

# Design und Synthese neuer TGF $\beta$ -Inhibitoren zur Regeneration von Herzmuskelgewebe

## **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Daniel Sebastian Längle**

Kiel, 2019



Erster Gutachter: Prof. Dr. Dennis Schade  
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Daniel Rauh  
Tag der mündlichen Prüfung: 08.10.2019



## **Vorbemerkung**

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Dennis Schade im Zeitraum vom 01.01.2013 bis 30.06.2017 an der Fakultät Chemie und Chemische Biologie der Technischen Universität Dortmund angefertigt.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>XIII</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen und Regenerative Medizin . . . . .	1
1.2 Der TGF $\beta$ -Signalweg . . . . .	2
1.2.1 Übersicht und Aufbau der TGF $\beta$ -Superfamilie . . . . .	2
1.2.2 (Patho-)physiologische Bedeutung des TGF $\beta$ -Signalwegs . . . . .	4
1.2.3 Hemmung des TGF $\beta$ Signalwegs im Krankheitsfall . . . . .	6
1.3 Überblick über 1,4-Dihydropyridine . . . . .	9
1.3.1 Synthesestrategien für 1,4-Dihydropyridine . . . . .	9
1.3.2 Anwendung der 1,4-Dihydropyridine in der Medizinischen Chemie . . . . .	11
1.3.3 1,4-Dihydropyridine in der Regenerativen Medizin . . . . .	12
<b>2 Zielsetzung und Motivation</b>	<b>15</b>
<b>3 Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>19</b>
3.1 Erweiterung des Struktur-Aktivitätsprofils der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine . . . . .	19
3.2 <i>Early-Hit-to-Lead</i> -Optimierung von Wirkstoffkandidaten . . . . .	29
3.2.1 Synthese von 1,4-Dihydropyridinen mit optimiertem <i>in vitro</i> -PK-Profil . . . . .	31
3.2.1.1 Generelle Konzepte zur Optimierung der Lipophilie und Löslichkeit von Wirkstoffen . . . . .	31
3.2.1.2 Synthese und biologische Evaluierung von neuen 1,4-Dihydropyridin-Derivaten mit optimierter Lipophilie und Löslichkeit . . . . .	33
3.2.1.3 Generelle Konzepte zur Optimierung der chemischen und metabolischen Stabilität von Wirkstoffen . . . . .	46
3.2.1.4 Synthese und biologische Evaluierung von neuen 1,4-Dihydropyridin-Derivaten mit optimierter chemischer und metabolischer Stabilität . . . . .	48
3.2.2 Untersuchung des <i>in vitro</i> -PK-Profiles neuer 1,4-Dihydropyridine . . . . .	57
3.2.2.1 Ermittlung der Lipophilie und der wässrigen Löslichkeit optimierter 1,4-Dihydropyridine . . . . .	57

3.2.2.2	Ermittlung der chemischen und metabolischen Stabilität optimierter 1,4-Dihydropyridine . . . . .	64
3.2.3	Anwendung der 1,4-Dihydropyridine in einem <i>Engineered Heart Tissue</i> -Modell	71
3.3	Entwicklung und erste Evaluierungen einer chemischen Sonde auf Basis des 1,4-DHP-Grundgerüsts . . . . .	73
3.3.1	Untersuchung des Selektivitätsprofils von kardiogenen 1,4-Dihydropyridinen .	73
3.3.2	Ermittlung der absoluten Konfiguration des Eutomers von 1,4-Dihydropyridinen als TGF $\beta$ -Signalwegsinhibitoren . . . . .	80
3.3.2.1	Versuche zur Synthese von enantiomerenreinen 1,4-Dihydropyridinen mithilfe eines chiralen Phosphorsäurekatalysators . . . . .	81
3.3.2.2	Synthese von enantiomerenreinen 1,4-Dihydropyridinen durch Einführung eines chiralen Esters . . . . .	90
3.3.3	Erstellung und Bewertung eines 3D-QSAR-Modells auf Basis der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine . . . . .	93
3.3.4	Entwicklung von <i>Probe</i> -Molekülen zur <i>Target</i> -Identifizierung . . . . .	96
3.3.4.1	Design, Synthese und biologische Testungen von <i>Affinity-based Probes</i> auf Basis des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts . . . . .	99
3.3.4.2	Erste Untersuchungen zur zellulären Lokalisation der 1,4-Dihydropyridin-basierten <i>Affinity-based Probes</i> . . . . .	109
3.4	Identifizierung neuer Pharmakophore für die TGF $\beta$ -Inhibition . . . . .	119
3.4.1	Synthese der neu identifizierten Grundgerüste für die Herstellung von Amid-Bibliotheken . . . . .	122
3.4.2	Aufbau von fokussierten Substanzbibliotheken auf Basis der neu identifizierten Grundgerüste . . . . .	136
3.4.3	Biologische Evaluierung einiger Mitglieder der Indolamid-Bibliothek . . . . .	141
3.4.4	Untersuchung des chemischen Raums von 3,4-disubstituierten Indolen . . . . .	145
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>149</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>153</b>
5.1	Organische Synthese . . . . .	153
5.1.1	Geräte und Materialien . . . . .	153
5.1.2	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>3</b> ) . . . . .	155



5.1.3	4-(4'-Bromphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>4</b> ) . . . . .	155
5.1.4	4-(4''-Brom-4'-biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>5</b> ) . . . . .	156
5.1.5	4-(4'-Ethinylphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>6</b> ) . . . . .	156
5.1.6	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylamid ( <b>7</b> ) . . . . .	157
5.1.7	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure- <i>tert.</i> -butylester ( <b>8</b> ) . . . . .	157
5.1.8	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureallylester ( <b>9</b> ) . . . . .	158
5.1.9	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäureethylester ( <b>10</b> ) . . . . .	158
5.1.10	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäuredodecylester ( <b>11</b> ) . . . . .	159
5.1.11	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-propoxyethylester ( <b>12</b> ) . . . . .	159
5.1.12	4-(4'-Biphenyl)-3-buturyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin ( <b>13</b> ) . . . . .	160
5.1.13	4-(4'-Biphenyl)-3-pentanoyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin ( <b>14</b> ) . . . . .	160
5.1.14	4-(4'-Biphenyl)-3-propionyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin ( <b>15</b> ) . . . . .	160
5.1.15	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäurebenzylamid ( <b>16</b> ) . . . . .	161
5.1.16	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonitril ( <b>17</b> ) . . . . .	161
5.1.17	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäuredimethylester ( <b>18</b> ) . . . . .	162
5.1.18	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäurediethylester ( <b>19</b> ) . . . . .	162
5.1.19	4-(4'-Biphenyl)-3-methoxycarbonyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2-carbonsäure ( <b>32</b> ) . . . . .	163

5.1.20	4-(4'-Biphenyl)-3-ethoxycarbonyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2-carbonsäure ( <b>33</b> ) . . . . .	163
5.1.21	9-(4'-Biphenyl)-3,3,6,6-tetramethyl-3,4,6,7,9,10-hexahydro-1,8(2 <i>H</i> ,5 <i>H</i> )-dion ( <b>21</b> ) . . . . .	164
5.1.22	10-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-6,7,8,10-tetrahydro-5 <i>H</i> -indeno[1,2- <i>b</i> ]chinolin-9,11-dion ( <b>24</b> ) . . . . .	164
5.1.23	4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>25</b> ) . . . . .	165
5.1.24	9-(4'-Biphenyl)-6,6-dimethyl-5,6,7,9-tetrahydrofuro[3,4- <i>b</i> ]chinolin-1,8(3 <i>H</i> ,4 <i>H</i> )-dion ( <b>26</b> ) . . . . .	165
5.1.25	4-(4'-Biphenyl)-2-methoxymethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>27</b> ) . . . . .	166
5.1.26	4-(4'-Biphenyl)-2-ethylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid ( <b>28</b> ) . . . . .	166
5.1.27	4-(4'-Biphenyl)-2-propylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid ( <b>29</b> ) . . . . .	167
5.1.28	9-(4'-Biphenyl)-2-ethyl-6,6-dimethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[3,4- <i>b</i> ]chinolin-1,8(4 <i>H</i> )-dion ( <b>30</b> ) . . . . .	167
5.1.29	9-(4'-Biphenyl)-6,6-dimethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1 <i>H</i> -pyrrolo[3,4- <i>b</i> ]chinolin-1,8(4 <i>H</i> )-dion ( <b>31</b> ) . . . . .	168
5.1.30	2-Amino-4-(4'-biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>37a</b> ) . . . . .	168
5.1.31	2-Amino-4-(4'- <i>tert.</i> -butylphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>37b</b> ) . . . . .	169
5.1.32	4-(2-(1,3-Dioxoisindolin-2-yl)ethoxy)-3-oxobuttersäureethylester ( <b>41</b> ) . . . . .	169
5.1.33	2-(2-Aminoethoxy)ethyl-4-(4'-biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>38</b> ) . . . . .	170
5.1.34	4-(2-(1,3-Dioxoisindolin-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäure-(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobut-2-ylester ( <b>54</b> ) . . . . .	171
5.1.35	4-(4'-Biphenyl)-7-benzyl-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester ( <b>57</b> ) . . . . .	172
5.1.36	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester ( <b>64</b> ) (über Hydrogenolyse) . . . . .	173

5.1.37	4-(4'-Biphenyl)-5-hydroxy-2-methyl-1,4-dihydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester ( <b>65</b> ) . . . . .	173
5.1.38	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester ( <b>64</b> ) (über Transaminierung) . . . . .	174
5.1.39	4-(4'-Biphenyl)-3-(ethoxycarbonyl)-2-methyl-5-oxo-7- <i>n</i> -propyl-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-7-iumbesylat ( <b>73a</b> ) . . . . .	175
5.1.40	4-(4'-Biphenyl)-7-cyclopropyl-3-(ethoxycarbonyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-7-iumbesylat ( <b>73b</b> ) . . . . .	176
5.1.41	4-(4'-Biphenyl-4-ylmethyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>78</b> ) . . . . .	177
5.1.42	2-Amino-4-(4'-biphenyl-4-ylmethyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>79</b> ) . . . . .	177
5.1.43	4-(4'-Biphenyl-4-carbonyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>80</b> ) . . . . .	178
5.1.44	1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluoethan-1-ol ( <b>85</b> ) . . . . .	178
5.1.45	1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluoethan-1-on ( <b>86</b> ) . . . . .	179
5.1.46	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure- <i>n</i> -propylester ( <b>94a</b> ) . . . . .	179
5.1.47	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-propylester ( <b>94b</b> ) . . . . .	180
5.1.48	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureisobutylester ( <b>94c</b> ) . . . . .	180
5.1.49	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäurecyclopentylester ( <b>94d</b> ) . . . . .	180
5.1.50	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100a</b> ) . . . . .	181
5.1.51	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-ethyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100b</b> ) . . . . .	182
5.1.52	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-2'-propyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100c</b> ) . . . . .	182
5.1.53	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5- <i>n</i> -propyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100d</b> ) . . . . .	183
5.1.54	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-isobutyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100e</b> ) . . . . .	183

5.1.55	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5- <i>tert.</i> -butyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100f</b> ) . . . . .	184
5.1.56	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-(1-methylcyclopropyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100g</b> ) . . . . .	184
5.1.57	( <i>S</i> )-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100h</b> ) . . . . .	185
5.1.58	( <i>R</i> )-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on ( <b>100i</b> ) . . . . .	185
5.1.59	4-(4''-Cyano-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112a</b> ) . . . . .	186
5.1.60	4-(4''-Trifluormethyl-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112b</b> ) . . . . .	186
5.1.61	2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methylsulfonyl-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112c</b> ) . . . . .	187
5.1.62	4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112d</b> ) . . . . .	187
5.1.63	4-(4''-Fluor-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112e</b> ) . . . . .	187
5.1.64	2,7,7-Trimethyl-4-(4''-nitro-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112f</b> ) . . . . .	188
5.1.65	4-(4''-Trifluormethoxy-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112g</b> ) . . . . .	188
5.1.66	2,7,7-Trimethyl-5-oxo-4-(4'-(pyridin-4''-yl)phenyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112h</b> ) . . . . .	189
5.1.67	2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methyl-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112i</b> ) . . . . .	189
5.1.68	2,7,7-Trimethyl-4-(4''-dimethylamino-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112j</b> ) . . . . .	189
5.1.69	2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methoxy-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112k</b> ) . . . . .	190
5.1.70	4-(4''-Hydroxy-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>112l</b> ) . . . . .	190
5.1.71	( <i>S</i> )-1,1'-Bi-2-naphthol ( <b>120</b> ) . . . . .	191
5.1.72	( <i>S</i> )-1,1'-Bi-2-naphthyldimethylether ( <b>115</b> ) . . . . .	191

5.1.73	( <i>S</i> )-(2,2'-Dimethoxy-(1,1'-binaphthyl))-3,3'-diboronsäure ( <b>122</b> ) . . . . .	191
5.1.74	( <i>S</i> )-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-dimethoxy-1,1'-binaphthalen ( <b>118</b> ) . . . . .	192
5.1.75	( <i>S</i> )-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-hydroxy-1,1'-binaphthalen ( <b>119</b> ) . . . . .	193
5.1.76	(11 <i>b,S</i> )-2,6-bis(3,5-Dimethylphenyl)-4-hydroxydinaphtho[2,1- <i>d</i> :1',2'- <i>f</i> ]-1,3,2-dioxaphosphopin-4-oxid ( <b>114</b> ) . . . . .	193
5.1.77	( <i>S</i> )/( <i>R</i> )-4-(4'-Biphenyl-4-yl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobutan-2-yl)ester ( <b>134a,b</b> ) . . . . .	194
5.1.78	( <i>S</i> )/( <i>R</i> )-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>3a,b</b> ) . . . . .	194
5.1.79	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((prop-2-in-1-yl-amino)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>136</b> ) . . . . .	195
5.1.80	3-Oxo-4-(prop-2-in-1-yloxy)butansäureethylester ( <b>139</b> ) . . . . .	195
5.1.81	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((prop-2-in-1-yl-oxo)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>140</b> ) . . . . .	196
5.1.82	3-Oxohept-6-insäureethylester ( <b>142</b> ) . . . . .	196
5.1.83	4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>143</b> ) . . . . .	197
5.1.84	2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)essigsäureethylester ( <b>145</b> ) . . . . .	197
5.1.85	2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethanol ( <b>146</b> ) . . . . .	198
5.1.86	4-(2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäureethylester ( <b>147</b> ) . . . . .	198
5.1.87	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((2-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>148</b> ) . . . . .	199
5.1.88	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((3-oxobutoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>149</b> ) . . . . .	199
5.1.89	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-((2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethoxy)methyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>150</b> ) . . . . .	200
5.1.90	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>152</b> ) . . . . .	201
5.1.91	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester ( <b>153</b> ) . . . . .	201
5.1.92	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureprop-2-in-1-ylester ( <b>154</b> ) . . . . .	202

5.1.93	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester ( <b>155</b> ) . . . . .	203
5.1.94	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)methyl)ester ( <b>156</b> ) . . . . .	203
5.1.95	2-(3-Methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethanol ( <b>158</b> ) . . . . .	204
5.1.96	3-(Iodmethyl)-3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin ( <b>159</b> ) . . . . .	204
5.1.97	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-ylethyl)ester ( <b>160</b> ) . . . . .	205
5.1.98	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-(prop-2-in-1-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid ( <b>161</b> ) . . . . .	205
5.1.99	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid ( <b>162</b> ) . . . . .	206
5.1.100	3-Oxobutansäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>164</b> ) . . . . .	206
5.1.101	3-Oxohept-6-in-säure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>165</b> ) . . . . .	207
5.1.102	4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>166</b> ) . . . . .	207
5.1.103	4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure ( <b>167</b> ) . . . . .	208
5.1.104	4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester ( <b>168</b> ) . . . . .	209
5.1.105	4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)methyl)ester ( <b>169</b> ) . . . . .	209
5.1.106	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>171</b> ) . . . . .	210
5.1.107	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>172</b> ) . . . . .	211
5.1.108	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure ( <b>173</b> ) . . . . .	212
5.1.109	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-prop-2-in-1-ylester ( <b>174</b> ) . . . . .	212
5.1.110	2-(But-3-in-1-yl)-4-(4''-chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>175</b> ) . . . . .	213
5.1.111	4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>177</b> ) . . . . .	213

5.1.112	4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester ( <b>178</b> ) . . . . .	214
5.1.113	4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure ( <b>179</b> ) . . . . .	215
5.1.114	4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-prop-2-in-1-ylester ( <b>180</b> ) . . . . .	215
5.1.115	1-(Tri-(2-propyl)silyl)-1 <i>H</i> -indol-4-methylester ( <b>194</b> ) . . . . .	216
5.1.116	3-Brom-1-(tri-(2-propyl)silyl)-1 <i>H</i> -indol-4-methylester ( <b>199</b> ) . . . . .	216
5.1.117	1 <i>H</i> -Indol-4-carbonsäure ( <b>206</b> ) . . . . .	217
5.1.118	1 <i>H</i> -Indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>208</b> ) . . . . .	217
5.1.119	3-Formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>209</b> ) . . . . .	218
5.1.120	1-Benzyl-3-formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>210</b> ) . . . . .	218
5.1.121	1-Benzyl-3-(2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>212</b> ) . . . . .	219
5.1.122	(Diethoxymethyl)diphenylphosphinoxid ( <b>217</b> ) . . . . .	219
5.1.123	1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>214</b> ) . . . . .	220
5.1.124	1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure ( <b>220</b> ) . . . . .	221
5.1.125	1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>221</b> ) . . . . .	221
5.1.126	(1,3-Dithian-2-yl)phosphonsäurediethylester ( <b>224</b> ) . . . . .	221
5.1.127	1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-((1,3-dithian-2-yliden)methyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>225</b> ) . . . . .	222
5.1.128	1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester ( <b>222</b> ) . . . . .	222
5.1.129	1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure ( <b>229</b> ) . . . . .	223
5.1.130	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure ( <b>188</b> ) . . . . .	223
5.1.131	4'-Biphenyl- <i>N</i> -methylmethanamin ( <b>233a</b> ) . . . . .	224
5.1.132	3'-Biphenyl- <i>N</i> -methylmethanamin ( <b>233b</b> ) . . . . .	224
5.1.133	4-(2-Propyl)phenyl- <i>N</i> -methylmethanamin ( <b>233c</b> ) . . . . .	224
5.1.134	3- <i>tert.</i> -Butylphenyl- <i>N</i> -methylmethanamin ( <b>233d</b> ) . . . . .	225
5.1.135	3- <i>tert.</i> -Butyl-1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl- <i>N</i> -methylmethanamin ( <b>233e</b> ) . . . . .	225
5.1.136	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -((4'-biphenyl)methyl)-amid ( <b>234a</b> ) . . . . .	225

5.1.137	2,6,6-Trimethyl-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-1 <i>H</i> -indol-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -((4'-biphenyl)methyl)amid ( <b>235a</b> ) . . . . .	226
5.1.138	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -((4'-biphenyl)-methyl)amid ( <b>236a</b> ) . . . . .	226
5.1.139	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -benzyl- <i>N</i> -methyamid ( <b>234b</b> ) . . . . .	227
5.1.140	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(4'- <i>tert.</i> -butylbenzyl)- <i>N</i> -methylamid ( <b>234d</b> ) . . . . .	227
5.1.141	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(3',4'-dimethylbenzyl)-amid ( <b>234f</b> ) . . . . .	227
5.1.142	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-biphenylmethyl)- <i>N</i> -methylamid ( <b>234g</b> ) . . . . .	228
5.1.143	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(4'-brombenzyl)- <i>N</i> -methyamid ( <b>234h</b> ) . . . . .	228
5.1.144	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-chlorbenzyl)- <i>N</i> -methyamid ( <b>234i</b> ) . . . . .	228
5.1.145	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(3'-methoxybenzyl)-amid ( <b>234j</b> ) . . . . .	229
5.1.146	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(2'-chlor-4',5'-dimethoxybenzyl)- <i>N</i> -methyamid ( <b>234k</b> ) . . . . .	229
5.1.147	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(benzo[ <i>d</i> ][1,3]dioxol-5'-ylmethyl)- <i>N</i> -methyamid ( <b>234l</b> ) . . . . .	229
5.1.148	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)amid ( <b>234q</b> ) . . . . .	230
5.1.149	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)amid ( <b>234r</b> ) . . . . .	230
5.1.150	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(1' <i>H</i> -indol-4'-ylmethyl)- <i>N</i> -methylamid ( <b>234v</b> ) . . . . .	230
5.1.151	4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(isochinolin-4'-yl-methyl)- <i>N</i> -methylamid ( <b>234z</b> ) . . . . .	231
5.1.152	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(benzyl)amid ( <b>236b</b> ) . . . . .	231
5.1.153	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(4'- <i>tert.</i> -butylbenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236d</b> ) . . . . .	232



5.1.154	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(3- <i>tert.</i> -butylbenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236e</b> ) . . . . .	232
5.1.155	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(3,4-dimethylbenzyl)amid ( <b>236f</b> ) . . . . .	233
5.1.156	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(4'-brombenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236h</b> ) . . . . .	233
5.1.157	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-chlorbenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236i</b> ) . . . . .	234
5.1.158	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-methoxybenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236j</b> ) . . . . .	234
5.1.159	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(2'-chlor-4',5'-dimethoxybenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236k</b> ) . . . . .	235
5.1.160	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(benzo[ <i>d</i> ][1,3]dioxol-5'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236l</b> ) . . . . .	235
5.1.161	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)amid ( <b>236q</b> ) . . . . .	236
5.1.162	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)amid ( <b>236r</b> ) . . . . .	236
5.1.163	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(1-methyl-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d</i> ]imidazol-2-ylmethyl)amid ( <b>236t</b> ) . . . . .	236
5.1.164	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(1' <i>H</i> -indol-4'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236v</b> ) . . . . .	237
5.1.165	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(4'-methyl-4' <i>H</i> -thieno[3',2'- <i>b</i> ]pyrrol-5'-ylmethyl)amid ( <b>236w</b> ) . . . . .	237
5.1.166	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(chinolin-5'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236y</b> ) . . . . .	237
5.1.167	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(chinolin-3'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid ( <b>236z</b> ) . . . . .	238
5.1.168	3-Formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure ( <b>240</b> ) . . . . .	238
5.1.169	5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo[4,3,2- <i>de</i> ]isochinolin-3-carbonsäure-pentylamid ( <b>241a</b> ) . . . . .	239
5.1.170	5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo[4,3,2- <i>de</i> ]isochinolin-3-carbonsäure-benzylamid ( <b>241b</b> ) . . . . .	239

5.1.171	5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo[4,3,2- <i>de</i> ]isochinolin-3-carbonsäure- <i>tert.</i> -butylamid ( <b>241c</b> ) . . . . .	240
5.1.172	5-Oxo-1,5-dihydro-3 <i>H</i> -pyrano[3,4,5- <i>cd</i> ]indol-3-carbonsäurepentylamid ( <b>242a</b> )	240
5.1.173	5-Oxo-1,5-dihydro-3 <i>H</i> -pyrano[3,4,5- <i>cd</i> ]indol-3-carbonsäurebenzylamid ( <b>242b</b> ) . . . . .	240
5.1.174	5-Oxo-1,5-dihydro-3 <i>H</i> -pyrano[3,4,5- <i>cd</i> ]indol-3-carbonsäure- <i>tert.</i> -butylamid ( <b>242c</b> ) . . . . .	240
5.2	HPLC-Analytik . . . . .	241
5.2.1	Bestimmung des logD <sub>7,4</sub> -Werts . . . . .	241
5.2.2	Bestimmung der kinetischen Löslichkeit . . . . .	242
5.2.3	Bestimmung der chemischen und metabolischen Stabilität . . . . .	243
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>244</b>
	<b>Erklärung gemäß §8 und §9 der Promotionsordnung</b>	<b>293</b>
	<b>Kurzfassung</b>	<b>297</b>
	<b>Abstract</b>	<b>299</b>

## Abkürzungsverzeichnis

<b>(c)logP</b>	<i>(calculated)</i> Dekadischer Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten
<b><math>[\alpha]_D</math></b>	Spezifischer Drehwinkel vermessen bei der Natrium-D-Linie (589.3 nm)
<b>°C</b>	Grad Celsius
<b>ABP</b>	<i>Affinity-based probe</i>
<b>AcN</b>	Acetonitril
<b>AcOH</b>	Essigsäure
<b>ADME(T)</b>	<i>Absorption, distribution, metabolism, excretion, (toxicity)</i> (engl., Absorption, Verteilung, Metabolismus, Exkretion, (Toxizität))
<b>Alloc</b>	Allyloxycarbonyl
<b>AMH</b>	<i>Anti-Muellerian hormone</i>
<b>ASO</b>	<i>Antisense-oligonucleotides</i>
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>BMP</b>	<i>Bone morphogenetic protein</i>
<b>Bn</b>	Benzyl
<b>Boc</b>	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonyl
<b>Boc<sub>2</sub>O</b>	Di- <i>tert.</i> -butyldicarbonat
<b>Bu</b>	Butyl
<b>CAN</b>	Cerammoniumnitrat
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	deutერიertes Chloroform (NMR-Spektroskopie)
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroform
<b>CL<sub>int</sub></b>	<i>Intrinsic clearance</i>
<b>Cy</b>	Cyclohexan
<b>CYP</b>	Cytochrom
<b>d</b>	Dublett (NMR-Spektroskopie)
<b>dba</b>	Dibenzylidenaceton
<b>DBU</b>	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
<b>DC</b>	Dünnschichtchromatographie
<b>DCC</b>	Dicyclohexylcarbodiimid

<b>DCM</b>	Dichlormethan
<b>DEAD</b>	Azodicarbonsäurediethylester
$\delta$	Chemische Verschiebung (NMR-Spektroskopie)
<b>DHP</b>	Dihydropyridin
<b>DIAD</b>	Azodicarbonsäurediisopropylester
<b>DIPA</b>	Diisopropylamin
<b>DIPEA</b>	Diisopropylethylamin
<b>DMAP</b>	4-Dimethylaminopyridin
<b>DMF</b>	Dimethylformamid
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>DMSO-d<sub>6</sub></b>	Deutiertes Dimethylsulfoxid (NMR-Spektroskopie)
<b>ECM</b>	<i>Extracellular matrix</i> (engl., Extrazelluläre Matrix)
<b>EHT</b>	<i>Engineered heart tissue</i>
<b>EMT</b>	<i>Epithelial-mesenchymal transition</i>
<b>EPA</b>	<i>(United States) Environmental Protection Agency</i>
<b>ER</b>	Endoplasmatisches Retikulum
<b>ERK</b>	<i>Extracellular-signal-regulated kinase</i>
<b>ESI</b>	Electrospray Ionisation
<b>Et<sub>2</sub>O</b>	Diethylether
<b>EtOAc</b>	Ethylacetat
<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>FAM-Azid</b>	<i>N</i> -(3-Azidopropyl)-3',6'-dihydroxy-3-oxo-3 <i>H</i> -spiro[isobenzofuran-1,9'-xanthene]-5-carboxamid
<b>FMO</b>	<i>Flavin-containing mono-oxygenases</i>
<b>GABA</b>	$\gamma$ -Aminobuttersäure
<b>GBD</b>	<i>Global burden of disease</i>
<b>GPCR</b>	<i>G-protein-coupled receptor</i> (engl. G-Protein-gekoppelte Rezeptoren)
<b>h</b>	<i>Hour</i> (engl. Stunde)
<b>HATU</b>	[ <i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat]

---

<b>hERG</b>	<i>human Ether-à-go-go-related gene</i>
<b>HOAc</b>	Essigsäure
<b>HOBt</b>	1-Hydroxybenzotriazol
<b>HO-<i>tert.</i>-Bu</b>	<i>tert.</i> -Butanol
<b>HPLC</b>	<i>High performance liquid chromatography</i> (engl., Hochleistungsflüssigchromatographie)
<b>HTS</b>	<i>High-throughput screening</i> (engl., Hochdurchsatz-Screening)
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC<sub>50</sub></b>	mittlere inhibitorische Konzentration
<b>K</b>	Kelvin
<b><i>k</i></b>	Retentionsfaktor (Flüssigchromatographie)
<b>KO-<i>tert.</i>-Bu</b>	Kalium- <i>tert.</i> -Butanolat
<b>LAP</b>	<i>Latency-associated peptide</i>
<b>LC</b>	<i>Liquid chromatography</i> (engl., Flüssigchromatographie)
<b>LC/MS-SIM</b>	<i>Liquid chromatography/mass-spectrometry in single-ion-monitoring mode</i> (engl., Flüssigchromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie im SIM-Detektionsmodus)
<b>LDA</b>	Lithiumdiisopropylamid
<b>LLC</b>	<i>Large latent complex</i>
<b>LMO</b>	<i>Leave many out</i> (Methode in der Statistik)
<b>logD<sub>7,4</sub></b>	Dekadischer Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten bei einem pH Wert von 7,4
<b>LOO</b>	<i>Leave one out</i> (Methode in der Statistik)
<b>LTBP</b>	<i>Latent TGFβ-binding protein</i>
<b>M</b>	Molar
<b>m</b>	Multipllett (NMR-Spektroskopie)
<b>mCPBA</b>	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
<b>MCR</b>	<i>Multi-component reaction</i> (engl., Multikomponentenreaktion)
<b>Me</b>	Methyl
<b>MeOH</b>	Methanol

<b>MEP</b>	<i>Molecular electrostatic potential</i>
<b>min</b>	Minute
<b>MoA</b>	<i>Mechanism of Action</i> (engl., Wirkmechanismus)
<b>MW</b>	Mikrowellenstrahlung
<b>NaAsc</b>	Natriumascorbat
<b>NaHMDS</b>	Natrium-bis(trimethylsilyl)amid
<b>NBS</b>	<i>N</i> -Bromsuccinimid
<b>nBuLi</b>	<i>n</i> -Butyllithium
<b>NCS</b>	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	<i>Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of B-cells</i>
<b>oct</b>	Octett (NMR-Spektroskopie)
<b>p38 MAP</b>	<i>p38 mitogen-activated protein kinase</i>
<b>PAINS</b>	<i>Pan assay interference compounds</i>
<b>PBP</b>	Pentabromophenol
<b>PCC</b>	Pyridiniumchlorochromat
<b>PD</b>	Pharmakodynamik
<b>Pd/C</b>	Palladium auf Aktivkohle
<b>PDE5</b>	Phosphodiesterase-5
<b>PE</b>	Petrolether
<b>Ph</b>	Phenyl
<b>PhCN</b>	Benzonitril
<b>Phth</b>	Phthaloyl
<b>PI3K</b>	Phosphoinositid-3-kinase
<b>PK</b>	Pharmakokinetik
<b>pK<sub>s</sub></b>	Negativ dekadischer Logarithmus der Säurekonstante
<b>ppm</b>	<i>Parts per million</i>
<b>Pr</b>	Propyl
<b>PropOH</b>	Propanol
<b>QSAR</b>	<i>Quantitative structure-activity relationship</i> (engl., Quantitative Struktur-Wirkungs-

---

	Beziehung)
<b>q</b>	Quartett (NMR-Spektroskopie)
<b>quint</b>	Quintett (NMR-Spektroskopie)
<b>RAAS</b>	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
<b>R<sub>f</sub></b>	Retentionsfaktor
<b>RMSD</b>	<i>Root mean square distance</i> (Methode in der Statistik)
<b>RP</b>	<i>Reversed-phase</i> (engl. Umkehrphase)
<b>RT</b>	Raumtemperatur
<b>s</b>	Singulett (NMR-Spektroskopie)
<b>SAR</b>	<i>Structure-activity relationship</i> (engl., Struktur-Wirkungs-Beziehung)
<b>SBE4</b>	<i>Smad4-binding element</i>
<b>SDS-PAGE</b>	<i>Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis</i>
<b>sept</b>	Septett (NMR-Spektroskopie)
<b>sext</b>	Sextett (NMR-Spektroskopie)
<b>Smad</b>	Kombination aus <i>Sma</i> ( <i>small body size</i> ) und <i>MAD</i> ( <i>mothers against decapentaplegic</i> )
<b>SPhos</b>	2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl
<b>t</b>	Triplett (NMR-Spektroskopie)
<b>T</b>	Temperatur
<b>TAK1</b>	<i>TGFβ-activated kinase 1</i>
<b>Target ID</b>	<i>Target</i> Identifikation
<b>TBAF</b>	Tetrabutylammoniumfluorid
<b>TBDMS</b>	<i>tert.</i> -Butyldimethylsilyl
<b>TBTA</b>	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin
<b>tert.</b>	Tertiär
<b>Tf<sub>2</sub>O</b>	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
<b>TFA</b>	Trifluoressigsäure
<b>TFE</b>	2,2,2-Trifluorethanol
<b>TGFβ</b>	<i>Transforming growth factor</i> β

