hz, -NH-,  $D_2O$  Austausch), 10.37 ppm (br. s, 1H, OH,  $D_2O$ -Austausch).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 13.75$  ppm ( $C6'$ ), 19.59 ppm ( $C_5H_{11}CH(CH_3)O-Ar$ ), 19.93 ppm (-C3), 21.16 ppm ( $C2-CH_3$ ), 21.89 ppm ( $C5'$ ), 24.50 ppm ( $C4'$ ), 27.44 ppm (-C4), 31.01 ppm ( $C3'$ ), 35.44 ppm ( $C2'$ ), 45.67 ppm (-C2), 75.76 ppm ( $C1'$ ), 85.85 ppm (-C4a),

95.57 ppm (-C7), 96.68 ppm (-C9), 96.81 ppm (-C10a), 150.13 ppm (-C1a), 155.30 ppm (-C6a), 156.29 ppm (-C10), 160.04 und 160.60 ppm (-C5 und -C8).

**9-Hexyl-8-hydroxy-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-5H[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin (6b) \***



210 mg (0.67 mmol) **4b** werden mit 300 mg (4 mmol) NaCNBH<sub>3</sub> nach der Methode D umgesetzt. Die Reaktionsmischung wird 20 min bei 50 °C, 4 h bei RT gerührt und anschließend aufgearbeitet. Das Rohprodukt wird dann aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 120 mg (56.9% d.Th)

Schmelzpunkt: 228-230 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3382 (br., v NH), 3100 (br., v OH), 2926 (s, v -CH<sub>2</sub>-aliph), 1622 (s, C=O), 1550 (s), 1496(s).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.85 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J= Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 1.23-1.29 ppm (m, 9H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-Ar, H-3), 1.47-1.55 ppm (m, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.40 ppm (m, 2H, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 2.50 ppm (s, 2H, H-4/4'), 3.50 ppm (m, 1H, H-2), 6.61 ppm (s, 1H, H-7), 7.24 ppm (s, 1H, -NH, D<sub>2</sub>O-Austausch), 7.68 ppm (s, 1H, H-10), 10.12 ppm (br.s, 1H, -OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

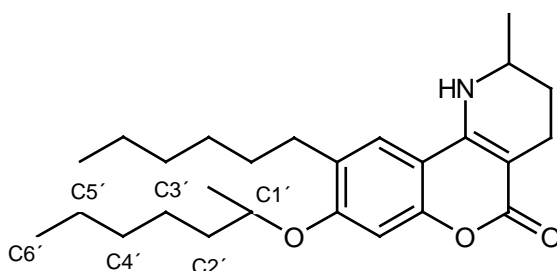
<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.93 ppm (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-Ar), 19.28 ppm (-C3), 21.01 ppm (Ar-CH<sub>3</sub>), 22.06 ppm (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-Ar), 27.71 ppm (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-Ar), 28.58 ppm (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Ar), 29.31 ppm (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 29.42 ppm (-C4), 31.15 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 45.62 ppm (-C2), 87.76 ppm (-C4a), 101.49 ppm (-C7), 105.87 ppm (-C10a), 122.55 ppm (-C10), 125.05 ppm (-C9), 148.48 ppm (-C1a), 151.74 (-C8), 157.74 ppm (-C6a), 161.56 (-C5).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten C,H-COSY und eines CH-COLOC.

MS (70 eV):  $m/z = 315$  (100%,  $M^+$ ), 300 (51%,  $M^+ -CH_3$ ), 244 (56%,  $M^+ -71$ ), 216 (36%, 244 -CO), 148 (15%).

$C_{19}H_{25}NO_3$ (315.42):	ber.: C 72.35%	H 7.99%	N 4.44%
	gef.: C 72.27%	H 8.01%	N 4.39%

**9-Hexyl-2-methyl-8-(1-methylhexyloxy)-1,2,3,4-tetrahydro-5H[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin (6e) \***



500 mg (1.2 mmol) **4e** werden mit 500 mg (9 mmol)  $Na(BH_3)CN$  nach der Methode D umgesetzt. Diese Lösung wird 4 ½ h bei RT gerührt und anschließend aufgearbeitet. Das ölige Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (30x 2.5, Methylenchlorid: Methanol:  $NH_3$ , 18:2:1,  $R_f = 0.51$ ).

Ausbeute: 253 mg gelbes Öl (50.3% d. Th.)

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 0.82$  ppm (t, 6H, 2x  $CH_3$ -Alkyl), 1.20-1.90 ppm (m, 24H, 8x  $-CH_2-$  Alkyl, 2x  $CH_3$ -Alkyl, H-3,3'), 2.49-2.58 ppm (m, 2H, H4,4'), 3.34 ppm (br. s, 2H,  $-CH_2$ -Ar), 3.49 ppm (br. s, 1H, H-2), 4.38 ppm (tq, 1H,  $-CH(CH_3)$ -O-Ar), 4.93 ppm (br. s, 1H, -NH,  $D_2O$  Austausch), 6.71 ppm (s, 1H, H-7), 7.07 ppm (s, 1H, H-10).

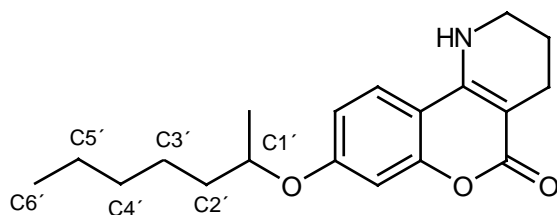
$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 13.70$  und 13.80 ppm ( $CH_3C_5H_{10}$ -Ar, C6'), 19.06 ppm  $C_5H_{11}CH(CH_3)O$ -Ar, 19.32 ppm (-C2), 20.92 ppm ( $-CH_3$  am C2), 21.96 und 22.01 ppm ( $CH_3CH_2(CH_2)_4$ -Ar und C5'), 24.31 ppm ( $C_2H_5CH_2(CH_2)_2$ -Ar), 28.27 und 29.62 ppm ( $C_3H_9(CH_2)_2CH_2$ -Ar und C4'), 31.04 und 31.18 ppm (C3' und  $C_5H_{11}CH_2$ -Ar), 35.68 ppm (C2'), 45.72 ppm (-C2), 73.08 ppm (C1'), 88.16 ppm (-C4a), 99.67 ppm (-C7), 106.32 ppm (-C10a), 122.52 ppm (-C10), 126.82 ppm -C9), 148.37 ppm (-C1a), 152.18 ppm (-C6a), 157.57 ppm (-C8), 161.52 ppm (-C5).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135 und in Analoie zu **4b**, **4e** und **6b**.

MS (70 eV):  $m/z = 413$  (19%,  $M^+$ ), 315 (100%,  $M^+ -C_7H_{15}^+$ ), 300 (27%, 315 - $CH_3$ ), 244 (26%, 315 - $C_5H_{11}^+$ ), 216(17%, 244 -CO).

H.R.M.S.:	ber.:	$C_{26}H_{39}NO_3$	413.29300
		$C_{25}^{13}CH_{39}NO_3$	414.29636
	Gef.:	$C_{26}H_{39}NO_3$	413.29300
		$C_{25}^{13}H_{39}NO_3$	414.29610

**8-(1'-Methylhexyloxy)-1,2,3,4-tetrahydro-5H[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin (7) \***



180 mg (0.52 mmol) **5** werden mit 200 mg (3.4 mmol)  $Na(BH_3)CN$  umgesetzt. Die Reaktionslösung wird 3 h bei RT gerührt und aufgearbeitet. Die gelblich-braune, zähe Substanz wird mittels Säulenchromatographie gereinigt (30x 1.5, Methylenchlorid: Methanol:  $NH_3$ , 18:2:1,  $R_f = 0.51$ ).

Ausbeute: 80 mg (48.7% d.Th.)

Schmelzpunkt: 72-74 °C

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 0.85$  ppm (t, 3H,  $^3J = 6.6$  Hz,  $\underline{CH}_3$ -Alkyl), 1.23-1.40 ppm (m, 10 H,  $CH_2$ , 4x  $\underline{CH}_2$ ), 1.49-1.67 ppm (m, 2H, H3/3'), 1.80 ppm (t, 2H,  $^3J = 4.9$  Hz, H-4/4'), 2.39 ppm (t, 2H,  $^3J = 6.1$  Hz, H-2/2'), 4.57 ppm (tq, 1H,  $m^3J = 6.2$  Hz,  $\underline{CH}$ -O-Ar), 6.80 ppm (d, 1H,  $^4J_{H-7/H-9} = 2.4$  Hz, H-7), 6.85 ppm (dd, 1H,  $^4J_{H-7/H-9} = 2.4$  Hz,  $^3J_{H-9/H-10} = 8.9$  Hz, H-9), 7.60 ppm (br. s, 1H, -NH-,  $D_2O$  Austausch), 7.75 ppm (d, 1H,  $^3J_{H-10/H-9} = 8.9$  Hz, H-10).

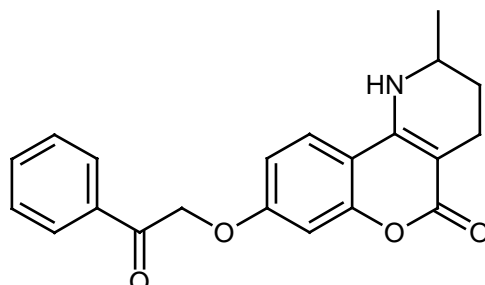
$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 13.83$  ppm ( $C6'$ ), 19.37 ppm ( $C_5H_{11}CH(\underline{CH}_3)O$ -Ar), 20.00 ppm ( $C5'$ ), 20.49 ppm ( $C4'$ ), 22.00 ppm (-C3), 24.41 ppm (-C4), 31.12 ppm ( $C3'$ ), 35.58 ppm ( $C2'$ ), 39.92 ppm (-C2), 73.53 ppm ( $C1'$ ), 88.17 ppm (-C4a), 101.89 ppm (-C7), 107.27 ppm (-C10a), 112.00 ppm (-C9), 122.91 ppm (-C10), 148.64 ppm (-C1a), 153.75 ppm (-C6a), 160.00 ppm und 161.30 ppm (-C5 und -C8).

MS (70 eV)  $m/z$  : 315 (30%,  $M^+$ ), 217 (100%, -98), 202 (18%), 188 (30%, 217 -CHO), 160 (5%, 188 -CO).

H.R.M.S.	ber.:	$C_{19}H_{25}NO_3$	315.18344
		$C_{18}^{13}CH_{25}NO_3$	316.18680

gef.:	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	315.18340
	C <sub>18</sub> <sup>13</sup> CH <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	316.18680

**2-Methyl-8-phenacyloxy-1,2,3,4-tetrahydro-5H[1]benzopyrano[4,3-b]pyridin (6h) \***



150 mg (0.4 mmol) **4h** werden mit 150 mg (2.4 mmol) Na(BH<sub>3</sub>)CN nach der Methode D umgesetzt. Die Reaktionslösung wird 3 h bei 60 °C gerührt und anschließend aufgearbeitet. Das gelbfarbene ölige Rohprodukt wird über eine kurze Säule chromatographiert (Ethylacetat:Cyclohexan, 1:1).

Ausbeute: 80 mg gelbes Öl (60% d. Th.)

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.45-1.54 ppm (m, 1H, H-3a), 1.72 ppm (br. s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 1.81-1.89 ppm (m, 1H, H-3e), 2.35-2.45 ppm (m, 2H, m<sup>4</sup>J = 3.2 Hz, H-4/4'), 3.50 ppm (br. s, 1H, C2-H), 4.11 ppm (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.82 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H-7/H-9</sub> = 2.4 Hz, H-7), 6.90 ppm (dd, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H-9/H-7</sub> = 2.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H-9/H-10</sub> = 8.8 Hz, H-9), 7.27 ppm (br. t, Ph: H-4'), 7.33 ppm (br. m, 3H, Ph: H-3'/5', -NH, D<sub>2</sub>O Austausch), 7.40 ppm (br. d, 2H, Ph: H-2'/6'), 7.90 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-10/H-9</sub> = 8.9 Hz, H-10).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 19.25 ppm (-C3), 20.91 ppm (Ar-CH<sub>3</sub>), 27.58 ppm (-C4), 45.74 ppm (-C2), 73.34 ppm (PhCOCH<sub>2</sub>-O-Ar), 88.35 ppm (-C4a), 101.35 (-C7), 107.57 ppm (-C10a), 111.16 ppm (-C9), 123.24 ppm (-C10), 126.46 ppm (Ph: -C3'/5'), 127.30 ppm (Ph: -C4'), 128.05 ppm (Ph: -C2'/6'), 142.15 ppm (Ph: C1'), 148.33 ppm (-C1a), 153.69 ppm (-C6a), 160.71 ppm (-C5), 161.35 ppm (-C8), 174.23 ppm (PhCOCH<sub>2</sub>-O-Ar).

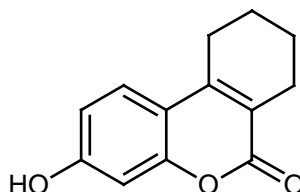
MS (EI, 70 eV): m/z = 351 (45%, M<sup>+</sup>), 244 (33%, M<sup>+</sup> -107), 231 (52%, M<sup>+</sup> -C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sup>+</sup>), 227 (12%), 202 (20%, 231 -CO), 188 (7%), 174 (4%, 202 -CO), 120 (25%), 105 (44%), 91 (61%), 77 (68%).

MS (70 eV, Thermospray): m/z = 352 (100%, M<sup>+</sup> + H<sup>+</sup>), 251 (12%), 121 (14%), 99 (51%).



H.R.M.S. :	ber.:	$C_{21}H_{21}NO_4$	351.14706
		$C_{20}^{13}CH_{21}NO_4$	352.15042
	gef.:	$C_{21}H_{21}NO_4$	351.14690
		$C_{20}^{13}CH_{21}NO_4$	352.15110

### 1-Hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9a)



5.5 g (50 mmol) Resorcin (**1a**) werden mit 7.9 ml (Dichte:1.07, 50 mmol) Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester nach der Methode E umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 8.0 g (74.1% d.Th.)

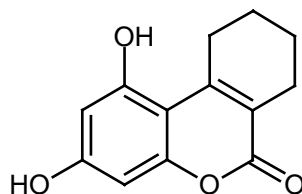
Schmelzpunkt: 202-203 °C  
Lit.: 206-208 °C (Collins et al. 1996)  
185 °C (Confalone et al. 1985)

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 3392 (s br.,  $\nu$  OH), 2954 (w,  $\nu$  -CH<sub>2</sub>-aliph), 1684 (s,  $\nu$  C=O), 1618 (s,  $\nu$  C=C), 1570,1514 (s,  $\nu$  C=C), 1266 (w), 1040 (s).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 1.72 ppm (mc, 4H, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, <sup>3</sup>J=5.0 Hz, H-9,9'/H-8,8'), 2.37 ppm (mc, 2H, <sup>3</sup>J=5.7 Hz, H-7,7'), 2.57 ppm (mc, 2H, <sup>3</sup>J=5.7 Hz, H-10,10'), 6.67 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H4-H2</sub>= 2.3 Hz, H-4), 6.76 ppm (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H2-H1</sub>= 8.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H2-H4</sub>=2.3Hz, Ar-H2), 7.45 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1-H2</sub>= 8.7 Hz, Ar-H1), 10.30 ppm (br. s, 1H, -OH austauschbar mit D<sub>2</sub>O).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 20.03 und 21.21 ppm (-C8 und -C9), 23.43 ppm (-C7), 24.53 ppm (-C10), 101.87 ppm (-C4), 111.91 ppm (-C1a), 112.58 ppm (-C2), 118.37 ppm (-C6a), 124.84 ppm (-C1), 147.97 ppm (-C10a), 152.97 ppm (-C3), 159.80 ppm (-C4a), 160.92 ppm (-C6).

MS (70 eV): m/z = 216 (100%, M<sup>+</sup>), 201 (61%), 188 (34%, M<sup>+</sup> -CO), 160 (60%, 188 -CO), 131 (15%, 160 -29), 11(15%), 103 (8%), 91 (12%).

**1,3-Dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9c)**

3.0 g (23 mmol) Phloroglucin (**1b**) werden mit 4 g (Dichte: 1.07, 24 mmol) Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester nach der Methode E umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 4.5 g (84.3% d. Th.)

Schmelzpunkt: 258 °C

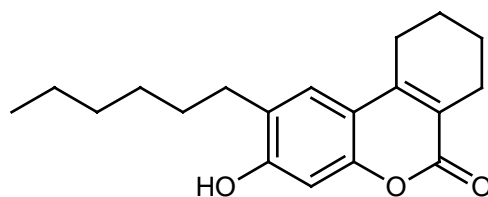
IR(KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 3196 (br. ,  $\nu$  OH), 1660 (m,  $\nu$  C=O), 1616 (s,  $\nu$  C=C), 1271(s).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.62 ppm (br. s, 4H, H-9/9'-H-8/8'), 2.39 ppm (br. s, 2H, H-7/7'), 3.01 ppm (br. s, 2H, H-10/10'), 6.12 ppm (s, 1H, -H2), 6.23 ppm (s, 1H, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 20.90 und 21.75 ppm (-C 8/9), 24.05 ppm (-C7), 29.14 ppm (-C10), 94.26 ppm (-C2), 99.36 ppm (-C4), 102.09 ppm (-C4a), 116.00 ppm (-C6a), 150.02 ppm (-C10a), 154.58 ppm (-C1), 157.30 ppm (-C3), 159.60 ppm (-C6a), 160.87 ppm (-C2).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten C,H-Korrelation und eines CH-COLOC.

MS (70 ev):  $m/z$  = 232 (100%,  $M^+$ ), 204 (37%, 232 -CO), 176 (56%, 204 -CO), 147 (9%).

**2-Hexyl-3-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9b) \***

2.5 g (13 mmol) 4-Hexylresorcin (**1b**) werden mit 2.5 g (15 mmol, Dichte: 1.07) Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester nach der Methode E umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 3 g (77.0% d. Th.)

Schmelzpunkt: 180-181 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3168 (m, br, ν OH), 2922 (w, ν -CH<sub>2</sub>-aliphatic), 1686 (s, ν C=O), 1604, 1576 (m, ν C=C), 1402 (s), 1246 (s).