<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TIC</b>	<i>Total ion count</i>
<b>TIPS</b>	Triisopropylsilyl
<b>TMEDA</b>	Tetramethylethyldiamin
<b>TMS</b>	Tetramethylsilan (NMR-Spektroskopie)
<b>TMS</b>	Trimethylsilyl
<b>TMSE</b>	Trimethylsilylethyl
<b>Tol</b>	Toluen
<b>TPO</b>	Triphenylphosphinoxid
<b>US</b>	<i>Ultrasonic</i> (engl., Ultraschall)
<b>UV(A)</b>	Ultraviolette Strahlung im Wellenlängenbereich von 380–315 nm
<b>UV/Vis</b>	Kombination aus <i>ultraviolett</i> und <i>visible</i> (engl., ultraviolett und sichtbares) (Licht)
<b>WHO</b>	<i>World Health Organisation</i> (engl., Weltgesundheitsorganisation)
<b>wt%</b>	Gewichtsprozent
<b>z.B.</b>	zum Beispiel



# 1 Einleitung

## 1.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen und Regenerative Medizin

Kardiovaskuläre Erkrankungen und deren Folgen zählen zu den meisten natürlichen Todesursachen in den hochindustrialisierten Ländern gemäß des *Global Burden of Disease (GBD) – Reports 2016*. Weltweit betrug im Jahr 2016 der Anteil der Menschen, die an den Folgen einer Krankheit aus dieser Gruppe verstarben, über 32%<sup>[1]</sup> und alleine in Deutschland erlagen im Jahr 2015 über 355000 Menschen einer Herzkreislauferkrankung.<sup>[2]</sup>

Der Begriff „kardiovaskuläre Erkrankung“ fasst eine Vielzahl von verschiedenen Einzelerkrankungen zusammen und ist nur sehr schwierig zu konkretisieren, jedoch ist ein großer Anteil auf arteriosklerotische Prozesse zurückzuführen. Risikofaktoren für derartige Erkrankungen sind mannigfaltig und umfassen neben verhaltensassoziierten Gründen, wie Zigaretten- und übermäßigem Alkoholkonsum oder mangelnder sportlicher Aktivität, auch metabolische Faktoren (z.B.: Diabetes oder Hypertonie). Außerdem steigt das Risiko an Folgen von dieser Krankheit zu leiden im Alter deutlich an, weswegen sie mitunter als eine Wohlstandserkrankung bezeichnet wird.<sup>[3]</sup>

Die Entwicklung der Krankheit verläuft über einen längeren Zeitraum, währenddessen in den Blutgefäßen Plaque abgelagert wird, welche den Blutfluss stärker und stärker behindern. Zeitgleich nimmt die Elastizität der Gefäße ab, was letztendlich in einer Verletzung von Arterien und in einer Verstopfung der Blutbahn resultieren kann. Diese degenerativen Vorgänge führen dann ultimativ zu einer Sauerstoffunterversorgung von Gewebsregionen und letztendlich zu dem oftmals nekrotischen Untergang der dort vorhandenen Zellen. Außerdem tritt in den meisten Fällen eine massive Entzündungsreaktion auf, wodurch das betroffene Gewebe noch weiter beschädigt wird.<sup>[3,4]</sup> Der Körper reagiert auf den massiven Verlust an Zellmasse initial mit fibrotischen Reparaturprozessen, um die strukturelle Integrität des Herzens aufrecht zu erhalten und einen vollständigen Funktionsverlust zu verhindern.<sup>[5]</sup> Allerdings führen diese strukturellen Veränderungen des Organs zu einer langfristigen Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit, weswegen sich oftmals an einen Herzinfarkt eine Herzinsuffizienz anschließt.<sup>[4,6–8]</sup> Diese Erkrankungen und deren Folgen können in der heutigen Medizin lediglich symptomatisch behandelt werden und so wird in der aktuellen Therapie hauptsächlich versucht, eine Stabilisierung des Zustands durch Ökonomisierung der Herzleistung zu erreichen und die Kompensationsreaktionen des Körpers mithilfe von Arzneistoffen zu unterdrücken, zum Beispiel mithilfe von Diuretika oder Antagonisten des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS).<sup>[4]</sup> Bei einem weiteren Fortschreiten der Erkrankung verbleibt als letzte Therapiemöglichkeit häufig nur noch der Austausch des Organs durch ein Spenderherz. Diese Option ist aber aufgrund des sehr geringen Angebots an transplantierbaren Spenderorganen und der außerdem damit verbundenen lebenslangen Immunsuppressionstherapie nur wenig erstrebenswert.<sup>[8]</sup>

Eine neu aufkeimende und vielversprechende Behandlungsmöglichkeit stellt das Feld der Regenerativen Medizin dar. Die einfachste Definition dieses Behandlungszweigs lautet, dass sie erkranktes Gewebe oder Organe ausgehend von menschlichen Zellen regeneriert oder ersetzt (endogen oder

exogen), um so die physiologisch-gesunde Funktion des Körpers wiederherzustellen.<sup>[9]</sup> Dabei werden vor allem neuartige Ansätze verwendet, wie Stammzellen- bzw. Vorläuferzellenbasierte Konzepte. So könnten dem Patienten niedermolekulare Substanzen und/oder Biomakromoleküle (*Biologicals*) verabreicht werden, wodurch selektiv entsprechende regenerative Mechanismen im Körper in Gang gesetzt werden, wie zum Beispiel die Proliferation und finale Reifung von endogenen Vorläuferzellen, und so der Gesundheitszustand wiederhergestellt werden kann. Dies kann aber auch durch die lokale Transplantation von speziell designten Zellpopulationen erreicht werden. Diese sekretieren dann örtlich begrenzt regenerative Agenzien an das dysfunktionale Gewebe, um so intrinsische Regenerationsprozesse anzukurbeln oder zu verstärken. Außerdem wäre der direkte Austausch der erkrankten Zellpopulation durch extern *in vitro* erzeugtes, gesundes Gewebe denkbar.<sup>[8,10–12]</sup>

## 1.2 Der TGF $\beta$ -Signalweg

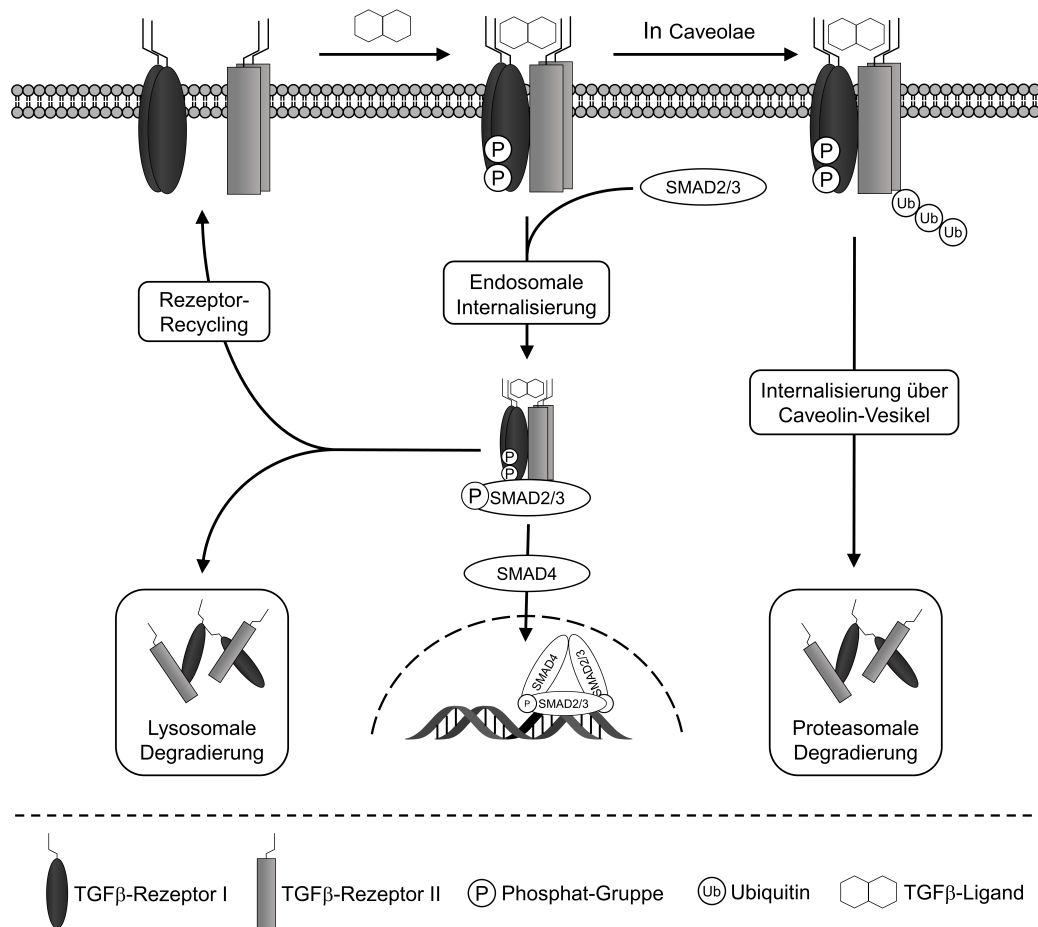
### 1.2.1 Übersicht und Aufbau der TGF $\beta$ -Superfamilie

Der TGF $\beta$ -Signalweg gehört zu den wichtigsten zellulären Signaltransduktionsketten von allen multizellulären Organismen. Der TGF $\beta$ -Superfamilie werden über 30 strukturell eng verwandte Cytokine zugeordnet, darunter zählen drei TGF $\beta$  Isoformen (TGF $\beta$ -1, -2, -3), vier Activin- $\beta$ -Ketten ( $\beta_A$ ,  $\beta_B$ ,  $\beta_C$ ,  $\beta_E$ ), Inhibine, Nodal, BMPs (*bone morphogenic proteins*, 2-7, 8A, 8B, 10, 15), GDFs (*Growth and differentiation factors*, 1-3, 5-11, 15) und das AMH (*Anti-muellerian hormone*).<sup>[13,14]</sup> All diese Liganden teilen ein ähnliches Rezeptorbindungs- und Signalweiterleitungsverhalten, jedoch variieren ihre Expressionslevel je nach betrachtetem Gewebe.<sup>[13,15]</sup> Entsprechend dieser Komplexität wurde die TGF $\beta$ -Superfamilie in drei Unterfamilien eingeteilt, namentlich der TGF $\beta$ -, der Activin A/Inhibin/Nodal-Signalweg und die BMP-Familie. Die einzelnen Untergruppen unterscheiden sich jedoch nicht nur durch ihre (spezifischen) Liganden, sondern auch in ihren Rezeptoren und den verwendeten Proteinen zur Signalweiterleitung (Smads).<sup>[13,14]</sup>

Es gibt drei verschiedene, grundlegende Arten von Rezeptoren, wobei sieben unterschiedliche Typ I Rezeptoren (TGF $\beta$ : ALK1 und ALK5; Activin A: ALK4, ALK7; BMP: ALK1-3, ALK6; ALK: *Activin receptor-like kinase*) und fünf Typ II Rezeptoren identifiziert wurden. Daneben gibt es noch Typ III Rezeptoren, welche im Gegensatz zu dem Typ I und II Rezeptoren keinerlei Kinaseaktivität aufweisen, sondern hauptsächlich den Zugang der TGF $\beta$ -Liganden zu den eigentlichen Bindestellen regulieren.<sup>[13]</sup>

Zur Signalweiterleitung verwendet diese Signalwegsfamilie sogenannte Smad-Proteine, welche je nach Einsatzgebiet eingeteilt werden. Zum Einen gibt es Rezeptorspezifische Proteine (r-Smads), einem gemeinsamen Mediator (co-Smad) und inhibitorisch wirksame Smads (i-Smads).<sup>[13,14]</sup>

Im Nachfolgenden soll kurz die Signalweiterleitungskette anhand des kanonischen TGF $\beta$ -Signalwegs schematisch skizziert und beschrieben werden (siehe auch **Abbildung 1.1**).



**Abb. 1.1:** Schematische Übersicht über den TGFβ-Signalweg.<sup>[13,14]</sup>

TGFβ-Liganden werden als latenter Vorläuferkomplex bestehend aus den dimerisierten TGFβ-Liganden, LAP (*latency-associated protein*) und LTBP (*latent TGFβ binding protein*) synthetisiert und aus der extrazellulären Matrix sekretiert. Für die Aktivierung des Signalwegs wird dieser sogenannte LLC (*large latent complex*) entweder proteolytisch<sup>[16]</sup>, durch mechanische Belastung<sup>[17,18]</sup> oder pH-Wertänderungen gespalten und das biologisch aktive TGFβ-Dimer wird freigesetzt.<sup>[13,19–21]</sup> Freies TGFβ hat eine sehr hohe Affinität und Selektivität für den transmembranständigen TGFβ Rezeptor Typ II, welcher nach der Ligandenbindung den Typ I Rezeptor rekrutiert und so einen Komplex bildet. Da TGFβ stets als Dimer auftritt, wird davon ausgegangen, dass auch jeweils zwei Typ I und zwei Typ II Rezeptoren einen heterotetrameren Komplex auf der Zelloberfläche ausbilden. Beide Rezeptorenarten besitzen Serin/Threonin-Kinaseaktivitäten und durch die Bindung des Liganden werden die aktiven Stellen in eine räumliche Nähe gebracht. Dadurch wird es möglich, dass die Typ II Rezeptoren die TGFβ I Rezeptoren transphosphorylieren, welche dann das Signal an Rezeptorspezifische Proteine (Smad2 und 3) mittels Phosphorylierung weiter propagieren. Nach der Internalisierung des Komplexes über Clathrin-vermittelte Endozytose können die nun aktivierten Smads mit dem Mediator-Protein

Smad4 kombinieren und dieser Komplex transloziert zum Nukleus, wo bestimmte *Target*-Gene – je nach zellulärem Kontext – reguliert werden.<sup>[13,19–21]</sup> Der tetramere Rezeptorkomplex kann dann entweder recycelt werden oder er wird über Lysosomen abgebaut.<sup>[22,23]</sup>

Zur Regulation des TGF $\beta$  Signals können abgesehen von den für die Signalpropagation wichtigen Smads auch inhibitorische Proteine (Smad7) an den aktiven Rezeptorkomplex binden. Dadurch wird dieser in Caveolin-positive Vesikel internalisiert und durch Ubiquitinierung zum proteasomalen Abbau markiert.<sup>[24,25]</sup>

Es sei an dieser Stelle angemerkt, dass obwohl die Smad-abhängige Signalweiterleitung im zellulären Kontext dominiert, es neben dem kanonischen Signalweg ebenfalls Smad-unabhängige TGF $\beta$  Signaltransduktionsketten gibt.<sup>[20]</sup> Diese erreichen die Signalweiterleitung über andere Cofaktoren wie beispielsweise NF- $\kappa$ B (*nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*), PI3K (Phosphoinositid-3-kinasen), TAK1 (*TGF $\beta$ -activated kinase 1*), p38 MAPK (*p38 mitogen-activated protein kinase*) und ERK (*extracellular signal-regulated kinase*).<sup>[13,26]</sup>

### 1.2.2 (Patho-)physiologische Bedeutung des TGF $\beta$ -Signalwegs

Der TGF $\beta$ -Signalweg reguliert eine Vielzahl von essentiellen zellulären Vorgängen, welche nicht nur während der Embryogenese eine große Rolle spielen, sondern auch für die Gewebemöostase unabdingbar sind.<sup>[13,14,20,27]</sup> Es ist daher nicht verwunderlich, dass eine Fehlfunktion des TGF $\beta$ -Signalwegs verschiedene Krankheitsbilder verursacht oder andere verschlimmert. Im Nachfolgenden sollen einige Einflusspunkte der TGF $\beta$ -Signalkette im zellulären Kontext vorgestellt werden und anschließend die Folgen einer Fehlregulation diskutiert werden.

Eine der wichtigsten Rollen von TGF $\beta$  liegt in der Hemmung der Zellproliferation, insbesondere von Epithel-, Endothel-, hämatopoetische und Immunzellen.<sup>[28,29]</sup> Insbesondere in Epithelzellen aktiviert der Signalweg Transkriptionskaskaden, welche einen Zellzyklusarrest in der G1-Phase bewirken und gleichzeitig wird die Transkription von wichtigen Proliferations-, Differenzierungs- und Wachstumsfaktoren unterdrückt.<sup>[30,31]</sup>

Daneben bewirkt TGF $\beta$  den so genannten EMT (*epithelial-mesenchymal transition*) in Epithel-, aber auch in Endothelzellen. Durch diesen Vorgang lockern und lösen sich die Zell-Zell-Kontakte und gleichzeitig wird die Sekretion von Adhäsionsmolekülen, wie E-Cadherin, herunter reguliert. Dadurch können die Zellen migrieren und in andere Gewebestrukturen eindringen.<sup>[32,33]</sup>

Daneben hat der TGF $\beta$ -Signalweg einen großen Einfluss auf die Regulation der extrazellulären Matrix (ECM, *extracellular matrix*). Dies ist eine komplizierte dreidimensionale Struktur, welche die Zellen bei Säugetieren umgibt. Sie beinhaltet eine Reihe von Strukturgebenden Proteinen wie Kollagen, Elastin, Fibrillin, Fibronectin, Lamin und Glycoproteine, wobei die Synthese einiger dieser ECM-Proteine direkt durch *Target*-Gene des TGF $\beta$ -Signalwegs reguliert werden.<sup>[13]</sup> Im Gegenzug dazu besitzt die extrazelluläre Matrix einen regulatorischen Effekt auf den Signalweg: Die TGF $\beta$ -Liganden können direkt von ECM-Komponenten abgefangen und gebunden werden, wodurch die Ligandenkonzentration und somit die Signalwegsaktivität herabgesetzt wird.<sup>[13,34,35]</sup>

Zuletzt soll an dieser Stelle kurz auf den Einfluss der TGF $\beta$ -Liganden auf das Immunsystem eingegangen werden. Neben vielschichtigen Aufgaben bei verschiedensten Immunzelltypen, worauf aufgrund des prominenten Expressionsprofils von TGF $\beta$ -Rezeptoren auf allen Immunzellen geschlossen werden konnte, zeigt der TGF $\beta$ -Ligand eine starke wachstumshemmende Eigenschaft bei den meisten Vorläuferzellen des Immunsystems. Außerdem unterdrückt er die T-Zellproliferation, induziert apoptotische Prozesse in B-Zellen und kann das Differenzierungsschicksal von Immunzellen verändern.<sup>[36–38]</sup> Wie all diese physiologisch wichtigen Prozesse vermuten lassen, führt eine Fehlregulation des TGF $\beta$ -Signalwegs zu einer Vielzahl von unerwünschten Folgen und oftmals zur Entwicklung oder Verschärfung von verschiedenen Krankheitsbildern. Zwei hiervon sollen an dieser Stelle kurz angesprochen werden.

Der TGF $\beta$ -Signalweg besitzt einen großen Einfluss bei verschiedenen Tumorerkrankungen. Tatsächlich wirkt TGF $\beta$  in den frühen Phasen der Krebsentstehung suppressiv, wie der bereits angesprochene Effekt auf den Zellzyklus und auf die Apoptose vermuten lässt. In den späteren Phasen hingegen fördert der TGF $\beta$ -Signalweg die Weiterentwicklung des Tumors. Neben der Unterdrückung einer Immunantwort fördert TGF $\beta$  dessen Metastasierung durch seinen Einfluss auf den EMT und somit auf die Krebszellmobilität bzw. auf die Fähigkeit in anderes Gewebe zu metastasieren.<sup>[21,39–41]</sup> Aber auch ein begünstigender Effekt von TGF $\beta$  auf die Mikroumgebung des Tumorgewebes wird diskutiert.<sup>[13,19,42]</sup> Somit besitzt die Signaltransduktionskette wenig Einfluss bei der Entstehung der Krankheit, sondern trägt einen hohen Anteil bei der Tumorprogression. Daher werden Krebstherapeutika, welche den TGF $\beta$ -Signalweg adressieren, nicht aufgrund deren zytotoxischem Potential entwickelt, sondern vielmehr um die Tumorweiterentwicklung zu hemmen.

Ein weitere wichtige Verbindung während der Tumorprogression konnte zwischen dem TGF $\beta$ -induzierten EMT und so genannten Krebsstammzellen entdeckt werden. Diese sind definiert durch ihr hohes Potential der Selbsterneuerung und durch ihre Fähigkeit einen Tumor zu initiieren und zu propagieren. Außerdem zeigen diese Zellen eine hohe Resistenz gegenüber Zytostatika und Bestrahlungstherapien, weswegen sie für rezidivierende Tumorerkrankungen verantwortlich gemacht werden.<sup>[13,43]</sup> Aus diesem Grund wird die Zerstörung und dauerhafte Stilllegung dieser Krebsstammzellen als der heilige Gral der Onkologie gehandelt, wobei der TGF $\beta$ -Signalweg ein attraktives *Target* darstellen könnte.<sup>[13,19]</sup>

Das zweite Krankheitsbild, bei welchem der TGF $\beta$ -Signalweg eine wichtige Rolle spielt und außerdem im Kontext dieser Arbeit eine große Bedeutung besitzt, ist die kardiale Fibrose. Hierbei liegt der entscheidende Beitrag des Signalwegs in seinem Einfluss auf die extrazelluläre Matrix. Im normalen / physiologischen Zustand ist die Hauptaufgabe der kardialen ECM, das Gewebe strukturell zu unterstützen, also dem Herstellen von Kontakt zwischen den einzelnen Herzmuskelzellen untereinander und anderen körpereigenen Komponenten, wie das Blut- und Lymphsystem. Im gesunden Herzen besteht ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der Synthese von Kollagen (I und III) und dessen Degradierung.<sup>[5,44]</sup> Tritt nun eine Verletzung am Herz auf, wie beispielsweise durch einen Herzinfarkt, wird dieses Gleichgewicht gestört und erhöhte Mengen an Kollagen werden in der ECM angehäuft.<sup>[45–51]</sup> Neben der Kollagenmenge ist zusätzlich die Quervernetzung innerhalb der einzel-

nen Stränge im Krankheitsfall deutlich erhöht, woraus eine weitere Versteifung des Muskelgewebes folgt.<sup>[52,53]</sup> Diese Veränderung der kardialen ECM üben dann verschiedene Einflüsse auf einzelne Herzfunktionen aus: zum Einen wird die diastolische Relaxierung durch die erhöhte Myokard-Steifheit beeinflusst, die elektrische Leitfähigkeit des Herzgewebes wird verändert und die systolische Funktion wird aufgrund der Zellheterogenität gestört.<sup>[5,44,54,55]</sup>

Nach einem Herzinfarkt folgt durch den enormen, nekrotischen Zelluntergang eine massive Entzündungsreaktion, wodurch eine Vielzahl profibrotischer Zytokine ausgeschüttet wird. Dabei hat sich TGF $\beta$  als der vorrangige Botenstoff aufgrund seines ausgeprägten Effekts auf die ECM herausgestellt.<sup>[5]</sup> Interessanterweise konnte aus einem Mausmodell herausgearbeitet werden, dass die Inhibition des Signalwegs direkt nach einer Herzverletzung die Fibrosierung des Herzmuskels effektiv unterdrückt, aber gleichzeitig wurde eine höhere Mortalität der behandelten Mäuse beobachtet.<sup>[56,57]</sup> In einem zweiten Ansatz hingegen wurde der TGF $\beta$ -Inhibitor erst 24 Stunden nach der Herzschädigung appliziert und auch hier konnte ebenfalls die kardiale Umstrukturierung größtenteils verhindert werden, jedoch ohne die Mortalität zu erhöhen. Stattdessen hatte die Behandlung eine deutlich verbesserte Herzfunktion zur Folge.<sup>[57–59]</sup> Dies lässt darauf schließen, dass es zweierlei Arten der kardialen Fibrose gibt: zum Einen gibt es eine reparative Form, welche das zerstörte Gewebe ersetzt und somit die strukturelle Integrität gewährleistet, zum Anderen gibt es eine reaktive Fibrose, welche als Antwort auf die massive Entzündungsreaktion eintritt und so den Überschuss an Kollagen und Fibrosierungsfaktoren im ECM begünstigt, jedoch langfristig für den physiologischen Kontext problematisch werden kann.<sup>[5,54,60]</sup>

Bei den meisten TGF $\beta$ -assoziierten Krankheitsbildern kann in vielen Fällen ein ähnliches Muster in der Wirkung des Signalwegs beobachtet werden: Während der Signalweg das Fortschreiten einer Krankheit in frühen Phasen unterdrückt, tritt in späten Phasen genau der gegenteilige Effekt ein. Dies ist höchstwahrscheinlich in der physiologischen Funktion des Signalwegs, der Regulation der Gewebshomöostase, verankert. Im Verlauf einer Erkrankung übersteuert der TGF $\beta$ -Signalweg typischerweise immer stärker und aufgrund fehlender oder pathologisch abgestimmter Regulationsmöglichkeiten wird hierdurch mehr Schaden als Nutzen verursacht. Dieses Verhalten wird auch als „TGF $\beta$  Paradox“ bezeichnet.<sup>[13,19,61]</sup>

### 1.2.3 Hemmung des TGF $\beta$ Signalwegs im Krankheitsfall

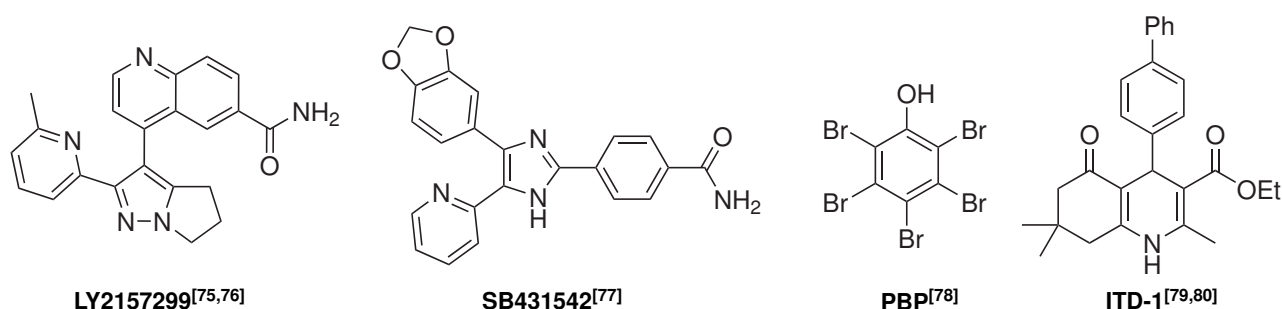
Es gibt fast keine Komponente des TGF $\beta$ -Signalwegs, welche noch nicht als mögliches *Target* adressiert worden ist und ebenso divers ist die chemische Natur der Inhibitoren. Sie reichen von *Antisense oligonucleotides* (ASOs) über monoklonale Antikörper zu niedermolekularen Verbindungen. Bei einigen Vertretern ist die pharmazeutische Entwicklung sogar bereits bis in klinische Phasen vorangeschritten, jedoch befindet sich eine deutlich größere Zahl noch auf präklinischen Entwicklungsstufen.<sup>[13]</sup>

ASOs finden ihr Einsatzgebiet im Kontext des TGF $\beta$ -Signalwegs bei der Runterregulierung der Ligandensynthese auf mRNA-Ebene.<sup>[62,63]</sup> Ein bekannter Vertreter dieser Inhibitorklasse ist Tabersen

(AP12009) der Firma Anstisense Pharma, welches sich in der klinischen Phase I/IIb bei der Behandlung von Glioblastoma<sup>[62,64,65]</sup> und in Phase I im Kontext von Pankreaskarzinome und Darmkrebs<sup>[66]</sup> befindet. Dieses synthetische 18-mere Oligonukleotid bindet sehr spezifisch an der humanen *TGFB2* mRNA und blockiert so dessen Expression und damit die Aktivierung des Signalwegs.<sup>[13]</sup> Eine ähnliche Strategie verfolgt der Impfstoff Belangenpumatucl L (Lucanix) der Firma NovaRx, dieser befindet sich bereits in der III. klinischen Phase. Dabei handelt es sich um ein Plasmid-Konstrukt, das Antisense-RNA gegen *TGFB2*-mRNA nach Transfektion in allogenen nichtkleinzelligen Lungenkarzinom-Zellen exprimiert und damit die Anwendung als Tumorimpfstoff ermöglicht.<sup>[67–69]</sup>

Eine andere Möglichkeit liegt in dem Abfangen von überschüssigem freiem TGF $\beta$ -Liganden durch Antikörper. Insbesondere die Firma Cambridge Antibody Technology entwickelte diverse Antikörper gegen TGF $\beta$ 1, 2 und 3, welche sich in verschiedenen klinischen Phasen befinden und für unterschiedlichste Krankheitsbilder (Vernarbung nach Glaukomoperationen, Sklerose, Tumore) angedacht sind.<sup>[70–74]</sup>

Zuletzt soll auf die Klasse der *Small molecule*-Inhibitoren eingegangen werden. Diese Inhibitoren besitzen einige Vorteile, denn sie sind ökonomischer herstellbar, besitzen typischerweise ein besseres pharmakokinetisches Profil als *Biologicals*, können einfacher – oftmals oral – appliziert werden und besitzen häufig nur kurze Halbwertszeiten, weswegen diese Behandlung bei starken Nebenwirkungen sofort abgebrochen werden kann.<sup>[13]</sup> Aus diesen Gründen gibt es intensive Bestrebungen in der medizinal-chemischen Forschung niedermolekulare TGF $\beta$ -Signalwegs-Inhibitoren zu entwickeln. Dementsprechend ist bereits eine beachtliche Anzahl derartiger Verbindungen publiziert worden, wobei der übliche Wirkmechanismus der Verbindungen auf der Inhibition der Kinaseaktivität des TGF $\beta$  Typ I Rezeptors basiert, wodurch die Phosphorylierung der Smad-Proteine verhindert wird und so die Signalweiterleitung unterbunden werden kann. Basierend auf dieser Entwicklungsstrategie wurden viele dieser Inhibitoren als ATP-Mimetika designt, welche kompetitiv in der ATP-Bindestelle des Rezeptors binden sollen. Zwei Vertreter aus dieser Substanzklasse (**LY2157299**<sup>[75,76]</sup> und **SB431542**<sup>[77]</sup>) sind in der **Abbildung 1.2** aufgeführt.



**Abb. 1.2:** Beispiele für niedermolekulare TGF $\beta$ -Signalwegs-Inhibitoren.<sup>[75–80]</sup>

Interessanterweise wurde lediglich **LY2157299**<sup>[75,76]</sup> der Firma Eli Lilly als einziger TGF $\beta$  Rezeptor Typ I Inhibitor zur Behandlung unterschiedlicher Tumorarten bis zu den klinische Phasen weiterentwickelt. Die entscheidende Hürde bei dieser Entwicklungsstrategie liegt in der oftmals schwer er-

reichbaren *Target*-Selektivität, insbesondere bezüglich den strukturell sehr eng verwandten anderen Typ-I-Rezeptoren der TGF $\beta$ -Superfamilie.

Ein sehr ähnliches Problem besitzt der zweite gezeigte Inhibitor, **SB431542**<sup>[77]</sup>. Dieser ist zwar sehr potent in Bezug auf die TGF $\beta$  Rezeptor Typ I Inhibition, sodass dieser sehr häufig in biochemischen Assay-Formaten als Positivkontrolle verwendet wird. Gleichzeitig aber ist dieser sehr unselektiv, denn neben dem TGF $\beta$ -Signalweg wird ebenfalls die Activin A- und Nodal-Signalweiterleitung gehemmt. Daher konnte eine weitere Entwicklung in Richtung einer pharmazeutischen Anwendung nicht erfolgen.<sup>[77]</sup>

Die beiden zusätzlich in der **Abbildung 1.2** gezeigten TGF $\beta$ -Inhibitoren unterscheiden sich im prinzipiellen Wirkmechanismus von den meisten übrigen publizierten Inhibitoren, da diese spezifisch den TGF $\beta$  Rezeptor Typ II adressieren und eine Internalisierung, sowie dessen proteasomale Degradierung bewirken.