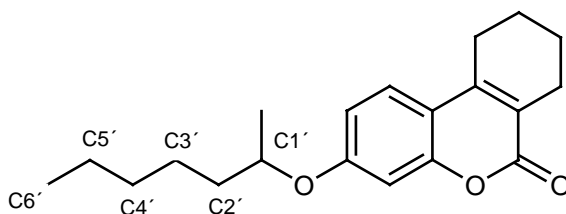
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.86 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-Ar), 1.26-1.28 ppm (m, 6H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Ar), 1.48-1.55 ppm (m, 2H, mJ = 6.5 Hz, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 1.70-1.72 ppm (m, 4H, H-8/8', 9/9'), 2.36 ppm (m, 2H, H-7/7'), 2.55 ppm (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 2.69 ppm (m, 2H, mJ = 5.4 Hz, H-10/10'), 6.70 ppm (s, 1H, H-4), 7.30 ppm (s, 1H, H-1), 10.22 ppm (s, 1H, -OH austauschbar mit D<sub>2</sub>O).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.89 ppm (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-Ar), 20.87 ppm (-C9), 21.25 ppm (-C8), 22.06 ppm (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-Ar), 23.47 ppm (-C7), 24.59 ppm (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>(CH<sub>2</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-Ar), 28.55 ppm (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>(CH<sub>2</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Ar), 29.26 ppm (-C10), 29.33 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 31.13 ppm (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH<sub>2</sub>-Ar), 101.33 ppm (-C4), 111.53 ppm (-C1a), 118.18 ppm (-C6a), 124.12 ppm (-C1), 125.99 ppm (-C2), 147.53 ppm (-C10a), 151.06 ppm (-C3), 157.64 ppm (-C4a), 161.03 ppm (-C6).

MS (70 eV): m/z = 300 (50%, M<sup>+</sup>), 229 (100%, M<sup>+</sup> -C<sub>5</sub>H<sub>11</sub><sup>+</sup>), 201 (54%, 229 -CO), 173 (6%, 201 -CO), 115 (6%), 91 (6%), 69 (11%).

C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub> ( 300.40 ):	ber.: C 75.96%	H 8.05%
	gef.: C 76.29%	H 8.32%

### 3-(1'-Methylhexyloxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9d) \*



1 g (4.6 mmol) **9a** werden mit 0.69 g (5 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1 g (5 mmol) Methansulfonsäure-2-heptylester in 30 ml DMF nach der Methode B 3½ h umgesetzt. Zur Reinigung der Substanz wird chromatographiert (50x 3.0, Ethylacetat: cyclohexan, 1:1, R<sub>f</sub> = 0.72).

Ausbeute: 580 mg (40.2% d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.83 ppm (t, 3H,  $^3J$  = 6.3 Hz,  $\text{CH}_3$ ), 1.22-1.38 ppm (m, 9H, 3x ( $\text{CH}_2$ ),  $\text{CH}_3$ ), 1.53-1.71 ppm (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ , H-8/8', 9/9'), 2.36 ppm (m, 2H, H-7/7'), 2.70 ppm (m, 2H, H-10/10'), 4.54 ppm (tq, 1H,  $^3J$  = 6.0 Hz,  $-\text{CH-O}-$ ), 6.85 ppm (br. s, 1H, H-2), 6.88 ppm (br.s, 1H, H-4), 7.55 ppm (d, 1H,  $^3J$  = 8.9 Hz, H-1).

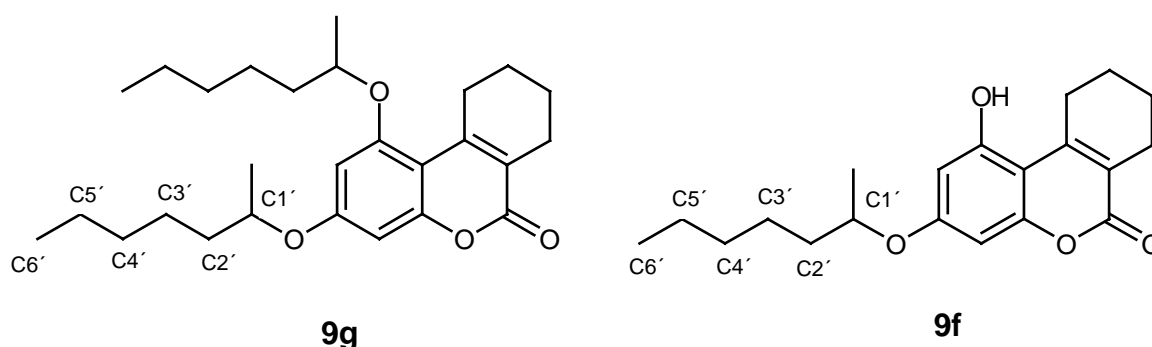
$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.79 ppm ( $\text{C6}'$ ), 19.31 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 20.79 und 21.98 ppm ( $\text{C8}$  und  $\text{C9}$ ), 21.15 ppm ( $\text{C5}'$ ), 23.45 ppm ( $\text{C4}'$ ), 24.38 ppm ( $-\text{C7}$ ), 24.52 ppm ( $\text{C3}'$ ), 31.10 ppm ( $-\text{C10}$ ), 35.54 ppm ( $\text{C2}'$ ), 73.63 ppm ( $\text{C1}'$ ), 101.70 ppm ( $-\text{C4}$ ), 112.80 ppm ( $-\text{C2}$ ), 112.84 ppm ( $-\text{C1a}$ ), 119.16 ppm ( $-\text{C6a}$ ), 124.87 ppm ( $-\text{C1}$ ), 147.40 ppm ( $-\text{C10a}$ ), 152.98 ppm ( $-\text{C3}$ ), 159.74 und 160.83 ppm ( $-\text{C4a}$  und  $-\text{C6}$ ).

MS (70 eV):  $m/z$  = 314 (13%,  $\text{M}^+$ ), 244 (10%), 216 (100%,  $\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{15}^+$ ), 201 (37%), 188 (17%, 216  $-\text{CO}$ ), 160 (13%, 188  $-\text{CO}$ ).

H.R.M.S. :	ber.:	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3$	314.18820
		$\text{C}_{19}^{13}\text{CH}_{26}\text{O}_3$	315.19156
	gef.:	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3$	314.18820
		$\text{C}_{19}^{13}\text{CH}_{26}\text{O}_3$	315.19560

**1,3-Di-(1'-methylhexyloxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9g) \***

**1-Hydroxy-3-(1'-methylhexyloxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9f) \***



1.5 g (6.4 mmol) **9c** werden mit 1.7 g (12.8 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und 1.3 g (7 mmol) Methansulfonsäure-2-heptylester in 20 ml DMF nach der Methode B umgesetzt (Reaktionszeit: 3 ½ h). Zur Trennung und Reinigung der entstandenen Produkte wird das ölige Rohprodukt chromatographiert (50x 3.0, Ethylacetat:Cyclohexan, 4:6,  $R_f$  **9g** = 0.80 ,  $R_f$  **9f** = 0.61).

**9g:** Ausbeute: 200 mg (gelbes Öl) (7.3% d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.85 ppm (t, 6H,  $^3\text{J} = 6.5$  Hz, 2x  $\text{CH}_3$ ), 1.23-1.57 ppm (m, 16H, 2x  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ , 5x  $-\text{CH}_2-$ ), 1.58-1.64 ppm (m, 10H, H-8/8', H9/9', 3x  $-\text{CH}_2-$ ), 2.36 ppm (m, 2H, H-7/7'), 3.00 ppm (m, 2H, H-10/10'), 4.55 und 4.62 ppm (2x tq, 2H,  $^3\text{J} = 5.9$  Hz, 2x  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 6.40 ppm (d, 1H,  $^4\text{J}_{\text{H-2/H-4}} = 2.0$  Hz, H-2), 6.46 ppm (d, 1H,  $^4\text{J}_{\text{H-4/H-2}} = 2.0$  Hz, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.75 und 13.81 ppm (2x  $\text{C6}'$ ), 19.06 und 19.41 ppm (2x  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 20.65 und 22.01 ppm ( $-\text{C8}$  und  $-\text{C9}$ ), 21.85 und 21.92 ppm (2x  $\text{C5}'$ ), 24.10 ppm ( $-\text{C7}$ ), 24.41 und 24.47 ppm (2x  $\text{C4}'$ ), 29.63 ppm ( $-\text{C10}$ ), 31.10 und 31.14 ppm (2x  $\text{C3}'$ ), 35.47 und 35.56 ppm (2x  $\text{C2}'$ ), 73.52 und 74.11 ppm (2x  $\text{C1}'$ ), 94.18 ppm ( $-\text{C2}$ ), 97.58 ppm ( $-\text{C4}$ ), 104.31 ( $-\text{C1a}$ ), 117.84 ppm ( $-\text{C6a}$ ), 149.19 ppm ( $-\text{C10a}$ ), 154.53 ppm ( $-\text{C3}$ ), 156.80 ppm ( $-\text{C1}$ ), 159.83 und 160.44 ppm ( $-\text{C4a}$ ,  $-\text{C6}$ ).

MS (70 eV):  $m/z = 428$  (7%,  $\text{M}^+$ ), 330 (8%,  $\text{M}^+ - \text{Alkyl}$ ), 232 (100%, 330  $-\text{Alkyl}$ ), 217 (17%), 204 (8%, 232  $-\text{CO}$ ), 176 (4%, 204  $-\text{CO}$ ), 57 (20%), 43 (17%).

H.R.M.S. :	ber.:	$\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_4$	428.29266
		$\text{C}_{26}^{13}\text{CH}_{40}\text{O}_4$	429.29602
	gef.:	$\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_4$	428.29230
		$\text{C}_{26}^{13}\text{CH}_{40}\text{O}_4$	429.29560

**9f:**

Ausbeute: 400 mg (19% d. Th.)

Schmelzpunkt: 154-156 °C (umkristallisiert aus Cyclohexan)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.86 ppm (t, 3H,  $^3\text{J} = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 1.21-1.46 ppm (m, 9H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 1.53-1.78 ppm (m, 6H,  $\text{C}_4\text{H}_9\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$  und H-8/8', 9/9'), 2.36 ppm (br. s, 2H, H-7/7'), 2.99 ppm (br. s, 2H, H 10/10'), 4.48 ppm (tq, 1H,  $^3\text{J} = 5.9$  Hz,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 6.25 ppm (d, 1H,  $^4\text{J}_{\text{H-2/H-4}} = 2.2$  Hz, H-2), 6.33 ppm (d, 1H,  $^4\text{J}_{\text{H-4/H-2}} = 2.2$  Hz, Ar-H2), 10.25 ppm (s, 1H,  $-\text{OH}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ -Austausch).

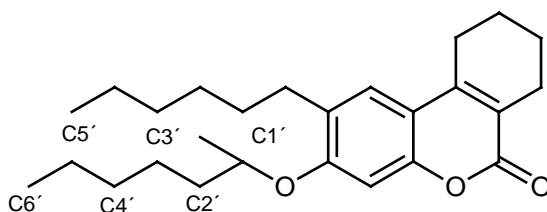
$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.76 ppm ( $\text{C6}'$ ), 19.05 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 20.69 und 21.88 ppm ( $-\text{C8}$  und  $-\text{C9}$ ), 21.93 ppm ( $\text{C5}'$ ), 24.15 ppm ( $-\text{C7}$ ), 24.49 ppm ( $\text{C4}'$ ), 29.62 ppm ( $-\text{C10}$ ), 31.11 ppm ( $\text{C3}'$ ), 35.46 ppm ( $\text{C2}'$ ), 74.12 ppm ( $\text{C1}'$ ), 94.89 ppm ( $-\text{C2}$ ), 97.09 ppm ( $-\text{C4}$ ), 103.35 ( $-\text{C1a}$ ), 117.00 ppm ( $-\text{C6a}$ ), 149.35 ppm ( $-\text{C10a}$ ), 154.49 ppm ( $-\text{C3}$ ), 156.91 ppm ( $-\text{C1}$ ), 159.87 und 160.50 ppm ( $-\text{C4a}$  und  $-\text{C6}$ ).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe einem DEPT-135, einem direkten C,H-COSY und einem CH-COLOC.

MS (70 eV):  $m/z = 330$  (15%,  $M^+$ ),  $232$  (100%,  $M^+ - C_7H_{15}O^+$ ),  $217$  (31%),  $204$  (19%,  $232 - CO$ ),  $176$  (13%,  $204 - CO$ ),  $147$  (3%),  $69$  (12%).

$C_{20}H_{26}O_4$ (314.43):	ber.: C 72.70%	H 7.93%
	gef.: C 73.00%	H 8.23%

**2-Hexyl-3-(1'-methylhexyloxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9e) \***



800 mg (2.6 mmol) **9b** werden mit 800 mg  $K_2CO_3$  und 600 mg Methansulfonsäure-2-heptylester in 20 ml DMF nach der Methode B umgesetzt. Die Substanz wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 850 mg (82% d. Th.)

Schmelzpunkt: 45-47 °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 2934 (w,  $\nu$   $CH_2$ -aliph), 1700 (s,  $\nu$   $C=O$ ), 1616 (m,  $\nu$   $C=C$ ), 1396 (s), 1154 (w).

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 0.85$  ppm (t, 6H,  $^3J = 6.2$  Hz, 2x  $CH_3$ ), 1.23-1.29 ppm (m, 13 H, 5x  $-CH_2$  und  $-CH_3$ ), 1.33-1.73 ppm (m, 10 H, H-8/8', 9/9' und 3x  $-CH_2-$ ), 2.37 (m, 2H, H-7/7'), 2.53 ppm (m, 2H, H-10/10'), 4.59 ppm (tq, 1H,  $mJ = 5.9$  Hz,  $C_5H_{11}CH(CH_3)-O-Ar$ ), 6.93 ppm (s, 1H, H-2), 7.38 ppm (s, 1H, H-4)

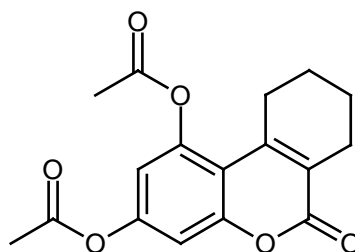
$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 13.74$  und  $13.85$  ppm ( $C6'$  und  $CH_3(CH_2)_5-Ar$ ), 19.09 ppm ( $CH_3(CH_2)_4CH(CH_3)-O-Ar$ ), 20.84 und 21.21 ppm ( $-C8$  und  $-C9$ ), 21.95 und 22.00 ppm ( $C5'$  und  $CH_3CH_2(CH_2)_4-Ar$ ), 23.49 ppm ( $-C7$ ), 24.29 und 24.61 ppm ( $C4'$  und  $C_2H_5(CH_2)(CH_2)_3-Ar$ ), 28.47 ( $-C10$ ), 29.47 und 29.61 ppm ( $C_3H_7(CH_2)_2CH_2-Ar$ ), 31.00 und 31.15 ppm ( $C3'$  und  $C_5H_{11}CH_2-Ar$ ), 35.65 ppm ( $C2'$ ), 73.23 ppm ( $C1'$ ), 99.57 ppm ( $-C4$ ),

111.95 ppm (-C1a), 118.90 ppm (-C6a), 124.13 ppm (-C1), 127.81 ppm (-C2), 147.45 ppm (-C10a), 151.41 ppm (-C3), 157.39 ppm (-C4a), 161.01 ppm (-C6).

MS (70 eV):  $m/z = 398$  (14%,  $M^+$ ),  $300$  (100%,  $M^+ - C_7H_{15}$ ),  $229$  (61%,  $300 - C_5H_{11}^+$ ),  $201$  (28%,  $229 - CO$ ),  $173$  (4%,  $173 - CO$ ),  $115$  (4%),  $69$  (6%).

$C_{26}H_{38}O_3$ (398.59):	ber.: C 78.35%	H 9.61%
	gef.: C 78.14%	H 9.78%

### 1,3-Diacetoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9h) \*



500 mg (2.2 mmol) **9c** werden mit 4 ml (Dichte:1.079-1.082, 40 mmol) Acetanhydrid versetzt. Die Reaktionsmischung wird 3 h bei 90 °C erhitzt. Die Lösung wird auf RT abgekühlt und auf 50 g Eis gegeben. Ein weißer Niederschlag fällt sofort aus. Diese Mischung wird 15 min gerührt, anschließend filtriert und mehrfach mit kaltem Wasser und Ether gewaschen. Das Rohprodukt wird dann aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 453 mg (65.1% d. Th.)

Schmelzpunkt: 147-149 °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 2950 (m,  $\nu -CH_2-$ ), 1766 (s,  $\nu C=O$ ), 1716 (s,  $\nu C=O$  Lacton), 1614 (s), 1434 (s), 1142, 1120 (s,  $\nu C-O-C$ ), 1032 (m), 912 (s).

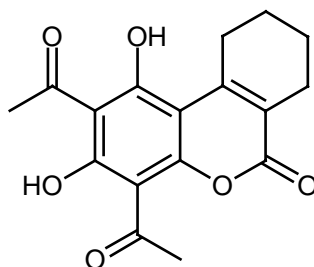
$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 1.67$  ppm (mc, 4H, H-8,8'/H-9,9'), 2.28 und 2.34 ppm (br. s, 2x  $CH_3CO$ -Ar), 2.36-2.41 ppm (m, 2H, H-7,7'), 2.82 ppm (mc, 2H, H-10,10'), 7.01 ppm (d, 1H,  $^4J_{H-2/H-4} = 2.4$  Hz, H-2), 7.17 ppm (d, 1H,  $^4J_{H-4/H-2} = 2.4$  Hz, H-4).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 20.28$  und  $20.78$  ppm (2x  $CH_3CO$ -Ar), 21.13 und 21.42 ppm (-C8 und -C9), 24.36 ppm (-C7), 27.82 ppm (-C10), 108.15 (-C1a), 111.63 ppm (-C4), 114.38 ppm (-C6a), 123.56 ppm (-C2), 145.88 ppm (-C10a), 147.52 ppm (-C4a), 150.77 ppm (-C1), 152.50 ppm (-C3), 159.45 ppm (-C6), 168.47 und 169.11 ppm (2x  $CH_3CO$ -Ar).

MS (70 eV):  $m/z = 316$  (9%,  $M^+$ ), 274 (30%,  $M^+ - 42$ ), 232 (100%, - 42), 204 (14%, 232 - CO), 176 (10%, 204 -CO).

$C_{17}H_{16}O_6$ (316.31):	ber.: C 64.55%	H 5.10 %
	gef.: C 64.33%	H 5.22%

**2,4-Diacetyl-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9i) \***



300 mg (0.95 mmol) **9h** werden in einem trockenen Kolben mit 900 mg (7.2 mmol)  $AlCl_3$  gut vermischt und die Reaktionsmischung im Öl bad 2 ½ h auf 160-165 °C erhitzt. Der HCl-Gas wird in einem Becherglas mit Natronlauge eingeleitet. Nach dem Abkühlen auf RT wird die Mischung auf 50 g Eis gegeben, mit 6 ml 3N HCl versetzt und ½ h kräftig gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 140 mg (47% d. Th.)

Schmelzpunkt: 196-198 °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 2934 (m, v  $-CH_2-$ ), 1730 (s, v C=O Acetyl), 1616 (s, v C=C), 1434 (w), 1362 (s), 796,752 (m,  $\delta$   $-CH_2-$ ).