Pentabromphenol (**PBP**<sup>[78]</sup>) wurde ursprünglich als Flammenschutzmittel entwickelt und wurde erst vor kurzem im Kontext des TGF $\beta$ -Signalwegs publiziert. Der Bindepartner dieser Verbindung konnte bis dato jedoch noch nicht herausgearbeitet werden und es scheint eher unwahrscheinlich, dass dieses strukturell recht einfach aufgebaute Molekül eine besondere Selektivität für eine einzelne Zielstruktur besitzt. Stattdessen ist es eher denkbar, dass die recht lipophile Verbindung die Zusammensetzung der für die Internalisierung des Rezeptors notwendigen Vesikel verändert und dadurch das Rezeptorschicksal in Richtung Caveolae-vermittelte proteasomale Degradierung verschiebt.<sup>[78]</sup>

Eine bessere Chance ein konkretes molekulares *Target* zu adressieren, ist bei der Verbindung **ITD-1**<sup>[79,80]</sup> zu erwarten, da hier bereits erste Struktur-Aktivitäts-Studien durchgeführt worden sind und daher unspezifische Wechselwirkungen unwahrscheinlich erscheinen.<sup>[79,80]</sup> Für eine genaue Betrachtung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, sowie des Wirkmechanismus der Verbindungsklasse wird auf den **Abschnitt 1.3.3** auf Seite **12** verwiesen.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die therapeutische Inhibition des TGF $\beta$ -Signalwegs ein sehr ambitioniertes Ziel darstellt, da dieser in einer Vielzahl von zellulären Prozessen unterschiedlichster Natur involviert ist. Nichtsdestotrotz gibt es in der aktuellen Forschung viele, divers aufgestellte und verheißungsvolle Ansatzpunkte für eine erfolgreiche anti-TGF $\beta$ -Therapie.

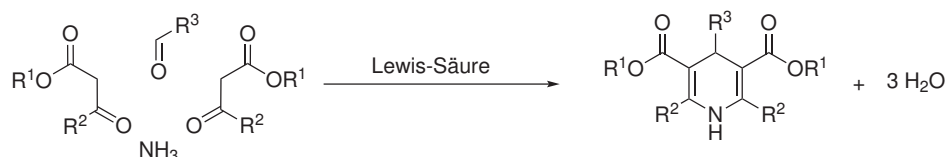


## 1.3 Überblick über 1,4-Dihydropyridine

### 1.3.1 Synthesestrategien für 1,4-Dihydropyridine

Die erste synthetische Darstellung von 1,4-Dihydropyridinen (DHPs) gelang bereits vor über 130 Jahren dem deutschen Wissenschaftler Arthur Hantzsch während seiner Habilitation. Er suchte nach einem einfachen Syntheseweg für speziell substituierte Pyridine und beobachtete dabei, dass bei einer Drei-Komponenten-Eintopf-Reaktion zwischen einem  $\beta$ -Ketoester, einem Aldehyd und Ammoniak ein sehr einfach zu isolierendes Zwischenprodukt auftritt, das 1,4-Dihydropyridin.<sup>[81]</sup> Diese Reaktion, sowie das so erzeugte Grundgerüst revolutionierte die pharmazeutische Forschung derart, dass die Syntheseroute als Namensreaktion in die Literatur einging und bis heute Gegenstand der (medizinal-)chemischen Forschung ist. Selbst heutzutage noch werden neue Anwendungsgebiete, Syntheserouten und Funktionalisierungsmöglichkeiten für diese Molekülklasse publiziert.<sup>[82]</sup>

In der am häufigsten genutzten Synthesesequenz werden die Reaktionspartner in einer Multikomponentenreaktion (MCR) unter Verwendung einer Lewisäure zur Reaktion gebracht. Mechanistisch gesehen kommt es bei dieser Eintopfsynthese zu einer Vielzahl von verschiedenen Gleichgewichtsreaktionen, wie beispielsweise der Bildung diverser Iminspezies oder anderer Kondensationsreaktionen, wobei der abschließende Schritt, der Ringschluss zum 1,4-Dihydropyridin, irreversibel abläuft.



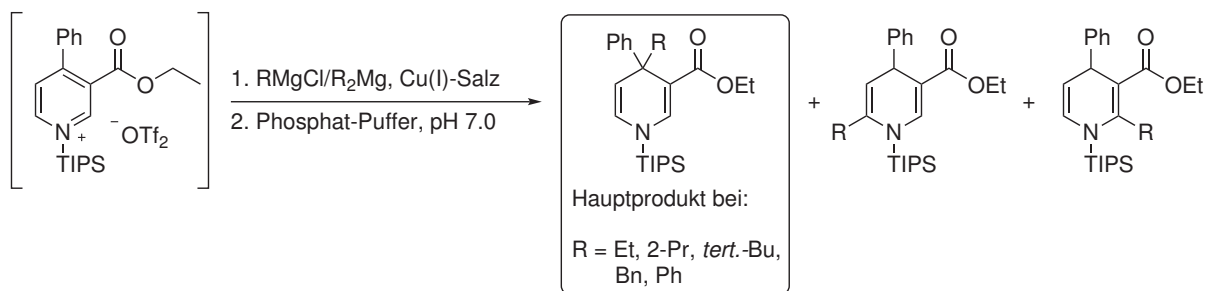
**Abb. 1.3:** Übersicht über die klassische Hantzsch 1,4-Dihydropyridinsynthese.<sup>[81]</sup>

Im Laufe der Jahre wurde diese auf den ersten Blick recht simpel erscheinende Reaktion immer weiter verfeinert, nicht zuletzt um diverse, teilweise gravierende Probleme zu adressieren. Der vielleicht größte Nachteil bei dieser Reaktion lag darin, dass in der ursprünglichen Synthese nur Moleküle mit gleichen Substituenten an den Seiten des Dihydropyridin-Rings dargestellt werden konnten. Selbst bei der Verwendung von zwei unterschiedlichen  $\beta$ -Carbonylverbindungen wurden stets hauptsächlich symmetrisch substituierte 1,4-DHPs erhalten. Dies ist jedoch gerade in der modernen medizinalchemischen Forschung nicht immer sinnvoll, weil die heutzutage gestellten komplexen biologischen Fragestellungen oftmals entsprechend divers aufgestellte chemische Antworten bzw. Liganden benötigen.<sup>[83]</sup> Diese in den meisten Fällen unerwünschte Nebenreaktion kann auch heutzutage nicht unterdrückt werden, allerdings kann durch die Wahl eines geeigneten Katalysator- und Lösungsmittelsystems das Produktverhältnis zu den asymmetrisch substituierten 1,4-DHPs verschoben werden.<sup>[83]</sup> Als Katalysator für diese Reaktion werden üblicherweise Lewisäuren verwendet. Während bei der ersten Beschreibung durch Hantzsch Zinkchlorid benutzt wurde,<sup>[81]</sup> finden heutzutage eher molekulares Iod,<sup>[84]</sup> Cerammonium Nitrat (CAN),<sup>[85]</sup> Ytterbiumtriflat,<sup>[86]</sup> Triphenylphosphin,<sup>[87]</sup> Titan-tetrachlorid<sup>[88]</sup> oder Scandiumtriflat<sup>[89]</sup> Anwendung.

Neben Lewis-Säuren eignen sich auch Brønsted-Säuren als Katalysator für die Darstellung der 1,4-DHPs.<sup>[90,91]</sup> An dieser Stelle sei auch auf die Verwendung chiraler Phosphorsäuren hingewiesen, welche in **Kapitel 3.3.2** auf Seite **80** genauer beschrieben werden.

Neben den bis dahin beschriebenen Variationen der klassischen Synthesemethode wurden mittlerweile auch Reaktionssequenzen beschrieben, welche auf die Verwendung von Lösungsmittel komplett verzichten<sup>[92,93]</sup> oder spezielle Reaktionsbedingungen verwenden, wie Bäcker-Hefe,<sup>[94]</sup> Mikrowellenstrahlung<sup>[95,96]</sup> oder Ultraschall.<sup>[97]</sup> Diese sollen an dieser Stelle jedoch nur erwähnt und nicht genauer erläutert werden.

Eine komplett andere Herangehensweise zur Herstellung von 1,4-Dihydropyridinen ist die nukleophile Addition an Pyridine. Auf diese Weise entstehen entweder 1,2- oder 1,4-substituierte Produkte, wobei die Regioselektivität abhängig von der Härte des verwendeten Nucleophils, sowie von der Art der Reaktionskontrolle scheint und weiche Nucleophile, sowie eine thermodynamisch-kontrollierte Reaktionsführung führen bevorzugt zu 1,4-Dihydropyridinen.<sup>[98]</sup> Ein berühmtes Beispiel hierfür ist die Kröhnke-Prozedur, bei welcher Basenkatalysiert Ketone mit Alkyl- oder *N*-Acylpyridinium Salzen zur Reaktion gebracht werden, wodurch  $\gamma$ -substituierte DHPs hergestellt werden können.<sup>[99–102]</sup> Analog dazu können auch Grignard-basierte Reagenzien verwendet werden, wobei hier die Regioselektivität zu einer 1,4-Substitution durch die Anwesenheit von Kupfer deutlich verbessert wird.<sup>[103–106]</sup>



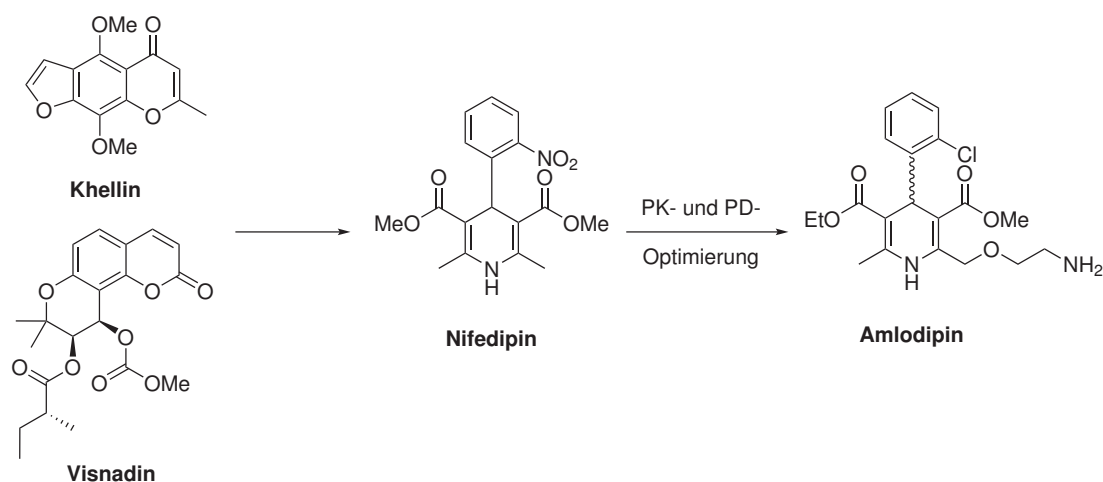
**Abb. 1.4:** Synthese von 4,4-disubstituierten 1,4-Dihydropyridinen mittels einer nukleophilen Addition von Grignard-Reagenzien und Kupfer(I)-Salzen an *N*-Silyl-substituierten Pyridin-Salzen.<sup>[107,108]</sup>

An dieser Stelle sollen insbesondere die Synthesesequenzen von WANNER *et al.*<sup>[107,108]</sup> hervorgehoben werden, da hier bereits 4-substituierte *N*-Pyridinsalze mit Dialkylmagnesium-Reagenzien zur Reaktion gebracht werden können und dabei mit einer befriedigenden Ausbeute und Regioselektivität das generell recht schwer herzustellende Strukturelement der 4,4-doppelt-substituierten 1,4-DHPs erhalten werden kann.<sup>[107,108]</sup>

### 1.3.2 Anwendung der 1,4-Dihydropyridine in der Medizinischen Chemie

Verbindungen auf 1,4-Dihydropyridin-Basis zählen zu den sogenannten „privilegierten Grundgerüsten“. So werden Substanzen mit speziellen chemischen Grundstrukturen klassifiziert, welche auffällig oft Liganden für verschiedene biologischen Rezeptoren bereitstellen.<sup>[109]</sup> Außerdem (oder gerade aus diesem Grund) sind Naturstoffe häufig auf *privilegierten Grundgerüsten* aufgebaut und die für ihre Wirkung notwendige Rezeptorselektivität wird durch ein spezielles, beliebig komplexes Substitutionsmuster umgesetzt. Daher verwundert es nicht, dass in der pharmazeutischen Wirkstoffforschung sehr häufig auf Bibliotheken dieser Verbindungen zurückgegriffen wird und diese regelmäßig bei Wirkstoffscreenings als potentielle, neue aktive Agenzien identifiziert werden.<sup>[110]</sup> Typische Beispiele für *privilegierte Grundgerüste* sind Indole, Chinoline, Purine, Benzodiazepine und die hier vorgestellten 1,4-Dihydropyridine.<sup>[110,111]</sup>

Dementsprechend zeigen die pharmakologischen Eigenschaften von 1,4-DHPs ein sehr vielseitiges Bild. Sie reichen von antagonistischen Wirkungen auf GPCRs<sup>[112,113]</sup> und auf das P-Glycoprotein<sup>[114]</sup> über GABA Rezeptoren<sup>[115,116]</sup> bis hin zu Kaliumkanalmodulatoren.<sup>[117,118]</sup> Auf eine vollständige Auflistung wird an dieser Stelle verzichtet und für einen detaillierten Überblick sei auf die Vielzahl an Übersichtsartikeln verwiesen.<sup>[119,120]</sup> Stattdessen sollen im Nachfolgenden nur die prominentesten bzw. für diese Arbeit am meisten ausschlaggebenden Anwendungsgebiete vorgestellt werden.



**Abb. 1.5:** Entdeckung und Optimierung der 1,4-Dihydropyridine ausgehend von den Naturstoffen Khellin und Visnadin zum ersten DHP-basierten Antihypertonikum Nifedipin. Weitere Optimierungen führten zu einem DHP der dritten Generation, Amlodipin.<sup>[121,122]</sup>

Die weitaus wichtigste und bekannteste Anwendung der 1,4-Dihydropyridine liegt in der Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen, wie Hypertonie und Angina pectoris, bzw. in deren Wirkung auf Calciumkanälen.<sup>[4]</sup> Das erste Medikament auf 1,4-DHP-Basis wurde von den beiden Wissenschaftlern Bossert und Vater bei der Firma Bayer AG entwickelt,<sup>[123]</sup> welches sie 1975 unter dem Namen Adalat<sup>®</sup> auf den Markt brachten.<sup>[121,122]</sup> Der Wirkstoff Nifedipin, welcher heute generell als der Prototyp dieser Verbindungsklasse im kardiovaskulären Kontext angesehen wird, entsprang einem klassischen medicinal-chemisch gesteuertem Optimierungsansatz ausgehend von den zwei Naturstoffen Khellin

und Visnadin (gezeigt in **Abbildung 1.5**), welche bereits für sich ausgeprägte vasodilatorische Wirkungen besitzen. Nifedipin wurde seitdem stetig im Hinblick auf dessen Pharmakokinetik und -dynamik weiterentwickelt und man befindet sich heute in der so genannten dritten Generation der Calciumkanalinhibitoren.<sup>[4]</sup> Ein prominenter Vertreter ist das Amlodipin (Norvasc<sup>®</sup>), welches heutzutage zu den meist verkauften Arzneimitteln gehört und einen weltweiten Umsatz von mehreren Milliarden Euro verzeichnen kann.<sup>[119]</sup> Damit gehören die 1,4-Dihydropyridine zu den bis dato wichtigsten Substanzklassen, die ihren Weg in die medizinische Anwendung gefunden haben.

Der große klinische Erfolg dieser Substanzen beruht auf ihrer sehr hohen Aktivität auf und der starken Selektivität für einen speziellen Typus der spannungsabhängigen Calciumkanäle, dem L-Typ (in älterer Literatur wird dieser Ionenkanal auch DHP-Typ genannt). Diese Kanäle finden sich vor allem in Herzmuskelgewebe, sowie in der glatten Muskulatur von Arterien. 1,4-DHPs wirken interessanterweise hauptsächlich in den zuletzt genannten Muskelzellen und beeinflussen so die Kontraktilität des Gewebes und damit einhergehend den peripheren Widerstand des Blutkreislaufs, wodurch schlussendlich der Effekt der Dihydropyridine auf den Blutdruck erklärt werden kann.<sup>[4,119,124]</sup>

### 1.3.3 1,4-Dihydropyridine in der Regenerativen Medizin

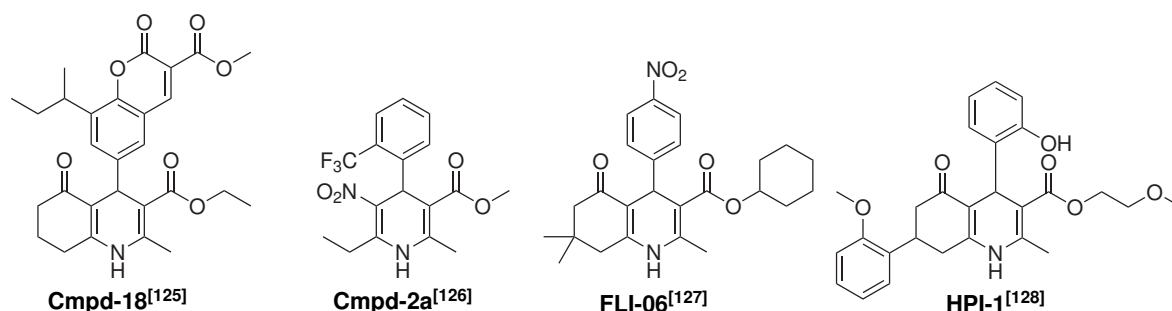
Wie bereits im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, zeigen 1,4-Dihydropyridine weitgefaste biologische Aktivitäten. Daher ist es nicht verwunderlich, dass sie auch im entwicklungsbiologischen Kontext Anwendung finden. So konnten beispielsweise SASHIDHARA *et al.* berichten, dass bereits lange etablierte Vertreter dieser Substanzklasse, wie das bereits angesprochene Nifedipin, eine deutliche Aktivität auf die alkalische Phosphatase zeigen und damit einen starken Effekt auf die Knochenmineralisierung besitzen. Dieser Effekt konnte durch eine chemische Hybridisierung von 1,4-DHPs und Cumarin-Derivaten noch gesteigert werden (**Cmpd-18**<sup>[125]</sup>, **Abbildung 1.6**), sodass nicht nur ein *in vitro*, sondern auch eine *in vivo* Anwendung in „OVX“ Mäusen möglich wurde.<sup>[125]</sup>

Ein weiteres Beispiel ist **Cmpd-2a**<sup>[126]</sup> (**Abbildung 1.6**), welches die Proliferation von pankreatischen  $\beta$ -Zellen induziert, obwohl diese Zellpopulation im Zellzyklus arretiert wurde. Hier ist der Wirkmechanismus noch nicht vollständig charakterisiert, aber es wird ein Zusammenhang zwischen der Aktivierung von L-Typ Calcium-Kanälen und der Substanz-induzierten Transkription von Wachstumsfaktoren diskutiert.<sup>[126]</sup>

Auch der Notch-Signalweg wird von Verbindungen des 1,4-DHP-Typs moduliert. Hierbei zeigt das Dihydropyridin **FLI-06** (**Abbildung 1.6**) sowohl in *in vitro*-Assayformaten, aber auch in einem Zebrafisch-Modell eine noch nicht vorher beschriebene Störung des Golgi-Apparates. Außerdem wurde eine deutliche Akkumulation des Notch-Rezeptors in intrazellulären Membranen, sowie eine morphologische Umwandlung des endoplasmatischen Retikulums beobachtet, was die Autoren auf eine Hemmung der frühen Phasen in der Sekretion durch die DHPs schließen ließ. Eine genauere Untersuchung dieses einzigartigen Inhibitionsmechanismus steht noch aus.<sup>[127]</sup>

**HPI-1** (**Abbildung 1.6**) ist ein weiteres 1,4-Dihydropyridin-Derivat, welches einen entwicklungsbiologischen Signalweg inhibiert. So wird durch diese Substanz sowohl die exogene, als auch die endogene

Aktivität von zwei Hedgehog-Effektoren, GLI1 und GLI2, antagonisiert, was weniger auf einen Cilium-abhängigen Wirkmechanismus schließen lässt, sondern vielmehr posttranslationale Modifikationen der Effektoren verursacht und/oder eine Interaktion zwischen den Transkriptionsfaktoren und einem Kofaktor stört.<sup>[128]</sup>



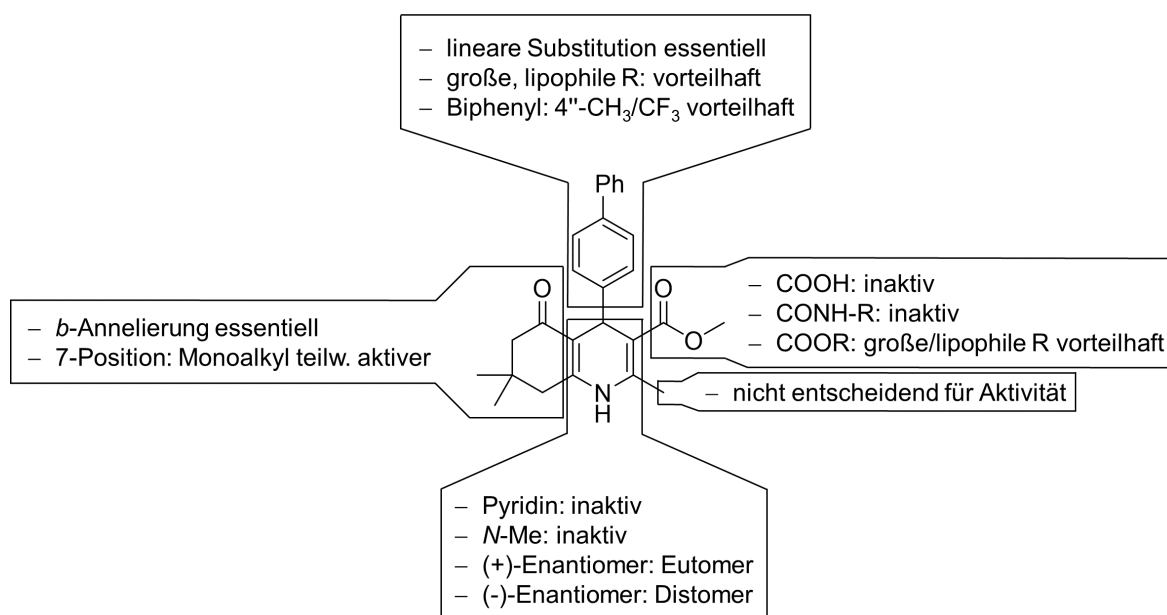
**Abb. 1.6:** Beispiele für 1,4-Dihydropyridine mit Aktivitäten im entwicklungsbiologischen Kontext.<sup>[125–128]</sup>

Die für diese Arbeit ausschlaggebende biologische Aktivität dieser Substanzklasse wurde im Jahr 2012 von der Arbeitsgruppe MERCOLA entdeckt. So konnten über einen *medium throughput screen* in einem murinen embryonalen Stammzellbasierten phänotypischen Assay 1,4-Dihydropyridine identifiziert werden, welche die Differenzierung der verwendeten Stammzellen zu kardialem Gewebe lenkten. Interessanterweise zeigten die Verbindung diesen Effekt lediglich, wenn sie in dem speziellen Zeitfenster der Mesodermstrukturierung appliziert wurden, zu einem früheren oder späteren Zeitpunkt war die Ausbeute an Kardiomyozyten deutlich vermindert. Daraufhin wurden genauere mechanistische Studien durchgeführt, welche aufdeckten, dass die Inhibierung des TGF $\beta$ -/Activin A- Signalwegs der zugrunde liegende Wirkmechanismus der kardiogenen Verbindungen ist. Weiter konnte ausgeschlossen werden, dass eine unspezifische Toxizität oder die Inhibierung der Calciumkanäle ursächlich für die Aktivität ist und der Effekt ausschließlich durch eine bisher noch nicht berichtete Art der Blockierung des TGF $\beta$ -Signalwegs ausgelöst wird. Weitere Studien zeigten, dass durch die Substanzbehandlung die Internalisierung des TGF $\beta$  Rezeptor II und dessen anschließenden proteasomalen Abbau ausgelöst wird. Allerdings konnte der konkrete molekulare Bindungspartner der Dihydropyridine in diesem Kontext bisher noch nicht identifiziert werden.<sup>[80]</sup>

Zur weiteren Evaluierung des Inhibitionsverhaltens wurde eine erste Struktur-Aktivitäts-Studie durchgeführt, welche genauere Rückschlüsse auf den Wirkmechanismus und tolerierte Substitutionsmuster liefern sollte. Die Schlüsselergebnisse sind in **Graphik 1.7** gezeigt.

Bei dieser initialen SAR-Studie (*Structure-Activity-Relationship*) konnten wichtige Pharmakophorelemente herausgearbeitet werden. So darf der 1,4-Dihydropyridinkern an sich nicht verändert werden, wie beispielsweise Oxidation zum Pyridin oder eine *N*-Methylierung, ohne dass ein kompletter Wirkverlust erfolgt. Deutlich mehr Spielraum liegt an der 2-Position vor, so konnte gezeigt werden, dass ein Methyltest eine ähnliche Hemmpotenz wie eine *n*-Propylgruppe bewirkt und daher zunächst davon ausgegangen werden kann, dass diese Seite während der *Target*-Bindung eher dem Lösungsmittel zugewandt ist. An der 3-Position hingegen konnte kein Ersatz für einen Ester gefunden werden. Statt-

dessen fand man heraus, dass Verbindungen mit einer freien Carbonsäure oder sekundäre Amide mit unterschiedlichsten Resten keinerlei biologische Aktivität aufweisen. Daneben scheint die biologische Aktivität mit der Größe der aliphatischen Reste zu korrelieren. Überschreitet man jedoch einen gewissen sterischen Anspruch, sinkt die biologische Aktivität wieder. Eine besondere Rolle kann der 4-Position zugeschrieben werden. Hier ist auffällig, dass nur Derivate mit linearen aromatischen Systemen oder mit 4'-Alkyl-substituierten Phenylringen den TGF $\beta$ -Signalweg effektiv hemmen können, während verzweigte Gruppen kaum bis keine Aktivität zeigen. Neben dem entscheidenden Einfluss auf die Hemmung des TGF $\beta$ -Signalwegs kann über geeignete Reste die Selektivität gegenüber des Activin A-Signalwegs gesteuert werden. Zuletzt wurde der *b*-Annelant untersucht und interessanterweise verlieren Verbindungen mit ringoffenen Substitutionen sämtliche Aktivität. Dies lässt darauf schließen, dass die spezielle Konformation des Cyclohexanon-Rings unabdingbar für die biologische Aktivität ist. Die 7-Position hingegen muss nicht zweifach substituiert sein, sondern auch Verbindungen mit einzelnen Alkylgruppen führen zu aktiven Inhibitoren, sobald eine gewisse Größe erreicht wird. Daher wird vermutet, dass auch im Umfeld dieser Region räumlicher Freiraum während der Bindung an die biologische Zielstruktur vorhanden ist. Zuletzt konnte in der SAR-Studie eine Stereopräferenz der biologischen Zielstruktur herausgearbeitet werden. Einzig das (+)-Enantiomer zeigt eine überzeugende Wirksamkeit, wodurch sich der Verdacht nach einem einzelnen, isolierten *Target* erhärtet.<sup>[79]</sup>



**Abb. 1.7:** Übersicht über die initiale Struktur-Aktivitäts-Beziehung der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine.<sup>[79]</sup>

## 2 Zielsetzung und Motivation

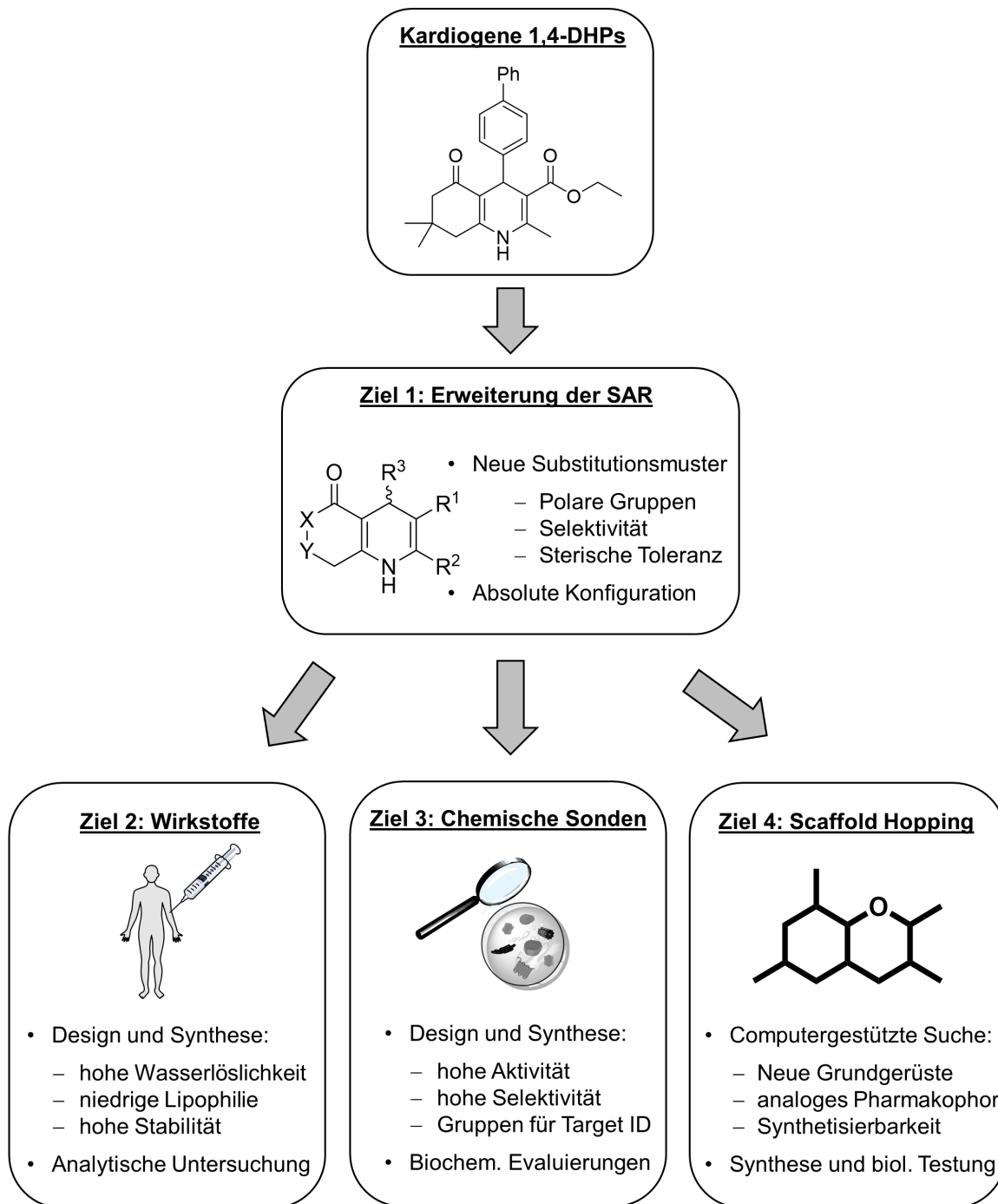
Kardiovaskuläre Erkrankungen gehören weltweit zu den führenden Todesursachen und ganz besonders in den hochindustrialisierten Ländern. Rund ein Drittel aller Sterbefälle können auf diese Krankheiten oder auf deren Folgen zurückgeführt werden.<sup>[1,2]</sup> Die heutzutage gängigen Therapiemöglichkeiten sind weitestgehend beschränkt und zielen hauptsächlich darauf ab, den Status-quo zu stabilisieren und weitere kardiale Risikofaktoren zu reduzieren.<sup>[8]</sup>

Daher besteht ein dringender Bedarf an innovativen und kurativen Behandlungsstrategien, wobei die Regenerative Medizin momentan die attraktivste Möglichkeit darstellt. Im Kontext von kardiovaskulären Erkrankungen gibt es hierbei drei grundlegend verschiedene Herangehensweisen. Entweder können exogen erzeugte kardiale Vorläuferzellen oder bereits ausdifferenziertes Herzmuskelgewebe an die Stelle des erkrankten Gewebes transplantiert werden oder endogene, im physiologischen Zustand nur sehr langsam und gering ablaufende Regenerationsmechanismen mit Wirkstoffen zu adressieren und zu aktivieren. Als dritte Möglichkeit ist eine Transdifferenzierung des nicht funktionalen Narbengewebes (Fibroblasten) zu Herzmuskelzellen denkbar.<sup>[8,12]</sup>

All diese Strategien benötigen als Grundlage einen besseren Einblick in die dafür verantwortlichen zellulären Prozesse, um anschließend eine gezielte chemische Kontrolle über das Proliferations- und Differenzierungsverhalten von Stamm- bzw. Vorläuferzellen ausüben zu können. Ein möglicher und attraktiver zellulärer Ansatzpunkt ist der TGF $\beta$ -Signalweg, da dieser sowohl in der Gewebshomöostase, als auch in Differenzierungsprozessen eine elementare Rolle spielt.

Im Jahr 2012 wurde eine neue Substanzklasse als selektiver TGF $\beta$  Rezeptor II Inhibitor auf Basis des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts vorgestellt. Erste mechanistische Untersuchungen und initiale Struktur-Aktivitäts-Beziehungsstudien erhärteten den Verdacht, dass es sich bei diesen Verbindungen um völlig neuartige Hemmstoffe des Signalwegs handelt, welche einen bislang noch nicht beschriebenen Wirkmechanismus an den Tag legen.<sup>[79,80]</sup> Allerdings blieben noch viele Fragen bezüglich der Anwendbarkeit der 1,4-Dihydropyridine als Wirkstoffe zur Krankheitsbehandlung oder auch nach dem konkreten zellulären Bindungspartner unbeantwortet. Daneben war unbekannt, ob dieser Wirkmechanismus auf die Klasse der 1,4-Dihydropyridine beschränkt ist oder ob es auch andere Grundgerüste gibt, welche den TGF $\beta$ -Signalweg in analoger Weise hemmen können.

Daher sollten als Ziel dieser Arbeit drei unterschiedliche, rational getriebene Optimierungskampagnen verfolgt werden: (1) Entwicklung von kardiogenen 1,4-Dihydropyridinen für eine *in vivo*-Anwendung, (2) Design und Synthese von molekularen Sonden für weitere (biochemische) Untersuchungen des neuartigen Wirkmechanismus und (3) Identifikation von neuen TGF $\beta$ -Inhibitoren mit analogem Wirkprofil, jedoch unterschiedlichem Grundgerüst. Als Basis für solche Entwicklungskampagnen muss eine solide und umfassende Analyse der pharmakophoren Strukturelemente der 1,4-DHPs vorliegen, um möglichst schnell und effizient die gesteckten Ziele zu erreichen.



**Abb. 2.1:** Optimierungskampagne für die kardiogenen 1,4-Dihydropyridine. Nach Erweiterung der SAR (Ziel 1) sollen auf Basis der Verbindungsklasse zielgerichtet Wirkstoffe (Ziel 2), chemischen Sonden (Ziel 3) und neue TGF $\beta$ -Inhibitoren mit neuen Grundgerüsten (Ziel 4) entwickelt werden.

Daher müssen im Vorfeld noch weitere, generelle Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen mit den 1,4-Dihydropyridinen durchgeführt werden. In der initialen SAR-Studie wurden hauptsächlich unpolare, lipophile Funktionalitäten an unterschiedlichen Positionen des Grundgerüst eingeführt,<sup>[79]</sup> weswegen im nächsten Schritt die Frage nach polaren und komplexeren Substituenten gestellt werden kann. Daneben muss eingehender untersucht werden, ob das ursprünglich herausgearbeitete Selektivitätspro-



fil<sup>[79]</sup> – insbesondere gegenüber anderen nahe verwandten Signalwegen wie Activin A – durch weitere Derivatisierungen noch weiter verbessert werden kann. Zuletzt besteht die Frage nach der absoluten Konfiguration des biologisch aktiven Enantiomers, da dies besonders im Hinblick auf Computergestützte Methoden von elementarer Bedeutung ist.

Anschließend sollen gezielt Verbindungen mit maßgeschneiderten Eigenschaften für die angedachten Anwendungsgebiete synthetisiert werden. Für eine *in vivo* Anwendung werden besondere Anforderungen an die Verbindungen gestellt: zum Einen ist eine ausreichende Wasserlöslichkeit und Lipophilie der Wirkstoffe für eine gute Bioverfügbarkeit unabdingbar. Außerdem ist eine gewisse chemische und metabolische Stabilität notwendig, damit die Substanzen ihren pharmakodynamischen Effekt sicher entfalten zu können. Diese pharmakokinetisch-wichtigen Eigenschaften sollen dann im Anschluss an die Synthese der Derivate mit analytischen Methoden, wie z.B.: HPLC-MS, überprüft werden.

Bei der Entwicklung von chemischen Sonden stehen andere Eigenschaften im Vordergrund, wie eine sehr hohe Aktivität und Selektivität für das *Target*. Außerdem müssen die Moleküle mit Funktionalitäten ausgestattet sein, welche eine Identifikation der noch unbekannt zellulären Bindepartner ermöglichen. Diese können dann im Anschluss in ersten biochemischen Experimenten untersucht werden.

Die zuletzt angedachte Entwicklungslinie, die Suche nach neuen chemischen Modulatoren des TGF $\beta$ -Signalwegs mit gleichem Wirkprofil, soll Computergestützt mit Kooperationspartnern erfolgen. Dabei sind einige Kriterien unabdingbar: Die neuen Grundgerüste sollen keine 1,4-Dihydropyridinen enthalten, jedoch das gleiche Pharmakophor rekapitulieren und die strukturelle Komplexität und damit die Synthetisierbarkeit soll überschaubar bleiben. Die so identifizierten neuen Grundgerüste sollen anschließend – sofern notwendig – hergestellt werden, um kleine Bibliotheken für erste SAR-Studien zu erstellen.



### 3 Ergebnisse und Diskussion

Im ersten Teil dieser Arbeit sollte die Substanzklasse der 1,4-Dihydropyridine für zwei grundlegend verschiedene Anwendungsgebiete optimiert werden. Zum Einen sollte diesen Substanzen ein Wirkstoffcharakter für die Anwendung in komplexen biologischen Systemen (bis hin zu einer *in vivo* Applikation) verliehen werden. Auf der anderen Seite soll mit diesen Substanzen der bereits angesprochene neue Inhibitionsmechanismus des TGF $\beta$ -Signalwegs untersucht und so neue Regulierungsmöglichkeiten für diesen Signalweg aufgedeckt werden. Dementsprechend unterschiedlich sind die Anforderungsprofile der Substanzen. Ein Artikel in der Fachzeitschrift *Nature Chemical Biology* aus dem Jahr 2015<sup>[129]</sup> kondensiert die erforderlichen verschiedenen Substanzeigenschaften auf einige wenige Punkte zusammen.

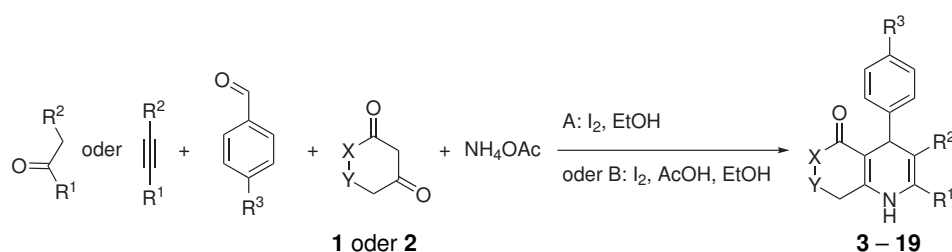
Wirkstoffe werden entwickelt, um in einem Lebewesen eine Krankheit zu heilen oder, falls das nicht möglich ist, zumindest deren Symptome zu lindern. Diese Verbindungen müssen also aus der Arzneiform *in vivo* freigesetzt werden und den entsprechenden Wirkort so erreichen, dass sie ihre Wirkung zuverlässig entfalten können. Das bedeutet, dass die pharmakodynamischen und -kinetischen Eigenschaften, wie zum Beispiel Löslichkeit und metabolische Stabilität, im Vordergrund stehen und es nicht von elementarer Bedeutung ist, den genauen Wirkmechanismus zu kennen, solange keine starken unerwünschten Nebenwirkungen auftreten.

Auf der anderen Seite stehen molekulare Sonden, mit welchen versucht wird, hochspezifische biologische Fragen zu beantworten. Sie sollten in der Lage sein, eine einzelne spezifische zelluläre Zielstruktur zu modulieren, wodurch mechanistische oder phänotypische Untersuchungen ermöglicht werden. Diese Moleküle zeichnen sich daher durch eine sehr hohe Selektivität und Wirkpotenz für ein einzelnes *Target* aus. Einzelne Eigenschaften, welche für Wirkstoffe unabdingbar sind, wie eine hohe Bioverfügbarkeit oder eine ausreichende metabolische Stabilität sind sekundär, da diese häufig nur in biochemischen oder zellbasierten Assays angewendet werden. Der wissenschaftliche Wert einer molekularen Sonde kann deutlich gesteigert werden, wenn es möglich ist, strukturell sehr eng verwandte Derivate zu erzeugen, die kaum bis überhaupt keine Aktivität auf das angestrebte *Target* zeigen und so als Negativkontrolle verwendet werden können.

#### 3.1 Erweiterung des Struktur-Aktivitätsprofils der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine

Die Grundlage eine zielgerichteter Optimierungskampagnen ist eine solide und umfassende Einsicht in die synthetischen Limitierungen und in den im biologischen Kontext tolerierten chemischen Raum. Daher wurde zunächst mit einer Erweiterung der SAR begonnen. Hierbei wurden gezielt strukturelle Fragen gestellt, welche in der initialen Untersuchung dieser Stoffklasse<sup>[79]</sup> nicht beantwortet wurden, wie zum Beispiel die Einführung von Heteroatomen oder spezieller sterisch anspruchsvoller Gruppen in das Grundgerüst. Die Ergebnisse und biologischen Evaluierungen wurden im Jahr 2015 in der Fachzeitschrift *European Journal of Medicinal Chemistry* veröffentlicht.<sup>[130]</sup>

**Tab. 3.1:** Übersicht über die synthetische Erweiterung der SAR der *b*-annelierten 1,4-Dihydropyridine mit verschiedenen Substituenten in 2-, 3-, 4-, 6- und 7-Position unter Hantzsch Bedingungen. \*: Es wurde 3-Aminocrotononitril statt einer 1,3-Diketo-Verbindung und Ammoniumacetat verwendet. §: Verbindungen, welche von der Arbeitsgruppe DUBURS hergestellt wurden. §: Es wurde ein disubstituiertes Acetylderivat statt eines 1,3-Diketons verwendet.<sup>[130]</sup>



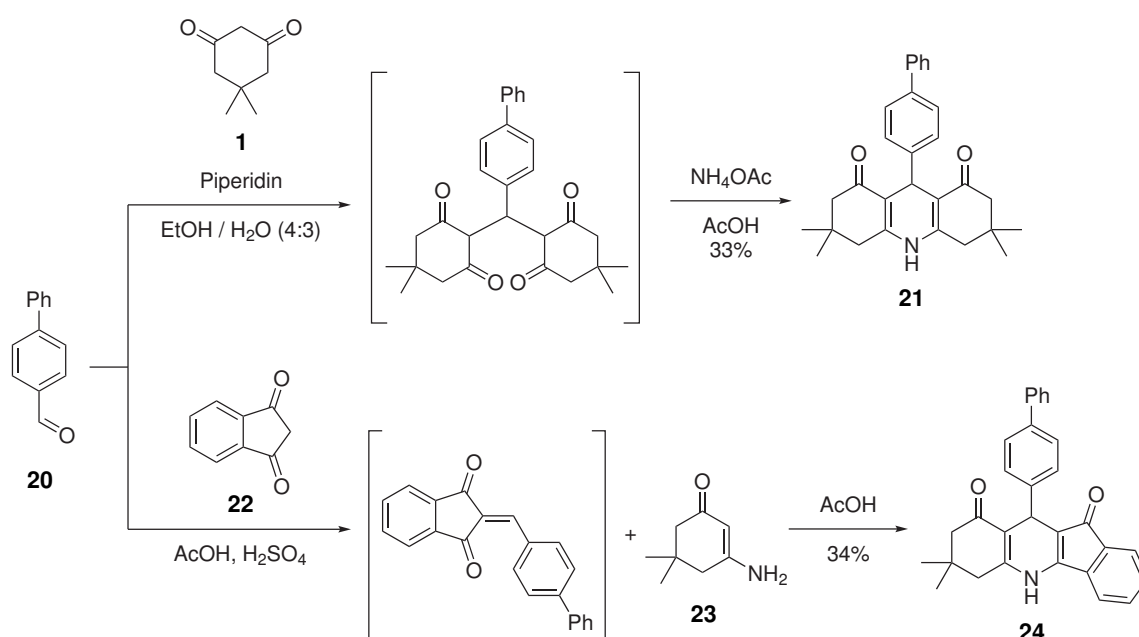
Verb.	X	Y	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Ausbeute	Route
<b>3</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COOEt	Ph	38%	A
<b>4</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COOEt	Br	40%	A
<b>5</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COOEt	4'-Br-Ph	38%	A
<b>6</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COOEt	Ethynyl	37%	A
<b>7</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	CONHEt	Ph	17%	A
<b>8</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COO- <i>tert.</i> -Bu	Ph	33%	A
<b>9</b>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COOAllyl	Ph	23%	A
<b>10</b> <sup>§</sup>	NH	CH <sub>2</sub>	Me	COOEt	Ph	36%	A
<b>11</b> <sup>§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COOC <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	71%	B
<b>12</b> <sup>§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	COO(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OnPr	Ph	67%	B
<b>13</b> <sup>§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	CO <i>n</i> Pr	Ph	55%	B
<b>14</b> <sup>§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	CO <i>n</i> Bu	Ph	21%	B
<b>15</b> <sup>§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Et	COEt	Ph	31%	B
<b>16</b> <sup>§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	CONHBn	Ph	68%	B
<b>17</b> <sup>*,§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	Me	CN	Ph	33%	B
<b>18</b> <sup>§,§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	COOMe	COOMe	Ph	33%	B
<b>19</b> <sup>§,§</sup>	CH <sub>2</sub>	CMe <sub>2</sub>	COOEt	COOEt	Ph	42%	B

Für die Herstellung dieser 17 Verbindungen wurden fast ausschließlich klassische Bedingungen der Hantzsch 1,4-DHP-Synthese verwendet. Dabei wird ein Aldehyd mit zwei 1,3-Diketonen und einer Stickstoffquelle (hier Ammoniumacetat) unter Verwendung von Lewis-Säuren in einer MCR (*Multi Components Reaction*) zu den gewünschten Verbindungen umgesetzt. Die Ausbeuten bewegten sich in einem breiten Bereich von 17% – 71% und wurden nicht weiter optimiert.<sup>[130]</sup>

Daneben konnten durch den Einsatz von disubstituierten Acetylen-Derivaten Dihydropyridine synthetisiert werden, welche außer an der 3-Position eine zusätzliche 2-Estergruppe enthielten (Verbindungen **18** und **19**). Bei dem Versuch beide Carbonsäure-Gruppen dieser Verbindungen basisch zu

spalten, wurde interessanterweise lediglich der Ester an der 2-Position mit einer guten Ausbeute (**32**: 68%, **33**: 87%) hydrolysiert, wohingegen die 3-Substitution intakt blieb. Dies lässt sich vermutlich auf die spezielle elektronische Struktur des 3-Estersubstituenten zurückführen. Dieser ist mit dem Dihydropyridin-Grundkörper so konjugiert, dass ein vinyloges Carbamat-System vorliegt, welches natürlich eine deutlich höhere chemische Stabilität aufweist.<sup>[130]</sup>

Die Synthese eines 6-*N*-tragenden Dihydropyridins wurde mithilfe der Verwendung von Piperidin-2,4-dion (**2**) anstelle von Dimedon (**1**) erreicht und konnte in einer moderaten Ausbeute von 36% erhalten werden. Eine Abweichung vom allgemeinen Syntheschema musste außerdem bei Verbindung **17** durchgeführt werden, da hier bereits das Kondensationsprodukt aus Cyanoaceton und Ammoniak (3-Aminocrotonnitril) statt einer 1,3-Diketoverbindung und Ammoniumacetat verwendet wurde, welches zu dem entsprechenden DHP-Derivat **17** in einer Ausbeute von 33% reagierte.<sup>[130]</sup>

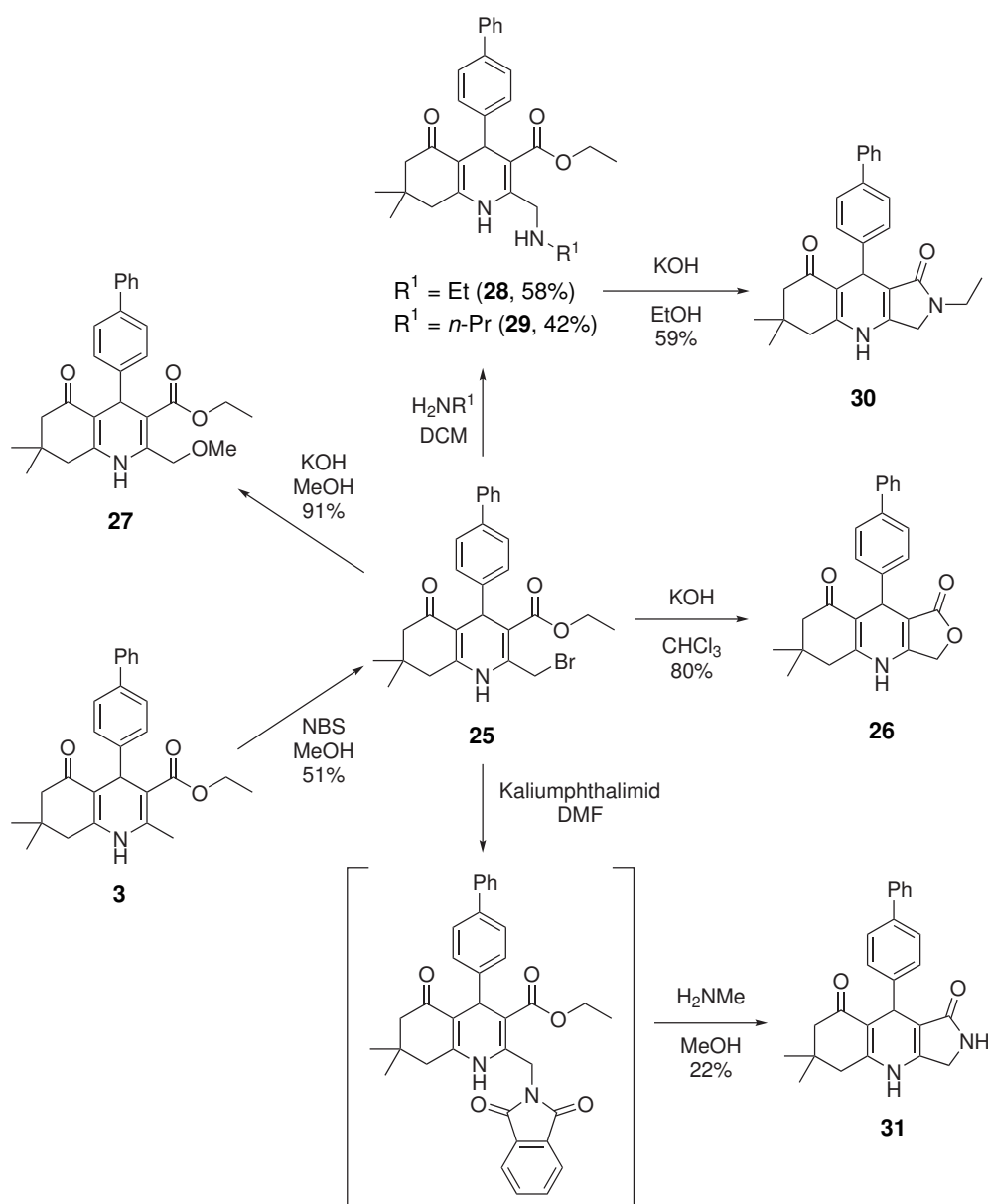


**Abb. 3.1:** Syntheschemata zur Herstellung von trizyklischen 1,4-Dihydropyridinen in je zwei Reaktionsschritten.<sup>[130]</sup>

Eine bisher unbeantwortete, jedoch nicht weniger interessante Fragestellung betrifft die Rigidität des Grundgerüsts. Die *b*-Annelierung der Referenzverbindung **3** erhöht deutlich die Steifheit des 1,4-Dihydropyridin-Rings, jedoch ist bisher noch unbeantwortet, welchen Effekt eine weitere Annelierung auf die biologische Wirksamkeit ausübt. Daher wurde der chemische Raum durch trizyklische Verbindungen erweitert, wie die Derivate **21** und **24**. Die Synthesen gelangen jeweils in zwei Schritten, wobei zunächst der Aldehyd **20** entweder mit Dimedon (**1**) oder Indandion (**22**) kondensiert wurde und anschließend der Ringschluss zum 1,4-DHP-Gerüst in 33% bzw. 34% Ausbeute durchgeführt wurde, wie in **Abbildung 3.1** gezeigt.<sup>[130]</sup>

Eine bisher noch recht unbeachtete Region dieser Substanzklasse ist die 2-Position des 1,4-Dihydropyridin-Gerüsts. Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit nach Möglichkeiten gesucht, synthetische

Veränderungen an dieser Stelle durchzuführen. Wie sich gezeigt hat, konnte ein Großteil der SAR-Erweiterungen postsynthetisch nach der Hantzsch 1,4-Dihydropyridin-Synthese durchgeführt werden. So konnte auf ein gemeinsames Edukt zurückgegriffen werden, was den Arbeitsaufwand deutlich reduzierte. Die Schlüsselverbindung für diese Synthesestrategie trägt ein Bromid als Abgangsgruppe an der 2-Position, wodurch eine Vielzahl von nukleophilen Angriffen ermöglicht wird. Die Synthese ist in **Abbildung 3.2** gezeigt und besteht aus der Bromierung der Verbindung **3** mithilfe von NBS (*N*-Bromsuccinimid) in Methanol mit einer Effizienz von 51%.<sup>[130]</sup>



**Abb. 3.2:** Übersicht zur Derivatisierung der 2-Position nach der 1,4-DHP-Synthese. Ein zentrales Zwischenprodukt ist Verbindung **25**, welches mit verschiedenen Nucleophilen umgesetzt werden konnte.<sup>[130]</sup>

Das so hergestellte 2-Brommethyl-Derivat **25** konnte mit einer Reihe von Synthons zur Reaktion gebracht werden, um diverse Heteroatom-tragende Gruppen in das Molekül einzuführen, wie in **Abbil-**

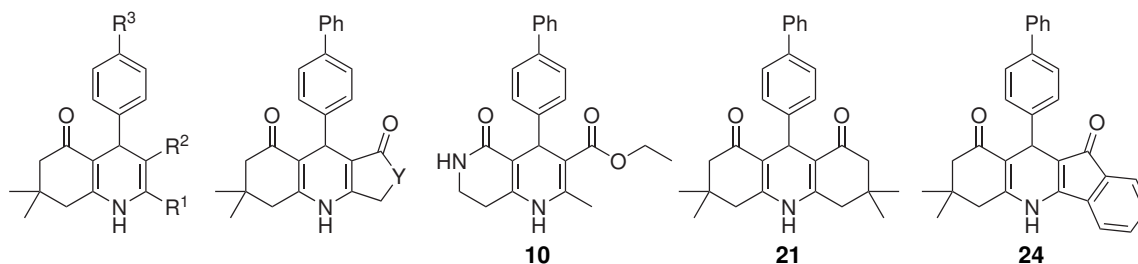
**dung 3.2** dargestellt.

Beispielsweise ergab die Reaktion von **25** mit einer stark basischen Methanol-Lösung das 2-Methylether-Derivat **27** in einer guten Ausbeute von 91%. Daneben ergab die Umsetzung der bromierten Ausgangsverbindung mit zwei verschiedenen Alkylaminen das 2-Ethylamin- (**28**, 58% Ausbeute) bzw. das 2-*n*-Propylamin-Derivat (**29**, 42% Ausbeute). Ein interessantes Ergebnis wurde bei der versuchten basischen Hydrolyse des 3-Esters der 2-*n*-Propylamin-substituierten Verbindung beobachtet. Diese Reaktion führte nicht wie erwartet zu der freien 3-Carboxylgruppe, sondern resultierte stattdessen in einer spontanen Ringschlussreaktion und damit in dem Lactam **30** mit einer Ausbeute von 59%. Ein ähnliches Resultat wurde bei dem Versuch eine Hydroxy-Gruppe an die 2-Position einzuführen beobachtet: Bei der Reaktion von **25** mit KOH in einem aprotischem Lösungsmittel, wie Chloroform, wurde das zyklisierte Tetrahydrofurochinolin-Derivat **26** in guten Ausbeuten von 80% erhalten. Auf ähnliche Weise kann so auch eine Lactam-Verbindung mit unsubstituierten Stickstoffatom hergestellt werden. Dazu wurde das 2-Brommethyl-Derivat **25** zunächst mit Kaliumphthalimid umgesetzt und bei anschließender Entfernung der Schutzgruppe trat erneut eine Zyklisierungsreaktion auf. So konnte die Verbindung **31** mit einer mäßigen Ausbeute von 22% isoliert werden. Die schlechte Reaktionseffizienz lässt sich vermutlich auf die gewählte Entschützungsstrategie der Phthaloylgruppe mit Methylamin zurückführen. Üblicherweise wird für diese Reaktion Hydrazin verwendet, auf welches jedoch wegen seiner sehr hohen Toxizität und Karzinogenität verzichtet wurde.<sup>[130]</sup>

Diese Verbindungen wurden im Anschluss in unserem TGF $\beta$ -Reporterassay auf ihre inhibitorischen Aktivitäten untersucht und die Ergebnisse sind in **Tabelle 3.2** dargestellt, ausgenommen von dieser Tabelle sind die Verbindungen **4**, **5** und **8**, da diese entweder nur als Ausgangsverbindungen für komplexere Synthesen benötigt wurden oder zu einem späteren Zeitpunkt diskutiert werden (für **5** siehe **Abschnitt 3.3.1** auf Seite **73** und für **8** siehe **Abschnitt 3.2.1.3** auf Seite **46**).<sup>[130]</sup>

Wie bereits einleitend angesprochen, wurde diese zweite Struktur-Aktivitäts-Untersuchung hauptsächlich zur Überprüfung einer im Vorfeld aufgestellten Hypothese durchgeführt. Die initiale Studie ließ vermuten, dass eine hohe Lipophilie der Substanzen mit einer hohen biologischen Aktivität korreliert. Außerdem resultierte diese erste Studie in einer vergleichsweise steilen SAR und einige Regionen wurden kaum oder überhaupt nicht untersucht. Daher wurde nun ein besonderes Augenmerk auf die Einführung von zusätzlichen polaren Gruppen an verschiedenen Positionen und die sterischen Möglichkeiten an unterschiedlichen Substitutionspunkten gelegt. Die gesamte Diskussion wird auf die Referenzsubstanz **3** bezogen, da diese Verbindung eine der ersten gefundenen *b*-annelierten 1,4-Dihydropyridine mit einem soliden inhibitorischen Effekt auf den TGF $\beta$ -Signalweg ( $IC_{50} = 0,85 \mu M$ ) darstellt und auch in der ursprünglichen SAR als Maßstab herangezogen wurde.<sup>[79,80]</sup> Außerdem trägt sie ein vergleichsweise simples Substitutionsmuster, mit einem Biphenyl-Rest an 4-Position, einem Ethylester und einer Methylgruppe an 2-Position. Auf diese Weise können nun kleine chemische Veränderungen recht schnell einem biologischen Effekt zugeordnet werden.

**Tab. 3.2:** Übersicht der TGF $\beta$ -Inhibition der neu synthetisierten Derivate. Die Werte und Standardabweichungen wurden über  $n = 2 - 4$  unabhängige Experimente in einem TGF $\beta$  / Smad Reporterassay ermittelt.<sup>[130]</sup>



Verb.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Y	IC <sub>50</sub> (μM)	% Inhibition (2,5 μM)
3	Me	COOEt	Ph	-	0,85 ± 0,30	83 ± 8
6	Me	COOEt	Ethynyl	-	1,71 ± 0,60	59 ± 5
7	Me	CONHEt	Ph	-	inaktiv	31 ± 1
16	Me	CONHBn	Ph	-	5,19 ± 3,45	32 ± 13
9	Me	COOAllyl	Ph	-	0,62 ± 0,02	91 ± 5
11	Me	COOC <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	-	inaktiv	0 ± 18
12	Me	COO(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OnPr	Ph	-	inaktiv	0 ± 3
17	Me	CN	Ph	-	2,95 ± 0,68	44 ± 6
13	Me	CO $n$ Pr	Ph	-	0,50 ± 0,13	84 ± 11
14	Me	CO $n$ Bu	Ph	-	0,56 ± 0,11	80 ± 2
15	Et	COEt	Ph	-	1,63 ± 0,56	62 ± 8
18	COOMe	COOMe	Ph	-	2,01 ± 0,60	46 ± 16
32	COOMe	COOH	Ph	-	inaktiv	4 ± 5
19	COOEt	COOEt	Ph	-	1,80 ± 0,20	56 ± 6
33	COOEt	COOH	Ph	-	inaktiv	0 ± 2
28	CH <sub>2</sub> NHEt	COOEt	Ph	-	3,44 ± 0,33	64 ± 27
29	CH <sub>2</sub> NH $n$ Pr	COOEt	Ph	-	1,60 ± 0,38	57 ± 6
27	CH <sub>2</sub> OMe	COOEt	Ph	-	1,89 ± 0,33	78 ± 14
11	-	-	-	-	inaktiv	21 ± 2
26	-	-	-	O	4,30 ± 1,71	37 ± 4
31	-	-	-	NH	inaktiv	28 ± 8
30	-	-	-	NEt	5,03 ± 1,31	25 ± 15
21	-	-	-	-	1,88 ± 0,27	55 ± 6
24	-	-	-	-	1,26 ± 0,01	70 ± 2



Schon in der ersten Struktur-Aktivitäts-Studie wurde deutlich, dass die 4-Substitution aus einer Phenylgruppe bestehen sollte, welche noch zusätzlich in 4'-Position derivatisiert wurde. Alle Verbindungen mit nicht linearen Resten verlieren schnell an Aktivität, wohingegen Verbindungen mit einem großen raumfordernden Alkylrest oder einem Aromatensystem an der 4'-Position eine hohe biologische Aktivität zeigen.<sup>[79]</sup> Zur Vervollständigung dieser Serie wurde zusätzlich ein Derivat mit einer 4-Ethynylphenyl-Substitution (**6**) synthetisiert und getestet. Allerdings zeigt diese Verbindung nur eine moderate Aktivität mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $1,71 \mu\text{M}$ , wodurch die Ausgangsvermutung erhärtet wird, dass ein raumfordernder Substituent an dieser Position sehr vorteilhaft ist.<sup>[130]</sup>

Eine genauere Erweiterung und biologische Evaluierung der 4-Position, insbesondere mit 4'-Phenyl-Substitution, wird in **Kapitel 3.3.1** auf Seite **73** vorgenommen.