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.78$  ppm (br. s, 4H, H-8,8'/ H-9,9'), 2.55 ppm (br. s, 2H, H-7,7'), 2.81 und 2.91 ppm (2x s, 2x 3H,  $CH_3CO-$ ), 3.15 ppm (br. S, 2H, H-10,10'), 16.37 und 16.44 ppm (2x s, 2H, -OH 1,3,  $D_2O$ -Austausch nach mehreren h).

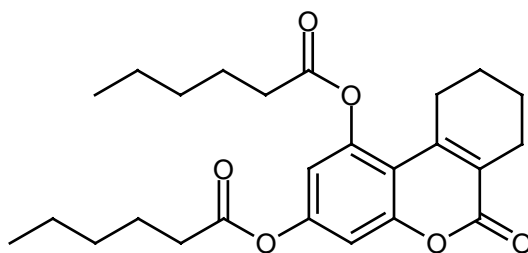
$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 20.88$  und 22.22 ppm (-C8 und -C9), 24.36 ppm (-C7), 30.12 ppm (-C10), 33.49 und 33.55 ppm (2x  $CH_3CO-Ar$ ), 102.48 ppm (-C1a), 103.17 ppm (-C2), 106.29 ppm (-C4), 119.24 ppm (-C6a), 151.10 ppm (-C10a), 159.26 ppm (-C4a), 159.42 ppm (-C6), 170.90 und 171.40 ppm (-C1 und -C2), 203.89 und 205.96 ppm (2x  $CH_3CO-Ar$ ).



MS (70 eV):  $m/z = 316$  (100%,  $M^+$ ), 301 (12%), 288 (62%,  $M^+ - CO$ ), 273 (29%,  $M^+ - CH_3CO^+$ ), 260 (49%, 288  $-CO$ ), 245 (20%, 273  $-CO$ ), 227 (9%), 207 (9%), 189 (6%), 115 (12%).

$C_{17}H_{16}O_6$ ( 316.31 ):	ber.: C 64.55%	H 5.10%
	gef.: C 64.10%	H 4.98%

### 1,3-Dihexyloxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9j) \*



300 mg (2.6 mmol)  $AlCl_3$  werden in 10 ml  $CH_2Cl_2$  gelöst und unter Eiskühlung mit 0.6 ml (Dichte: 0.98, 0.23 mmol) Hexansäurechlorid versetzt. Es werden 500 mg (2.2 mmol) **9c** portionsweise zugegeben, 1 ½ h bei RT gerührt und über Nacht stehen gelassen. Zum Aufarbeiten wird der Ansatz auf 40 g Eis gegeben und ½ h gerührt. Die wässrige Phase wird 2x mit je 20 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $CaCl_2$  getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. einrotiert. Der ölig gelbe Rückstand wird dann aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 100 mg (10.6% d. Th.)

Schmelzpunkt: 159-160 ° C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 2934 (s, v  $CH_2$ -aliphatisch), 1760 (s, v  $C=O$ ), 1714 (s, v  $C=O$  Lacton), 1612 (s, v  $C=C$ ), 1430 (w), 922 (w), 732 (w,  $\delta$   $CH_2$ -).

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 0.94$  ppm (t, 6H,  $^3J = 3.4$  Hz, 2x  $CH_3(CH_2)_4CO-OAr$ ), 1.36-1.40 ppm (m, 8H, 2x  $CH_3(CH_2)_2(CH_2)_2CO-O-Ar$ ), 1.70-1.77 ppm (m, 8H, H-8,8'/H-9,9', 2x  $C_3H_7CH_2CH_2CO-O-Ar$ ), 2.58 ppm (mc, 6H, H-7,7', 2x  $C_4H_9CH_2CO-OAr$ ), 2.86 ppm (mc, 2H, H-10,10'), 6.76 ppm (d, 1H,  $^4J = 2.4$  Hz, H-2), 7.02 ppm (d, 2H,  $^4J = 2.4$  Hz, H-4).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta = 13.73$  ppm (2x  $CH_3C_4H_8COOAr$ ), 20.26 und 21.35 ppm ( $-C8/-C9$ ), 21.73 ppm (2x  $CH_3CH_2(CH_2)_3CO-O-Ar$ ), 23.52 und 23.77 ppm (2x  $C_2H_5CH_2(CH_2)_2CO-O-Ar$ ), 24.32 ppm ( $-C7$ ), 27.93 ppm ( $-C10$ ), 30.50 ppm (2x

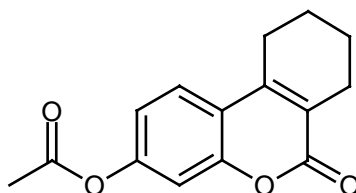
$C_3H_7\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO-O-Ar}$ , 33.30 und 33.54 ppm ( $C_4H_9\text{CH}_2\text{CO-O-Ar}$ ), 108.09 ppm (-C4), 111.61 ppm (-C6a), 114.31 ppm (-C2), 123.48 ppm (-C1a), 145.82 ppm (-C10a), 147.60 ppm (-C1), 150.81 ppm (-C4a), 152.54 ppm (-C3), 159.47 ppm (-C6), 171.69 und 171.07 ppm (2x  $C_5H_{11}\text{CO-O-Ar}$ ).

MS (70 eV):  $m/z = 428$  (4%  $M^+$ ), 330 (10%,  $M^+ - C_6H_{11}O^+$ ), 232 (100%,  $330 - C_6H_{11}O^+$ ), 204 (17%,  $330 - CO$ ), 176 (20%,  $205 - CO$ ).

$C_{25}H_{32}O_6$ (428.53) · $C_2H_5OH$ :	ber.: C 68.35%	H 8.01%
	gef.: C 68.66%	H 7.72%

### 3-Acetoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9k)

[3-Acetoxy-7,8,9,10-tetrahydro-6H-dibenzo[b, d]-pyran-6-on (9k)]



1 g (4.6 mmol) **9a** werden mit 4 ml (Dichte: 1.079-1.082, 4 mmol) Acetanhydrid nach der Methode F 5 h bei 100 °C umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 903 mg (90% d. Th.)

Schmelzpunkt: 184-185 °C

Lit.: 186-87 °C (Confalone et al. 1983)

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 2934 (s,  $\nu$   $\text{CH}_2$ -), 1766 (s,  $\nu$   $\text{C=O}$ ), 1716 (s,  $\nu$   $\text{C=O}$ ), 1610 (s,  $\nu$   $\text{C=C}$ ), 1202(s), 1134 (s), 900 (m).

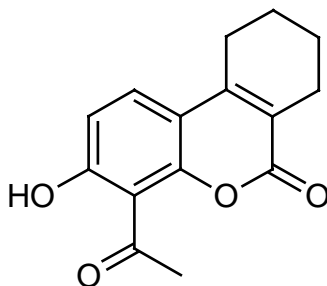
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.83$  ppm (m, 4H, H-9/9', H-8/8'), 2.57 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO-O-Ar}$ ), 2.57 ppm (m, 2H, H-7,7'), 2.76 ppm (m, 2H, H-10,10'), 7.03 ppm (dd, 1H,  $^3J_{\text{H-2/H-1}} = 8.6$  Hz,  $^4J_{\text{H-2/H-4}} = 2.3$  Hz, H-2), 7.07 ppm (d, 1H,  $^4J_{\text{H-4/H-2}} = 2.3$  Hz, H-4), 7.55 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 8.6$  Hz, H-1).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 21.12$  ppm ( $\text{CH}_3\text{CO-O-Ar}$ ), 21.29 und 21.53 ppm (-C7 und -C8), 24.01 ppm (-C4), 25.25 ppm (-C10), 110.04 ppm (-C4), 117.82 (-C2), 118.08 ppm (-C1a), 123.29 ppm (-C6a), 123.07 ppm (-C1), 146.65 ppm (-C10a), 151.85 ppm (-C4a), 152.49 ppm (-C3), 161.46 ppm (-C6), 168.87 ppm ( $\text{CH}_3\text{CO-O-Ar}$ ).

MS (70 eV):  $m/z = 258$  (12%,  $M^+$ ), 216 (100%,  $M^+ - \text{CH}_3\text{CO}^+$ ), 188 (16%, 216  $-\text{CO}$ ), 160 (16%, 188  $-\text{CO}$ ), 115 (4%), 91 (3%), 77 (4%).

**4-Acetyl-3-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9l)**

[4-Acetyl-7,8,9,10-tetrahydro-3-hydroxy-6H-dibenzo[b,d]pyran-6-on (9l)]



600 mg ( 2.3 mmol) **9k** werden mit 900 mg (7 mmol)  $\text{AlCl}_3$  nach der Methode F umgesetzt. Die nach der Aufarbeitung gewonnenen Kristalle werden aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 240 mg (40% d. Th.)

Schmelzpunkt: 157-158 °C

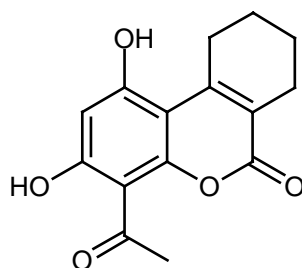
Lit.: 170-171 °C (Confalone et. al 1983)

IR (KBr,  $[\text{cm}^{-1}]$ ): 2934 (m,  $\nu -\text{CH}_2-$ ), 1722 (s,  $\nu \text{C}=\text{O}$ ), 1628 (m,  $\text{C}=\text{O}$  Lacton), 1486 (m), 1250 (m).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 1.70$  ppm (m, 4H, H-8/8', H-9/9'), 2.36 ppm (m, 2H, H7/7'), 2.61 ppm (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO-O-Ar}$ ), 2.69 ppm (m, 2H, H-10/10'), 6.86 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-2}/\text{H-1}} = 8.8$  Hz, H-2), 7.62 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 8.8$  Hz, H-1), 11.61 ppm (s, 1H,  $-\text{OH}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ -Austausch).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 20.78$  und 21.05 ppm ( $-\text{C8}$  und  $-\text{C9}$ ), 23.47 ppm ( $-\text{C7}$ ), 24.71 ppm ( $-\text{C10}$ ), 32.53 ppm ( $\text{CH}_3\text{CO-Ar}$ ), 103.50 ppm ( $-\text{C1a}$ ), 111.86 ppm ( $-\text{C4}$ ), 113.01 ppm ( $-\text{C2}$ ), 118.88 ppm ( $-\text{C6a}$ ), 127.22 ppm ( $-\text{C1}$ ), 147.27 ppm ( $-\text{C10a}$ ), 149.98 ppm ( $-\text{C4a}$ ), 158.98 ppm ( $-\text{C3}$ ), 159.48 ppm ( $-\text{C6}$ ), 200.92 ppm ( $\text{CH}_3\text{CO-Ar}$ ).

MS (70 eV):  $m/z = 258$  (100%,  $M^+$ ), 243 (43%), 230 (22%,  $M^+ - \text{CH}_3\text{CO}^+$ ), 215 (44%, 243  $-\text{CO}$ ), 202 (19%, 230  $-\text{CO}$ ), 188 (12%), 160 (12%), 149 (10%).

**4-Acetyl-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9m) \***

2 g (11 mmol) Trihydroxyacetophenon-Dihydrat werden in 10 ml trockenem Ether suspendiert, mit 3 ml ( Dichte:1.07, 15 mmol) Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester versetzt und auf 0 °C gekühlt. Die Reaktionslösung wird unter Kühlung mit 5 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> so umgesetzt, dass die Temperatur zwischen 5-10 °C bleibt. Anschließend wird unter Rühren langsam auf RT erwärmt und einen Tag stehen gelassen. Die so ausgefallene gelbe Substanz wird abgesaugt und mehrfach mit Wasser gewaschen. Sie wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 2.53 g (84% d. Th.)

Schmelzpunkt: 277-279 °C

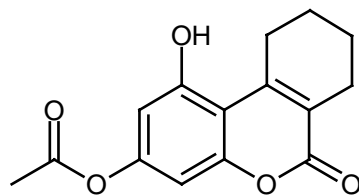
IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3252 (br. s, ν OH), 2940 (w, ν -CH<sub>2</sub>-), 1682 (s, ν C=O), 1614 (s, ν C=C), 1422 (w), 1180,1138 (s), 830 (s, δ =CH).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.69 ppm (br. s, 4H, H-8,8'/H-9,9'), 2.38 ppm (s, 2H, H-7,7'), 2.55 ppm (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO-Ar), 3.06 ppm (s, 2H, H-10,10'), 6.28 ppm (s, 1H, H-2), 11.77 ppm (s, 1H, -OH-1, D<sub>2</sub>O-Austausch), 15.41 ppm (s, 1H, -OH-3, D<sub>2</sub>O-Austausch).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.49 und 21.51 ppm (-C8 und -C9), 23.81 ppm (-C7), 28.96 ppm (-C10), 32.70 ppm (CH<sub>3</sub>CO-Ar), 93.97 ppm (-C2), 102.00 ppm (-C1a), 106.18 ppm (-C4), 117.05 ppm (-C6a), 149.93 ppm (-C10a), 157.70 ppm (-C1), 159.97 ppm (-C4a), 162.00 ppm (-C6), 165.21 ppm (-C3), 203.40 ppm (CH<sub>3</sub>CO-Ar).

MS (70 eV): m/z = 274(100%, M<sup>+</sup>), 246 (39%, M<sup>+</sup> -CO), 231 (25%, M<sup>+</sup> -CH<sub>3</sub>CO<sup>+</sup>), 218 (35%, 246 -CO), 203 (22%, 231 -CO), 165 (8% 218 -53), 115 (7%), 91 (10%), 77(11%).

C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> ( 274.28 ):	ber.: C 65.68 %	H 5.14 %
	gef.: C 65.76 %	H 5.33 %

**3-Acetoxy-1-hydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9n)**\*

130 mg (0.55 mmol) **9c** werden in 20 ml Eisessig gelöst, mit 1.5 ml (Dichte: 1.079-1.082, 15 mmol) Acetanhydrid versetzt und 2h unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT wird das Lösungsmittel i. Vak. einrotiert, der Rückstand mit 50 ml 10%iger Natronlauge versetzt und kräftig gerührt. Die unlöslichen Bestandteile werden abfiltriert und das Filtrat unter Eiskühlung mit konz. HCl angesäuert. Die ausgefallenen Kristalle werden abgesaugt und gründlich mit Wasser und Eisessig gewaschen. Die Substanz wird aus Eisessig umkristallisiert.

Ausbeute: 60 mg (39% d. Th.)

Schmelzpunkt: 202-205 °C

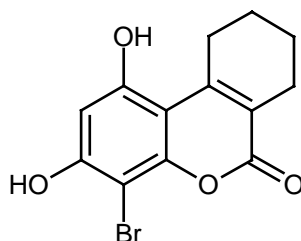
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.67 ppm (br. s, 4H, H8/8', 9/9'), 2.27 ppm (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO-Ar), 2.40 ppm (s, 2H, H7/7'), 3.33 ppm (s, 2H, H10/10'), 6.54 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H-4/H-2</sub> = 2.3 Hz, H-4), 6.62 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H2-H4</sub> = 2.3 Hz, H-2), 10.82 ppm (br. s, 1H, OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.59 und 21.55 ppm (C8 und C9), 20.86 ppm (CH<sub>3</sub>CO-O-Ar), 24.17 ppm (-C7), 29.15 ppm (-C10), 100.84 ppm (-C2), 105.10 ppm (-C4), 106.89 ppm (-C1a), 119.76 ppm (-C6a), 149.21 ppm (-C10a), 151.55 ppm (-C4a), 153.37 ppm (-C1), 156.83 ppm (-C3), 160.19 ppm (-C6), 168.56 ppm (CH<sub>3</sub>CO-O-Ar).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten C,H-Korrelation und eines CH-COLOC.

MS (70 eV): m/z = 274 (19%, M<sup>+</sup>), 232 (100%, M<sup>+</sup> -CH<sub>3</sub>C=O<sup>+</sup>), 204 (30%, 203 -CO), 176 (32%, 203 -CO), 91 (13%), 69 (30%).

C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> ( 274.28 ):	ber.: C 65.69%	H 5.14%
	gef.: C 65.68%	H 5.44%

**4-Brom-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9o) \***

232 mg (1 mmol) **9c** werden unter Rühren in 15 Eisessig gelöst. Zu dieser Lösung werden bei RT über einen Zeitraum von 20 min 128 mg (0.8 mmol) Brom, gelöst in 5 ml Eisessig, tropfenweise hinzugefügt. Gegen Ende der Reaktion fällt ein Niederschlag aus. Die Mischung wird noch eine ½ h bei RT gerührt. Die ausgefallenen Kristalle werden abgesaugt und aus Eisessig umkristallisiert.

Ausbeute: 110 mg (35% d. Th.)

Schmelzpunkt: 213-214 °C

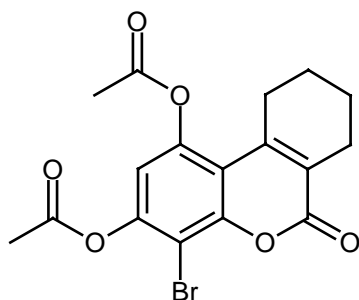
IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3390 (w, v OH), 2942 (m, v CH<sub>2</sub>-), 1768 (s, v C=O), 1722 (s), 1594 (m, v C=C), 738 (w, v C-Hal).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.65 ppm (br. s, 4H, H-8/8', H-9/9'), 2.36 ppm (br. s, 2H, H-7/7'), 3.24 ppm (br. s, H-10/10'), 6.52 ppm (s, 1H, H-2), 10.59 und 10.84 ppm (2x br. s, 2x -OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.68 und 21.01 ppm (-C8 und -C9), 23.98 ppm (-C7), 29.13 ppm (-C10), 87.09 ppm (-C1a), 99.28 ppm (-C2), 103.23 ppm (-C4), 116.55 ppm (-C6a), 149.98 ppm (-C10a), 150.74 ppm (-C1), 156.12 ppm und 156.36 ppm (-C3 und -C4a), 160.126 ppm (-C6).

MS (70 eV): m/z = 310/ 312 (4%, M<sup>+</sup>), 284/282 (2%, 312 -CO), 256 /254 (3%), 232 (100%, M<sup>+</sup> -Br), 217 (57%), 204 (42%, 232 -CO), 189 (9%), 176 (62%, 204 -CO), 163 (8%), 147 (10%, 176 -CHO).