Als nächstes wurde der chemische Raum bezüglich der 3-Position der Verbindungen untersucht. Wie schon in der ersten SAR-Studie konnte festgestellt werden, dass Wasserstoffbrücken-Donoren einen negativen Effekt auf die TGF $\beta$ -Signalwegs-Inhibition haben.<sup>[79]</sup> Daher überraschte es nicht, dass auch hier beobachtet werden konnte, dass ein 3-Benzylamid-Derivat (**16**) nur noch eine sehr schwache Aktivität aufweist ( $IC_{50} = 5,19 \mu\text{M}$ ), während ein 1,4-Dihydropyridin mit einer 3-Ethylamid-Gruppe (**7**) seine Wirksamkeit sogar komplett verliert. Es konnte aber nicht abschließend geklärt werden, ob die fehlende Aktivität durch Substitution des Protons am Stickstoffatom revidiert werden könnte, da die Synthese eines tertiären Amids durchweg fehlschlug. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde davon Abstand genommen weitere 3-Amid-Derivate zu synthetisieren und biologisch zu untersuchen.<sup>[130]</sup>

Eine weitere Möglichkeit den chemischen Raum der 3-Position näher zu beleuchten, lag in der Synthese von Estern mit verschiedenen Substituenten. Ein erstes Derivat, ein 3-Allyl-Ester (**9**), sollte zunächst elektronische Effekte auf die Inhibition des TGF $\beta$ -Signalwegs beleuchten. Tatsächlich zeigte dieser Substituent eine sehr gute Hemmwirkung ( $IC_{50} = 0,62 \mu\text{M}$ ), was darauf schließen lässt, dass ein gewisser Freiraum für diverse Reste an dieser Position vorhanden ist. In der initialen SAR-Studie konnte bereits eine Korrelation zu aktiveren Verbindungen beobachtet werden, falls der 3-Ester größere Alkylreste trug, solange der eingenommene Platz eine gewisse Ausdehnung nicht überschritt.<sup>[79]</sup> Auch dieser Trend konnte in dieser Studie bestätigt werden, da größere (z.T. rein alkyllische) Reste inaktive Verbindungen hervorbrachten (vgl. Verbindungen **11** und **12**). Eine noch ausführlichere Untersuchung der Substitutionsmöglichkeiten an der 3-Position wird in einem späteren Kapitel dieser Arbeit vorgenommen (siehe **Kapitel 3.2.1.3** auf Seite **46**).<sup>[130]</sup>

Ein überraschender Effekt wurde bei der biologischen Evaluierung der Verbindung **17** mit einer 3-Cyano-Gruppe beobachtet. Dieser im Vergleich zu den bisher untersuchten Substituenten chemisch sehr unterschiedlich geartete Rest zeigte eine relativ solide Hemmwirkung mit einem  $IC_{50} = 2,95 \mu\text{M}$ . Dies führte zu einer Erweiterung der aufgestellten Hypothese zum Bindungsmodus der Dihydropyridine. Scheinbar führt das Vorhandensein von Wasserstoffbrücken-Donoren an der 3-Position zu inaktiven Verbindungen (vgl. die 3-Amid-Derivate **16** und **7**), wohingegen Wasserstoffbrücken-Akzeptoren an dieser Stelle ein essentielles Strukturelement sein könnten. Basierend auf dieser Vermutung wurden drei Verbindungen mit einer Keton- statt einer Ester-Gruppe synthetisiert und biologisch getestet. In der Tat scheint diese Arbeitshypothese stichhaltig zu sein, da alle drei Derivate (3-Ethylketon: **15**,

3-*n*-Propylketon: **13** und *n*-Butylketon: **14**) eine moderate bis gute biologische Aktivität aufwiesen. Auch liegt hier der Verdacht nahe, dass wie bereits bei den Ester-Derivaten beobachtet, die Größe des Rests eine wichtige Rolle spielt. Das Ethylketon **15** scheint etwas zu kurz zu sein, da es einen über dreifach höheren IC<sub>50</sub>-Wert als das *n*-Propylketon-Derivat **13** und die *n*-Butyl-Verbindung aufwies. Allerdings müssten hier noch weitere Verzweigungsmuster synthetisiert und biologisch evaluiert werden, um ein abschließendes Urteil aufzustellen.<sup>[130]</sup>

Somit wurde also in dieser zweiten Struktur-Aktivität-Beziehungsuntersuchung die Vermutung gestützt, dass die 3-Position ein elementares Pharmakophor-Element darstellt, wobei die Fähigkeit Wasserstoffbrücken zu akzeptieren unabdingbar zu sein scheint. Außerdem konnte auch hier bestätigt werden, dass die Größe des Substituenten einen großen Einfluss auf die Aktivität ausübt. Ansonsten scheint die (elektronische) Natur des 3-Substituenten nicht von zentraler Bedeutung für dessen Hemmwirkung auf den TGFβ-Signalweg zu sein, solange diese den beiden eben angesprochenen Bedingungen nicht entgegenwirkt (vgl. das 3-Allylester-Derivat **9**).<sup>[130]</sup>

Eine weitere in der ersten Untersuchung vernachlässigte Region der 1,4-Dihydropyridine ist die 2-Position. So wurden nun neben reinen Alkyl-Resten auch sauerstoff- und stickstofftragende Gruppen in das Grundgerüst implementiert. Betrachtet man die biologische Aktivität von Derivaten mit einer zusätzlichen Ester-Gruppe an 2-Position, so wird die TGFβ-Inhibition um einen Faktor 2 – 3 im Vergleich zur Referenzverbindung **3** herabgesetzt (**18**: IC<sub>50</sub> = 2,01 bzw. **19**: 1,80 μM vs. **3**: IC<sub>50</sub> = 0,85 μM) und die Hydrolyse einer der beiden Ester-Gruppen führt zu einem vollständigen Verlust der biologischen Aktivität (vgl. **32** und **33**). Dieser Befund könnte darauf zurückzuführen sein, dass diese Moleküle bei einem physiologischen pH-Wert zum Großteil ionisiert vorliegen und daher nicht dazu in der Lage sind, Zellmembranen zu penetrieren. Liegt das *Target* nun im Zellinneren, so würden diese geladenen Verbindungen nicht zu der biologischen Zielstruktur gelangen können und somit auch keinen biologischen Effekt ausüben können. Also besitzen diese Ergebnisse nicht zwingend einen wichtigen Zusatz zu der aufgestellten SAR der Verbindungen.<sup>[130]</sup> Eine sehr ähnliche Beobachtung wurde bereits in der ersten SAR-Studie bezüglich einem DHP-Derivat aufgestellt, welches an der 3-Position eine freie Carbonsäure trägt und ebenfalls keine biologische Wirkung zeigte.<sup>[79]</sup>

Neben Carbonsäureestern wurden auch andere Funktionalitäten an der 2-Position untersucht. So zeigt der 2-Methylether **27** eine moderate Aktivität mit einer 78%igen Inhibition bei einer Konzentration von 2,5 μM (zum Vergleich zeigt die Referenzsubstanz **3** eine Inhibition von 83%). Daneben führt auch die Einführung von sekundären Aminen an dieser Position zu aktiven Verbindungen. Interessanterweise fällt auch hierbei auf, dass die Verbindung mit einer *n*-Propylseitenkette eine doppelt so hohe Inhibition gegenüber des TGFβ-Signalwegs zeigt, als das kürzere Ethyl-Analogon (IC<sub>50</sub> = 3,44 μM für Verbindung **28** im Gegensatz zu 1,60 μM bei Verbindung **29**).<sup>[130]</sup>

Somit lässt sich aus der Untersuchung des chemischen Raums der 2-Region der 1,4-Dihydropyridine schlussfolgern, dass diese Stelle wahrscheinlich nicht essentiell für den Bindungsmodus der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine ist, da hier eine Vielzahl von Substituenten mit sehr unterschiedlichen (physiko-)chemischen Eigenschaften akzeptiert werden. Die biologischen Aktivitäten sind zwar im Vergleich zu der Referenzverbindung **3** generell erniedrigt, so werden an dieser Position jedoch so-

wohl Wasserstoffbrückendonoren und auch -Akzeptoren toleriert. Außerdem zeigen Substituenten, welche einen größeren sterischen Raum einfordern, tendenziell bessere biologische Hemmdaten als kürzere Reste. Daraus lässt sich folgern, dass diese Molekülregion nicht in Richtung einer Bindertasche orientiert vorliegt, sondern dem Lösungsmittel exponiert sein könnte und damit einen hohen Wert für gezielte Optimierungskampagnen darstellt.<sup>[130]</sup> Diese Position wurde daher auch in nachfolgenden Kapiteln für die gezielte Veränderung von Substanzeigenschaften untersucht und ausgenutzt (vergleiche **Kapitel 3.2** auf Seite **29** und **3.3** auf Seite **73**).

Die nächste untersuchte Abwandlung des 1,4-DHP-Grundgerüsts war die Einführung eines Stickstoffatoms an der 6-Position (vgl. Verbindung **10** in **Abbildung 3.2** auf Seite **24**). Hier musste allerdings festgestellt werden, dass ein kompletter Verlust der Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg auftritt. Scheinbar führt die Veränderung der elektronischen Natur dieses Strukturelements (von Keton zu Lactam) dazu, dass ein wichtiges Bindungselement nun nicht mehr zur Verfügung stehen kann und somit eine biologische Aktivität unterdrückt wird. Ob dies nun auf die veränderte Polarität oder Wasserstoffbrücken-Akzeptor-Eigenschaften zurückzuführen ist, konnte nicht abschließend geklärt werden.<sup>[130]</sup>

Im letzten Teil der SAR-Studie wurde die Grundstruktur der 1,4-DHPs zu trizyklischen Systemen erweitert und untersucht. Ein *d*-anneliertes Lacton zeigt nur eine sehr niedrige biologische Wirkung (**26**: IC<sub>50</sub> = 4,30  $\mu$ M) und das entsprechende unsubstituierte Lactam (**31**) ist vollständig inaktiv. Überraschenderweise führt eine Alkylierung des Stickstoffatoms am Lactams wieder zu schwach aktiven Verbindungen und das Ethyl-substituierte  $\gamma$ -Lactam (**30**) besitzt wieder eine leichte Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg. Dies führt zu der Hypothese, dass in dieser Region des *Targets* eine lipophile Tasche angesiedelt ist, welche durch eine *N*-Alkylierung adressiert werden kann. Um diesen Sachverhalt weiter zu untersuchen, wurden noch zwei weitere Moleküle mit einem *d*-Annelanten synthetisiert und auf ihr Inhibitionsverhalten gegenüber des TGF $\beta$ -Signalwegs getestet. Tatsächlich zeigen beide Verbindungen, **24** und **21**, Aktivitäten in einem moderaten Bereich mit IC<sub>50</sub>-Werten von 1,26  $\mu$ M, bzw 1,88  $\mu$ M.<sup>[130]</sup>

Somit lässt sich zusammenfassen, dass die Erweiterung der SAR-Informationen der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine einige neue wichtige Erkenntnisse geliefert hat. So führt die Verkürzung des 4-Substituenten (vgl. 4-Ethynylphenyl-Derivat **6**) zu einem Hemmverlust von ungefähr einem Faktor von zwei im Vergleich zu der Referenzverbindung **3**. Dies erhärtet den Verdacht, dass hier eine gewisse Mindestgröße des Rests essentiell für hochaktive Verbindungen ist. Derselbe Schluss lässt sich bei der Größe des 3-Substituenten ziehen, wobei hier jedoch ein zu großer Rest die biologische Aktivität vermindert. Allerdings ist an dieser Region die deutlich wichtigere Einflussgröße auf die TGF $\beta$ -Signalwegs-Hemmung die elektronische Struktur der Reste. Während Amide komplett inaktive Verbindungen liefern, führt eine Nitril- und Keton-Substitution zu aktiven Derivaten. Daraus lässt sich schließen, dass die Fähigkeit Wasserstoffbrücken zu akzeptieren der ausschlaggebende Faktor für eine gute Hemmwirkung darstellt. Des Weiteren wurde bei dieser SAR-Studie herausgearbeitet, dass die 2-Position der 1,4-DHPs eine gute Möglichkeit darstellt, um verschiedenste Reste einzuführen. Dies konnte daraus gefolgert werden, dass hier eine Vielzahl von Substitutionsmustern, wie

Amine oder Ether, eingeführt werden konnten, ohne einen zu großen Wirkverlust in Kauf nehmen zu müssen. Auch konnten an dieser Stelle Estergruppen angebracht werden, wodurch aktive Derivate erzeugt werden konnten. Wurde die Ester-Gruppe jedoch hydrolysiert, so konnte keine Aktivität mehr detektiert werden, was vermutlich mehr auf die physikochemischen Eigenschaften als auf das Strukturmotiv zurückzuführen ist. Als letztes wurde der Effekt von einer zusätzlichen  $\alpha$ -Annelierung untersucht. Interessanterweise führt diese Versteifung des Grundgerüsts auch zu aktiven Verbindungen, solange der Annelant zusätzlich einen flexiblen Rest trägt, welcher dann vermutlich eine lipophile Bindetasche im *Target* adressieren kann.<sup>[130]</sup>

### 3.2 *Early-Hit-to-Lead-Optimierung* von Wirkstoffkandidaten

Der Weg eines biologisch aktiven Moleküls von der Entdeckung bis zu seiner Zulassung als Arzneistoff ist oftmals hürdenreich und langwierig. Im Folgenden soll kurz der schematische Ablauf der frühen präklinischen Wirkstoffentwicklung skizziert werden.

In der modernen medizinal-chemischen Entwicklung werden zur Identifikation neuer biologisch aktiver Verbindungen typischerweise Hochdurchsatzscreening Verfahren (HTS, *high-throughput screen*) angewandt. Bei diesem Vorgehen werden zumeist automatisiert sehr große Bibliotheken bestehend aus mehreren tausenden verschiedener Verbindungsklassen und –Fragmenten in speziell für ein Krankheitsbild designten Assaysystemen auf deren Aktivität untersucht. Diejenigen applizierten Verbindungen, welche einen klaren Effekt mit Hinblick auf die untersuchte biologische Fragestellung aufzeigen, werden als so genannte *Hits* bezeichnet. Nach erneuter Verifikation der Reinheit und der exakten chemischen Identität der Verbindungen werden die Ergebnisse aus dem ersten Assay validiert, um falsch-positive Treffer auszuschließen. Außerdem muss entschieden werden, ob sich die Strukturen der *Hits* für die weitere Entwicklung zu Wirkstoffen eignen. Dazu gehört deren Untersuchung in weiteren, sekundären (orthogonalen) Assays, aber auch die Evaluierung des Potentials der Verbindungen, um als Wirkstoffkandidaten Anwendung zu finden, dies wird auch als die *druggability* des Kandidaten bezeichnet. Darunter versteht man die genaue Betrachtung der Eigenschaften und Möglichkeiten zur Optimierung der *Hit*-Substanz(-klassen) aus einem rein (medizinal-)chemischen Blickwinkel. Hier werden insbesondere physikochemische Charakteristika, beispielsweise die Stabilität oder die Löslichkeit, sowie organisch-synthetische Voraussetzungen, wie die Darstellungsrouten und die Möglichkeiten zur Modifikation der Grundgerüste, genauer überdacht.<sup>[131]</sup>

Der nächste Schritt in der Wirkstoffentwicklung wird als *Hit-to-Lead-Optimierung* bezeichnet. Das Ziel hierbei ist es, Verbindungen (*Leads*) zu erzeugen, welche eine klar definierte SAR mit Hinblick auf deren Aktivität und Selektivität für das angestrebte *Target* besitzen, möglichst einfach zu synthetisieren sind, wenige toxische Nebeneffekte (alleine oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen) zeigen, akzeptable pharmakokinetische (PK) Eigenschaften besitzen und außerdem bereits in *in vivo*-Modellen klare positive Effekte aufweisen.<sup>[131]</sup>

Im Besonderen besitzt die Pharmakokinetik mit Hinblick auf das Zulassungsverfahren eine große Bedeutung. Im Jahr 1990 konnten etwa 40% aller gescheiterten Zulassungsverfahren auf unzulängliche pharmakokinetische Eigenschaften der Wirkstoffkandidaten zurückgeführt werden.<sup>[132]</sup> Ein möglicher Grund für diesen recht hohen Prozentsatz lag wahrscheinlich in den damaligen Entwicklungsstrategien der forschenden Pharmaunternehmen. So haben diese bis zur Mitte der 90er Jahre hauptsächlich einen eindimensionalen Optimierungsansatz der Wirkstoffkandidaten verfolgt. Das bedeutet, dass zunächst sehr fokussiert eine einzelne Eigenschaft des neuen Agens untersucht und verbessert wurde, wie zum Beispiel die Wirksamkeit, und erst dann im Anschluss die nächste Charakteristik angegangen wurde, wie beispielsweise die Löslichkeit. Somit bestand stets die Gefahr, dass der zweite Optimierungsschritt Strukturelemente hervorbrachte, welche die vorhergegangene Verbesserung sabotierten. Daher ist man mittlerweile dazu übergegangen mehrere Eigenschaften parallel zu un-

tersuchen (multidimensionaler Optimierungsansatz) und zudem Computer-basierte Vorhersagen für Substanzeigenschaften mit einzubeziehen.<sup>[133]</sup> Eine beispielhafte Lehre aus diesem neuen Optimierungsprozess wäre, dass sich ein weniger potentes, aber dafür metabolisch deutlich stabileres Derivat besser als Wirkstoffkandidat eignet, als eines, welches zwar hochaktiv ist, aber nur eine sehr geringe Halbwertszeit *in vivo* besitzt.<sup>[133,134]</sup> Dieses Vorgehen führte somit zu besser ausbalancierten *Lead*-Verbindungen, wodurch deren Qualität und die Erfolgchancen stark gesteigert werden konnten, wie sich auch in Statistiken zur Ablehnung von Wirkstoffkandidaten zeigt. Mittlerweile ist die Pharmakokinetik nur noch in rund 10% der Fälle für ein Scheitern des Zulassungsprozesses verantwortlich und andere negative Eigenschaften, wie die Toxizität der Substanzen, drängen sich stärker in den Vordergrund.<sup>[132,134]</sup> Daher lässt sich zusammenfassen, dass die Pharmakokinetik von Wirkstoffkandidaten von zentraler Bedeutung im *Hit-to-Lead*-Prozess ist, weswegen diese im Folgenden kurz genauer beschrieben werden soll.

Die Pharmakokinetik beschreibt die Untersuchung von Wirkstoffmolekülkonzentrationen im Körper in Abhängigkeit von der Zeit und ist sehr stark von den ADME-Eigenschaften der Substanzen abhängig.<sup>[134]</sup>

ADME(T) ist ein gängiges englisches Akronym in der Wirkstoffentwicklung und steht für *absorption*, *distribution*, *metabolism* und *excretion*. In manchen Fällen wird auch die Toxikologie (*toxicity*) mit eingebunden, was aber an dieser Stelle nur der Vollständigkeit halber erwähnt werden soll. Somit fasst ADME die Barrieren zusammen, welchen ein Wirkstoff nach der Applikation *in vivo* gegenüber steht, die nun genauer beschrieben werden und mit Substanzeigenschaften verknüpft werden sollen.

Nach der Einnahme eines Medikaments wird im ersten Schritt die Verbindung aus seiner Darreichungsform in den Blutkreislauf aufgenommen (*absorption*), wofür eine ausreichend hohe Löslichkeit der Substanzen eine unumgängliche Voraussetzung darstellt. Anschließend muss der Wirkstoffkandidat im Körper verteilt werden und verschiedene biologische Membranen überwinden, wie beispielsweise die des gastrointestinalen Trakts, um schlussendlich den Wirkort zu erreichen (*distribution*). Die Verteilung verläuft allerdings nicht homogen, da manche Gewebesorten einen Wirkstoff je nach Substanzeigenschaften stärker akkumulieren als andere. So werden sehr lipophile Substanzen leicht im Fettgewebe eingelagert (Depotwirkung), wohingegen stark polare Verbindungen diese Bereiche kaum erreichen können. Dieses Verhalten hängt also mit der Lipophilie der Wirkstoffe zusammen, weshalb die Bestimmung und Optimierung des logD-Wertes eine der wichtigsten Assayformate in der frühen präklinischen Wirkstoffentwicklung darstellt. Parallel zur Verteilung der Wirksubstanz im Körper, beginnt dieser sofort nach dessen Absorption in den Blutkreislauf damit, das Xenobiotikum so zu verändern, dass eine möglichst rasche Entgiftung und Ausscheidung erwirkt werden kann (*metabolism*). Dazu nutzt er eine reichhaltige Enzymausstattung, die zwar hauptsächlich in der Leber angesiedelt ist, aber auch ubiquitär vorkommende Proteine, wie beispielsweise Esterasen und generelle physikochemische Prozesse tragen hierzu bei. In der präklinischen Wirkstoffentwicklung wird daher die Substanzstabilität gegenüber derartigen Einflüssen genaustens untersucht und bewertet. Abschließend muss der Wirkstoff, sowie auch seine Metabolite über den Urin oder die Fäzes aus dem Körper ausgeschieden werden (*excretion*).<sup>[131,134]</sup>

ADME fasst somit all die Prozesse zusammen, die den Blut- und Gewebespiegel von allen Molekülen – insbesondere von pharmazeutischen Wirkstoffen – im Körper beeinflussen. Diese Parameter haben daher offensichtlich einen immensen Einfluss auf die Wirksamkeit und das Toxizitätsprofil von Verbindungen in lebenden Systemen.<sup>[134]</sup>

Die hierfür wichtigsten Substanzeigenschaften und generelle Konzepte zu deren Optimierungsmöglichkeiten werden im Nachfolgenden zunächst allgemein beschrieben und anschließend auf die Substanzklasse der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine bezogen.

### 3.2.1 Synthese von 1,4-Dihydropyridinen mit optimiertem *in vitro*-PK-Profil

Die wichtigsten Ergebnisse der im Nachfolgenden beschriebenen gezielten Optimierungskampagne für eine *in vivo*-Anwendung von 1,4-Dihydropyridinen wurden im Jahr 2019 in der Fachzeitschrift *ChemMedChem* veröffentlicht.<sup>[135]</sup>

#### 3.2.1.1 Generelle Konzepte zur Optimierung der Lipophilie und Löslichkeit von Wirkstoffen

Die Löslichkeit und die Lipophilie sind zwei der wichtigsten Parameter einer Verbindung in dessen frühen *Hit-to-Lead*-Optimierung und sind eng miteinander verknüpft.

Die Löslichkeit beschreibt die maximal mögliche Konzentration eines Analyten in einem definierten Lösungsmittelgemisch bei einer festgelegten Temperatur. Diese wird durch mehrere strukturelle und physikochemische Eigenschaften der Substanz beeinflusst. Die wichtigsten Substanzeigenschaften im Bezug auf die Wasserlöslichkeit sind das Molekulargewicht, typischerweise sind sehr schwere Moleküle schlechter löslich, der  $pK_s$ -Wert, da eine vorhandene Ladung im Molekül die Wasserlöslichkeit begünstigt und die Lipophilie, also der Affinität zu unpolaren Umgebungen.<sup>[134]</sup>

Eine schlechte Wasserlöslichkeit von Wirkstoffkandidaten und als Medikament eingesetzte Substanzen zieht eine Vielzahl von negativen Auswirkungen nach sich. Zum Einen kann sie dazu führen, dass irreführende Ergebnisse während präklinischer Assays erhalten werden und somit eigentlich ungünstige *Lead*-Verbindungen weiter verfolgt werden. Zum Anderen führt sie während der *in vivo*-Anwendung zu einer reduzierten Absorption der Verbindungen in den Blutkreislauf. Diese verminderte Bioverfügbarkeit kann zu einem großen Ressourcenverbrauch in der pharmazeutischen Entwicklung führen, da hierbei oftmals als einziger Ausweg zum Ausgleich dieses Defizits die Entwicklung speziellen Formulierungsstrategien bleibt.

Somit stellt die Untersuchung und Verbesserung der Löslichkeit einen entscheidenden Schlüsselschritt in der Wirkstoffentwicklung dar und viele entsprechende Untersuchungen und Konzepte wurden dazu veröffentlicht.<sup>[134]</sup> Trotz alledem fällt bei der Betrachtung der aktuell 200 wichtigsten oral gegebenen Wirkstoffe (der Vereinigten Staaten, Großbritannien, Spanien, Japan und WHO) auf, dass ein Anteil von ungefähr 40% eine sehr schlechte Wasserlöslichkeit besitzt ( $< 0,1$  mg/mL).<sup>[136]</sup> Ein noch deutlicherer Trend zu Verbindungen mit mangelhafter Wasserlöslichkeit lässt sich bei der Betrachtung von Wirkstoffkandidaten in der aktuellen Entwicklung erkennen, denn hier fallen 75% der Verbindungen in die Kategorie „schlecht wasserlöslich“.<sup>[136,137]</sup> Die Ursachen hierfür sind mannigfaltig und klar

definierte Antworten sind nur schwer zu formulieren, aber sowohl die Herangehensweise neue *Lead*-Strukturen zu entwickeln, sowie die Eigenschaften der aktuell interessanten *Targets* tragen sicherlich einen großen Anteil an dieser Entwicklung. Wie bereits zuvor beschrieben, werden heutzutage typischerweise HTS-Verfahren zur Identifikation von *Hits* und somit ultimativ zur Entwicklung von neuen Wirkstoffkandidaten verwendet. Dabei werden die Substanzbibliotheken zumeist in einem nicht- oder nur teilweise wässrigen Lösungsmittel appliziert, weswegen eine geringe Wasserlöslichkeit zu diesem Zeitpunkt kaum bemerkt wird. Daneben werden heutzutage vermehrt sehr herausfordernde *Targets* adressiert, wie Kinasen, Ionenkanäle oder Protein-Protein-Interaktionen,<sup>[138–140]</sup> welche oftmals Liganden mit hoher Lipophilie, nicht zuletzt dank des Energiegewinns durch hydrophobe Wechselwirkungen,<sup>[141,142]</sup> oder Substanzen mit starken intramolekularen Wechselwirkungen ( $\pi$ - $\pi$ , Wasserstoffbrücken) bevorzugen. All diese Faktoren führen schlussendlich zu *Lead*-Verbindungen mit einer hohen Lipophilie und niedrigen Wasserlöslichkeiten<sup>[138]</sup> und somit steht das Bestreben hochpotente Wirkstoffe herzustellen häufig im Gegensatz zu einer guten Löslichkeit in wässrigen Medien und somit einer befriedigenden Bioverfügbarkeit.

Diesem Zwiespalt ist sich die pharmazeutische Industrie durchaus bewusst und hat daher verschiedene Strategien entwickelt, um die so genannte *druggability* von Wirkstoffen zu verbessern oder Formulierungstechniken zu entwickeln, welche eine schlechte Löslichkeit ausgleichen können.<sup>[137,143,144]</sup> Ein standardmäßiges Verfahren ist die Verwendung von *in silico*-Berechnungen in sehr frühen Phasen der Wirkstoffentwicklung. Es gibt eine Vielzahl an mathematischen Modellen für die Berechnung der Löslichkeit von Substanzen, allerdings ist und bleibt hierbei die größte Herausforderung die Berechnung der Kristallstruktur einer unbekanntem Verbindung, wodurch eine akkurate Vorhersage nach wie vor ein schwieriges Unterfangen bleibt.<sup>[145–147]</sup>

Neben den Vorhersagemodellen kann das Lösungsverhalten von Wirkstoffen durch organisch-chemische Verfahren verbessert werden. Eine weit verbreitete Methode ist dessen Überführung in eine Salzform, sofern im Molekül eine ionisierbare Gruppe vorhanden ist. Dadurch kann zwar nicht die absolute Löslichkeit in wässrigen Medien verbessert werden, stattdessen aber wird so die Auflösungsgeschwindigkeit der Verbindung erhöht, was schlussendlich in einer höheren Bioverfügbarkeit resultiert.<sup>[138]</sup> Ein typisches Beispiel für den Erfolg dieser Strategie ist der Arzneistoff Piroxicam. Diese Verbindung liegt bei physiologischem pH-Wert als Zwitterion vor, wodurch starke intermolekulare Wechselwirkungen auftreten, die eine verminderte Löslichkeit bewirken. Wird diese Verbindung allerdings als das Monoethanolamin-Salz eingesetzt, so zeigt sich eine drastisch erhöhte Auflösungsrate.<sup>[148]</sup> Typische Anionen in aktuellen Pharmaka sind mit fast 50% Vorkommen das Chlorid-Ion, aber auch Sulfate und Nitrate werden neben organischen Gegenionen, wie Tartrate, Mesylate oder Acetate häufig verwendet. Bei Kationen ist die Verteilung nicht derartig divers, hier werden fast ausschließlich ( $\sim 75\%$  aller Fälle) Natriumionen angewendet.<sup>[149]</sup>

Die beste Möglichkeit die Wasserlöslichkeit von *Lead*-Strukturen zu verbessern, liegt in der strukturellen Modifikation des Grundgerüsts ohne die pharmakodynamische Wirksamkeit zu reduzieren. Dabei kann zum Einen versucht werden, durch Einbau neuer Gruppen die Planarität und die Symmetrie des *Scaffolds* zu reduzieren, um so eine instabilere Kristallstruktur und -Packung zu erreichen.

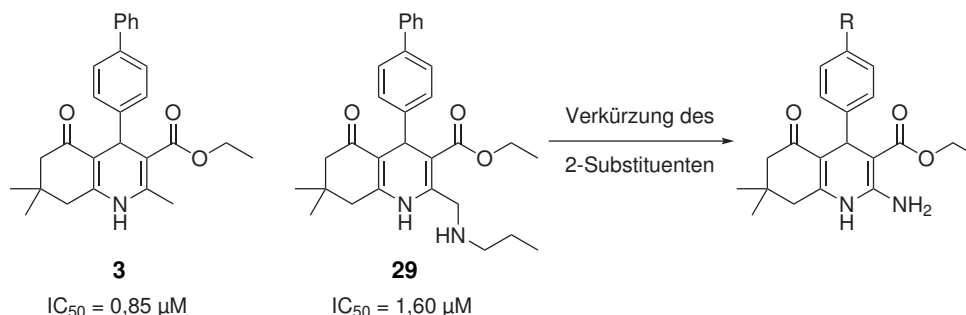


Dies führt zu einem beschleunigten Auflösungsprozess und zu einer höheren Gleichgewichtslöslichkeit, da weniger Energie beim Lösungsvorgang investiert werden muss bzw. weniger Energie bei der Ausbildung des Kristallgitters frei wird.<sup>[138,150]</sup> Zum Anderen kann versucht werden, so genannte Löslichkeitsvermittelnde Gruppen in die Grundstruktur einzuführen, welche sich nicht nachteilig auf die restlichen Eigenschaften des Moleküls, wie Wirksamkeit, Selektivität oder Stabilität, auswirken. Typischerweise werden hier polare Gruppen verwendet, z.B.: Alkohole, Carbonsäuren, Sulfonsäuren oder stickstoffhaltige Reste, wie Alkylamine, Piperidine oder Morpholine. Diese Gruppen besitzen eine hohe Tendenz mit Wassermolekülen Wasserstoffbrücken auszubilden, wodurch dann die Löslichkeit verbessert wird.<sup>[138,151,152]</sup>

Kann die Grundstruktur nicht weiter zu einer besseren Löslichkeit optimiert werden, kann in manchen Fällen vorübergehend eine Gruppe eingeführt werden, welche vorteilhaft für die Wasserlöslichkeit ist, aber vor Erreichen des Wirkorts von körpereigenen Mechanismen entfernt wird. Dieses Konzept nennt man *Prodrug*-Strategie und es sind eine Reihe an möglichen transienten Gruppen bekannt, wie beispielsweise Phosphatester, die Verwendung von Sulfoxiden statt Sulfiden, der Einführung von stickstoffhaltigen Estergruppen (wie Aminosäureester) oder Polyethylenglycolester.<sup>[153–155]</sup>

### 3.2.1.2 Synthese und biologische Evaluierung von neuen 1,4-Dihydropyridin-Derivaten mit optimierter Lipophilie und Löslichkeit

Dieses Kapitel befasst sich mit der Verbesserung der wässrigen Löslichkeit und der Lipophilie der kardiogenen 1,4-Dihydropyridinen, um diese für einen Einsatz in *in vivo*-Assays zu qualifizieren. Um dieses Ziel zu erreichen, sollen an verschiedenen Positionen des Grundgerüsts Löslichkeitsvermittelnde (polare) Gruppen eingeführt werden. Wie bereits in **Kapitel 3.1** beschrieben kommen nur wenige Stellen im 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüst für diese Modifikation in Frage. Die 3- und die 4-Position sind essentiell für die Aktivität und Selektivität und werden daher für die Einführung von neuen Gruppen außer Acht gelassen. Außerdem konnte bereits gezeigt werden, dass eine 6-N-Substitution zu inaktiven Molekülen<sup>[130]</sup> führt, weswegen einzig die 2- und die 7-Positionen zur Derivatisierung mit Löslichkeitsvermittelnden Gruppen verbleiben. Somit wird der chemische Raum dieser Substitutionspunkte im Nachfolgenden genauer untersucht und zunächst deren synthetischer Zugang beschrieben.

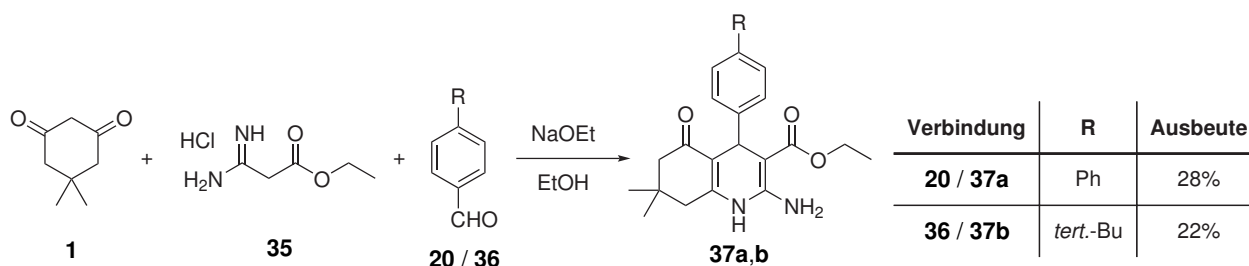


**Abb. 3.3:** Die TGF $\beta$ -Inhibition wird durch eine Alkylaminomethylsubstitution der 2-Position im Vergleich zu der Referenzverbindung **3** reduziert.<sup>[130]</sup> Daher soll eine direkte 2-Aminofunktionalisierung durchgeführt werden.

Wie zuvor schon beschrieben führt eine 2-Derivatisierung mit Alkylamino-Gruppen zwar zu aktiven Molekülen, jedoch muss dabei ein gewisser Aktivitätsverlust in Kauf genommen werden. Betrachtet man beispielsweise Verbindung **29** mit einer 2-*n*-Propylaminomethyl-Funktionalität so wird der IC<sub>50</sub>-Wert im Vergleich mit der Referenzverbindung **3** etwa verdoppelt (vgl. **Kapitel 3.1** auf Seite **19**, IC<sub>50</sub> = 1,60 μM vs. IC<sub>50</sub> = 0,85 μM).<sup>[130]</sup> Diese reduzierte biologische Effektivität kann entweder bedeuten, dass große Reste hier nicht toleriert werden oder die polare Natur der Gruppen die Wirksamkeit vermindert. Um dieser Frage auf den Grund zu gehen, wurden als nächstes Dihydropyridin-Derivate mit einer direkten 2-Amino-funktionalisierung (vgl. **Abbildung 3.3**) synthetisiert.