H.R.M.S.:	ber.: C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> <sup>79</sup> Br	309.98407
	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> <sup>80</sup> Br	311.98203
	gef.: C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> <sup>79</sup> Br	309.98380
	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> <sup>80</sup> Br	311.98205

**1,3-Diacetoxy-4-brom-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9p) \***

350 mg (1.1 mmol) **9o** werden in 5 ml (Dichte:1.077-1.082, 5 mmol) Acetanhydrid suspendiert und 3h auf dem Ölbad bei 120-130 °C erhitzt. Die Ausgangsverbindung geht dabei in Lösung. Nach dem Abkühlen auf RT wird die Lösung mit 25 ml Eiswasser verdünnt und 1 h kräftig gerührt. Die ausgefallenen Kristalle werden abgesaugt, mit viel Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 350 mg (71% d. Th.)

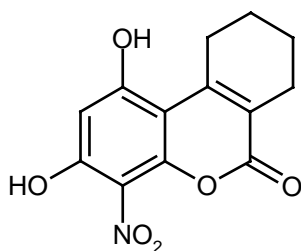
Schmelzpunkt: 171-173 °C

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.69 ppm (br. s, 4H, H-8/8', H-9/9'), 2.37 ppm (s, 6H, 2x CH<sub>3</sub>CO-O-Ar), 2.44 ppm (br. s, 2H, H-7/7'), 2.82 ppm (br. s, H-10/10'), 7.17 ppm (s, 1H, H-2).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.10 und 21.37 ppm (-C8 und -C9), 20.38 und 21.07 ppm (2x CH<sub>3</sub>CO-O-Ar), 24.34 ppm (-C7), 27.89 ppm (-C10), 102.13 ppm (-C1a), 112.98 ppm (-C6a), 115.53 ppm (-C2), 124.18 ppm (-C4), 145.83 ppm (-C10a), 146.53 und 148.71 ppm (-C3 und -C4a), 149.53 ppm (-C1), 158.73 ppm (-C6), 167.72 und 168.84 ppm (2x CH<sub>3</sub>CO-O-Ar).

MS (70 eV): m/z = 396 (2%, M<sup>+</sup>), 354/352 (8%, M<sup>+</sup> -CH<sub>3</sub>C=O<sup>+</sup>), 312/310 (30%, 354 - CH<sub>3</sub>C=O<sup>+</sup>), 284/282 (4%), 256 (4%, 284 - CO), 43 (100%).

C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> BrO <sub>6</sub> ( 395. 31 ):	ber.: C 51.66%	H 3.82%
	gef.: C 51.32%	H 3.64%

**1,3-Dihydroxy-4-nitro-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9q)\***

232 mg (1 mmol) **9c** werden in 15 ml Eisessig gelöst und auf 35-40 °C (Innentemperatur!) erwärmt. Bei dieser Temperatur wird eine Lösung aus 220 µl 40%ige HNO<sub>3</sub> in 5 ml Eisessig tropfenweise hinzugefügt. Nach kurzzeitiger Dunkelfärbung der Reaktionslösung fällt das Produkt aus. Nach dem Abkühlen auf RT werden die entstandenen Kristalle abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 100 mg (36% d. Th)

Schmelzpunkt: 265 °C (Zers.)

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3190 (m, ν OH), 2940 (w, ν CH<sub>2</sub>-), 1666 (s, ν C=O), 1618,1582 (s, ν C=C), 1292 (s, ν -NO<sub>2</sub>), 760 (m, δ CH<sub>2</sub>-).

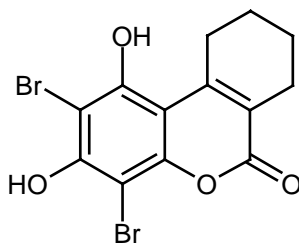
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.65 ppm (br. s, 4H, H-8/8', H-9/9'), 2.13 ppm (s, 2H, H-7/7'), 2.81 ppm (s, 2H, H-10/10'), 6.46 ppm (s, 1H, H-2), 11.26 und 11.59 ppm (2x s, 2H, 2x OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.96 und 21.89 ppm (-C8 und -C9), 24.93 ppm (-C7), 29.54 ppm (-C10), 99.08 ppm (-C1a), 102.4 ppm (-C2), 118.00 ppm (-C6a), 122.61 ppm (-C4), 146.73 ppm (-C10a), 150.32 ppm (-C1), 152.33 ppm (-C3), 158.91 ppm (-C4a), 159.22 ppm (-C6).

MS (70 eV): m/z = 277 (3%, M<sup>+</sup>), 247 (6%), 231 (15%), 219 (30%, 247 -CO), 191 (18%, 219 -CO), 44 (100%).

C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>6</sub> ( 277.24 ):	ber.: C 56.63%	H 4.00%	N 5.05%
	gef.: C 56.90%	H 4.15%	N 5.10%



**2,4-Dibrom-1,3-dihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9r)\***

232 mg (1 mmol) **9c** werden in 15 ml Eisessig gelöst. 320 mg (2 mmol) Brom, gelöst in 5 ml Eisessig, werden bei RT langsam zugetropft. Es wird ½ h gerührt und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Der Rückstand wird mit 25 ml Eiswasser versetzt und 15 min kräftig gerührt. Die ausgefallene Substanz wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Eisessig umkristallisiert.

Ausbeute: 153 mg (39.2% d. Th.)

Schmelzpunkt: 183-185 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3296 (br. s, ν OH), 2936 (s, ν -CH<sub>2</sub>-), 1690 (s, ν C=O), 1576 (s, ν C=C), 1432 (s), 756(s), 562 (m, -C-Hal).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.63 ppm (br. s, 4H, H-8/8', H-9/9'), 2.12 ppm (br. s, 2H, H-7/7'), 3.03 ppm (s, 2H, H-10/10'), 10.03 und 10.38 ppm (2x br. s, 2H, 2x -OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

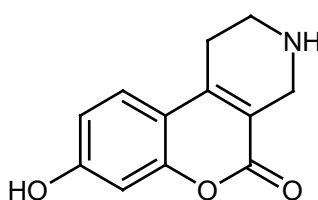
<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.97 und 22.11 ppm (-C8 und -C9), 24.64 ppm (-C7), 29.92 ppm (-C10), 90.73 ppm (-C1a), 99.33 ppm (-C4), 106.14 ppm (-C2), 119.22 ppm (-C6a), 149.60 ppm (-C10a), 149.80 ppm (-C1), 152.41 ppm und 153.17 ppm (-C3 und -C4a), 160.09 ppm (-C6).

MS (70 eV): m/z = 391(12%), 390 (25%, M<sup>+</sup>), 388 (14%), 364 (6%), 362 (11%, M<sup>+</sup> -CO), 360 (6%), 336(15%), 334 (28%, 362 -CO), 332 (15%), 310 (40%), 312 (40%, M<sup>+</sup> -Br), 284 (21%, 312 -CO), 282 (22%), 256 (42%, 284 -28), 254 (40%), 232 (35%, 312 -Br), 204 (18%, 232 -CO), 176 (30%, 204 -CO).

C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> Br <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (390.22):	ber.: C 40.01%	H 2.58%
	gef.: C 40.53%	H 2.69%

H.R.M.S:	ber.: C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub>	387.89459
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> <sup>79</sup> Br <sup>81</sup> Br	389.89255
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub>	391.89050
gef.:	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub>	387.89450
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> <sup>79</sup> Br <sup>81</sup> Br	389.89250
	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub>	391.89050

### 8-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-5H-[1]-benzopyrano[3,4-c]pyridin-5-on (8a)



2 g (18 mmol) Resorcin **1a** werden in 15 ml trockenem Ether gelöst. Bei 0 °C wird 3.2 g (18 mmol) 3-Methoxycarbonyl-4-piperidon-hydrochlorid zugegeben. Zu dieser Lösung wird 2.2 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> langsam zugetropft. Die Innentemperatur soll dabei nicht über 10 °C steigen. Die Lösung wird dann langsam auf RT erwärmt und 2 Tage gerührt. Die zähflüssige Mischung wird dann auf 50 g Eis/Wasser gegeben. Es wird solange Hydroxylamin zugegeben (pH 10-11), bis ein Niederschlag ausfällt. Die Substanz wird abgesaugt und aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 2.1 g (53% d. Th.)

Schmelzpunkt: 271-272 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3096 (s, ν OH), 2766 (m, ν -CH<sub>2</sub>-), 1700 (s, ν C=O), 1614 (s, ν C=C), 1334 (w), 1212(m), 1444 (m, δ -CH<sub>2</sub>-)

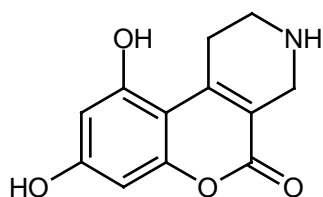
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 3.02 ppm (m, 2H, H-3,3'), 3.32 ppm (m, 2H, H-4,4'), 3.84 ppm (br. s, 2H, H-1,1'), 5.39-6.62 ppm (br. s, 2H, -OH und -NH, D<sub>2</sub>O Austausch), 6.79 ppm (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H-8/H-6</sub> = 2.3 Hz, H-8), 6.87 ppm (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-6/H-5</sub> = 8.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H-6/H-8</sub> = 2.3 Hz, H-6), 7.58 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-5/H-6</sub> = 8.7 Hz, H-5).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.86 (-C1), 39.18 und -39.93 ppm (-C2 und -C4), 102.18 ppm (-C7), 110.51 ppm (-C10a), 112.58 ppm (-C4a), 113.28 ppm (-C9), 125.41 ppm (-C10), 146.09 ppm (-C1a), 153.37 ppm (-C6a), 159.07 ppm (-C8), 161.08 ppm (-C5).

MS (70 eV):  $m/z = 217$  (100%,  $M^+$ ), 188 (57%,  $M^+ - \text{CHO}$ ), 160 (14%,  $188 - \text{CO}$ ), 131 (13%,  $160 - 29$ ), 115(8%).

$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ( 217.23 ):	ber.: C 66.01%	H 5.10%	N 6.45%
	gef.: C 65.75%	H 4.97%	N 6.21%

### **8,10-Dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-5H-[1]benzopyrano[3,4-c]pyridin-5-on (8b)**



2 g (16 mmol) Phloroglucin **1c** werden mit 3.0 g (16 mmol) 3-Methoxycarbonyl-4-piperidonhydrochlorid nach der Methode E umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus Ethanol/Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 2.35 g (62% d. Th.)

Schmelzpunkt: 293 °C (Zers.)

IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 3500 (b,  $\nu$  NH), 3038 (br.,  $\nu$  OH), 1698 (s,  $\nu$  C=O), 1616 (s,  $\nu$  C=C).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 3.09$  ppm (d, 2H,  $J = 4.5$  Hz, H-3,3'), 3.14 ppm (d, 2H,  $J = 4.8$  Hz, H-4,4'), 3.70 ppm (m, 2H, H-1,1'), 5.11-8.47 ppm (br.m, 5H, 2x OH, NH,  $\text{D}_2\text{O}$  Austausch, H-7, H9).

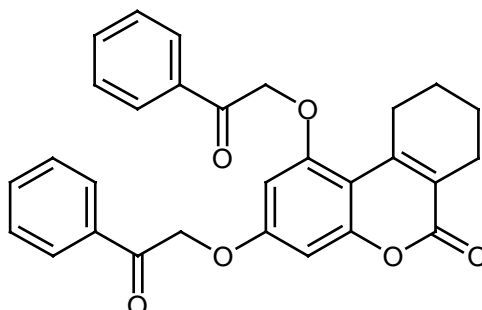
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6 - \text{D}_2\text{O}$ -Austausch):  $\delta = 3.09$  ppm (2H, H-3,3'), 3.17 (2H, H-4,4'), 3.72 ppm (2H, H-4,4'), 6.23 und 6.30 ppm (2x s, 2H, H-7, H-9).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 26.98$  ppm (-C1), 40.33 und 41.50 ppm (-C2 und -C4), 94.35 ppm (-C7), 99.44 ppm (-C10), 101.05 ppm (-C10a), 111.92 ppm (-C4a), 147.99 ppm (-C1a), 154.65 ppm (-C10), 157.44 (-C6a), 159.01 ppm (-C8), 160.42 ppm (-C5).

MS (70 eV):  $m/z = 204$  (8%,  $M^+ - \text{CHO}$ ), 176 (9%,  $204 - \text{CO}$ ), 147 (8%,  $176 - \text{CHO}$ ), 115 (7%), 91(15%), 43 (100%).

$C_{12}H_{11}NO_4$ ( 233.23 ):	ber.: C 61.79%	H 4.75%	N 5.96%
	gef.: C 61.42%	H 4.36%	N 5.87%

**1,3-Diphenacyloxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9s)\***



1.5 g (6.5 mmol) **9c** werden in 15 ml trockenem Aceton gelöst, mit 1.9 g (13 mmol)  $K_2CO_3$ , 1.5 g (10 mmol)  $\omega$ -Chloracetophenon, gelöst in 5 ml Aceton, versetzt und 5 h unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionslösung auf 100 g Eis /Wasser gegeben und mit 3N HCl auf pH 3 eingestellt. Die dabei ausgefallene Substanz wird abgesaugt, mehrfach mit Wasser gewaschen und aus Ethanol/Aceton (2:1) umkristallisiert.

Ausbeute: 1.25 g (41.1% d. Th.)

Schmelzpunkt: 204-205 °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]): 2932 (w, v  $-CH_2-$ ), 1710 (s, v  $C=O$ ), 1598 (m, v  $C=C$ ), 1298 (w), 958 (s,  $\delta =CH-$ ), 758 (m,  $\delta -CH_2-$ ), 680 (s,  $\delta =CH-$ ).

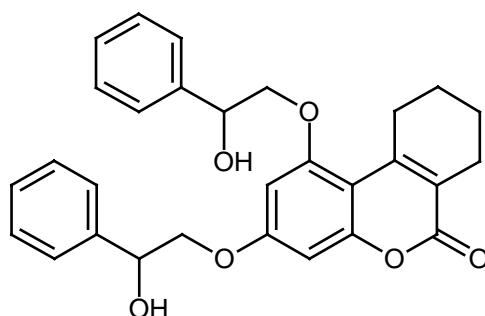
$^1H$ -NMR (300 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 1.68 ppm (br. s, 4H, H-8/8', H-9/9'), 2.41 ppm (br. s, 2H, H-7/7'), 3.19 ppm (br. s, 2H, H-10/10'), 5.66 und 5.74 ppm (2x s, 2x  $PhCOCH_2-O-Ar$ ), 6.69 ppm (s, 1H, H-2), 6.71 ppm (s, 1H, H-4), 7.57 ppm (br. t, 4H,  $^4J = 1.8$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz, Ph: H-3'/5'), 7.69 ppm (br. t, 2H,  $^3J = 7.7$  Hz, Ph: H-4'), 8.03 ppm (br. t, 4H,  $^3J = 7.9$  Hz, Ph: H-2'/6').

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 20.72 und 21.80 ppm ( $-C8$  und  $-C9$ ), 24.25 ppm ( $-C7$ ), 29.46 ppm ( $-C10$ ), 70.38 und 70.89 ppm (2x  $PhCOCH_2-O-Ar$ ), 94.51 ppm ( $-C2$ ), 97.66 ppm ( $-C4$ ), 104.66 ( $-C1a$ ), 118.47 ppm ( $-C6a$ ), 127.85 und 127.89 ppm (2x Ph:  $-C3'/5'$ ), 128.77 und 128.79 ppm (Ph:  $-C2'/4'$ ), 133.81 und 133.84 ppm (2x Ph:  $-C4'$ ), 134.23 ppm (2x Ph:  $-C1'$ ), 149.34 ppm ( $-C10a$ ), 154.17 ppm ( $-C1$ ), 156.99 ppm ( $-C3$ ), 159.89 ppm ( $-C4a$ ), 160.39 ppm ( $-C6$ ), 193.60 und 193.64 ppm (2x  $PhCOCH_2-O-Ar$ ).

MS (70 eV):  $m/z = 468$  (4%,  $M^+$ ),  $350$  (6%,  $M^+ - 118$ ),  $330$  (19%,  $M^+ - 138$ ),  $276$  (40%),  $202$  (30%),  $105$  (100%,  $C_7H_5O^+$ ),  $77$  (27%,  $C_6H_5^+$ ),  $51$  (10%).

$C_{29}H_{24}O_6$  ( 468.51 ):           ber.: C 74.34%           H 5.20%  
   gef.: C 74.04%           H 5.42%

**1,3-Bis(2-hydroxy-2-phenylethoxy)-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[c]chromen-6-on (9t) \***



450 mg (1 mmol) **9s** werden mit 40 mg (1 mmol)  $NaBH_4$  in 20 ml trockenem Ethanol nach der Methode F umgesetzt.

Ausbeute:                               195 mg (40.3% d. Th.)

Schmelzpunkt:                       179-180 °C

IR (KBr [ $cm^{-1}$ ]):               3508 (br.,  $\nu$  OH), 2928 (m,  $\nu$  - $CH_2$ -), 1662 (s,  $\nu$  C=O), 1596 (s,  $\nu$  C=C), 1176 (s)

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 1.61$  ppm ( br. s, 4H, H-8,8'/H-9,9'), 2.08 ppm (br. s, 2H, H-7,7'), 2.73 ppm (br. s, 2H, H-10,10'), 4.10 und 4.19 ppm (d, 4H,  $^3J = 5.0$  Hz, 2x - $CH(OH)CH_2$ -O-), 4.92 und 4.99 ppm (d, 2H,  $^3J = 4.5$  Hz, 2x - $CH$ -OH), 5.65 ppm (t, 2H,  $^3J = 4.5$  Hz, 2x OH,  $D_2O$  Austausch), 6.46 ppm (s, 1H, H-2), 6.48 ppm (s, 1H, H-4), 7.29 ppm (br. t, 4H,  $^3J = 7.1$  Hz, 2x Ar'-H3',5'), 7.35 ppm (br. tt, 2H,  $^4J = 1.6$  Hz,  $^3J = 5.9$  Hz, 2x Ar'-H4'), 7.46 ppm (br. d, 4H,  $^3J = 7.5$  Hz, 2x Ar'-H2',6').

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 20.68$  und  $21.68$  ppm (-C8 und -C9), 24.17 ppm (-C7), 29.35 ppm (-C10), 70.52 und 70.72 ppm (2x Ph $CH(OH)CH_2$ -O-Ar), 73.34 und 74.03 ppm (2x Ph $CH(OH)CH_2$ -O-Ar), 94.42 ppm (-C2), 96.37 ppm (-C4), 104.08 ppm (-C1a), 117.86 ppm (-C6a), 126.44 und 126.49 ppm (2x Ph: -C2'/6'), 127.23 und 127.26 ppm (2x -C4'), 127.97

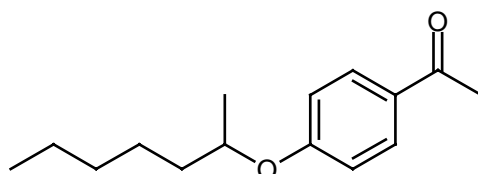
und 128.01 ppm (Ph: -C3'/5'), 142.08 und 142.28 ppm (2x Ph: -C1'), 149.39 ppm (-C10a), 154.10 ppm (-C1), 157.71 ppm (-C3), 160.39 ppm (-C4a), 160.49 ppm (-C6).

Die genaue Zuordnung erfolgte mit Hilfe eines DEPT-135, einer direkten C,H-Korrelation und eines CH-COLOC.

MS (70 eV): m/z = 472 (6%, M<sup>+</sup>), 232 (75%, M<sup>+</sup> -2x C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sup>+</sup>), 204 (32%, 232-CO), 176 (16%, 204-CO), 91 (100%), 77 (92%, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>).

C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub> ( 472.54 ):	ber.: C 73.7%	H 6.00%
	gef.: C 73.41%	H 6.21%

#### 4-(1'-Methylhexyloxy)-acetophenon (10a)

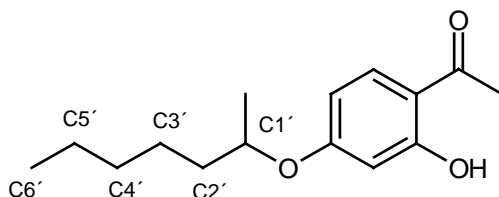


2.7 g (20 mmol) p-Hydroxyacetophenon werden 2.2 g (20 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 3.9 g (20 mmol) Methansulfonsäure-2-heptylester nach der Methode B umgesetzt. Das Rohprodukt ist ein gelbes Öl, und wird über eine kurze Säule chromatographisch gereinigt (20x 4.5, Ethylacetat: Cyclohexan, 1:1). Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 2.1 g (44.9% d. Th.)

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.89 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, CH<sub>3</sub>-Alkyl), 1.19-1.79 ppm (m, 11H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 2.54 ppm (s, 3H, CH<sub>3</sub>-CO-Ar), 4.45 ppm (tq, 1H, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 6.91 ppm (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H-2/H-6</sub> = 8.7 Hz, H-2/H-6), 7.92 ppm (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H-5/H-3</sub> = 8.7 Hz, H-3/H-5).

MS (70 eV): m/z = 234 814%, M<sup>+</sup>), 136 (26%, M<sup>+</sup> -98 ,Alkyl ), 121 (100%, M<sup>+</sup> -98,-CH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 93 (7%, 136 -COCH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 77 (5%, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>).

**2-Hydroxy-4-(1'-methylhexyloxy)acetophenon (10b) \***

3 g (20 mmol) Dihydroxyacetophenon werden mit 5.5 g (40 mmol)  $K_2CO_3$  und 3.9 g (20 mmol) Methansulfonsäure-2-heptylester nach der Methode B umgesetzt. Das Rohprodukt ist ein Gemisch und wird zur Reinigung über eine kurze Säule filtriert (20x 4.5, Ethylacetat:Cyclohexan, 1:1). Das Produkt ist ein oranges Öl.

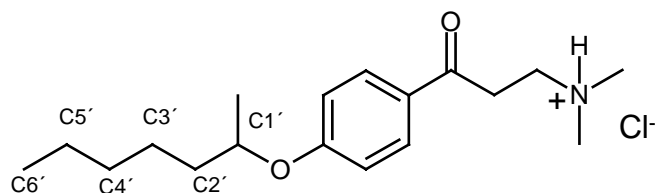
Ausbeute: 3.4 g (68% d. Th.)

$^1H$ -NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.85 ppm (t,  $^3J$  = 6.6 Hz,  $\underline{CH}_3(CH_2)_4CH(CH_3)$ -O-Ar), 1.24-1.37 ppm (m, 9H,  $\underline{CH}_3(CH_2)_3CH_2CH(CH_3)$ -O-Ar), 1.54-1.65 ppm (m, 2H,  $C_4H_9\underline{CH}_2CH(CH_3)$ -O-Ar), 2.56 ppm (s, 3H,  $\underline{CH}_3CO$ -Ar), 4.57 ppm (tq, 1H,  $C_5H_{11}\underline{CH}(CH_3)$ -O-Ar), 6.43 ppm (d, 1H,  $^4J_{H-3/H-5}$  = 2.4 Hz, H-3), 6.49 ppm (dd, 1H,  $^4J_{H-5/H-3}$  = 2.4 Hz,  $^3J_{H-5/H-6}$  = 8.9 Hz, H-5), 7.81 ppm (d, 1H,  $^3J_{H-6/H-5}$  = 8.9 Hz, H-6), 12.65 ppm (s, 1H, -OH,  $D_2O$ -Austausch).

$^{13}C$ -NMR (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.06 ppm (C6'), 19.64 ppm ( $C_5H_{11}CH(\underline{CH}_3)$ -O-Ar), 22.50 ppm (C5'), 25.39 ppm (C4'), 26.70 ppm ( $\underline{CH}_3CO$ -Ar), 31.71 ppm (C3'), 38.15 ppm (C2'), 73.63 ppm (C1'), 102.08 ppm (-C3), 107.93 ppm (-C5), 120.78 ppm (-C1), 133.62 ppm (-C6), 163.80 ppm (-C2), 164.14 ppm (-C4), 202 ppm ( $CH_3CO$ -Ar).

MS (70 eV):  $m/z$  = 250 (10%,  $M^+$ ), 152 (100%,  $M^+ - C_7H_{15}^+$ ), 137 (87%, 152  $-CH_3^+$ ), 57 (23%), 43 (35%).

H.R.M.S.:	ber.:	$C_{15}H_{22}O_3$	250.15689
		$C_{14}^{13}CH_{22}O_3$	251.16025
	gef.:	$C_{15}H_{22}O_3$	250.15680
		$C_{14}^{13}CH_{22}O_3$	251.16020

**$\beta$ -Dimethylamino-4-(1'-methylhexyloxy)propiophenon-hydrochlorid (10c) \***

2.2 g (10 mmol) **10a** werden in 40 ml Ethanol gelöst, mit 600 mg (17 mmol) Paraformaldehyd und 900 mg (10 mmol) Dimethylammoniumchlorid versetzt und unter Rückfluß 2h gerührt. Zu dieser Lösung werden dann 3 Tropfen konz. HCl zugetropft. Es wird heiß filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. eingengt. Die trübe Lösung wird dann einen Tag lang bei 4 °C aufbewahrt. Der weiße Niederschlag wird abgesaugt, mehrmals mit kaltem Wasser sowie Ether gewaschen und anschließend aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 2 g (68.7% d. Th.)

Schmelzpunkt: 45 °C

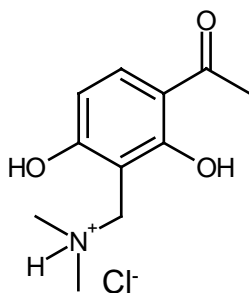
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.85 ppm (t, 3H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 1.25-1.71 ppm (m, 11H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 2.77 ppm (s, 6H,  $\text{-NH}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.57 ppm (t, 2H,  $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 4.61 ppm (tq, 1H,  $^3\text{J} = 5.9$  Hz,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 7.06 ppm (d, 2H,  $^3\text{J} = 8.9$  Hz, H-2'/6'), 7.96 ppm (dd, 2H,  $^4\text{J} = 1.9$  Hz,  $^3\text{J} = 8.9$  Hz, H-3'/5'), 10.92 ppm (br. s, 1H, R-NH(CH $_3$ ) $_2^+$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13.83 ppm (C6'), 19.37 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 21.98 ppm (C5'), 24.38 ppm (C4'), 31.10 ppm (C3'), 32.63 ppm ( $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 33.93 ppm ( $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 35.56 ppm (C2'), 51.83 ppm ( $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 78.29 ppm (C1'), 115.10 ppm (C3',5'), 128.46 ppm (-C1'), 130.45 ppm (-C2',6'), 162.18 ppm (-C4'), 194.90 ppm (Ar-CO-R).

MS (EI, 70 ev)  $m/z$  = 291 (8%,  $\text{M}^+$ ), 246 (14%,  $\text{M}^+ - \text{NH}(\text{CH}_3)_2^+$ ), 148 (56%, 246 -  $\text{C}_7\text{H}_{15}$ ), 121 (100%, 148 - 27), 103 (3%), 93(7%), 72(9%).

H.R.M.S:	ber.: $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_2$	291.21982
	$\text{C}_{17}^{13}\text{CH}_{29}\text{NO}_2$	292.22318
gef.:	$\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_2$	291.21970
	$\text{C}_{17}^{13}\text{CH}_{29}\text{NO}_2$	292.22310



**3-Dimethylaminomethyl-2,4-dihydroxyacetophenonhydrochlorid (10d) \***

2 g ( 13 mmol) Dihydroxyacetophenon werden in 20 ml DMF gelöst und mit 1.2 g (13 mmol) Eschenmosersalz versetzt. Die Reaktionslösung wird 4 h bei 120 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wird das Lösungsmittel i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird in Aceton aufgenommen. Der Niederschlag wird abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 1.9 g (69.8 % d. Th.)

Schmelzpunkt: 231 °C (Zers.)

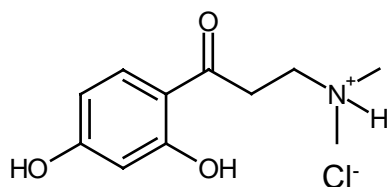
IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 2872 (m,  $\nu$  N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1620,1540 (m,  $\nu$  C=C), 1290 (s), 1160(s).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 2.57 ppm (s, 3H, CH<sub>3</sub>-CO-Ar), 2.73 ppm (br. s, 6H, Ar-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.17 ppm (br. s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6.78 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8.9 Hz, H-5), 7.93 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8.9 Hz, H-6), 10.01 ppm (br. s, 1H, OH, D<sub>2</sub>O-Austausch), 12.07 ppm (m, 1H, -OH, D<sub>2</sub>O-Austausch), 13.55 ppm (br. s, 1H, -NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup>, D<sub>2</sub>O-Austausch).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 26.13 ppm (Ar-COCH<sub>3</sub>), 42.43 ppm (2x Ar-CH<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 48.52 ppm (Ar-CH<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 103.63 ppm (-C3), 107.61 ppm (-C6), 112.20 ppm (-C1), 134.86 ppm (-C5), 163.41 ppm (-C2), 164.39 ppm (-C4), 203.64 ppm (Ar-COCH<sub>3</sub>).

MS (70 eV): m/z = 209 (7%, M<sup>+</sup>), 194 (24 %, M<sup>+</sup> -CH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 149 (6%, M<sup>+</sup> - NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 44 (100%).

C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub> (209.25) · HCl:	ber.: C 53.98%	H 6.18%	N 5.72%
	gef.: C 53.76%	H 6.56%	N 5.70%

**$\beta$ -Dimethylamino-2,4-dihydroxypropiophenon-hydrochlorid (10e)**

3.80 g (25 mmol) 2,4-Dihydroxyacetophenon, 2.36 g (32 mmol) Dimethylaminhydrochlorid, 1.0 g (3.3 mmol) Paraformaldehyd und 25 ml 95% Ethanol werden unter Zusatz von 50  $\mu$ l 37%ige HCl 2 h auf dem Dampfbad erhitzt. Die Mischung wird noch heiß mit 300 ml Aceton versetzt und 3 Tage bei 4 °C stehengelassen. Das auskristallisierte Hydrochlorid wird abgesaugt und mit Aceton nachgewaschen. Um beigemengtes Dimethylaminhydrochlorid zu entfernen, wird die Substanz 2x aus Ethanol umkristallisiert.

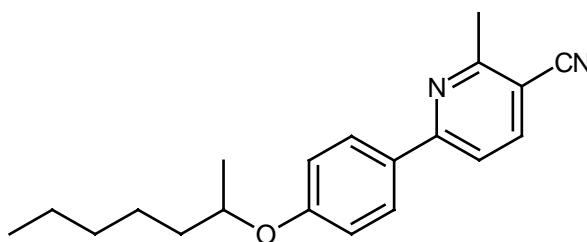
Ausbeute: 700 mg (11.4% d. Th.)

Schmelzpunkt: 204-205 °C

Lit.: 205.5-206 °C (Zymalkowski et al. 1966)

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.86 ppm (s, 6H,  $-\text{NH}(\text{CH}_3)_2^+$ ), 3.40 ppm (m, 2H,  $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.68 ppm (m, 2H,  $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ), 6.37 ppm (d,  $^4J_{\text{H-3/H-5}} = 2.2$  Hz, H-3), 6.45 ppm (d,  $^4J_{\text{H-5/H-3}} = 2.2$  Hz,  $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 8.8$  Hz, H-5), 7.80 ppm (d, 1H,  $^3J_{\text{H-6/H-5}} = 8.8$  Hz, H-6), 10.90 ppm (br. s, 2H, 2x OH,  $\text{D}_2\text{O}$  Austausch), 12.07 (s, 1H,  $-\text{NH}(\text{CH}_3)_2^+$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 33.01 ppm (2x  $-\text{NH}(\text{CH}_3)_2^+$ ), 42.17 ppm ( $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ), 51.66 ppm ( $\text{ArCOCH}_2\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ), 102.48 ppm (-C1), 108.43 ppm (-C3), 112.51 ppm (-C5), 132.79 ppm (-C6), 163.73 und 165.17 ppm (-C2 und -C4), 199.66 ppm ( $\text{ArCO}(\text{CH}_2)_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ).

**3-Cyano-2-methyl-6-(*p*-2-heptyloxy)phenyl-pyridin (11a)\***

2.1 g (7 mmol) **10c** werden in 20 ml Ethanol gelöst und bei RT langsam mit 800 mg (10 mmol)  $\beta$ -Aminocorotonsäurenitril versetzt. Die Reaktionslösung wird auf 80 °C 5 h unter Rühren erhitzt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. einrotiert, der Rückstand in wenig Ethylacetat:Cyclohexan aufgenommen und zur Reinigung chromatographiert. (40x 2.5,  $R_f$  = 0.85, Ethylacetat:Cyclohexan 1:1).

Ausbeute: 200 mg (10 % d. Th.)

Schmelzpunkt: 275 °C (Zers.)

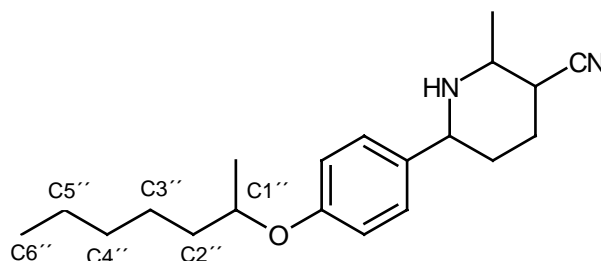
IR (KBr [ $\text{cm}^{-1}$ ]): 2788 (w,  $\nu$  -CH<sub>2</sub>-aliph), 2210 (m,  $\nu$  -CN), 1658 (m,  $\nu$  C=C), 1414 (w), 1200(w), 724(s).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.85 ppm (t, 3H, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 1.25-1.59 ppm (m, 11H, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 2.80 ppm (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 4.45 ppm (tq, 1H, <sup>3</sup>J=6.0 Hz, C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-O-Ar), 6.97 ppm (dd, 2H, <sup>4</sup>J<sub>H2'-H6'</sub> = 2. Hz, <sup>3</sup>J<sub>H-2'/H-3'</sub> = 6.9 Hz, H-2'/6'), 7.57 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-4/H-5</sub> = 8.2 Hz, H-4), 7.86 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H5-H4</sub> = 8.2 Hz, H-5), 8.00 ppm (dd, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H-3'/H-5'</sub> = 2.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H-3'/H-2'</sub> = 6.9 Hz, H-3'/5').

MS (70 eV): m/z = 308 (10%, M<sup>+</sup>), 210 (100%, M<sup>+</sup> -C<sub>7</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>), 181 (10%), 195 (10%, 210 - CH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 57 (28%), 41 (42%).

H.R.M.S.:	ber.: C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	308.18887
	C <sub>19</sub> <sup>13</sup> CH <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	309.19223
	gef.: C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	308.18860
	C <sub>19</sub> <sup>13</sup> CH <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	309.19200

### 3-Cyano-2-methyl-6-(p-2-heptyloxy)phenyl-piperidin (12) \*



200 mg (0.65 mmol) **11a** werden mit 250 mg (4.2 mmol) Na(BH<sub>3</sub>)CN in 10 ml Eisessig nach der Methode D umgesetzt. Das ölige Rohprodukt war ein Gemisch aus Edukt und Produkt,

das zur Reinigung und Trennung chromatographiert wurde (40x 2.5, Ethylacetat:Cyclohexan, 3:1,  $R_f = 0.64$ ). Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 100 mg (50 % d. Th.)

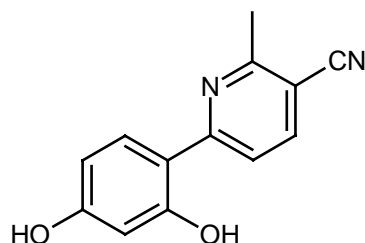
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.85$  ppm (t, 3H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 1.18-1.75 ppm (m, 16 H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ , Ar- $\text{CH}_3$ , H-3,3'), 2.16 ppm (mc, 1H,  $^4\text{J} = 3.6$  Hz, H-4), 2.35 ppm (mc,  $^4\text{J} = 3.7$  Hz, H-4'), 2.81 ppm (mc,  $^3\text{J} = 6.1$  Hz, H-3), 3.53 (mc,  $^4\text{J} = 1.8$  Hz,  $^3\text{J} = 9.3$  Hz, H-2), 4.35 ppm (tq,  $^3\text{J} = 5.8$  Hz,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 6.82 ppm (d, 2H,  $^3\text{J} = 8.6$  Hz, H-2/6), 7.21 ppm (d, 2H,  $^3\text{J} = 8.6$  Hz, Ar-H-3/5).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 13.84$  ppm ( $\text{C6}''$ ), 19.55 ppm ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-O-Ar}$ ), 20.46 ppm (Ar- $\text{CH}_3$ ), 22.01 ppm ( $\text{C5}''$ ), 24.53 und 28.70 ppm ( $\text{C4}''$  und  $-\text{C5}$ ), 31.17 ppm ( $\text{C3}''$ ), 32.73 und 34.17 ppm ( $-\text{C4}$  und  $-\text{C3}$ ), 35.79 ppm ( $\text{C2}''$ ), 54.27 und 59.36 ppm ( $-\text{C2}$  und  $-\text{C6}$ ), 72.86 ppm ( $\text{C1}''$ ), 115.17 ppm ( $\text{C2}',6'$ ), 121.75 ppm ( $\text{C3}',5'$ ), 127.58 ppm ( $-\text{CN}$ ), 136.51 ppm ( $-\text{C1}'$ ), 156.64 ppm ( $-\text{C4}$ ).