Die Darstellung des 2-Amino-funktionalisierten Derivats gelang in Anlehnung an einer Literaturvorschrift<sup>[156]</sup> und wurde im Rahmen einer Bachelor-Arbeit von DIRK FLÖTGEN durchgeführt.<sup>[157]</sup> Die Syntheseroute ist in **Abbildung 3.4** gezeigt und konnte in nur einem Reaktionsschritt durchgeführt werden.

Für die Reaktion wurde Dimedon (**1**) mit 3-Amino-3-iminopropionsäureethylesterhydrochlorid (**35**) und einem Aldehyd, **20** oder **36**, unter stark basischen Bedingungen in Ethanol umgesetzt, wodurch beide Derivate in mäßigen Ausbeuten von 28% bzw. 20% erhalten werden konnten.<sup>[130,157]</sup> Dieser Ausbeuteverlust kann zumindest teilweise auf die verwendete Aufreinigungsmethode zurückgeführt werden, da diese Verbindungen nicht säulenchromatographisch in reiner Form zu erhalten waren. Stattdessen musste die Isolation der Derivate mithilfe von mehreren Umkristallisationsdurchgängen aus Ethanol/Wasser-Gemischen erfolgen, wobei bei jedem Schritt eine gewisse Menge an Produkt in der Lösung zurückblieb.<sup>[130,157]</sup>

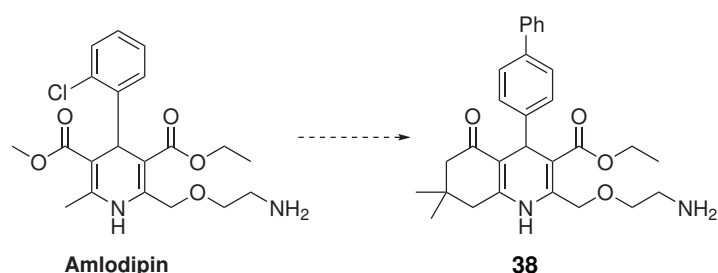


**Abb. 3.4:** Synthese der 2-Aminofunktionalisierten 1,4-Dihydropyridin-Derivate.<sup>[135,156,157]</sup>

Eine weitere interessante Derivatisierungsmöglichkeit der 2-Position konnte durch einen Blick auf bereits als Arzneimittel zugelassenen 1,4-Dihydropyridine ausgemacht werden. Amlodipin ist ein selektiver Calciumantagonist der dritten Generation, welcher eine basische Aminoethylenoxymethyl-Seitenkette an der für uns interessanten Region des 1,4-DHP-Grundgerüsts trägt. Dieser Rest führt dazu, dass über 90% der Amlodipin-Moleküle bei physiologischem pH-Wert ionisiert (pK<sub>s</sub> = 8,6) vorliegen, was letztendlich für das deutlich verbesserte pharmakokinetische Profil der Verbindung verantwortlich gemacht wird.<sup>[158]</sup> In **Abbildung 3.5** ist das entsprechende Zielmolekül **38** gezeigt.

Bei der Einführung dieser speziellen Gruppe musste bedacht werden, dass eine freie Amino-Gruppe mit der Hantzschschen 1,4-Dihydropyridin-Synthese nicht kompatibel ist, weswegen diese geschützt eingeführt werden musste. In der Literatur ist es üblich, dazu eine Phthaloyl-Gruppe zu verwenden

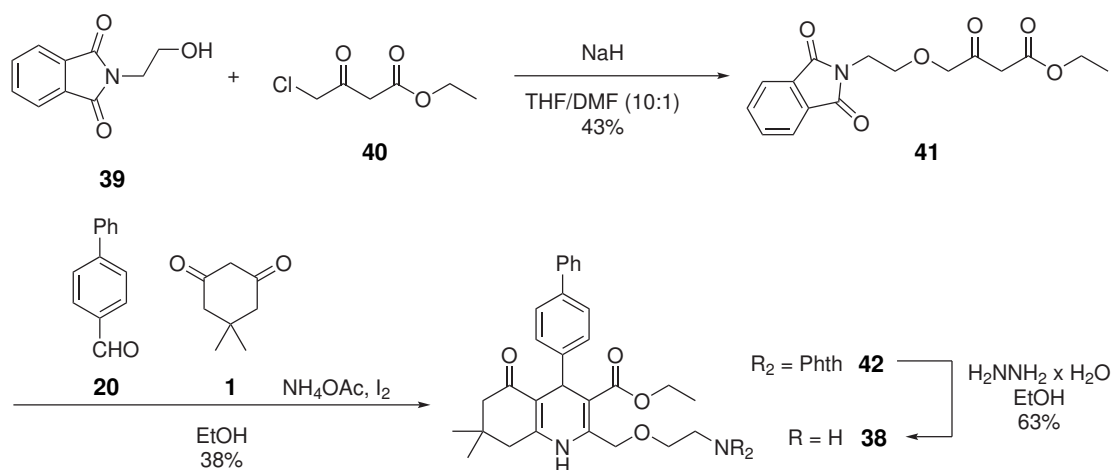
und diese im Anschluss an die vollendete Dihydropyridin-Synthese entweder mit Hydrazin oder Methylamin abzuspalten.<sup>[159,160]</sup>



**Abb. 3.5:** Der für die günstigen PK-Eigenschaften verantwortliche 2-Substituent von Amlodipin soll auf die kardiogenen 1,4-Dihydropyridine übertragen werden und daher das Zielmolekül **38** synthetisiert werden.

Die Synthese der Verbindung ist in **Abbildung 3.6** gezeigt und besteht aus drei Schritten.

In einem ersten Schritt wurde zunächst die benötigte 1,3-Diketoverbindung **41** aus *N*-Hydroxyethylphthalimid (**39**) und 4-Chloracetoacetatethylester (**40**) mithilfe von Natriumhydrid in einem Gemisch aus THF und DMF hergestellt. Dies gelang in einer mäßigen Ausbeute von nur 43%. Ein wahrscheinlicher Grund ist in der praktischen Durchführung der Reaktion gelagert, denn bevor die Substitutionsreaktion mit dem Chlorid **40** durchgeführt wird, wurde der Alkohol **39** zunächst mit Natriumhydrid deprotoniert. Dies führte zu einer nicht mehr vom Magnetrührer rührbaren Masse, welche nur durch manuelles Durchmischen vermengt werden konnte. Auf diese Weise konnte aber die Schutzgasatmosphäre im Reaktionskolben nicht mehr gewährleistet werden, was in dem beobachteten Ausbeuteverlust resultiert sein könnte.



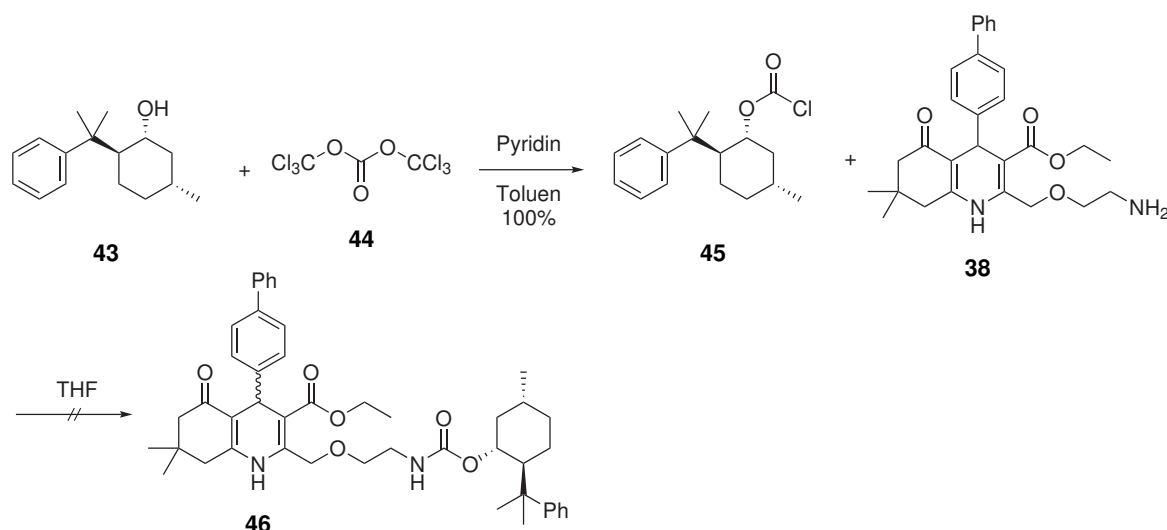
**Abb. 3.6:** Übersicht über die Synthese eines 1,4-Dihydropyridin-Derivats mit einem „Amlodipin-ähnlichen“ Substituenten an 2-Position **38**.<sup>[135]</sup>

Die 1,4-Dihydropyridin-Synthese unter den klassischen Hantzschschen Bedingungen hingegen gelang problemlos und so konnte nach der Umsetzung von **41** mit Dimedon (**1**), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) und Ammoniumacetat mit Iod als Katalysator das gewünschte 1,4-Dihydropyridin **42** in einer Ausbeute

von 38% erhalten werden. Zuletzt wurde die Abspaltung der Phthaloyl-Schutzgruppe mit Hydrazinmonohydrat in Ethanol erfolgreich durchgeführt und das gewünschte 1,4-DHP-Derivat **38** konnte mit einer Ausbeute von 63% isoliert werden.<sup>[135]</sup>

Ermutigt durch diesen Syntheserfolg, sowie auf Basis der publizierten PK-Eigenschaften von Amlodipins zu erwartenden günstigen Pharmakokinetik der Verbindung, wurde daraufhin versucht, eine Syntheseroute zu etablieren, mit welcher es ermöglicht wird, die einzelnen Enantiomere der Verbindung zu erhalten. Da keine chirale HPLC-Säule zur Verfügung stand, konnte dieses Vorhaben fast ausschließlich über die Synthese eines vorübergehenden Diastereomerenpaars gelingen, welches dann anschließend chromatographisch getrennt wird. Dafür muss eine zusätzliche chirale Information entweder durch die DHP-Synthese oder anschließend in das DHP-Gerüst eingebettet werden.

Eine vielversprechende Möglichkeit liegt in der Funktionalisierung der Amino-Gruppe des 2-Substituenten nach vollendeter DHP-Synthese, da an dieser Stelle nukleophile Substitutionsreaktionen denkbar sind. Also wurde in Anlehnung an eine Literaturvorschrift versucht, einen (-)-8-Phenylmentholrest an diese Position zu koppeln, welcher nach Auftrennung der Diastereomere sauer (HBr in HOAc) abgespalten werden könnte.<sup>[161]</sup> Die Synthesesequenz ist in **Abbildung 3.7** gezeigt.

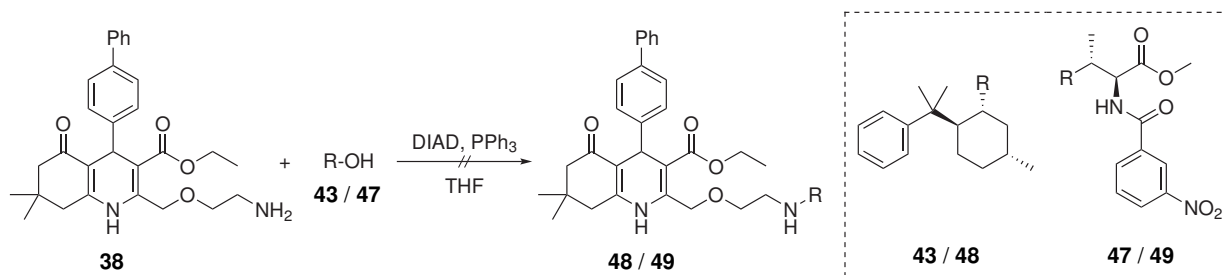


**Abb. 3.7:** Übersicht zur versuchten Überführung des 1,4-DHP-Derivats **38** in Diastereomere mithilfe von einem mit Triphosgen-aktivierten (-)-8-Phenylmenthol **45**.

Zunächst musste das (-)-8-Phenylmenthol (**43**) in eine Form gebracht werden, dass dieses mit der Amino-Gruppe reagieren kann. Dazu wurde es mit Triphosgen (**44**), welches *in situ* in drei Phosgen-einheiten zerfällt, an der Alkoholfunktion mit Pyridin in Toluol umgesetzt, woraufhin das Chloroformat **45** in quantitativen Ausbeuten erhalten werden konnte. Bei der Umsetzung mit dem 1,4-DHP-Derivat **38** wurde jedoch keine Reaktion beobachtet.

Eine weitere Möglichkeit einen Alkohol mit Nucleophilen zur Reaktion zu bringen, ohne dabei eine Racemisierung zu riskieren, ist die Mitsunobu-Reaktion. Bei diesem Reaktionstyp wird zunächst die alkoholische Funktionalität mit einer voraktivierten Azodicarbonsäure, meist DEAD oder DIAD (Azodicarbonsäurediethylester bzw. -diisopropylester) umgesetzt, wonach in einer  $S_N2$ -Reaktion ein

Nukleophil am Sauerstofftragenden Kohlenstoffatom angreift, weswegen die Stereoinformation am Kohlenstoff invertiert erhalten bleibt.<sup>[162]</sup> Auf diese Weise wurde das 1,4-DHP **38** mit zwei chiralen Alkoholen unter Mitsunobu-Bedingungen umgesetzt, wie in **Abbildung 3.8** gezeigt.



**Abb. 3.8:** Übersicht zur versuchten Überführung des 1,4-DHP-Derivats **38** in Diastereomere mithilfe von zwei unterschiedlichen chiralen Alkoholen unter Mitsunobu-Bedingungen.

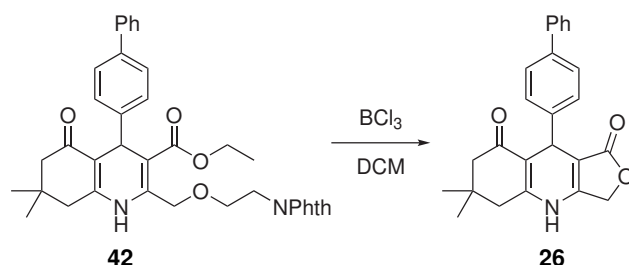
Der erste Alkohol, der bei dieser Reaktion untersucht wurde, war erneut das (–)-8-Phenylmenthol (**43**), welcher allerdings keinerlei Reaktionsumsatz unter diesen Bedingungen zeigte. In analoger Weise verhielt es sich mit dem in **Kapitel 3.3.2** auf Seite **80** genauer beschriebenen Threonin-basierten Alkohol **47**. Da während der Reaktion keinerlei Veränderung der Edukte mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet werden konnte, muss davon ausgegangen werden, dass selbst der erste Schritt der Reaktion, die Addition des Alkohols an die Diazo-Verbindung (DIAD), nicht stattgefunden hat. Für diesen Fall sind in der Literatur<sup>[163]</sup> einige deutlich reaktivere Kupplungsreagenzien beschrieben, die vielleicht hier den gewünschten Erfolg erbringen könnten, diese wurden im Rahmen dieser Arbeit aber nicht untersucht.

Aufgrund dieser erfolglosen Testreaktionen wurde eine andere Stelle im DHP-Grundgerüst untersucht, um eine zusätzliche chirale Information einzuführen. Die 3-Position wurde auch schon in der Vergangenheit ausgenutzt, um enantiomerenreine Dihydropyridin-Derivate zu erzeugen<sup>[79]</sup> und diese Strategie konnte auch bereits in einem anderen Teil dieser Arbeit erfolgreich angewendet werden, siehe **Kapitel 3.3.2** auf Seite **80**. Dort ist die zusätzliche chirale Information (basierend auf dem Alkohol **47**) bereits vor der Hantzsch-Dihydropyridin-Synthese in einem Edukt vorhanden, wodurch statt eines Racemats ein Diastereomerenpaar synthetisiert wird, welches dann chromatographisch getrennt wurde. Dieses Vorhaben ist in dem hier vorliegenden Fall jedoch nicht ohne weiteres durchführbar, da der mit einer chiralen Information zu versehende Baustein, das 1,3-Diketon **41**, bereits die „Amlodipin-ähnliche“ Seitenkette trägt (vgl. **Abbildung 3.6**) und somit die oben angesprochene Syntheseroute nicht einfach übertragen werden konnte.

Daher wurde zunächst versucht die Ethylester-Gruppe im Anschluss an den Aufbau des Dihydropyridin-Grundgerüsts mit einem chiralen Alkohol zu ersetzen. Die Ester-Gruppen in 1,4-Dihydropyridinen zeigen bekanntermaßen eine hohe chemische Stabilität, weswegen für deren Spaltung starke Lewis-säuren, wie Bortrichlorid, verwendet werden müssen.<sup>[79]</sup>

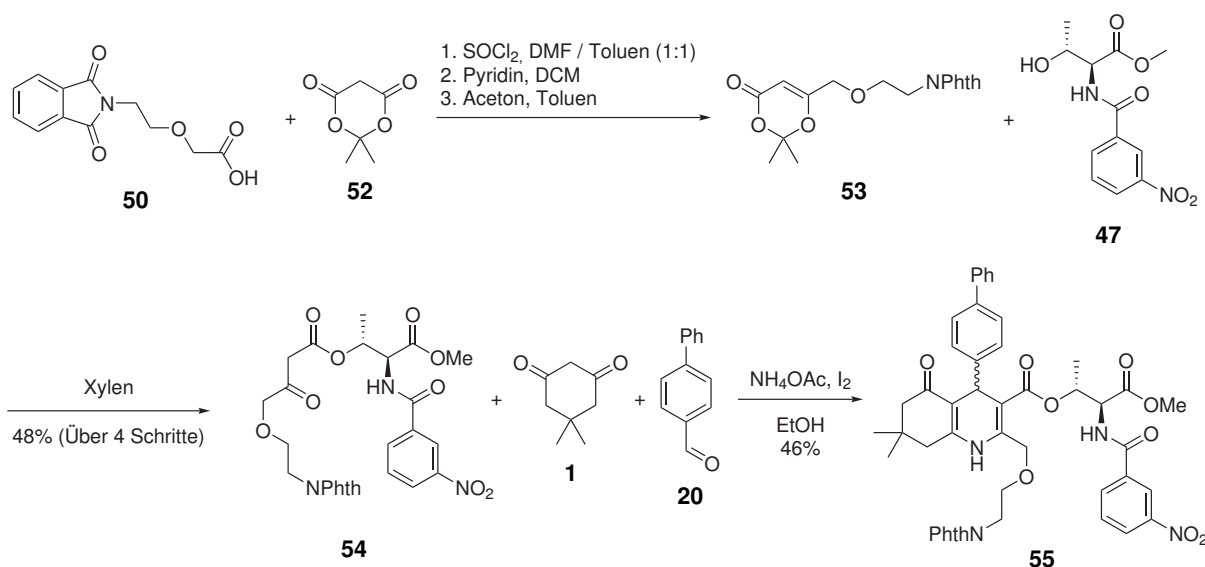
Wie in **Abbildung 3.9** gezeigt, führte die Umsetzung der Verbindung **42** nicht zu der Verbindung mit der freien Carbonsäure. Stattdessen konnte auch keine willkürliche Zersetzung nachgewiesen

werden, vielmehr wurde der Ether der Seitenkette an 2-Position gespalten, woran sich dann spontan eine Zyklisierungsreaktion zu dem Lakton **26** anschloss. Diese Reaktion konnte bereits beim Versuch ein DHP-Derivat mit einer freien 2-Methylenhydroxy-Gruppe zu synthetisieren (vgl. **Kapitel 3.1** auf Seite **19**) beobachtet werden und ist somit gut nachvollziehbar.



**Abb. 3.9:** Übersicht zur versuchten Spaltung des 3-Ethylesters von **42** mithilfe von Bortrichlorid.

Somit ist die Einführung eines chiralen Esters nach dem Aufbau des Dihydropyridin-Grundgerüsts offenkundig sehr anspruchsvoll, weswegen eine 1,3-Diketo-Verbindung zu synthetisieren, die sowohl den Phthaloyl-geschützten „Amlodipin-ähnlichen“ Teil, als auch den chiralen Ester beinhaltet, als einfacher eingestuft wurde. Ein möglicher Ansatzpunkt bestand darin, zunächst ein Dioxinon-Derivat herzustellen, welches bereits den späteren 2-Substituenten trägt und dieses anschließend mit dem Threonin-basierten Alkohol **47** zu dem gewünschten 1,3-Diketon reagieren zu lassen. Die entsprechende Synthesesequenz ist in **Abbildung 3.10** zu sehen.



**Abb. 3.10:** Synthesesequenz zur Darstellung von diastereomeren Dihydropyridinen mit gleichzeitig geschützter Aminogruppe an der 2-Position.

In einem ersten Schritt wurde die 2-(2-Phthalimidoethoxy)essigsäure (**50**) mithilfe von Thionylchlorid in das Säurechlorid **51** überführt und ohne weitere Aufreinigung konnte dieses dann in einer zweistufigen Reaktion<sup>[78]</sup> mit Meldrumsäure (**52**) zunächst kondensiert und anschließend mit Aceton in Toluene zu

dem Dioxinon **53** umgesetzt werden. Dieses Zwischenprodukt zeigte eine gewisse Instabilität bei längerer Lagerung, weswegen dieses ebenfalls direkt im Anschluss mit dem Threonin-basierten Alkohol **47** in Xylol zur Reaktion gebracht wurde, was letztendlich die gewünschte 1,3-Dicarbonylverbindung **54** in einer guten Ausbeute von 48% über vier Stufen erbrachte. Im finalen Schritt konnte mithilfe der klassischen 1,4-Dihydropyridin-Synthese mit Dimedon (**1**), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**), Ammoniumacetat und Iod als Katalysator das Diastereomerenpaar **55** in 46%iger Ausbeute dargestellt werden. In den ersten Voruntersuchungen zur HPLC-basierten Auftrennung in einzelne Diastereomere konnte bereits erarbeitet werden, dass die Trennung über eine isokratische Methode mit einem Fließmittelverhältnis 23% Wasser und 77% einer 1:1 Mischung aus Methanol und Acetonitril zum Erfolg führt. Eine Separation im großen Maßstab wurde zu dem Zeitpunkt noch nicht durchgeführt, da zunächst die Ergebnisse aus dem TGF $\beta$ /Smad-Reporter-Gen-Assay abgewartet wurden.

Die letzte Stelle, die für die Einführung von polaren Gruppen in das DHP-Grundgerüst noch in Frage käme, ist die 7-Position. In der ersten SAR-Studie zu den kardiogenen Dihydropyridinen konnte schon herausgearbeitet werden, dass eine 7-Monoalkylsubstitution anstelle einer Dimethylgruppe eine Erhöhung der Wirkpotenz zur Folge hat.<sup>[79]</sup> Allerdings entstand dadurch ein weiteres Stereozentrum, wodurch die Auftrennung in enantiomerenreine Isomere deutlich erschwert wird. Eine Substitution des 7-Kohlenstoffatoms durch eine alkylierte Stickstoffgruppe würde folglich zwei Probleme zugleich lösen, eine Erhöhung der Polarität und auch der Aktivität ohne ein zusätzliches Stereozentrum zu erzeugen.

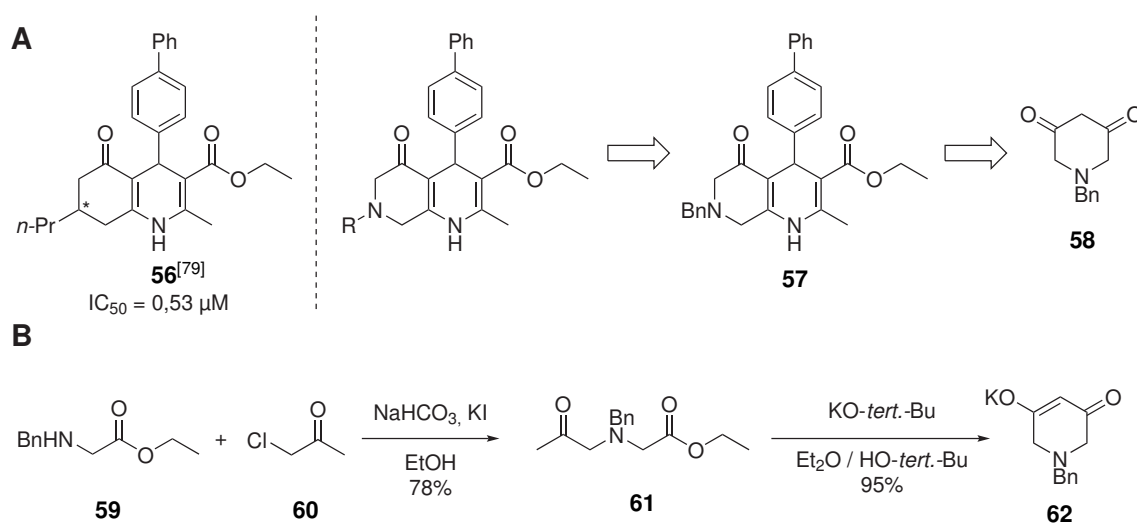
Für die Synthese eines 1,4-Dihydropyridins mit einem *N*-haltigen *b*-Annelanten muss das sonst typischerweise in dieser Arbeit verwendete Dimedon (**1**) durch einen entsprechenden Stickstoffhaltigen Baustein ersetzt werden. Außerdem muss dabei bedacht werden, dass das Stickstoffatom für die Hantzsche DHP-Synthese nicht frei vorliegen darf, sondern vielmehr im Vorfeld maskiert werden muss. Diese Schutzgruppe muss dann nach dem Aufbau des Grundgerüsts möglichst schonend und selektiv entfernbar sein. Daher wurde sich für die hydrogenolytisch abspaltbare Benzylschutzgruppe entschieden. Dieser Baustein, das *N*-Benzylpiperidin-3,5-dion (**58**), ist kommerziell verfügbar, jedoch nur zu einem sehr hohen Kostenfaktor, weswegen dieses selbständig synthetisiert wurde. Die Herstellung wurde im Rahmen einer Masterarbeit von NIKLAS SCHAUMANN etabliert und anschließend in einer weiteren Masterarbeit durch DIRK FLÖTGEN optimiert.<sup>[164,165]</sup>

Eine retrosynthetische Analyse, sowie die Synthesesequenz zur Darstellung der Schlüsselverbindung sind in **Abbildung 3.11** gezeigt.

Die Reaktionssequenz beginnt mit der Alkylierung des Stickstoffatoms von *N*-Benzylglycinethylester (**59**) mit Chloraceton (**60**) unter basischen Bedingungen. Diese Reaktion ist bereits in der Literatur beschrieben<sup>[166]</sup> und es wurde von einer Ausbeute von 68% berichtet, welche durch den Zusatz von Kaliumiodid auf 78% gesteigert werden konnte.<sup>[164]</sup> Das so erhaltene tertiäre Amin **61** sollte dann über eine Dieckmann-Zyklisierung zu dem Kaliumenolat der Zielverbindung, **62**, umgesetzt werden. Für diesen Schritt gibt es eine Reihe von Literaturvorschriften,<sup>[166–169]</sup> welche verschiedene Basen-Lösungsmittelpaare verwendeten, welche jedoch nicht alle die gleiche Effizienz bewiesen und daher genauer untersucht werden mussten.<sup>[164]</sup> In einem Großteil der literaturbekanntesten Synthesen wurde

Kalium-*tert.*-butanolat zur Deprotonierung verwendet,<sup>[166,168,169]</sup> aber auch Natriumhydrid soll erfolgreich anwendbar sein.<sup>[167]</sup> Dieses Ergebnis konnte nicht reproduziert werden und nur unter Verwendung von Kalium-*tert.*-butanolat wurden Ausbeuten in akzeptablen Bereichen erreicht.

Anschließend wurde das Lösungsmittel, in welchem die Reaktion durchgeführt wurde, genauer untersucht. Laut Literatur können diverse Ether, wie Tetrahydrofuran oder Diethylether, als Reaktionsmedien herangezogen werden.<sup>[166,168]</sup> Tatsächlich aber führte die Verwendung dieser Lösungsmittel zu keinem oder nur zu sehr geringem Reaktionsumsatz und ausschließlich mit einem Gemisch aus *tert.*-Butanol und Diethylether konnte die Bildung von Nebenprodukten unterdrückt werden und eine gute Ausbeute von 95% wurde erreicht. Im letzten Schritt zum Erhalt des eigentlichen Zielbausteins **58** muss die Verbindung **62** protoniert werden, was problemlos mit Essigsäure gelang.



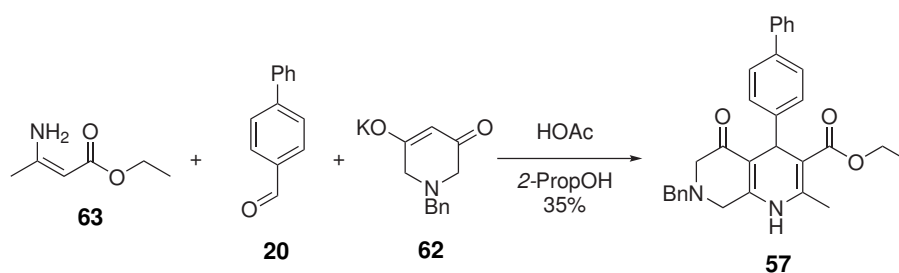
**Abb. 3.11:** **A:** Struktur und biologische Aktivität der Verbindung **56**<sup>[79]</sup> als Vorbild für 7-*N*-derivatisierte DHPs. Retrosynthetische Analyse zu 1,4-Dihydropyridinen mit einem Stickstoffatom an 7-Position. **B:** Synthesesequenz zur Darstellung des Kaliumenolats **62** mit optimierten Reaktionsbedingungen.<sup>[164]</sup>

Allerdings wurde dabei bemerkt, dass bei Lagerung des isolierten Piperidins eine Vielzahl von Zersetzungsreaktionen auftraten und nach erneuter, sowie gezielter Durchsicht der Literatur konnte bestätigt werden, dass die protonierte Verbindung selten als Reinstoff isoliert wurde. Stattdessen wurde in fast allen Fällen das Piperidin-3,5-dion-Derivat *in situ* synthetisiert und direkt, oftmals auch ohne zusätzliche Aufreinigungsschritte, für Folgereaktionen verwendet, was auf eine hohe chemische Labilität der Substanz hindeutet. Das Kaliumsalz **62** hingegen war deutlich stabiler und konnte problemlos bei niedrigen Temperaturen auch über einen längeren Zeitraum gelagert werden.<sup>[135]</sup>

Für die anschließende Synthese zum 1,4-Dihydropyridin mit einem Benzylgeschützten Stickstoff an der 7-Position mussten die Synthesebedingungen angepasst werden. Mit den ansonsten verwendeten Bedingungen, Iod in Ethanol bei Raumtemperatur, konnte kein Reaktionsumsatz beobachtet werden. Ein Erfolg stellte sich erst ein, als die bereits mit Ammoniak kondensierte 1,3-Dicarbonylverbindung **63** anstelle von Ethylacetoacetat und Eisessig in 2-Propanol verwendet wurde, wodurch eine akzeptable Ausbeute von 35% (siehe **Abbildung 3.12**) erreicht wurde.<sup>[135,164,165]</sup>

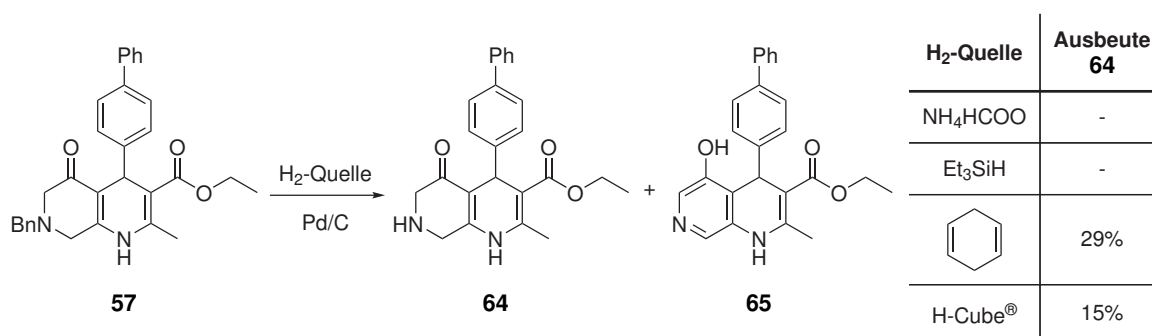


Abschließend musste die Benzyl-Schutzgruppe hydrogenolytisch abgespalten werden. **Abbildung 3.13** zeigt die verwendeten Hydrid-Donoren und deren Einfluss auf den Reaktionserfolg.