MS (70 eV):  $m/z = 314$  (24%,  $\text{M}^+$ ), 286 (6%,  $\text{M}^+ - 28$ ), 274 (11%), 246 (12%,  $\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9\text{CN}$ ), 218 (60%,  $\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{15}$ ), 187 (7%), 173 (10%), 120 (100%).

H.R.M.S.:	ber.:	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}$	314.23581
		$\text{C}_{19}^{13}\text{CH}_{30}\text{N}_2\text{O}$	315.23917
	gef.:	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}$	314.23520
		$\text{C}_{19}^{13}\text{CH}_{30}\text{N}_2\text{O}$	315.23890

### 3-Cyano-2-methyl-6-(2,4-dihydroxyphenyl)pyridin (11b) \*



200 mg (0.8 mmol) **10e** werden mit 200 mg (1 mmol)  $\beta$ -Aminocrotonsäurenitril in 6 ml Ethanol nach der Methode G umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 110 mg (61.1% d. Th.)

Schmelzpunkt: 244 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3062 (s, ν OH), 2208 (s, ν CN), 1586, 1486 (s, ν C=C), 1224 (m), 1114(m), 854 (m).

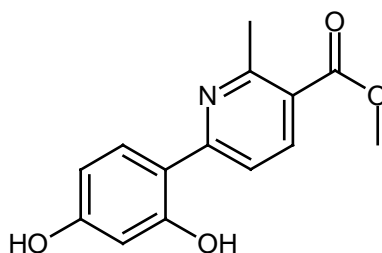
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.69 ppm (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.31 ppm (s, 1H, H3'), 6.40 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-5'/H-6'</sub> = 7.4 Hz, H-5'), 7.89 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-4/H-5</sub> = 8.8 Hz, H-4), 8.00 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-5/H-4</sub> = 8.5 Hz, H-5), 8.22 ppm (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H-6'/H-5'</sub> = 7.4 Hz, H-6'), 9.91 und 13.58 ppm (br. s, 2H, 2x OH, D<sub>2</sub>O-Austausch).

<sup>13</sup>C-NMR (75.5 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 22.89 ppm (-CH<sub>3</sub>), 103.47 ppm (-C3'), 103.06 ppm (C1'), 108.20 ppm (-C5), 110.21 ppm (-C3), 116.40 ppm (-C5'), 117.13 ppm (-CN), 129.75 ppm (-C6'), 141.35 ppm (-C4), 158.72 ppm (-C4'), 159.60 ppm (-C2'), 161.63 und 161.88 ppm (-C2 und -C6).

MS (70 eV): m/z = 226 (100%, M<sup>+</sup>), 211 (4%, M<sup>+</sup> -CH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 197 (5%, M<sup>+</sup> -29), 169 (37%, M<sup>+</sup> -CN, -CH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 155 (8%, M<sup>+</sup> -71), 142(6%), 109 (7%, M<sup>+</sup> -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>).

C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ( 226.24 ) · H <sub>2</sub> O :	ber.: C 64.00%	H 4.91%	N 11.47%
	gef.: C 64.38%	H 4.70%	N 11.40%

### 2-methyl-(2,4-dihydroxy)-phenyl-pyridin (11c) \*



500 mg (2.6 mmol) **10e** werden mit 410 mg (3.5 mmol) β-Aminocrotonsäuremethylester in 10 ml Ethanol nach der Methode G umgesetzt. Das Produkt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 253 mg (42.5% d. Th.)

Schmelzpunkt: 243-245 °C

IR (KBr [cm<sup>-1</sup>]): 3416 (s, ν OH), 1708 (s, ν C=O), 1620, 1582 (s, ν C=C), 1162(m), 778 (s, δ =CH)

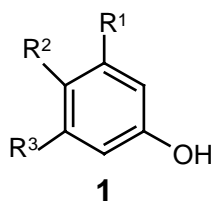
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 2.76$  ppm (s, 3H,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 3.86 ppm (s, 3H, Ar- $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 6.30 ppm (s, 1H,  $^4\text{J}_{\text{H-3}'/\text{H-5}'} = 2.4$  Hz, H-3'), 6.39 ppm (d, 1H,  $^4\text{J}_{\text{H-5}'/\text{H-3}'} = 2.4$  Hz,  $^3\text{J}_{\text{H-5}'/\text{H-6}'} = 8.7$  Hz, H-5'), 7.85 ppm (d, 1H,  $^3\text{J}_{\text{H-4}/\text{H-5}} = 8.8$  Hz, H-4), 7.93 ppm (d, 1H,  $^3\text{J}_{\text{H-5}/\text{H-4}} = 8.7$  Hz, H-5), 8.25 ppm (d, 1H,  $^3\text{J}_{\text{H-6}'/\text{H-5}'} = 8.6$  Hz, H-6'), 10.01 und 14.41 ppm (br. s, 2H, 2x OH,  $\text{D}_2\text{O}$  Austausch).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75.5 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 23.98$  ppm ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 52.17 ppm (Ar- $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 103.47 ppm ( $-\text{C}3'$ ), 107.82 und 109.96 ppm ( $-\text{C}4$  und  $-\text{C}5$ ), 115.84 ppm ( $-\text{C}5'$ ), 120.91 ppm ( $-\text{C}6'$ ), 129.06 ppm ( $-\text{C}3$ ), 139.69 ppm ( $-\text{C}1'$ ), 156.40 und 159.31 ppm ( $-\text{C}2'$  und  $-\text{C}4'$ ), 161.46 und 161.89 ppm ( $-\text{C}6$  und  $-\text{C}2$ ), 165.56 ppm (Ar- $\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$ ).

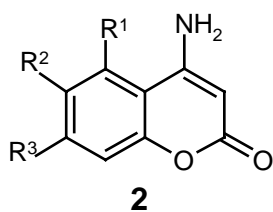
MS (70 eV):  $m/z = 259$  (100%,  $\text{M}^+$ ), 244 (9%,  $\text{M}^+ - \text{CH}_3^+$ ), 228 (12%,  $\text{M}^+ - \text{OCH}_3^+$ ), 200 (17%,  $228 - \text{CO}$ ), 172 (5%), 142 (5%), 77 (6%).

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ ( 259.27 ):	ber.: C 64.85%	H 5.05%	N 5.40%
	gef.: C 64.49%	H 5.16%	N 5.37%

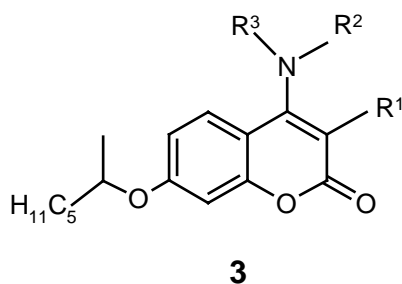
## 10. Codierung der Verbindungen:



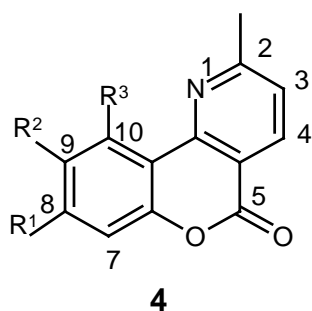
- 1a  $R^1 = \text{OH}, R^2 = R^3 = \text{H}$   
 1b  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{H}$   
 1c  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$



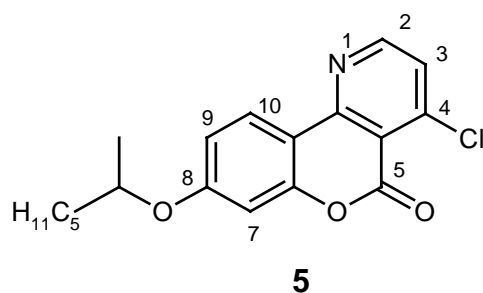
- 2a  $R^1 = R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$   
 2b  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{OH}$   
 2c  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$   
 2d  $R^1 = R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}$   
 2e  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}$   
 2f  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}$   
 2g  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}_2\text{COPh}$   
 2h  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$



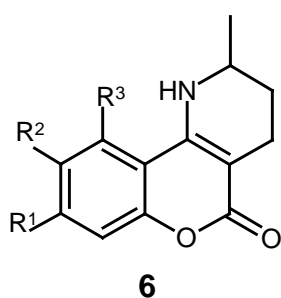
- 3a  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{COCH}_3$   
 3b  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{COCH}_3, R^3 = \text{COCH}_3$   
 3c  $R^1 = \text{COCH}_3, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$   
 3d  $R^1 = \text{CHO}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$



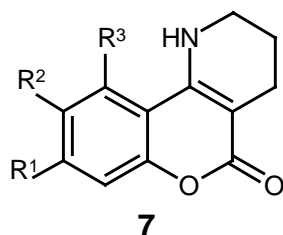
- 4b  $R^1 = \text{OH}, R^2 = -\text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{H}$   
 4c  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$   
 4d  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$   
 4e  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^2 = -\text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{H}$   
 4f  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$   
 4g  $R^1 = -\text{OCH}_2\text{COPh}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$   
 4h  $R^1 = -\text{OCH}_2\text{COPh}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$



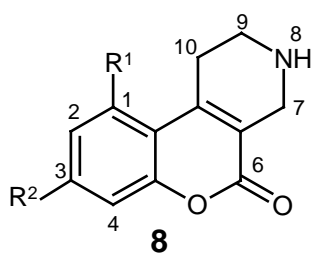
- 5  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$



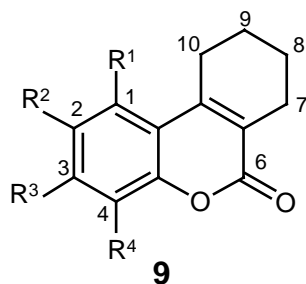
- 6b  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{H}$   
 6c  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$   
 6d  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$   
 6e  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}, R^2 = \text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{H}$   
 6f  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$   
 6g  $R^1 = -\text{OCH}_2\text{COPh}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$   
 6h  $R^1 = -\text{OCH}_2\text{COPh}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$



- 7  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{13}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$

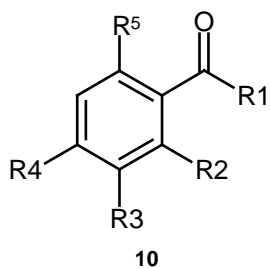


- 8a  $R^1 = \text{H}; R^2 = \text{OH}$   
 8b  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{OH}$

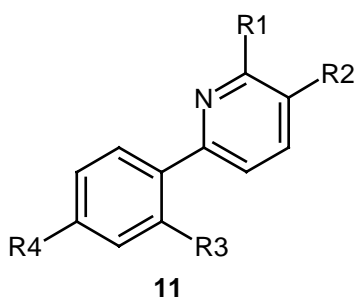


- 9a  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{H}$ ,  
 9b  $R^1 = \text{H}, R^2 = -\text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{H}$   
 9c  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{H}$   
 9d  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^4 = \text{H}$   
 9e  $R^1 = \text{H}, R^2 = -\text{C}_6\text{H}_{13}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^4 = \text{H}$   
 9f  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^4 = \text{H}$   
 9g  $R^1 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}, R^4 = \text{H}$   
 9h  $R^1 = -\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3, R^4 = \text{H}$   
 9i  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{COCH}_3, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{COCH}_3$   
 9j  $R^1 = -\text{O}(\text{CO})\text{C}_5\text{H}_{11}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{O}(\text{CO})\text{C}_5\text{H}_{11}, R^4 = \text{H}$   
 9k  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3, R^4 = \text{H}$   
 9l  $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{COCH}_3$ ,  
 9m  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{COCH}_3$ ,  
 9n  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3, R^4 = \text{H}$   
 9o  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{Br}$   
 9p  $R^1 = -\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3, R^4 = \text{Br}$   
 9q  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{NO}_2$   
 9r  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{Br}, R^3 = \text{OH}, R^4 = \text{Br}$   
 9s  $R^1 = -\text{OCH}_2(\text{CO})\text{Ph}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OCH}_2(\text{CO})\text{Ph}, R^4 = \text{H}$   
 9t  $R^1 = -\text{OC}_2\text{H}_3(\text{OH})\text{Ph}, R^2 = \text{H}, R^3 = -\text{OC}_2\text{H}_3(\text{OH})\text{Ph}, R^4 = \text{H}$

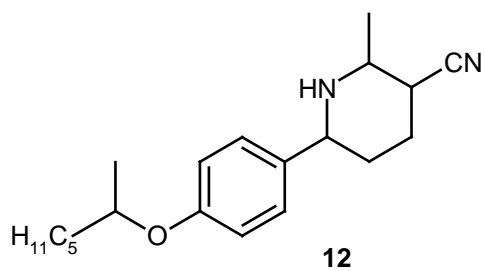




- 10a  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}, R^4 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$   
 10b  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{OH}, R^3 = R^5 = \text{H}, R^4 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$   
 10c  $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2, R^2 = R^3 = R^5 = \text{H}, R^4 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$   
 10d  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2, R^4 = R^5 = \text{OH}$   
 10e  $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}, R^4 = \text{OH}$



- 11a  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{CN}, R^3 = \text{H}, R^4 = -\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{C}_5\text{H}_{11}$   
 11b  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{CN}, R^3 = R^4 = \text{OH}$   
 11c  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{CO}_2\text{CH}_3, R^3 = R^4 = \text{OH}$



12

## 11. Literaturverzeichnis

**Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M. (1995)** *Molekularbiologie der Zelle*, Hrsg.

Weinheim: VHC Verlagsgesellschaft

**Amin C.G., Shah N.M. (1972)** 2,5-Dihydroxyacetophenone, *Organic Synthesis Coll. Vol. 3*,

Wiley-Intrescienc, NewYork

**Anker R.M., Cook A.H. (1946)** Experiments in the Piperidine Series PartIII, *J. Chem. Soc.*, 58-62

**Anthony W.C. (1960)** New Synthesis of heterocyclic Ketons, *J. Org. Chem.*, **25**, 2049-2053

**Azzi L., Meijer L., Reed S. I., Pidikiti R., Tung H.Y.L. (1992)** Interaction between the cell-cycle control proteins p34cdc2 and p9<sup>CKShs2</sup>. Evidence for two cooperative binding domains in p9<sup>CKSks2</sup>, *Eur. J. Biochem.*, **203**, 353-360

**Ball K.L. (1997)** p21: structure and functions associated with cyclin-CDK binding, *Progress in Cell Cycle Research*, **3**, 125-134

**Baratte B., Meijer L., Galaktinov K., Beach D. (1992)** Screening for antimittitic compounds using the cdc25 tyrosine phosphatase, an activator of the mitosis-inducing p34cdc2/Cyclin Bcdc13 protein kinase, *Anticancer Res.*, **12**, 873-880

**Berry L.D., Gould K.L. (1996)** Regulation of cdc2 activity by phsophorylation at T14/Y15, *Progress in Cell Cycle Research*, Vol.2, 99-106

**Bindra J.S. (1964)** U.S. PAT. 4,143,139 Pfizer INC, New York

**Blundell T.L., Johnson L.N. (1976)** *Proteincrystallography*, Academic Press, London

**Böhme H.-J., Klebe G., Kubiniyi H. (1996)** *Wirkstoff Design*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford

**Booker E., Eisner U. (1975)** Reduction of 3,5-Disubstituted Pyridines to Dihydropyridins, *J. Chem. Soc.Perkin Trans. I*, 929-931

**Borch R.F., Bernstein M.D., Durst H.D. (1971)** The Cyanohydridoborate Anion as a Selective Reducting Agent, *J.Amer. Chem. Soc.*, **93**, 2897-2904

**Borgne A., Ostvold A.C., Flament S., Meijer L. (1999)** Intra-M-phase-promoting factor phosphorylation of cyclin B at the prophase/metaphase transition, *J. Biol. Chem.*, **274**, 11977-11986

**Bosshard H.H., Zollinger H. (1959)** Die Synthese von Aldehyden und Ketonen mit Amidchloriden und Vilsmeier-Reagenzien, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 1659-1671

- Borttherron D.H., Dhanaraj V., Wick S., Brizuela L., Domaille P.J., Volyanik E., Xu X., Parisini E., Smith B.O., Archer S.J., Serrano M., Brenner S.L., Blundell T.L., Laue E.D. (1998)** Crystal structure of the complex of the cyclin D-dependent kinase Cdk6 bound to the cell-cycle inhibitor p19INK4d., *Nature*, **395**, 244
- Budzikiewicz H., Djerassi C., Williams D. H. (1964)** Structure elucidation of natural products by mass spectrometry, Vol. 2, Holden-Day, San Francisco
- Buolamwini J.K. (2000)** Cell cycle molecular targets in novel anticancer drug discovery, *Curr. Pharm. Des.*, **6**(4), 379-392
- Cheng L., Rossi F., Mori T., Cobrik D. (2000)** CDK2-dependent phosphorylation and functional inactivation of the pRB-related p130 protein in pRB(-), p16INK4A(+) tumor cells, *J. Bio. Chem.*, **275**(39), 30317-30325
- Chun K.T., Mathias N., Goebel M. G. (1996)** Ubiquitin-dependent proteolysis and cell cycle control in yeast, *Progress in Cell Cycle Research*, Vol. **2**, 115-127
- Confalone P.N., Confalone D.L. (1983)** The Design and Synthesis of Monofunctional Psoralens Structurally Related to Methoxsalen and Trioxsalen, *Tetrahedron*, **39**, 1265-1271
- Collins D.J., Fallon G.D., Staffa A., Tope H. (1996)** *Aust. J. Chem.*, **49**(6), 719-722.
- Conner D.T., Unangst P.C., Schwender C.F., Sorenson R.J., Carethers M.E., Puchalski C., Brown R.E. (1984)** Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydro-5H-[1]benzopyrano[3,4-c]pyridin-5-ones., 1,3-Unsubstitued Compounds, *J. Heterocycl. Chem.*, **21**, 1557.
- Conner D.T., Unangst P.C., Schwender C.F., Sorenson R.J., Carethers M.E., Puchalski C., Brown R.E., Finkel M.P., (1989)** 3-(Aminoalkyl)-1,2,3,4-tetrahydro-5H-[1]benzopyrano[3,4-c]pyridin-5-ones as Potential Anticholinergic Bronchodilators, *J. Med. Chem.*, **32**, 683-688
- Cox B., Waight R.D. (1989)** A Modified Synthesis of 4-Chromanones, *Synth. Commun.*, 709-710.
- Carchman R.A., Harris L.S., Munson A.E. (1976)** The inhibition of DNA synthesis by cannabinoids, *Cancer Res.*, **36**(1), 95-100
- Cussans N. J., Huckerby T.N. (1975)** Carbon-13 NMR spectroscopy of heterocyclic compounds - IV: A 20 MHz study of chemical shift and carbon-proton coupling constants in a series of hydroxy, methoxy and glucosyl coumarins, *Tetrahedron*, **31**, 2719-2726
- De Bondt H.L., Rosenblatt J., Jancarik J., Jonse H.D., Morgen D.O., Kim S.-H. (1993)** Crystal structure of cyclin dependent kinases 2, *Nature*, **363**, 595-602
- Dewar M.J.S., Zebisch E.G., Healy E.F., Stewart J.J.P. (1985)** AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 3902-3909
- Dietrich C. (1998)** Zellzyklus und Krebs, *Medizinische Monatsschrift*, **3**, 69-75