**Abb. 3.12:** Synthesesequenz zur Darstellung des 1,4-Dihydropyridins mit einem Benzyl-geschützten Stickstoff an der 7-Position.<sup>[135,164,165]</sup>

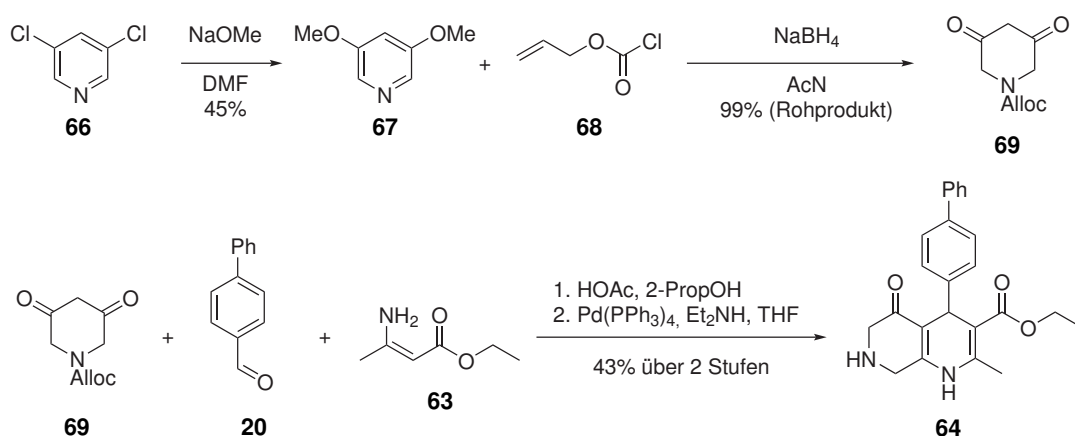
Für die Hydrierungsreaktion der Benzylgruppe zu Toluol und dem freien Amin **64** wurde ein Palladiumkatalysator und insgesamt vier Quellen (Ammoniumformiat, 1,4-Cyclohexadien, Triethylsilan und H<sub>2</sub>) für den *in situ* erzeugten molekularen Wasserstoff untersucht. Interessanterweise konnte unter Verwendung von Ammoniumformiat und Triethylsilan keinerlei Produktbildung beobachtet werden und mit 1,4-Cyclohexadien gelang nur eine sehr geringe Ausbeute. Stattdessen bildete sich ein 1,4-Dihydropyridin-Derivat **65**, welches einen komplett oxidierten *b*-Annelanten trägt. Dies deutet darauf hin, dass das neue 7-Stickstoffatom die elektronische Struktur des Grundgerüsts derart verändert, dass nun eine gewisse Anfälligkeit für Dehydrierungsreaktionen besteht. Zur Überprüfung, ob diese Reaktion durch ein Überangebot an Wasserstoff unterdrückt werden kann, wurde die Reaktion mit einem einem so genannten *continuous-flow Hydrogenation Reactor* (H-Cube<sup>®</sup> der Firma ThalesNano, Nanotechnology Inc.) durchgeführt. Dies ist eine Hydrierapparatur, welche die Reaktionslösung mit einem kontinuierlichen Wasserstoff-Fluss bei sehr hohem Druck versorgt und daher einen Mangel an H<sub>2</sub> ausschließt. Allerdings konnte auch hierbei lediglich eine Ausbeute von maximal 15% an nicht oxidierten 1,4-Dihydropyridin **64** erreicht werden, während sich das Nebenprodukt in mindestens äquimolaren Menge bildete.<sup>[135,165]</sup> Damit steht fest, dass die Oxidationsreaktion ungeachtet der Wasserstoffkonzentration auftritt und es musste ein neuer Weg gefunden werden, um das 1,4-Dihydropyridin **64** mit ungeschütztem Stickstoff zu synthetisieren.



**Abb. 3.13:** Untersuchte Hydrierungsbedingungen zur Entfernung der *N*-Benzyl-Schutzgruppe.<sup>[165]</sup>

Der am nächsten gelegene Umweg führt über ein 1,4-DHP-Derivat, welches eine Schutzgruppe an der 7-*N*-Position trägt, die nicht hydrogenolytisch abgespalten werden muss, wie beispielsweise eine Carbamat-Schutzgruppe. Ein entsprechendes Piperidin-3,5-dion ist auch literaturbekannt, muss jedoch über einen anderen Syntheseweg hergestellt werden als das Benzylgeschützte Derivat.<sup>[170]</sup> Die entsprechende Synthesesequenz ist in **Abbildung 3.14** dargestellt.

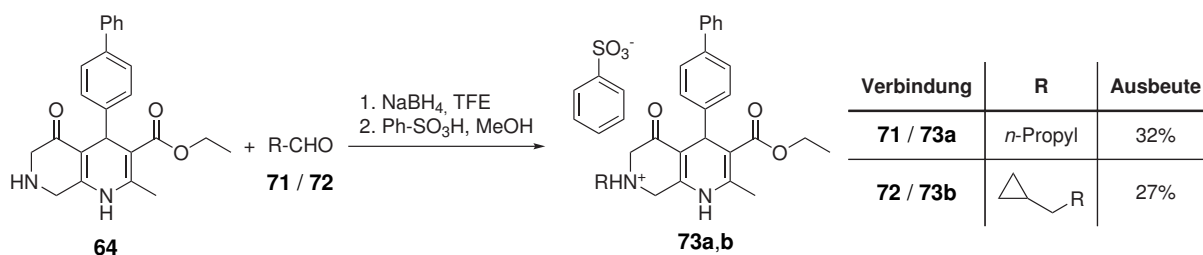
Diese Syntheseroute beginnt mit der Substitution beider Chloratome von 3,5-Dichloropyridin **66** mit Natriummethanolat zu dem entsprechenden 3,5-Dimethoxy-Derivat **67**. Diese Reaktion verläuft nur sehr langsam über 40 Stunden und einer moderaten Ausbeute von 45%. Der nächste Schritt besteht aus der Reduktion des Pyridinrings und der sofortigen *in situ* Blockierung des entstehenden Piperidin-3,5-dions mit Allylchloroformat **68**. Bei dieser Reaktion ist Kontrolle der Reaktionstemperatur der entscheidende Faktor für eine erfolgreiche Durchführung. Die Umsetzung wird bei -40°C – -45°C durchgeführt und muss zwingend in diesem Temperaturbereich gehalten werden, da sonst eine Zersetzung der Piperidin-Spezies droht. Allerdings kann die Lagerung bei -20°C und mit einem Zusatz von 30 mol% Essigsäure über längere Zeit problemlos durchgeführt werden und so konnte die Schlüsselverbindung **69** mit einer Rohausbeute von 99% erhalten werden. Dieser Baustein wurde dann in der oben bereits beschriebenen DHP-Synthese eingesetzt, wodurch das Alloc-geschützte 7-*N*-DHP-Derivat **70** synthetisiert werden konnte. Nach einer direkt angeschlossenen Entschützungsreaktion mittels Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> und Diethylamin in THF konnte das finale Produkt **64** ohne Auftreten von Zersetzungsprodukten und mit einer Ausbeute von 43% über zwei Stufen isoliert werden. Während der Lagerung dieser Verbindung konnte bereits beobachtet werden, dass selbst bei -20°C ein Farbumschlag des Feststoffes und damit einhergehende Zersetzungsreaktionen stattfanden. Diesem konnte aber entgegengewirkt werden, indem das Produkt in das entsprechende Besylat Salz überführt wurde.



**Abb. 3.14:** Synthesesequenz zur Darstellung des 1,4-Dihydropyridins mit freiem Stickstoff an der 7-Position, **64**, über einen Alloc-geschützten Baustein.<sup>[135]</sup>

In einem finalen Schritt soll dieses neu eingeführte Stickstoffatom mit zwei verschiedenen Alkylresten funktionalisiert werden. Zu diesem Zweck wurde als Reaktionstyp die reduktive Aminierung gewählt, um zusätzliche Alkylierungen, wie am 1-*N*-Atom des DHP-Grundgerüsts, zu vermeiden. Hierbei bildet

sich im ersten Schritt aus dem sekundären Amin und einem Aldehyd ein Iminiumion, welches im Anschluss mit Natriumborhydrid zu dem gewünschten Alkylamin reduziert wird. Als besonders effizient hat sich hierbei TFE (2,2,2-Trifluorethanol) als Lösungsmittel herausgestellt, da sich dieses bereits in einer anderen Studie als besonders vorteilhaft auf die Reaktionsgeschwindigkeit und somit auf die Reaktionsdauer auswirkt.<sup>[171]</sup> Anschließend wurden zur finalen Reinigung und zur Erhöhung der Lagerungsstabilität beide 7-*N*-alkylierten DHP-Derivate in die entsprechenden Besylat-Salze überführt. Dabei ging aber jeweils ein großer Teil der Ausbeute verloren, weswegen die Umsetzungen beider Aldehyde nur ungefähr 30% Effizienz erbrachten.<sup>[135]</sup>



**Abb. 3.15:** Übersicht über die reduktive Alkylierung des 7-Stickstoffs mit zwei Aldehyden und anschließender Fällung der Produkte als Besylat.<sup>[135]</sup>

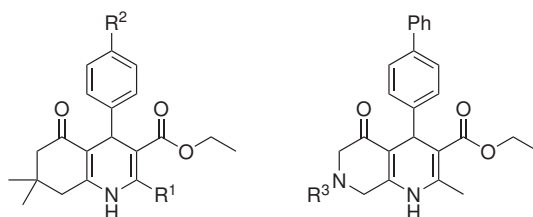
Im Anschluss daran wurden die Verbindung in einem TGF $\beta$ /Smad-Reporter-Gen-Assay auf ihre inhibitorische Aktivität untersucht. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3.3** aufgeführt.

Wie bereits in **Kapitel 3.1** auf Seite **19** beschrieben, ist es möglich Stickstoffhaltige Gruppen an der 2-Position einzubauen (vgl. Verbindungen 2-Ethylamin- **28** und 2-*n*-Propylamin-derivatisierte DHPs **29** mit IC<sub>50</sub>-Werte von 3,44  $\mu$ M und 1,60  $\mu$ M), wenn auch ein Wirkverlust mit einem Faktor von 2 – 4 in Kauf genommen werden muss.<sup>[130]</sup> Die Ursache der reduzierten biologischen Aktivität ist auf Basis dieser Daten nicht ohne weiteres zu ermitteln und es kommen zwei mögliche Erklärungen in Frage. Entweder wirkt sich der höhere sterische Anspruch oder die zusätzliche polare Gruppe negativ auf die biologische Potenz aus. Um dieser Fragestellung auf den Grund zu gehen, wurden zwei weitere Derivate hergestellt, welche eine Aminogruppe direkt am DHP-Grundgerüst tragen, sich aber durch die Gruppe an 4-Position unterscheiden. Verbindung **37a** mit einer 2-Amino und einer 4-Biphenylgruppe zeigt einen Abfall des IC<sub>50</sub>-Wertes auf 1,33  $\mu$ M und ist somit vergleichbar mit der biologischen Aktivität des 2-Propylamin-DHP-Derivats **29**. Die im Vergleich zur Referenzverbindung **3** reduzierte Aktivität könnte hier dadurch erklärt werden, dass bei einem 2-Amino-Derivat kein Amin im eigentlichen Sinne vorliegt, sondern vielmehr dass dessen Ladungsdichte mit in das vinyloge Carbamat-System des DHP-Ringes integriert wird und somit keine scharf abgegrenzte polare Stelle im Molekül entsteht. Dennoch erhärtet sich die Vermutung, dass eine polare Natur der 2-*N*-tragenden DHPs die Hauptursache des Wirkverlusts trägt und ein größerer sterischer Anspruch, wie derjenige der Propylseitenkette von Verbindung **29**, keinen signifikanten Einfluss auf die Inhibition des TGF $\beta$ -Signalwegs ausübt. Dies führt zu der Hypothese, dass die 2-Position der DHP-Moleküle während der Bindung am *Target* dem Lösungsmittel exponiert wird und daher zur Löslichkeitverbesserung ausgenutzt werden kann. Zudem konnte gezeigt werden, dass der leicht erhöhte IC<sub>50</sub>-Wert durch entsprechende Derivatisie-

rung an anderen Positionen des Moleküls wieder ausgeglichen wird, wie die biologische Aktivität des 4-*tert.*-Butylphenyl-Derivats **37b** beweist ( $IC_{50} = 0,52 \mu\text{M}$ ).<sup>[130]</sup>

Das nächste untersuchte Substitutionsmuster bestand in der Amlodipin-inspirierten Seitenkette an 2-Position, wie Verbindung **38** sie trägt. Interessanterweise zeigte diese Verbindung ab einer Konzentration von  $2,5 \mu\text{M}$  eine ausgeprägte zytotoxische Wirkung auf das zelluläre Assaysystem. Ein erster Erklärungsversuch, warum dieser überraschende Effekt hier auftrat, jedoch nicht bei dem zugelassenen Medikament Amlodipin, wurde zunächst im Vorhandensein von zelltoxischen Synthesenebenprodukten ausgemacht. Als jedoch angeschlossene, intensive chemische Aufreinigungsmethoden (Umkristallisationen und diverse säulenchromatographische Aufreinigungszyklen) keine Veränderung brachten, muss die Toxizität auf eine intrinsische Eigenschaft (wie beispielsweise ein ausgeprägter amphiphiler Charakter) des Substitutionsmusters zurückgeführt werden und konnte somit nicht weiter verfolgt werden.

**Tab. 3.3:** Übersicht über die biologische Aktivität der neu hergestellten 1,4-Dihydropyridin-Derivate mit Gruppen zur Verbesserung der Löslichkeit. Dargestellt sind sowohl die  $IC_{50}$ -Werte und die prozentualen Inhibitionen bei einer Konzentration von  $2,5 \mu\text{M}$ . Alle Werte und Standardabweichungen wurden in  $n = 2-4$  unabhängigen Experimenten ermittelt. Außerdem aufgeführt ist die biologische Aktivität der Referenzverbindung **3**.



Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	$IC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	% Inhibition ( $2,5 \mu\text{M}$ )
<b>3</b>	Me	Ph	-	$0,85 \pm 0,30$	$83 \pm 8$
<b>37a</b>	NH <sub>2</sub>	Ph	-	$1,33 \pm 0,21$	$61 \pm 2$
<b>37b</b>	NH <sub>2</sub>	<i>tert.</i> -Bu	-	$0,51 \pm 0,03$	$89 \pm 5$
<b>28</b>	CH <sub>2</sub> NHEt	Ph	-	$3,44 \pm 0,33$	$64 \pm 27$
<b>29</b>	CH <sub>2</sub> NH- <i>n</i> -Pr	Ph	-	$1,60 \pm 0,38$	$57 \pm 6$
<b>38</b>	CH <sub>2</sub> O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	Ph	-	toxisch	-
<b>64</b>	Me	Ph	H	inaktiv	$25 \pm 6$
<b>57</b>	Me	Ph	Bn	$1,51 \pm 0,63$	$72 \pm 2$
<b>73a</b>	Me	Ph	<i>n</i> -Pr	$1,46 \pm 0,20$	$64 \pm 1$
<b>73b</b>	Me	Ph		$2,26 \pm 0,05$	$48 \pm 2$

Die letzte Serie an 1,4-Dihydropyridinen, welche zur Verbesserung der Löslichkeit entwickelt wurden, trägt ein Stickstoffatom an der 7-Position, welches teilweise mit Alkyl- oder Aryl-Gruppen substituiert ist. Interessanterweise verliert das unsubstituierte Derivat **64** jegliche biologische Aktivität, in ähnlicher

Weise wie die 6-*N*-substituierte Verbindung **10** (vgl. **Kapitel 3.1** auf Seite **19**)<sup>[130]</sup> und ein Inhibitions-effekt auf den TGF $\beta$ -Signalweg wird erst wieder erreicht, sobald eine Alkylierung des Stickstoffatoms vorgenommen wird. So zeigen die Benzyl-, wie auch die *n*-Propyl-derivatisierte Verbindungen IC<sub>50</sub>-Werte von 1,51  $\mu$ M (**57**) und 1,46  $\mu$ M (**73a**). Daraus lässt sich folgern, dass ausgehend von dieser Position eine gewisse unpolare Wechselwirkung mit dem *Target* unabdingbar ist. Außerdem kann anhand dieser kleinen Serie erahnt werden, dass eine Mindestgröße des unpolaren Rests vorhanden sein muss, damit eine gute Wirksamkeit erreicht wird, wie der Abfall in der Wirkpotenz des 7-*N*-Cyclopropylmethyl-substituierten Derivats (**73b**: IC<sub>50</sub> = 2,26  $\mu$ M) eindrücklich zeigt.

Insgesamt lässt sich aus diesen Untersuchungen festhalten, dass die Einführung von zusätzlichen polaren Gruppen – insbesondere Stickstoffatome – in das Grundgerüst der 1,4-Dihydropyridine zu biologisch aktiven Molekülen führt. Außerdem konnten weitere wichtige Elemente für den hypothetischen Bindungsmodus der 1,4-DHPs herausgearbeitet werden: Die 2-Position liegt bei Bindung an die biologische Zielstruktur vermutlich dem Lösungsmittel exponiert vor, da hier eine gewisse Toleranz gegenüber verschieden ausgedehnten Substituenten aufgefunden wurde. Die 7-Position hingegen wird höchstwahrscheinlich in proximaler Nähe zu einer lipophilen Tasche orientiert, da eine akzeptable Wirksamkeit erst nach Einführung von lipophilen Resten beobachtet werden konnte.

### 3.2.1.3 Generelle Konzepte zur Optimierung der chemischen und metabolischen Stabilität von Wirkstoffen

Die Stabilität eines Wirkstoffkandidaten ist sowohl während des Entwicklungsprozesses, als auch bei seiner finalen Anwendung als Medikament von größter Bedeutung.<sup>[137,172–174]</sup> Dabei sind verschiedene Arten der Stabilität zu beachten: Zum Einen ist es wichtig, dass die Verbindungen eine ausreichende chemische Stabilität als Feststoff, aber auch in Lösung besitzen. Dies ist gerade in den frühen Phasen der Entwicklung von besonderer Bedeutung, da instabile Substanzen bzw. mögliche Abbauprodukte zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen im Optimierungsprozess führen können und damit die Basis für alle darauffolgenden Planungs- und Entwicklungsprozesse sabotieren.<sup>[175]</sup> Zusätzlich dazu muss die Stabilität von Wirkstoffkandidaten in der *in vivo*-Situation bedacht werden, denn hier werden besondere Herausforderungen in Bezug auf die strukturelle Integrität von Verbindungen gestellt. Im Körper begegnet eine Substanz neben verschiedenen rein (physiko-)chemischen Widrigkeiten auch enzymatischen Abbauprozessen, gegen welche sie zumindest eine Zeit lang gefeit sein muss, um eine ausreichende pharmakologische Wirkung zu zeigen.<sup>[175]</sup>

Diese im Körper stattfindenden Prozesse werden unter dem Stichwort Biotransformation zusammengefasst und sie können in verschiedene einzelne Phasen unterteilt werden, welche nicht zwingend konsekutiv ablaufen müssen, sondern je nach Moleküleigenschaften auch teilweise übersprungen oder vertauscht werden können.

In der ersten Phase werden funktionelle Gruppen im Fremdmolekül beispielsweise durch Oxidation, Dealkylierung oder Hydrolyse so verändert, dass die Polarität (und damit auch die Wasserlöslichkeit) des Xenobiotikums erhöht wird. Dabei spielen eine Reihe von Enzymklassen eine Rolle, wie die *Cytochrom P450*-Superfamilie (CYP), *Flavin-containing mono-oxygenases* (FMO), Monoaminoxidasen, Alkohol- oder Aldehyddehydrogenasen, Reduktasen, Esterasen, Amidasen und Epoxidhydrolasen. Bei diesem eigentlich als Entgiftungsprozess beabsichtigten Vorgang kann es aber auch geschehen, dass toxische Intermediate gebildet werden, welche es im Zuge der Wirkstoffentwicklung unbedingt zu identifizieren und zu vermeiden gilt.<sup>[4,134,175,176]</sup>

In einer weiteren Metabolismus-Phase werden an diese neu gebildeten Funktionalitäten körpereigene Moleküle konjugiert, wie Glucuronsäure, Sulfat- und Acetatreste oder Aminosäuren, aber auch *O*- und *N*-Methylierungen werden häufig beobachtet. Dies geschieht hauptsächlich um die Wasserlöslichkeit der Verbindungen zusätzlich zu erhöhen und die weitere Entgiftung voranzutreiben.<sup>[4,134,175]</sup>

Alle diese Biotransformationsprozesse haben das Ziel ein Xenobiotikum schnellstmöglich aus dem Körper zu entfernen, was aber im Umkehrschluss für Wirkstoffmoleküle bedeutet, dass deren Bioverfügbarkeit durch diese Vorgänge deutlich erniedrigt wird. Manche Verbindungen werden sogar derartig schnell metabolisiert, dass diese kaum den Blutkreislauf erreichen. Man spricht dabei von einem hohen *First-pass*-Effekt. Einige typische Beispiele für in der Klinik angewendeten Medikamente mit einem ausgeprägtem *First-pass*-Effekt sind das Propranolol, Lidocain und Glyceroltrinitrat.<sup>[4,175]</sup>

Wie schon zuvor beschrieben kann das Konzept der Biotransformation auch dazu ausgenutzt werden, um einen Wirkstoff erst in seine wirksame Form umzuwandeln (*Prodrug*-Konzept). So können

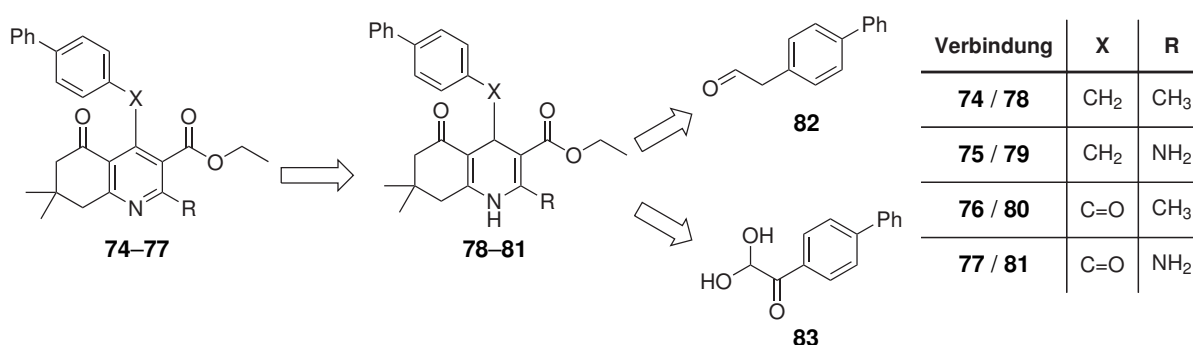
beispielsweise pharmakodynamisch wichtige, aber für andere PK-relevante Parameter ungünstige Strukturelemente im Vorfeld maskiert werden, welche dann im Idealfall erst am Wirkort freigesetzt werden.<sup>[155]</sup>

Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass auch das umgekehrte Konzept in der Medikamentenentwicklung eine Rolle spielt. Solche so genannten *Antedugs* oder *Soft Drugs* werden lokal an dem gewünschten Zielgewebe (meist Auge, Haut oder Lunge) appliziert, sollen jedoch sehr schnell metabolisiert werden und nicht durch den Blutkreislauf im Körper verteilt werden. Daher besitzen diese Verbindungen spezielle Strukturelemente, welche eine rasche Deaktivierung des Medikaments begünstigen, um so toxische Effekte zu vermeiden.<sup>[155,175]</sup>

Es gibt verschiedene Ansatzpunkte, um die Stabilität von Verbindungen gegenüber chemischen als auch metabolischen Einflüssen zu verbessern. So konnte schon gezeigt werden, dass beispielsweise ein instabiler Ester in ein entsprechendes Carbonsäureamid umgewandelt werden kann, was in einer deutlichen Steigerung der Plasmastabilität der Verbindung resultiert.<sup>[175,177]</sup> Eine weitere Möglichkeit liegt darin, die sterische Umgebung einer hydrolysierbaren Gruppe anspruchsvoller zu gestalten, wodurch entsprechende enzymatische Spaltreaktionen verlangsamt werden und die Verweildauer der Verbindung im Blutkreislauf erhöht wird. Dementsprechend wirkt sich eine Vergrößerung einer Estergruppe positiv auf dessen Stabilität aus, während kurze Ester typischerweise schnell gespalten werden.<sup>[175,176,178]</sup> Liegt das Hauptproblem für eine etwaige Labilität eher in Phase I oder II der Biotransformation, so kann es helfen die metabolisch instabile Position im Molekül mit Fluor-, Chlor- oder anderen kleinen Gruppen zu blockieren, insbesondere falls der Hauptabbauweg über oxidative Prozesse stattfindet.<sup>[175,179–183]</sup> Des Weiteren konnte ein Zusammenhang zwischen hoher Lipophilie und schneller Metabolisierung hergestellt werden. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die verantwortlichen Enzyme meist sehr lipophile, unspezifische Bindetaschen besitzen und somit stark hydrophobe Verbindungen bevorzugt darin binden. Daher korreliert ein niedriger logD-Wert generell oftmals mit einer höheren metabolischen Stabilität.<sup>[175,184–186]</sup> Zusammengefasst zielen all diese Ansätze und Bemühungen darauf ab, die für die Instabilität ursächliche Gruppe durch bioisostere, jedoch deutlich stabilere Funktionalitäten oder Umgebungen zu ersetzen.<sup>[175,187,188]</sup>

### 3.2.1.4 Synthese und biologische Evaluierung von neuen 1,4-Dihydropyridin-Derivaten mit optimierter chemischer und metabolischer Stabilität

Die in dieser Arbeit untersuchte Verbindungsklasse, die 1,4-Dihydropyridine, besitzen prinzipiell zwei Molekülregionen, welche zu einer wahrscheinlichen Substanzstabilität (*in vitro* und *in vivo*) führen können. Zum Einen ist dies der Dihydropyridin-Kern, von welchem schon länger bekannt ist, dass dieser – je nach Substitutionsmuster – sehr anfällig für Oxidationsreaktionen, wie beispielsweise durch Lichteinstrahlung, ist.<sup>[189–191]</sup> Daneben sind von diversen 1,4-Dihydropyridin-Derivaten die Hauptmetabolisierungswege *in vivo* bereits beschrieben und fast alle haben gemein, dass die Oxidation des DHP-Grundgerüsts zum Pyridin eine typische und zuverlässige Abbaureaktion darstellt.<sup>[192,193]</sup> Um diesem entgegenzuwirken liegen die sinnvollsten Optimierungsstrategien darin, diese Oxidationsreaktion komplett zu umgehen, indem direkt das bereits oxidierte Pyridin-Derivat eingesetzt wird oder die Zersetzungsreaktion durch entsprechende Substitutionsmuster zu verhindern, wie durch eine zusätzliche (Alkyl-)Gruppe am *N*-1-Atom. Entsprechende Derivate wurden bereits in der ersten SAR-Studie synthetisiert und auf deren biologische Aktivität gegenüber des TGF $\beta$ -Signalwegs untersucht. Dabei hatte sich herausgestellt, dass sowohl die Oxidation zum Pyridin, als auch eine *N*-Methylierung zu biologisch inaktiven Molekülen führt.<sup>[79]</sup> Daraus konnten einige Vermutungen zum Bindungsmodus der Dihydropyridine geschlossen werden. Entweder scheint das Wasserstoffatom am *N*-Atom essentiell für die Bindung der Moleküle am *Target* zu sein oder aber das Platzangebot an dieser Kontaktstelle ist sehr begrenzt. Weiterhin scheint die spezielle Geometrie des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts ebenfalls von größter Wichtigkeit für die Interaktion mit der biologischen Zielstruktur zu sein. 1,4-DHPs besitzen eine so genannte „*flatted boat*“-Konformation, wobei der 4-Substituent fast senkrecht zu dem DHP-Kern steht, wie auch in späteren kristallographischen Untersuchungen festgestellt wurde (s. Kapitel 3.3.2.2 auf Seite 90).<sup>[130]</sup>



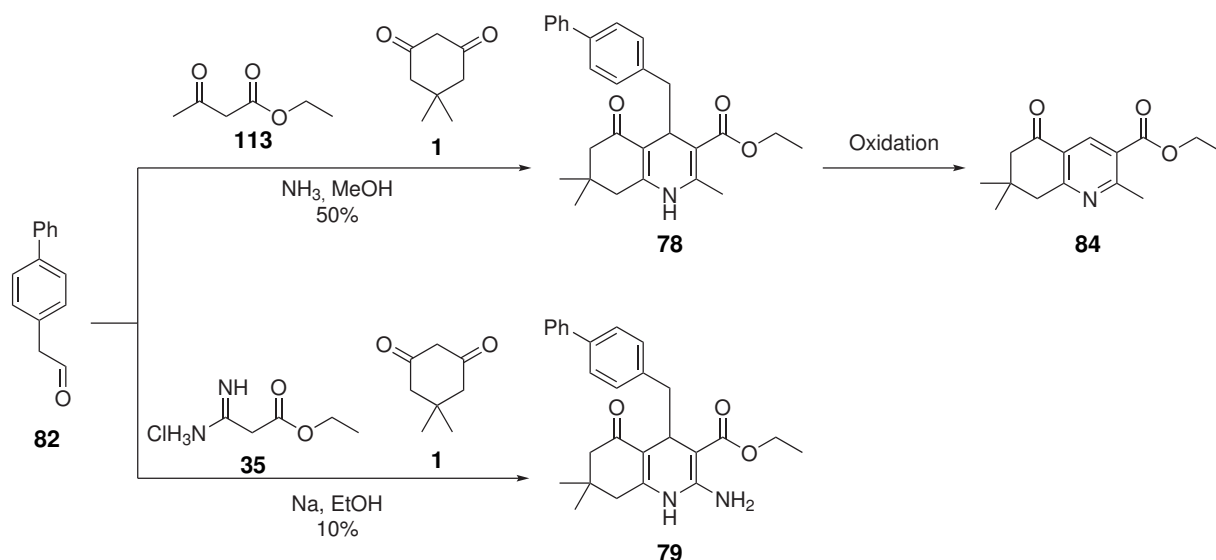
**Abb. 3.16:** Retrosyntheseübersicht der entscheidenden Synthesewegzwischenprodukte für Pyridinderivate mit unterschiedlichen Linkergruppen an 4-Position.<sup>[194]</sup>

Eine Möglichkeit die Fragestellung nach der Notwendigkeit der speziellen räumlichen Anordnung genauer zu adressieren wurde im Rahmen einer Masterarbeit von ELENA HEIDER untersucht.<sup>[194]</sup> Hierbei sollten Verbindungen mit bereits oxidiertem Pyridin-*Scaffold* synthetisiert werden, welche aber die Geometrie des 1,4-DHP-Grundgerüsts durch eine kurze Linker-Gruppe zwischen dem Pyridin-Ring



und dem Substituent an 4-Position imitieren sollen. Der Einfachheit halber wurde als flexibles Verbindungselement entweder eine Methylen- oder eine Carbonyl-Gruppe gewählt. Auch der Fragestellung nach der Rolle des *N*-Wasserstoffatoms sollte bei diesem Konzept auf den Grund gegangen werden, da auch Derivate mit einer 2-Amino-Gruppe geplant waren, welche anstelle des *N*-1-H ein Proton zur Bindung am *Target* liefern könnte. **Abbildung 3.16** zeigt die rational entworfenen Zielmoleküle, sowie deren essentielle Zwischenstufen in den jeweiligen Retrosyntheseplanungen.