- Draetta G., Luca F., Westendorf J., Brizuela L., Rudermann J., Beach D. (1989)** Cdc2 protein kinase is complexed with both cyclin A and B: evidence for proteolytic inactivation of MPF, *Cell*, **56**, 829-838
- Draetta G., Pagano M. (1996)** Cell cycle control and cancer, *Annu. Rep. Med. Chem.*, **31**, 241-248
- Duddeck H., Kaiser M. (1982)** <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy of coumarin derivatives, *Org. Magn. Reson.*, **20**, 55-72
- Eliel E., Viehrhapper F.W. (1975)** Conformational Analysis. XXX Conformational Equilibrium of the N-Methyl Group in N-Methyl-trans-decahydroquinoline. The N-Methylpiperidine Problem, *J. Am. Chem. Soc.*, 2424-2430
- Eliel E., Kandasamy D., Yen C.-Y., Hargrave K. (1980)** Conformational Analysis. 39. <sup>13</sup>C Spectra of Saturated Heterocycles. 9. Piperidine and N-Methylpiperidine, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 3698-3707
- Fattaey A., Booher R. N. (1997)** Myt1: a Wee1-type kinase that phosphorylates cdc2 on residue Thr14, *Progress in Cell Cycle Research*, Vol. **3**, 233-240
- Fischer P.M., Lane D.P. (2000)** Inhibitors of cyclin-Dependent Kinases as Anti-Cancer Therapeutics, *Curr. Med. Chem.*, **7**(12), 1213-1245
- Fotedar R., Diederich L., Fotedar A. (1996)** Apoptosis and the cell cycle, *Progress in Cell Cycle Research*, Vol. **2**, 147-163
- Furet P., Zimmermann J., Capraro H.-G., Meyer T., Imbach P. (2000)** Structure-based design of potent CDK1 inhibitors derived from olomucine, *J. Comput.-Aided Mol. Design*, **14**, 403-409
- Glukser P., Lewis M., Rossi M. (1994)** *Crystal Structure Analysis for Chemist and Biologists*, VCH, Weinheim
- Greenhill J.V., Mohamad M.I. (1979)** Reactions between Enaminones and Enones, Part 1, Some unexpected products from the condensation of 3-Aminocyclohexenones with Methylvinylketone, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I*, 1411-1414
- Gribble G.W., Heald P.W., (1975)**, *Synthesis*, 650.
- Gu Y., Truck C.W., Morgan D.O. (1993)** Inhibition of CDK2 activity in vivo by an associated 20K regulatory subunit, *Nature*, **366**, 707-710
- Günther H., Prestian J., Joseph-Nathan P. (1975)** Carbon-13 NMR spectra of coumarin and Methoxycoumarins – a reinvestigation of charge density / chemical shift relations, *Org. Mag. Reson.* **7**, 339-344
- Günther H. (1992)** NMR-Spektroskopie, Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 3.Auflage
- Gussio R., Zaharevitz D.W., McGrath C.F., Pattabiraman N., Kellogg G.E., Schultz C., Link A., Kunick C., Leost M., Meijer L., Sausville E.A. (2000)** Structure-based design modifications of the paullone molecular scaffold for cyclin-dependent kinase inhibition, *Anticancer Drug Res.*, **15**(1), 53-66

**Hanks S. K., Quinn A.M. (1991)** *Methods Enzymol.*, **200**, 38-62

**Hanks S. K. (1994)** Hanks Classification: Proteinkinase Classification, [http://www.sdsc.edu/kinase/pkr/pk\\_catalytic/pk\\_hanks\\_class.html](http://www.sdsc.edu/kinase/pkr/pk_catalytic/pk_hanks_class.html).

**Hartwell L.H., Mortimer R.K., Culotti J., Culotti M. (1973)** *Genetics*, **74**, 267-286

**Hartwell L.H, Kasten M.B. (1994)** Cell Cycle Control and Cancer, *Science*, **266**, 1821-1828

**Havlicek L., Hanus J., Vesely J., Leclerc S., Meijer L., Show G., Strnad M., (1997)**, Cytokinin-derived cyclin-dependent kinase inhibitors: Synthesis and cdc2 inhibitory activity of olomucine and related compounds, *J. Med. Chem.*, **40**, 408-412

**Heber D. (1979)** Nucleophile Reaktionen an Heterocyclen mit 2-Acyl-2-Propanon-Teilstruktur, *Habilitation* Kiel

**Heber D., (1987)**, 2,5-Dioxo-2H-[1]benzopyrano[4,3-b]pyridine durch Cyclisierung 3-substituierter 4-Aminocumarine, *Arch. Pharm.*, **320**, 577-581

**Heber D., Berghaus T. (1994)** Synthesis of 5H-[1]-Benzopyrano[4,3-b]pyridin-5-ones Containing an Azacannabinoidal Struktur, *J. Heterocycl. Chem*, **31**, 1353-1359

**Heim M.E., Romer W., Queisser W. (1981)** Clinical experience with levonantradol hydrochloride in prevention of cancer chemotherapy-induced nausea and vomiting, *J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 8-9

**Henecka H. (1973)** Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Bd. 7/2a, S. 379 (Thieme Verl. Stuttgart)

**Hesse M., Meier H., Zeeh B. (1991)** Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, George Thieme Verlag, Stuttgart

**Heuvel v.d.H, Harlow E. (1993)** Distinct Roles for Cyclin-Dependent Kinases in Cell Cycle Control, *Science*, **262**, 2050-2054

**Houben-Weyl** Bd.10/1, 559-564, Georg-Thieme Verlag , Stuttgart

**Hutchins R.O., Natale N.R. (1979)** Reductions of Heterocyclic Systems; I The Selective Reduction of 4-Substituted Pyridinium Salts with Cyanoborhydride, *Synthesis*, 281-283

**Iseki H., Ko T.C., Xue X.Y., Seapan A., Helmich M.R., Twonsend C.M. Jr. (1997)** Cyclin-dependent kinase inhibitors block proliferation of human gastric cancer cells, *Surgery*, **122** (2), 187-194, Diskussion (194-195)

**Kalinowski H.O, Berger S., Braun S. (1984)** <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie, G. Thieme Verlag

**Kaup H. (1996)** Die Kapillarelektrophorese mit pseudostationären Phasen als neuartige Methode zur Lipophiliebestimmung, Dissertation Kiel

**Kim S.-H., Schulze-Gahmen U., Brandsen J., De Azevedo W.F. (1996)** Structural basis for chemical inhibition of CDK2, *Progress in Cell Cycle Research*, Vol. **2**, 137-145

- Kim S.-H., Lawrence E.O. (1998)** Structure-based inhibitor design for CDK2, a cell cycle controlling protein kinase, *Pure & Appl. Chem.*, **70** (3), 555-565
- Kobayashi H., Stewart E., Poon R., Adamczewiski J.P., Gannon J., Hunt T. (1992)** *Mol. Biol. Cell*, **3**, 1279-1294
- Kunick C. (1992)** Synthese von 7,12-Dihydro-indolo[3,2-d][1]benzodiazepin-6-(5*H*)-onen und 6,11-Dihydro-thieno[3',2':2,3]azepino[4,5-*b*]indol-5(4*H*)-on, *Arch. Pharm.*, **325**, 297-299
- Kunick C. (1993)** Synthese und konformative Flexibilität von 4,9-Dihydroindolo[3,2-d][1,2,4]triazolo[4,3-*a*]benzazepinen, *Justus Liebigs Ann. Chem*, 1141-1143
- Kunz R.W. (1991)** Molecular Modelling für Anwender, B.G. Teubner Stuttgart
- Kusher D.I., Dawson L.O., Taylor A.C., Djeu J.Y. (1994)** Effect of the psychoactive metabolite of marijuana, delta 9-tetrahydrocannabinol(THC), on the Synthesis of tumor necrosis factor by human large granular lymphocytes, *Cell Immunol.*, **154**, 99-108
- Kuthan J., Ichova M., Skala V., (1971)**, Borohydride Reduction of 1,3,5-Tricyanobenzen to 1,3,5-Tricyanocyclohex-1-ene, *Chem. Commun.*, 250
- Kuthan J., Janeckova E. (1965)** Über Dihydropyridine X, Reduktion Unsymmetrisch alkylierter 3,5-Dicyanpyridine mit Natriumborhydrid, *Collect. Czech. Commun.*, **30**, 3711-3717
- Kwart H. et. al. (1969)** S. Patai, The Chemistry of Carboxylic Acids and Esters, S. 347 (Wiley, New York )
- Lane C.F. (1975)** Sodium Cyanoborhydride- A highly Selective Reducing Agent for Organic Functional Groups, *Synthesis*, 135-146
- Lee M.G., Nurse P. (1987)** Complementation used to clone a human homologue of the fission yeast cell cycle control gene *cdc2*, *Nature*, **327**, 31-35
- Lipkowitz K.B., Boyd D.B. (1990)** Eds., Reviews in computational chemistry, VHC, Publishers New York
- Maller J.L. (1990)** Xenopus oocytes and the biochemistry of cell division, *Biochemistry*, **29** (13), 3157-3166
- Marx J. (1993)** How p53 Suppresses Cell Growth, *Science*, **262**, 1644-1645
- Marx J. (1994a)** How Cells Cycle Toward Cancer, *Science*, **263**, 319
- Marx J. (1994 b)** New Tumor Suppressor May Rival p53, *Science*, **264**, 344-345
- Masui Yoshio (1996)** A quest of cytoplasmic factors that control the cell cycle, *Progress in Cell Cycle Research, Eds.*, **2**, Plenum Press U.S.A., 1-13
- Mejier L. (1995)** Chemical inhibitors of cyclin dependent kinases, *Progress in Cell cycle Research, Vol.1*, 351-363

**Meijer L., Borgne A., Mulner O., Chong J.P.J., Blow J.J., Inagaki N., Inagaki M., Delcros J.G., Moulinoux J.P. (1997)** Biochemical and cellular effects of roscovitine, a potent and selective inhibitor of cdc2, cdk2 and cdk5, *Eur. J. Biochem.*, **243**, 527-536

**Meth-Cohn O., Narine B. (1978)** A versatile new synthesis of quinolines, thiopyridines and related fused pyridines., **23**, 2045.

**Meth-Cohn O., Narine B., Tarnowski B., (1981)**, A versatile new synthesis of quinolines and related fused pyridines. Part 5, The Synthesis of 2-Chloroquinoline-3-carbaldehydes., *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 1520-1530

**Meth-Cohn O., Narine B., Tarnowski B. (1981)** A versatile new synthesis of quinolines and related fused pyridines. Part 7, The conversion of acetamidothiophens into thienopyridines, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 1531-1536

**Meth-Cohn O., Rhouati S., Tarnowski B. (1981)** A versatile new synthesis of quinolines and related fused pyridines. Part 8, Conversion of anilides into 3-substituted quinolines and into quinoxalines, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 1537-1543

**Meth-Cohn O., Narine B., Tarnowski B., Hayes R., Keyzad A., Rhouati S., Robinson A. (1981)** A versatile new synthesis of quinolines and related fused pyridines. Part 9, Synthetic application of the 2-Chloroquinoline-3-carbaldehydes., *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 2509-2517

**Meyerson M., Enders G.H., Wu C.L., Su L.K., Gorka C., Nelson C., Harlow E, Tsai L. H. (1992)** *EMBO J.*, **11**, 2909-2917

**Molner J., Szabo D., Pusztai R., Mucsi I., Berek L., Ocsovszki I., Kawata E., Shoyama Y. (2000)** Membrane associated antitumor effects of crocine-, ginsenoside- and cannabinoid derivatives, *Anticancer Res.*, **20**, 861-867

**Morgan D.O. (1995)** Principles of cdk regulation, *Nature*, **374**, 131-134

**Murison G., Chubb C.B., Maeda S., Gemmell M.A., Huberman E. (1987)** Cannabinoids induce incomplete maturation of cultured human leukemia cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 5414-5418

**Murray A. W. (1992)** *Nature*, **359**, 599-604

**Murray A. W. (1994)** *Curr. Opinion Cell Biol.*, **6**, 872-876

**Murthi K.K., Dubay M., McClure C., Brizuela L., Boisclair M.D., Worland P.J., Mansuri M.M., Pal K. (2000)** Structure-activity relationship studies of flavopiridol analogues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10** (10), 1037-1041

**Nasmyth K. (1996)** Viewpoint: Putting the Cell Cycle in Order, *Science*, **274**, 1643-1645

**Nigg E.E. (1993)** Targets of cyclin-dependent kinases, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **5**, 187-193

**Nurse P. (1990)** Universal control mechanism regulating onset of M-phase, *Nature*, **344**, 503-508

- Oloff A., Gibbs J. B., McCormick F. (1996)** Neue molekulare Angriffsziele für eine Krebstherapie, *Spektrum der Wissenschaft ; Spezialheft Krebsmedizin*, 85-91
- O'Connor P.M., Fan S. (1996)** DNA damage checkpoints: Implications for cancer therapy, *Progress in Cell Cycle Research*, **2**, 165-173
- Organikum**, Organisch-chemisches Grundpraktikum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 19.Aufl., 1993
- Palmer A., Gavin A.C., Nebreda A.R., (1998)** A link between map kinase and p34(cdc2)/cyclin B during oocyte maturation: p90(rsk) phosphorylates and inactivates the p34(cdc2) inhibitory kinase Myt1, *EMBO*, **17**(17), 5037-5047
- Parge H.E., Arvai A.S., Murtadi D.J., Reed S.I., Tainer J.A. (1993)** *Science*, **262**, 387-395
- Pechmann H.v. (1884)** *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **17**, 929
- Pines J., Hunter T. (1990)** *New Biol.*, **2**, 389- 401
- Pliska V., Testa B., Waterbeemd H. v. (1996)** Lipophilicity in Drug Action and Toxicology, VCH, Weinheim
- Pochini A., Puglia G., Ungaro R. (1983)** Selective Synthesis of Phenolic Mannich Bases under Solid-Liquid Phase Transfer Condition, *Synthesis*, 906-907
- Press J.B., Bringberg G.H. (1985)** Heterocyclic-fused Benzopyrans as Cannabinoid Analogues, *J. Heterocycl. Chem*, **22**, 561-564
- Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. (1996)** *J. Mol. Biol.*, **261** , 470
- Rarey M., Kramer B., Lengauer T. (1997)** Multiple automatic base selection: Protein-ligand docking based on incremental construction without manual intervention, *J. Comput.-Aided Mol. Design*, **11**, 369-384
- Rehse U. (1975)** Mannichbasen aus  $\beta$ -Dicarbonylverbindungen, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **308**, 881-887
- Rialet V, Meijer L. (1991)** A new Screening Test for Antimitotic Compounds Using the Universal M Phase Specific Protein Kinase, p34cdc2/Cyclin Bcdc13, Affinity-Immobilized on 13suc1-coated microtitration plates., *Anticancer Res.*, **11**, 1581-1590
- Roberts J.D., Weigert F.J., Kroschwitz J.I., Reich H. J. (1970)** Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Carbon-13 Shift in Acyclic and Alicyclic Alcohols, *J. Am. Chem. Soc.* , **92**, 1338-1347
- Rosenblatt J., De Bondt H., Jancarik J., Morgan D.O., Kim S.-H (1993)** Purification and crystallization of a human cyclin-dependent kinase 2, *J. Mol. Biol.*, **230**, 1317-1319
- Roth H.J., Troschütz R. (1977)** 3-Acetylpyridine und partiell hydrierte Chinoline, *Arch. Pharm.(Weinheim)* **310**, 48-55



**Šali A., Blundell T.L. (1993)** Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints, *J. Mol. Biol.*, **234**, 779-815

**Šali A., Overington J. (1994)** Derivation of rules for comparative protein modelling from a database of protein structure alignments, *Protein Sci.*, **3**, 1582-1596

**Šali A. , Potterton L., Yuan F., Vlijmen H.v., Karplus M. (1995)** Evaluation of comparative Protein Structure Modeling by MODELLER, *Proteins: Structure, Functions, and Genetics*, **23**, 318-326

**Šali A, Sanchez R. (1997)** Evaluation of Comparative Protein Structure Modeling by MODELLER-3, *Proteins: Structure, Function and Genetics*, **0**, 1-9

**Sausville E.A., Johnson J., Alley M., Zaharevitz D., Senderwicz A.M. (2000)** Inhibition of CDKs as a therapeutic modality, *Ann. N Y Acad. Sci* , **910**, 207-221

**Schultz C., Link A., Leost M., Zaharevitz D.W., Gussio R., Sausville E.A., Meijer L., Kunick C. (1999)** Paullones, a series of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors: Synthesis, Evaluation of CDK1/Cyclin B Inhibition, and in Vitro Antitumor Activity, *J. Med. Chem.*, **42**, 2909-2619

**Schulze-Gahmen U., Brandsen J., Jones H.D., Morgan D.O., Meijer L., Vesely J., Kim S.-H (1995)** Multiple Modes of Ligand Recognition: Crystal Structures of Cyclin-Dependent Protein Kinase 2 in Complex with ATP and Two Inhibitors, Olomucine and Isopentenyladenine, *PROTEINS: Structure, Function and Genetics*, **22**, 378-391

**Schulze-Gahmen U., De Bondt H.L., Kim S.-H (1996)** High-Resolution Crystal Structures of Human Cyclin-Dependent Kinase 2 with and without ATP: Bound Waters and Natural Ligand as Guides for Inhibitor Design, *J. Med. Chem.*, **39**, 4540-4546

**Sedlack H.H., Czech J., Naik R., Kaur G., Worland P., Losiewicz M., Parker B., Carlson B., Smith A., Senderowicz A.M., Sausville E.A. (1996)** Flavopiridol (L86-8275, NSC-64980), a new kinase inhibitor for tumor therapy, *Int. J. Oncol.*, **9**, 1143-1168.

**Senderowicz A.M., Headlee D., Stinson S.F., Lush R.M., Kalil N., Villalba L., Hill K., Steinberg S.M., Figg W.D, Tompkins A, Arbuck S.G., Sausville E.A (1998)** Phase I trial of continuous infusion flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in patients with refractory neoplasms, *J. Clin. Oncol.*, **16**, 2986-2999

**Sekers V.C., Marvel C.S. (1933)** Higher Alkyl Sulfonates, Vol. 55, 334

**Semet R., Longaray R. (1978)** Monréduction de méthyl dihydro-3,4-pyrones ( $\delta$ -lactones d'énol) par des ions hydrures, *Bull. Soc. Chim. France* ,3-4, 185-192

**Serrano M., Hannon G. J., Beach D. (1993)** A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4, *Nature*, **366**, 704-707

**Sethna,S; Phadke, R. (1953)** The Pechmann Reaktion, *Org. React.*, **7**, 1-55.

**Sherr C.J. (1996)** Cancer cell cycles, *Science*, **274**, 1672-1677

- Sherr CJ (2000)** Cancer Cell cycles revisited, *Cancer Res.*, 60 (14), 3689-3695
- Solomon M.J., Glotzer M., Lee T.H., Philippe M., Krischner M.W. (1990)** Cyclin activation of p34cdc2, *Cell*, 63 (5), 1013-1024
- Solomon M.J. (1994)** *Trends in Biochem. Sci.*, 19, 496-500
- Sonn A. (1917)** *Chem. Ber.*, 50, 1292.
- Spoerri P.E., Dubios A.S., (1949)**, The HOESCH SYNTHESIS, *Org. React.*, Band V, 387-412, John Wiley Sons, New York.
- Stewart J.J.P. (1990)** MOPAC; A semiempirical molecular orbital program, *J. Comput.-Aided Mol. Design*, 4, 1-105
- Tabakovic K., Tabakovic I., Ajdini N., Leci O. (1987)** A Novel Transformation of 4-Arylamino-coumarins to 6-H-4-Benzylpyrano[4,3-b]quinolin-6-ones Under Vilsmeier-Haack Conditions, *Synthesis*, 308-310
- Tietze , Eicher (1981)** Reaktionen und Synthesen, Thieme Verlag, New York. S.361
- Trisler K., Specter S. (1994)** Delta-9-tetrahydrocannabinol treatment results in a suppression of interleukin-2-induced cellular activities in human and murine lymphocytes, *Int. J. Immunopharmacol.*, 16 (7), 593-603
- Tsai L.H., Harlow E., Meyerson M. (1991)** Isolation of the human cdk2 gene that encodes the cyclin A- and adenovirus E1A-associated p33 kinase, *Nature*, 353, 174-177
- Unangst P.C., Capiris T., Conner D.T., Heffner T.G., McKenzie R.G., Miller S.R., Pugsley T.A., Wise L.D. (1997)** Chromeno[3,4-c]pyridin-5-ones: Selective Human Dopamine D4 Receptor Antagonists as Potential Antipsychotic Agents, *J. Med. Chem.*, 40, 2688-2693
- Vesely J., Havlicek L., Strnad M., Blow J.J., Donella-Deana A., Pinna L., Letham D.S., Kato J.Y., Detivaud L., Lecrec S., Meijer L. (1994)** Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues, *Eur. J. Biochem*, 224, 771-786
- Wada M., Hosotani R., Lee J.-U., Doi R., Koshiha T., Fujimoto K., Miyamoto Y., Tsuji S., Nakajima S., Okuyama A., Imamura M. (1998)** An exogenous cdk inhibitor, Butyrolactone-I, induces apoptosis with increased Bax/Bcl-2 ratio in p35-mutated pancreatic cancer cells, *Anticancer Res.*, 18, 2559-2566.
- Wang QM, Luo X, Kheir A, Coffman F.D. (1998)** Studzinski G.P., Retinoblastoma protein-overexpressing HL60 cells resistant to 1,25-dihydroxyvitamin D3 display increased CDK2 and CDK6 activity and shortened G1 phase, *Oncogene*, 16(21), 2729-2737
- Weinberg R.A. (1996)** Wie Krebs entsteht, *Spektrum der Wissenschaft*, Spezial: Krebsmedizin, 7-17.
- Weinstein I.B., Zhou P. (1997)** Cell cycle control gene defects and human cancer, *Encyclop Cancer*, 1, 256-267

**Werner W. (1976)** Kondensation von 2-Hydroxy-acetophenon-Derivaten zu Mannichbasen des Chromanos, *Arch. Pharm.(Weinheim)*, **309**, 1011

**Williams H.R., Mosher H.S. (1954a)** Peroxides. I. n-Alkyl Hydroperoxides, *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**, 2984-2987

**Williams H.R., Mosher H.S. (1954b)** Organic Peroxides. II. Secondary Alkyl Hydroperoxides, *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**, S. 2987-2990

**Wulff H. (1998)** Alkoxyypsoralene – eine neue Klasse nicht-peptidischer Blocker von Kaliumkanälen der shaker Familie - Synthese und in vitro Untersuchungen zur Phototoxizität, Dissertation Kiel

**Wüthrich K. (1986)** NMR of Proteins and Nucleic Acids, **Wiley, New York**

**Xiong Y., Hannon G.J., Zhang H., Casso D., Kobayashi R., Beach D. (1993)** p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases, *Nature*, **366**, 701-704

**Yamamoto H., Monden T., Miyoshi H., Izawa H., Ikeda K., Tsujie M., Ohnishi T, Sekimoto M., Tomita N., Monden M. (1998)** CDK2/cdc2 expression in colon carcinogenesis and effects of cdk2/cdc2 inhibitor in coloncancer cells., *Int. J. Oncol.*, **13**, 233-239.

**Yamashita S., Maller J.L. (1990)** Identification of an activator required for elevation of maturation-promoting factor(MPF) activity by gamma-S-ATP, *J. Cell. Biol.* , **110** (5), 1583-1588.

**Ye X. S., Osmani S. A (1997)** Regulation of p34cdc2/cyclin B H1 and NIMA kinases during the G2/M transition and checkpoint responses in *Aspergillus nidulans*, *Progress in Cell Cycle Research*, Vol **3**., 221-232

**Zagorevski V.A., Duykina N.V. (1962)** *Zh. Obshch. Khim.*, **32**, 2384

**Zaharevitz D.W., Gussio R., Leost M., Senderowicz A., Lahusen T., Kunick C., Meijer L., Sausville E. (1999)** A Modell of kenpaullone (NSC-664704) fit in the ATP site of CDK2, URL: <http://dtp.nci.nih.gov/Docs/Branches/Itb/tsddg/paullones/paullone.html>.

**Zheng X. F., Rudermann J.V. (1993)** *Cell*, **75**, 155-164

**Zymalkowski F., Gelberg J. (1965)** Die Reduktion von  $\beta$ -Benzoyl-propionsäuren aus der Reihe des Resorcins, *Arch. Pharm.(Weinheim)*, **299**, 545-559.

URLs:

MODELLER: <http://guitar.rockefeller.edu/pub/modeller>

Molecular Simulations Inc. (MSI) Weblab: <http://www.msi.com>

Brookhaven Protein Daten Bank (PDB): <http://www.rcsb.org/pdb/>

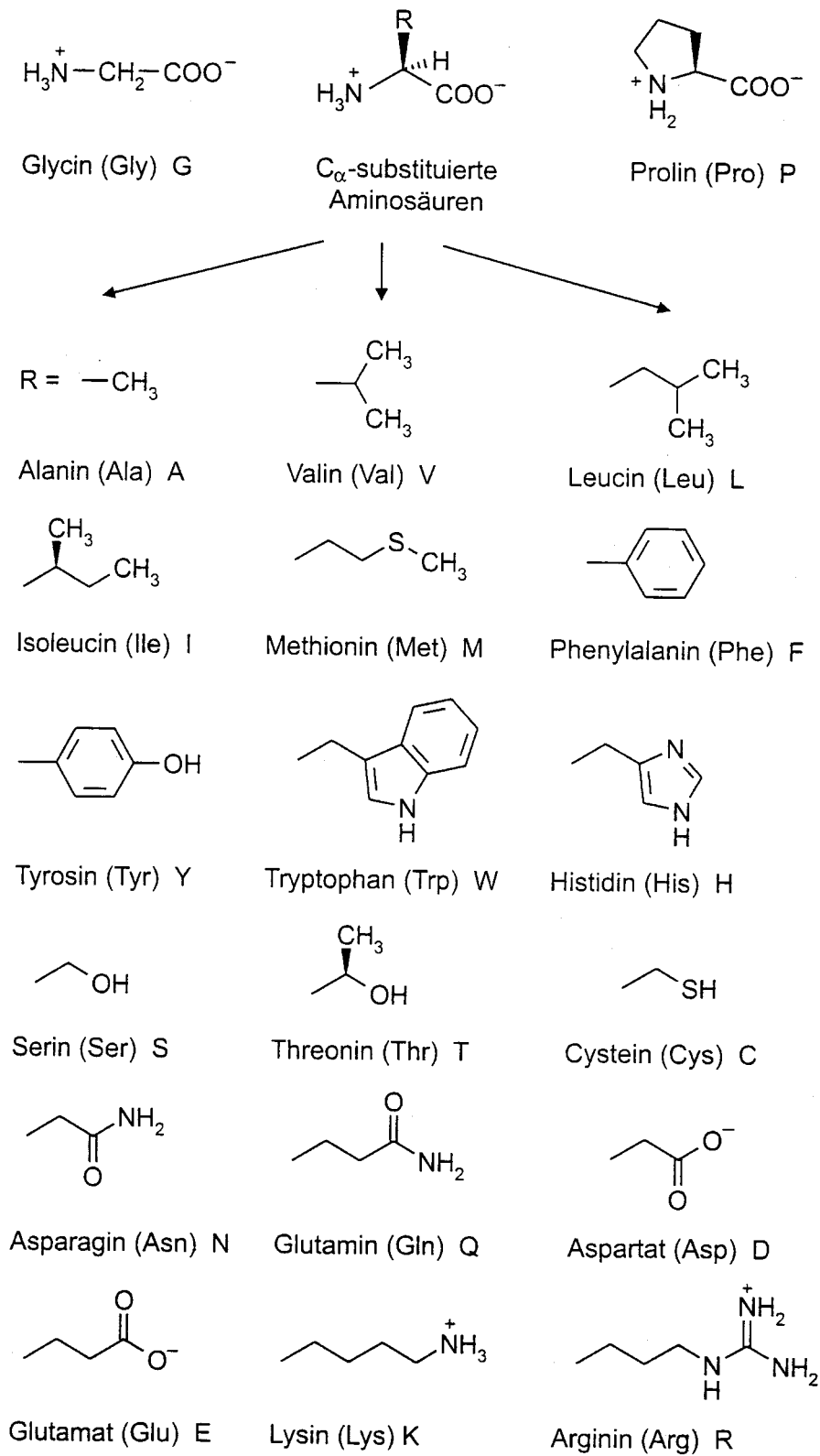
The Protein Kinase Resorce: <http://www.sdsc.edu/kinases>

Rasmol Version 2.6-beta-2: <http://www.umass.edu/microbio/rasmol/htm>

## 12. Abkürzungen und Anhang

AlCl <sub>3</sub>	Aluminiumchlorid
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
ax	axial
CDKs	Cyclin-abhängige Kinasen (cyclin-dependent kinases)
COLOC	Correlation via long range coupling
COSY	Correlation spectroscopy
CPK-Farben	(Corey, Pauling, Koltun)-Farben; Atomfarben: C hellgrau, O rot, N blau, H weiß, S gelb, P orange
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimethylsulfoxid
EGTA	Ethylenglycol-bis(β-aminoethyl)-N,N,N',N'-tetraessigsäure
eq	equatorial
Ether	Diethylether
HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)-piperazino-N'-2-ethansulfonsäure
HPLC	high performance (pressure) liquid chromatography
IC <sub>50</sub>	halbmaximal-inhibitorische Substanzkonzentration
log k'(CE)	Logarithmus des Kapazitätsfaktors(Kapillarelektrophorese)
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kaliumcarbonat
MM+	Molekülmechanische Molecular Modelling-Methode nach Allinger
MS	Massenspektrometrie
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Natriumsulfat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
RT	Raumtemperatur
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor der Chromatographie

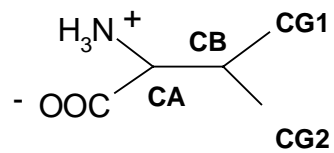
## Strukturen, Dreibuchstaben- und Einbuchstaben-codes der natürlichen Aminosäuren\*



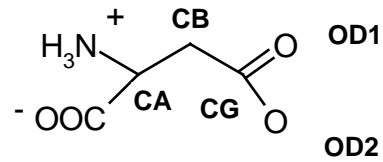
\* nach Böhme 1996

Anmerkung zur Bezeichnung der Atome in den Aminosäuren:

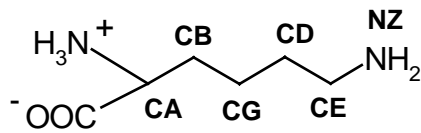
Als Beispiel sind vier Aminosäuren mit der jeweiligen Zählweise abgebildet.



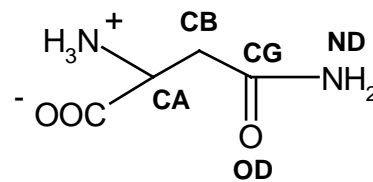
Valin (Val)



Aspartat (Asp)



Lysin (Lys)



Asparagin (Asn)

## *Danksagung*

Die vorliegende Arbeit entstand am Pharmazeutischen Institut der Christian-Albrechts Universität zu Kiel unter der Leitung von Prof. Dr. D. Heber. Die Testung der Verbindungen erfolgte im Rahmen einer Kooperation mit der CNRS am Stations Biologique de Roscoff in Frankreich. Die Protein-Modelling-Studien fanden in einer Zusammenarbeit mit Prof. Dr. G. Klebe am Pharmazeutischen Institut in Marburg statt.

Prof. Dr. D. Heber möchte ich ganz herzlich danken für die Überlassung des hoch interessanten Themas, bei dessen Bearbeitung er mir viel Freiraum ließ. Außerdem bedanke ich mich noch für die stete Diskussionsbereitschaft bei synthetischen Probleme, begleitet von „Herber Sahne“.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Dr. Laurent Meijer und seinem Team für die Testung der Substanzen bedanken. Hier möchte ich mich auch bei Dr. Daniel Zaharevitz und Dr. Bob Schultz für die Aufnahme unserer besten Inhibitoren in die Testungen zu den 60 Krebs-Zelllinien am National Cancer Institut bedanken.

Ganz herzlich bedanke ich mich ebenfalls bei Prof. Dr. G. Klebe für die Ermöglichung der Durchführung des Proteinmodellings. Mein besonderer Dank gilt dabei allerdings Dr. Frank Dullweber für sein entgegengebrachtes Interesse, die Bereitschaft zur Einweisung in die verwendeten Programme und deren unzählige Befehle!

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. W. Hänsel für die vielseitigen Diskussionen und seine Flexibilität während der Fertigstellung dieser Arbeit.

Bei unserem Spektroskopiker Dr. U. Girreser möchte ich mich ganz herzlich für die Aufnahme der COLOC- und MS- Spektren und seine Hilfe bei der Strukturaufklärung der schwierigeren Fälle bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Martin Schütt für die Aufnahme der IR-Spektren, für seine Tipps im synthetischen Bereich und für die freundschaftliche Zusammenarbeit bedanken.

Bei Frau Maren König und Frau Susan Häuer bedanke ich mich für die Aufnahme der NMR-Spektren. Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Häuer für ihre außerplanmäßigen Einsätze, für die Lipophilie-Bestimmung und Stabilitätsmessungen.

Frau Dr. Inga Butenschön danke ich für die Einarbeitung in das HyperChem-Programm und auch für die Tipps und Diskussionsbereitschaft bei der Synthese.

Dr. Girreser, Fr. Tanja Herzog, Fr. Kerstin Möller und Herrn Björn Henke danke ich für die kollegiale Zusammenarbeit im vierten Semester. Meinem Kollegen Herrn Florian Wildschek danke ich sehr für die hervorragende Zusammenarbeit im dritten Semester, auch wenn es manchmal sehr anstrengend ist.

Allen Mitglieder des Arbeitskreises Prof. Hänsel danke ich ganz herzlich für die Aufmunterungen und Ermutigungen in der letzten, besonders schweren Zeit.

Ich bedanke mich bei Fr. Ilka Koch für die gute Zusammenarbeit im Labor 114.

Allen Mitgliedern der LK-Sitzungen danke ich für die wissenschaftliche Diskussionen und die Ratschläge, die mich während der ganzen Promotion begleitet haben.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Julia Vennekamp für ihre kritische Korrektur dieses Manuskripts und ihre Vorschläge bedanken, hinsichtlich der Fallen, die mir die deutsche Sprache noch immer stellt.

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei meiner lieben Familie, insbesondere meiner Mutter, für ihre Unterstützung während des Studiums und der Promotionszeit und für ihre Geduld in der Endphase der Arbeit bedanken.

Mojgan Rostaie Gerylow      Kiel im Oktober 2000



## **Lebenslauf**

Name: Rostaie Gerylow  
Vorname: Mojgan  
Geburtstag: 23.05.1966  
Geburtsort: Teheran/ Iran  
Staatsangehörigkeit: Iranisch  
Eltern: Ahmad Rostaie Gerylow (verstorben 1972)  
Eftekhar Rahdar

### **Schulausbildung:**

1972-1977 Sotoodeh- Grundschule in Teheran  
1977-1980 Hamideh-Molavi-Mittelschule  
1980-1984 Bahonar-Gymnasium in Tehran  
Juni 1984 Abitur

Aug. 1984- Dez.1984 Praktikum als Bauzeichnerin in der Firma Iran Dizaj Hoch- und Tiefbaugesellschaft in Teheran

Jan.1985- Juni1986 Halbjähriges Praktikum und anschließend Angestellte als Elektro-Mechanikerin in der Firma Pujeschgar-Elektronik

### **Studium:**

SS 1987-SS 1988 Studienkolleg Frankfurt am Main  
WS 1988/1989 Chemiestudium an der Universität Frankfurt  
SS 1989- SS 1996 Chemiestudium an der Universität Kiel  
SS 1992 Vordiplomprüfung  
SS 1994 Diplomprüfung  
SS 1996 Abschluß des Chemiestudiums durch Abgabe der Diplomarbeit

Dez. 1996- Mai 1997 Praktikum (im Multimedia-Bereich) in der Firma NetWork2000 Inc. (Rockville, Maryland, USA)

Juni 1997 Beginn der Promotion am Pharmazeutischen Institut

Juli 1997-Mai 1998 Wissenschaftliche Hilfskraft im Sonder-Forschungsbereich 313 der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Im Juni 1997 begann ich die vorliegende Arbeit unter der Leitung von Prof. Dr. D. Heber. Seit dem 1. Juni 1998 bin ich als wissenschaftliche Angestellte am Pharmazeutischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel tätig.