Die Synthesen der 1,4-Dihydropyridine mit einem 4-Methylenlinker (**78** und **79**) konnten erfolgreich durchgeführt werden und sind in **Abbildung 3.17** gezeigt. Die Synthese des Derivats **78** gelang in einer Ausbeute im akzeptablen Bereich von 50%, wohingegen Verbindung **79** lediglich mit 10%iger Ausbeute erhalten werden konnte.<sup>[194]</sup> Aus diesem Grund wurden die ersten Vorversuche zur Oxidation des Grundgerüsts ausschließlich an Verbindung **78** (mit einer Methylgruppe an 2-Position) durchgeführt. Hierbei wurden diverse vermeintlich milde Oxidationsmittel auf deren Effektivität untersucht, wie beispielsweise ein Periodsäure-Natriumnitrit-System, Antimon(V)chlorid und Dess-Martin-Periodinan in Kombination mit Natriumbromid oder Iod.<sup>[194]</sup> Allerdings konnte bei keiner der untersuchten Bedingungen das gewünschte Produkt isoliert werden, sondern stattdessen wurde vielmehr in vielen Fällen die 4-dealkylierte, jedoch oxidierte Verbindung **84** isoliert und nachgewiesen.<sup>[194]</sup> Eine Erklärung für diese Reaktion könnte in der speziellen strukturellen Lage der Methylengruppe begründet liegen. Sie liegt in einer benzylicischen Position, weswegen an dieser Stelle positive Ladungen und Radikale sehr gut stabilisiert werden können, wodurch die Abspaltung des Substituenten erleichtert wird. Nach einer erneuten Literaturrecherche konnte herausgearbeitet werden, dass dieses Verhalten bei der Oxidation von 1,4-Dihydropyridinen mit 4-Methylen-Derivatisierungen nicht unbekannt und kaum zu umgehen ist.<sup>[135,194–196]</sup>

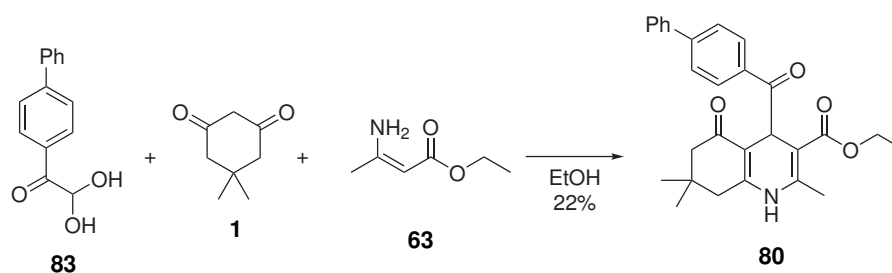


**Abb. 3.17:** Syntheserouten zu den Verbindungen **78** und **79** die jeweils einen Methylenlinker zwischen 1,4-DHP-Kern und Substituent an 4-Position tragen, sowie das unerwünschte Oxidationsprodukt **84**.<sup>[135,194]</sup>

Das zweite in **Abbildung 3.16** aufgeführte Set an 1,4-DHP-Derivaten mit einer Carbonyl-Gruppe an

4-Position sollte als nächstes synthetisiert werden, da hier keine oxidative Dealkylierung während der Oxidation erwartet wird. So wurde zunächst Verbindung **80** mit klassischen Hantzschschen Bedingungen hergestellt, wie in **Abbildung 3.18** abgebildet. Die Synthese des 2-Amino-Analogons (**81**) wurde zunächst nicht durchgeführt, da bei dem hierfür benötigten Reaktionstyp üblicherweise nur geringe Ausbeuten erhalten werden können und ein entsprechend großer Ansatz erst nach erfolgreicher Herstellung und Oxidation der 2-Methylverbindung durchgeführt werden sollte.

Verbindung **80** konnte in 22%iger Ausbeute ausgehend von dem Monohydrat des Aldehyds **83** erhalten werden. Allerdings konnte auch bei diesem Derivat kein entsprechendes Pyridin erfolgreich isoliert werden, da je nach verwendeten Bedingung entweder keinerlei Oxidationsreaktion beobachtet wurde oder aber es fand eine bislang ungeklärte Zersetzung statt.<sup>[135,194]</sup>



**Abb. 3.18:** Synthese des 1,4-Dihydropyridins mit einem Carbonyllinker an 4-Position über eine klassische Hantzschsche 1,4-DHP-Synthese.<sup>[135,194]</sup>

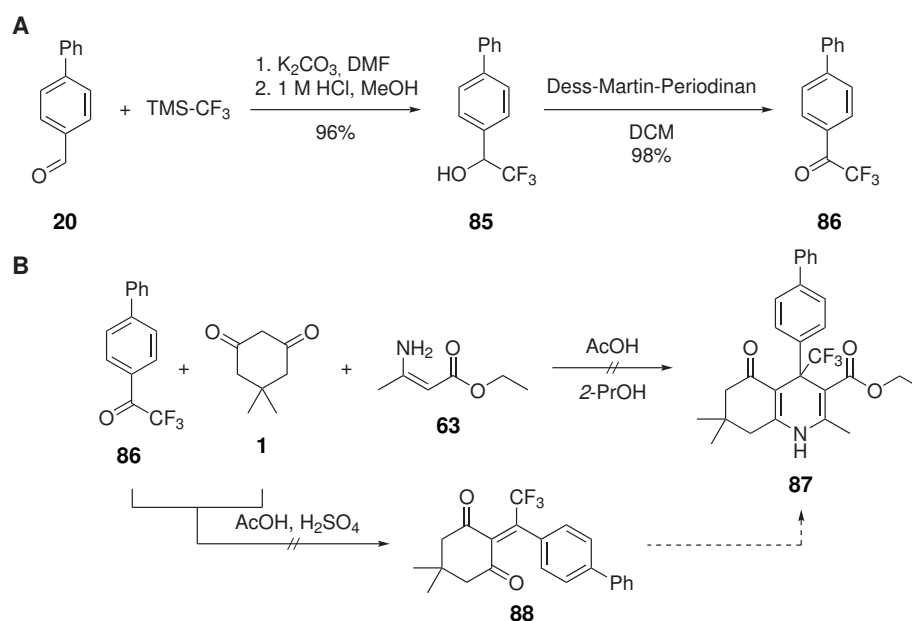
Eine mögliche Erklärung könnte in der wahrscheinlich sehr hohen Azidität des Protons an 4-Position verankert sein, da diese eine Keto-Enol-Tautomerie ermöglicht, wodurch ein sehr ausgedehntes  $\pi$ -System bestehend aus dem 1,4-DHP-Kern und dem aromatischen 4-Substituenten entstehen würde. Dieses System besitzt eine recht hohe chemische Stabilität als Einheit und würde daher eine erfolgreiche und selektive Oxidation verhindern. Daher wurde auch dieser Denkansatz nicht weiter verfolgt.<sup>[194]</sup>

Die nächste im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Möglichkeit ein oxidationsstabiles DHP-Derivat ohne Veränderung der speziellen Geometrie des Grundgerüsts herzustellen, lag in dem Austausch des Protons an 4-Position mit einer anderen Gruppe, welche dann oxidativ vom Körper nur schwer abgespalten werden kann. Diese Region im Dihydropyridin-Molekül wurde bislang im Kontext der vorhergehenden SAR-Betrachtungen nicht genauer beleuchtet, weswegen zunächst testweise eine sehr kleine Gruppe eingefügt werden sollte. Somit wurde also ein Molekül designt, welches an der 4-Position sowohl einen Biphenyl- und einen Trifluormethylrest trägt.

Bei genauerer Durchsicht entsprechender Literaturstellen, erkennt man schnell, dass die Synthese einer derartig substituierten Verbindung als ambitioniert anzusehen ist, da nur sehr wenige Verbindungen in der Literatur mit einem derartigen Substitutionsmuster berichtet worden sind. Der Großteil der an 4-Position doppelt substituierten Derivate sind spiro-Verbindungen, für welche in der Hantzsch-Synthese zyklische Ketone statt Aldehyde eingesetzt wurden. Substanzen mit einem aromatischen und einem zusätzlichen (Alkyl-) Rest hingegen sind fast gar nicht zu finden. Dennoch wurde eine ent-

sprechende Synthese getestet, welche in **Abbildung 3.19** gezeigt ist.

Die Herstellung des für die 1,4-Dihydropyridin-Synthese benötigten Biphenyltrifluormethylketons (**86**) konnte über angepasste Literaturvorschriften<sup>[197,198]</sup> problemlos in sehr guten Ausbeuten synthetisiert werden. Jedoch hat sich gezeigt, dass die Synthese des entsprechenden 1,4-Dihydropyridins über diese Strategie nicht erfolgreich verlief. Weder die direkte Hantzsch-Multikomponentenreaktion, noch die Aufteilung der Reaktionssequenz in eine Kondensation des Ketons **86** mit Dimedon (**1**) zu Verbindung **88** und anschließender Reaktion zum DHP-Derivat führte zu dem gewünschten Produkt **87**.

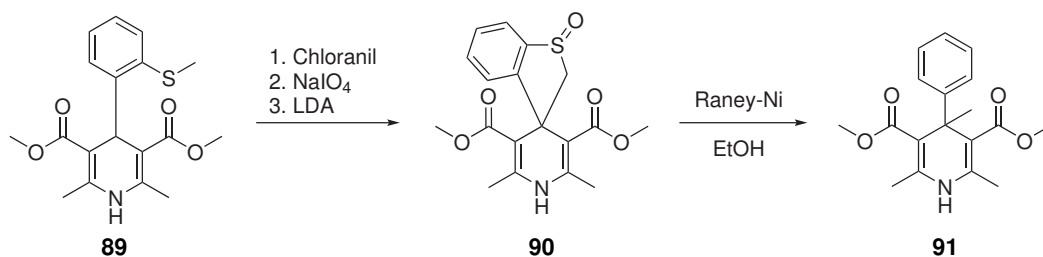


**Abb. 3.19:** A: Syntheseroute zum Trifluormethylketon **86** über zwei Schritte entsprechend angepasster Literaturstellen.<sup>[197,198]</sup> B: Übersicht der zwei versuchten Synthesemethoden zur Herstellung eines 4,4-doppelt substituierten 1,4-Dihydropyridin **87**.

Betrachtet man noch einmal die einschlägige Literatur, so fällt auf, dass lediglich eine einzige Veröffentlichung existiert, in welcher ein komplexes (2,3,4,5,6-substituiert) 1,4-Dihydropyridin mit einem Alkyl- und einem aromatischen Rest an der 4-Position berichtet wurde.<sup>[199]</sup> Die dort aufgeführte Synthese ist recht komplex und wendet vergleichsweise aggressive Bedingungen an, welche von vielen Substitutionsmustern nicht toleriert werden. Die Syntheseroute ist in **Abbildung 3.20** genauer gezeigt.

In der von GOLDMANN beschriebenen Synthese wird ein 1,4-Dihydropyridin mit einem 4-Phenylrest, welcher einen *o*-Thioether trägt, zunächst zweimal oxidiert. Mit Chloranil wird im ersten Schritt die Oxidation des Grundgerüsts zu einem Pyridin erreicht, woraufhin der Thioether mittels Natriumperiodat zu einem Sulfoxid oxidiert wird. Diese Zwischenstufe konnte dann mit Lithiumdiisopropylamid (LDA) zu einem Sulfinylanion deprotoniert werden, welches spontan an die 4-Position des Pyridinrings addiert und somit das 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüst wieder herstellt. Die so erhaltene spiro-Verbindung **90** wurde dann mithilfe des Raney-Nickel-Katalysators entschweifelt und man erhält die

4,4-disubstituierte Verbindung **91** in einer Ausbeute von 34%.<sup>[199]</sup> Dieses Konzept ist kaum auf die hier vorgestellten 1,4-DHP-Derivate zu übertragen und dieses Substitutionsmuster wurde verworfen.



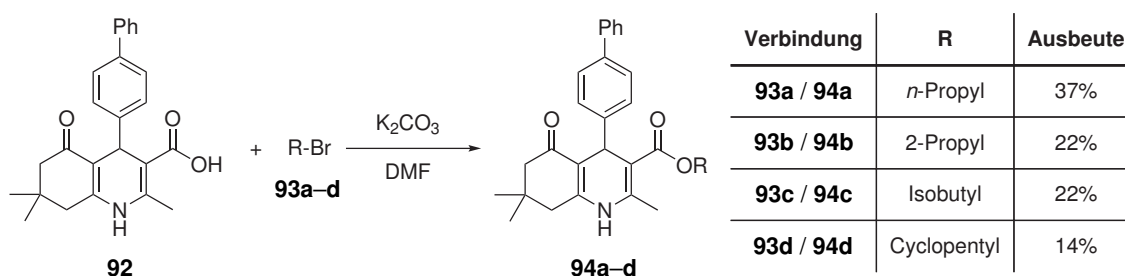
**Abb. 3.20:** Synthesesequenz zur Darstellung des von GOLDMANN beschriebenen 1,4-Dihydropyridins mit doppelter Substitution an der 4-Position.<sup>[199]</sup>

Somit muss also festgestellt werden, dass der 1,4-Dihydropyridin-Ring als Strukturelement nicht weiter optimiert werden kann ohne einen kompletten Wechsel der Grundstruktur in Kauf zu nehmen (vgl. **Kapitel 3.4** auf Seite **119**).

Die zweite potentielle Schwachstelle im DHP-Grundgerüst ist die Estergruppe an 3-Position. Diese liegt zwar in Konjugation mit dem Grundgerüst vor, wodurch ein recht stabiles vinyloges Carbamat vorliegt,<sup>[200,201]</sup> aber dennoch ist eine enzymatische Spaltung dieser Gruppe denkbar.

Wie bereits beschrieben, gibt es mehrere Ansatzpunkte, um einer Ester-Funktion zu höherer metabolischer Stabilität zu verhelfen. Der erste offensichtliche Ansatz den Ethylester durch eine Ethylamid-Gruppe zu ersetzen, wurde bereits in **Abschnitt 3.1** auf Seite **19** gezeigt.<sup>[130,202]</sup> Daneben wurde ebenfalls bereits in demselben angesprochenen Kapitel der Austausch der Ester-Gruppe durch Ketone erfolgreich durchgeführt und beschrieben.<sup>[130]</sup>

Als nächste Möglichkeit wurde genauer untersucht, ob höher verzweigte Ester-Gruppen in dem untersuchten biologischen System eine Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg zeigen. Die Synthese dieser Derivate ist in **Abbildung 3.21** gezeigt.

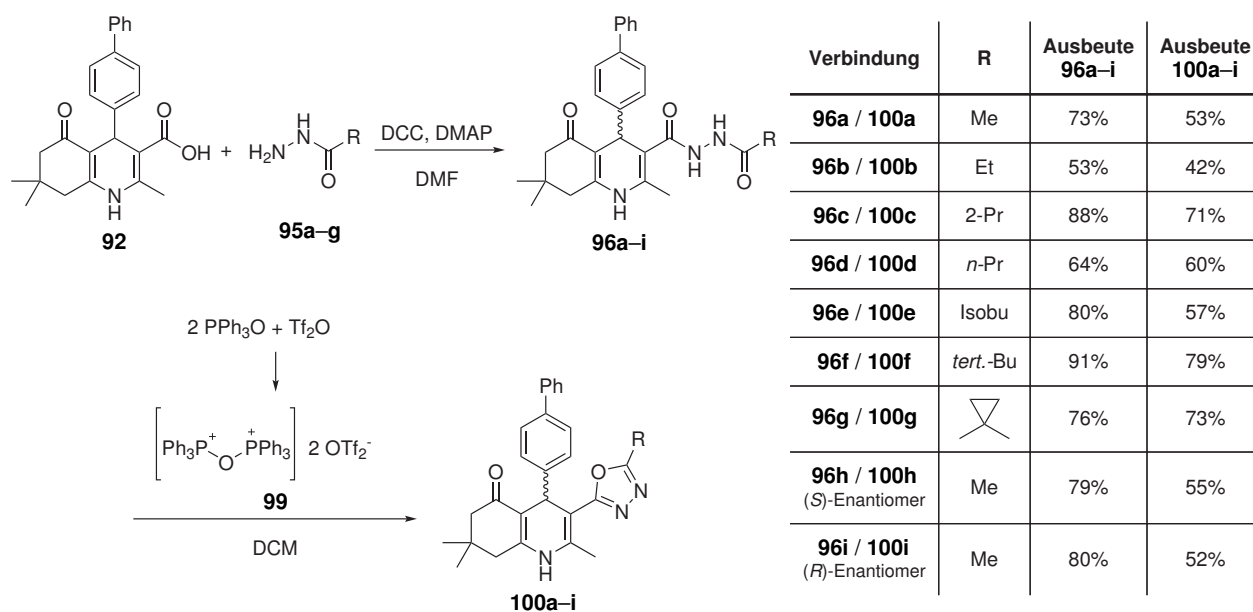


**Abb. 3.21:** Darstellung von 1,4-Dihydropyridinderivaten mit unterschiedlichen Estergruppen an 3-Position.<sup>[130]</sup>

Als Ausgangsverbindung für die meisten Derivate mit diversen verschiedenen Esterfunktionalitäten wurde jeweils Verbindung **92** mit freier Carbonsäure an 3-Position verwendet. Diese Gruppe konnte dann in jeweils einfachen Alkylierungsreaktionen mit Kaliumcarbonat und Alkylbromiden zu den angestrebten Estern verknüpft werden und es konnten moderate Ausbeuten im Bereich von 14% bis 37%

erreicht werden, welche nicht weiter optimiert wurden.<sup>[130]</sup>

Ein weiteres interessantes Strukturelement, welches sich bereits in diversen Anwendungsgebieten als bioisoster zu Ester-Gruppen bewiesen hat, sind Oxadiazole.<sup>[203,204]</sup> Diese Gruppen haben in letzter Zeit immer weiter an Bedeutung in der medizinischen Chemie gewonnen und sie werden vermehrt in der aktuellen Forschung entweder als Strukturelement zur verbesserten Bindung am *Target*,<sup>[205]</sup> zur speziellen räumlichen Orientierung von Substituenten<sup>[206,207]</sup> oder als Bioisoster zu Estern, Amiden, Carbamaten und Hydroxamsäureestern verwendet.<sup>[204,208–210]</sup> Die beiden häufigsten Regioisomere sind das 1,2,4- und das 1,3,4-Oxadiazol, wobei in einer Computer-gestützten Studie herausgearbeitet werden konnte, dass das letztgenannte Isomer deutliche Vorteile im Bereich der Medikamentenentwicklung aufweist. So besitzt dieses eine stärkere Ladungsverteilung im Oxadiazolgrundgerüst, wodurch ein deutlicheres Dipolmoment resultiert, was sich letztendlich in einer erniedrigten Lipophilie und verbesserten Wasserlöslichkeit niederschlägt. Daneben konnte herausgearbeitet werden, dass die 1,3,4-Oxadiazol-Gruppe einen schwächeren Effekt auf den hERG-Kanal (*human Ether-à-go-go-related gene*, ein spannungsabhängiger Kaliumkanal in Kardiomyozyten) ausübt, sowie eine deutlich höhere metabolische Stabilität im Vergleich zu dem 1,2,4-Derivat besitzt.<sup>[204]</sup>



**Abb. 3.22:** Übersicht über die Darstellung verschiedener 1,4-DHP-Derivate mit unterschiedlichen Substitutionsmustern an der 3-Oxadiazolgruppe, sowie zwei Methyl-derivatisierter, enantiomerenreiner Verbindungen.<sup>[135]</sup>

Die Synthese von 1,3,4-Oxadiazolen wird typischerweise über eine Zyklisierungsreaktion und gleichzeitiger Wasserabspaltung von Monoacylhydraziden erreicht, weswegen der Austausch der 3-Ester-Gruppe durch diesen Substituenten erst nach der DHP-Synthese erfolgen kann. Der Grund hierfür liegt darin, dass die Carbonylgruppe des Carbonsäure-Derivats für die Reaktion zum Dihydropyridin zwingend benötigt wird und die zuvor untersuchte Verwendung von entsprechenden Hydraziden nicht zum gewünschten Syntheseerfolg führte. Daher wurden verschieden substituierte Hy-

drazide mit der freien Carbonsäure **92** mithilfe von DCC (Dicyclohexylcarbodiimid) und DMAP (4-Dimethylaminopyridin) gekuppelt und anschließend zu Oxadiazolen zyklisiert, wie in **Abbildung 3.22** gezeigt. Für die Zyklisierungsreaktion wurden vor allem in der älteren Literatur recht aggressive Bedingungen verwendet, wie starke Säuren und Dehydratisierungsmittel, zum Teil in Kombination mit erhöhten Temperaturen, weswegen andere im Molekül vorhandene, chemisch empfindliche Gruppen oftmals nicht toleriert wurden. Auf der anderen Seite wurden auch mildere Zyklisierungsmethoden beschrieben, wobei jedoch deutlich längere Reaktionszeiten oder kein vollständiger Reaktionsumsatz in Kauf genommen werden muss.<sup>[211,212]</sup> Eine vergleichsweise neue und sehr milde Variante liegt in der Verwendung eines Phosphor-basierten Dehydratisierungsreagenzes, wobei die stark ausgeprägte Oxophilie einer intermediär aus Triphenylphosphinoxid (**97**, TPO) und Trifluormethansulfonsäureanhydrid (**98**, Tf<sub>2</sub>O) gebildeten Phosphonium-Spezies ausgenutzt wird, um die Acylhydrazid-Gruppe vor der Zyklisierung zu aktivieren.<sup>[204]</sup>

Auf diese Weise konnten die insgesamt sieben Derivate **100a–g** mit jeweils unterschiedlichen Seitenketten in Ausbeuten zwischen 40% und 79% erhalten werden. Daneben konnten noch zwei enantiomerenreine Methyl-substituierte Verbindungen (**100h** und **i**) ausgehend von den chiralen Carbonsäuren (*R*)- bzw. (*S*)-**92** dargestellt werden. Die genaue Synthese der nicht racemischen Carbonsäuren ist in **Kapitel 3.3.2** auf Seite **80** gezeigt.<sup>[135]</sup>

Abschließend wurden die eben beschriebenen Derivate auf ihre Hemmpotenz gegenüber des TGFβ/Smad-Signalwegs untersucht und die Ergebnisse sind in **Tabelle 3.4** gezeigt.

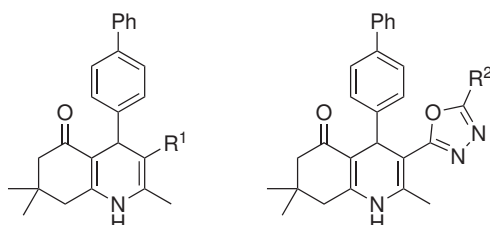
Wie bereits mehrfach herausgestrichen, liegt die primäre Schwachstelle der Verbindungen höchstwahrscheinlich im 1,4-Dihydropyridin-Ringsystem. Dieses lässt sich jedoch nicht ohne einen kompletten Wechsel der Grundstruktur vermeiden (vgl. **Abschnitt 3.4** auf Seite **119**). Aus diesem Grund wurde die nächste potentielle Schwachstelle der Moleküle – die 3-Estergruppe – genauer untersucht und mit vermeintlich metabolisch stabileren Gruppen ersetzt.

In einem ersten Ansatz wurde die Ethylestergruppe durch chemisch sehr ähnliche, jedoch potentiell widerstandsfähigere Funktionalitäten ersetzt. So konnte ein Ethylamid-Derivat synthetisiert werden (Substanz **7** auf Seite **24**), welche jedoch überraschenderweise keinerlei biologische Aktivität aufwies, dessen Ursache nicht abschließend geklärt werden konnte. Daher wurde als nächstes die Estergruppe mit längeren und verzweigteren Alkylresten funktionalisiert (Verbindungen **8** und **94a–d**), wodurch eine enzymkatalysierte Spaltung erschwert werden sollte. Betrachtet man nun die Potenz dieser Substanzserie gegenüber dem TGFβ-Signalweg, so erkennt man, dass generell größere bzw. längere Alkylreste einen positiven Einfluss auf die Wirksamkeit besitzen (**94a**: IC<sub>50</sub> = 0,49 μM, **94c**: IC<sub>50</sub> = 0,42 μM), aber ein zu hoher sterischer Anspruch die Hemmwirkung reduziert (vgl. **94d**: IC<sub>50</sub> = 1,11 μM).<sup>[135]</sup>

Somit kann zusammengefasst werden, dass verzweigtere und größere Alkylreste an der Estergruppe nicht nur toleriert, sondern sich vorteilhaft auf die TGFβ-Inhibition auswirken, solange eine gewisse spatiale Ausdehnung nicht überschritten wird. Ein ähnliches Bild konnte bereits in **Abschnitt 3.1** auf Seite **19** beobachtet werden, als die 3-Estergruppe durch Ketone mit unterschiedlich großen Alkylresten ersetzt wurde. Die letzte Modifikation der 3-Position, welche im Rahmen dieser Arbeit untersucht

wurde, war der Austausch des Esters durch ein 1,3,4-Oxadiazol mit unterschiedlich langen Alkylresten an der 5'-Position.

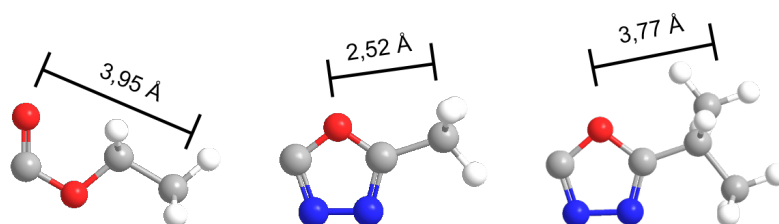
**Tab. 3.4:** Übersicht über die biologische Aktivität der neu hergestellten 1,4-Dihydropyridin-Derivate mit Gruppen zur Verbesserung der metabolischen Stabilität. Dargestellt sind sowohl die  $IC_{50}$ -Werte und die prozentualen Inhibitionen bei einer Konzentration von 2,5  $\mu\text{M}$  gegenüber des TGF $\beta$ -Signalwegs. Alle Werte und Standardabweichungen wurden in  $n = 2-4$  unabhängigen Experimenten ermittelt. Außerdem aufgeführt ist die biologische Aktivität der Referenzverbindung **3**.<sup>[135]</sup>



Verbindung	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	% Inhibition (2,5 $\mu\text{M}$ )
<b>3</b>	COOethyl	-	0,85 $\pm$ 0,30	83 $\pm$ 8
<b>94a</b>	COO- <i>n</i> -Propyl	-	0,49 $\pm$ 0,24	93 $\pm$ 3
<b>94b</b>	COO-2-Propyl	-	0,66 $\pm$ 0,13	85 $\pm$ 3
<b>8</b>	COO- <i>tert.</i> -Butyl	-	0,67 $\pm$ 0,17	84 $\pm$ 1
<b>94c</b>	COO-Isobutyl	-	0,42 $\pm$ 0,27	91 $\pm$ 3
<b>94d</b>	COO-Cyclopentyl	-	1,11 $\pm$ 0,52	77 $\pm$ 12
<b>100a</b>	-	Methyl	1,63 $\pm$ 0,56	68 $\pm$ 2
<b>100b</b>	-	Ethyl	0,86 $\pm$ 0,07	75 $\pm$ 1
<b>100c</b>	-	2-Propyl	0,65 $\pm$ 0,09	79 $\pm$ 1
<b>100d</b>	-	<i>n</i> -Propyl	0,97 $\pm$ 0,20	75 $\pm$ 2
<b>100e</b>	-	Isobutyl	1,44 $\pm$ 0,31	71 $\pm$ 3
<b>100f</b>	-	<i>tert.</i> -Butyl	0,94 $\pm$ 0,12	77 $\pm$ 2
<b>100g</b>	-		0,62 $\pm$ 0,01	78 $\pm$ 1
<b>100h</b> ( <i>S</i> )-Enantiomer	-	Methyl	0,89 $\pm$ 0,04	72 $\pm$ 1
<b>100i</b> ( <i>R</i> )-Enantiomer	-	Methyl	4,44 $\pm$ 0,45	38 $\pm$ 5

Interessanterweise zeigen alle Verbindungen eine gute Inhibitionsfähigkeit gegenüber dem TGF $\beta$ -Signalweg mit  $IC_{50}$ -Werten im Bereich von 0,62  $\mu\text{M}$  (**100g**) bis 1,63  $\mu\text{M}$  (**100a**). Außerdem erkennt man auch hier, dass ein größerer Alkylsubstituent zu einer besseren Hemmwirkung führt, wie man an dem Substanzpaar **100a** (Methyl-substituiert,  $IC_{50} = 1,63 \mu\text{M}$ ) vs. Verbindung **100c** (2-Propyl-substituiert,  $IC_{50} = 0,65 \mu\text{M}$ ) gut erkennen kann. Daneben darf auch in dem Fall der 1,3,4-Oxadiazole

eine gewisse Größe des Alkylrestes nicht überschritten werden, ohne dass die biologische Aktivität beeinträchtigt wird, wie man an dem Isobutyl-substituierten Derivat **100e** gut beobachten kann ( $IC_{50} = 1,44 \mu M$ ). Tatsächlich ist es erstaunlich, dass das Ethyl-derivatisierte 1,3,4-Oxadiazol **100b** einen nahezu identischen Hemmwert wie der Ethylester der Referenzverbindung aufweist. Durch einfache Abstandsmessungen von den Punkten der höchsten Dipolmomente (Ester: Carbonylsauerstoff<sup>[213]</sup>, 1,3,4-Oxadiazol: Ringsauerstoff<sup>[204]</sup>, hier gezeigt an dem 2-Propyl-Derivat) zu den endständigen Kohlenstoffatomen innerhalb dieser Gruppen konnte auch hier ein sehr ähnlicher Wert generiert werden (Vgl. **Abbildung 3.23**), wodurch dieser Befund erklärt werden könnte.<sup>[135]</sup>



**Abb. 3.23:** Gegenüberstellung der räumlichen Abstände vom Punkt des höchsten Dipolmoments zu dem endständigen Kohlenstoffatom innerhalb eines Ethylesters, einer 5'-Methyl-1,3,4-oxadiazol- und einer 5'-Prop-2''-yl-1,3,4-oxadiazol-Gruppe.<sup>[135]</sup>

Zusammengefasst bedeutet dies, dass die Strukturwirkungsbeziehungen der 3-Oxadiazol-basierten Dihydropyridine dem gleichen Muster folgen, wie alle anderen bisher untersuchten Substitutionsmuster an dieser Position. Daher liegt die Vermutung nahe, dass diese Substanzbibliothek einen ähnlichen Wirkmechanismus an den Tag legt, wie die ursprünglich und genauer untersuchte Referenzverbindung **3**. Zur weiteren Validierung dieser Annahme wurden beide Enantiomere des 5'-Methyl-substituierten Derivats (**100a**), **100h** und **100i**, synthetisiert und auf deren Aktivität gegenüber des TGF $\beta$ -Signalwegs untersucht. Tatsächlich bestätigt sich auch hierbei die aufgestellte Hypothese, dass das eine Enantiomer eine deutlich bessere Hemmwirkung aufzeigt als das Racemat ( $IC_{50} = 0,89 \mu M$  vs.  $IC_{50} = 1,63 \mu M$ ), wohingegen das andere Enantiomer **100i** fast jegliche Aktivität vermissen lässt ( $IC_{50} = 4,44 \mu M$ ). Somit kann mit einer hohen Sicherheit davon ausgegangen werden, dass in dem Fall der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine 1,3,4-Oxadiazol-Gruppen bioisoster zu einem 3-Ethylester-Rest angesehen werden können.

Insgesamt konnten also Gruppen und Substituenten identifiziert werden, mit welchen die vermeintlich chemisch und metabolisch instabile Ethylester-Gruppe ersetzt werden kann ohne einen Wirkverlust gegenüber des TGF $\beta$ -Signalweg riskieren zu müssen, wie größere und verzweigtere Ester, Ketone oder 1,3,4-Oxadiazole.



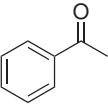
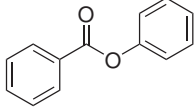
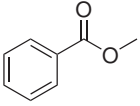
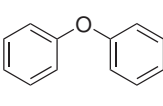
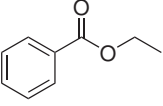
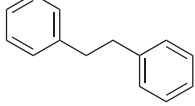
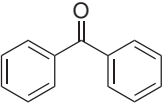
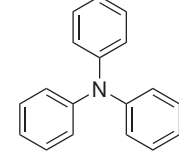
### 3.2.2 Untersuchung des *in vitro*-PK-Profiles neuer 1,4-Dihydropyridine

#### 3.2.2.1 Ermittlung der Lipophilie und der wässrigen Löslichkeit optimierter 1,4-Dihydropyridine

Nach der erfolgreichen Synthese und entsprechenden biologischen Untersuchungen der für einen *in vivo*-Einsatz designten 1,4-Dihydropyridine wurde in entsprechenden Assaysystemen untersucht, ob die strukturellen Veränderungen positive Auswirkungen auf die Lipophilie, die wässrige Löslichkeit und die chemische bzw. metabolische Stabilität der Verbindungen bewirken können.

Zunächst wurde die  $\log D$ -Werte bei einem pH-Wert von 7,4 mithilfe der *Test Guidelines* „OPPTS 830.7570“ der *United States Environmental Protection Agency* (EPA)<sup>[214]</sup> über die darin beschriebene HPLC-Methode bestimmt. Dieses Verfahren basiert auf der Grundlage, dass der Verteilungskoeffizient zwischen einer Wasser- und einer *n*-Octanolphase in Korrelation mit dem Retentionskoeffizienten,  $k$ , einer RP-HPLC-Methode steht. Hierbei kann die stationäre Phase der Säule (z.B.: C<sub>8</sub>- oder C<sub>18</sub>-Kohlenwasserstoffketten als Füllmaterial) als die unpolare Phase und das Fließmittel als die polare Phase angesehen werden und lipophile Analyten bleiben daher länger auf der Säule, wohingegen hydrophile Verbindungen schneller heruntergespült werden. Im Gegensatz zu der *Shake-Flask*-Methode zur Bestimmung der Lipophilie können mithilfe des HPLC-Verfahrens unbekannte Substanzen vergleichsweise schnell profiliert werden, jedoch wird stets ein Set von Referenzsubstanzen benötigt.

**Tab. 3.5:** Liste der zur Bestimmung der Lipophilie verwendeten Referenzsubstanzen mit zugehörigen  $\log D_{7,4}$ -Werten.<sup>[214]</sup>

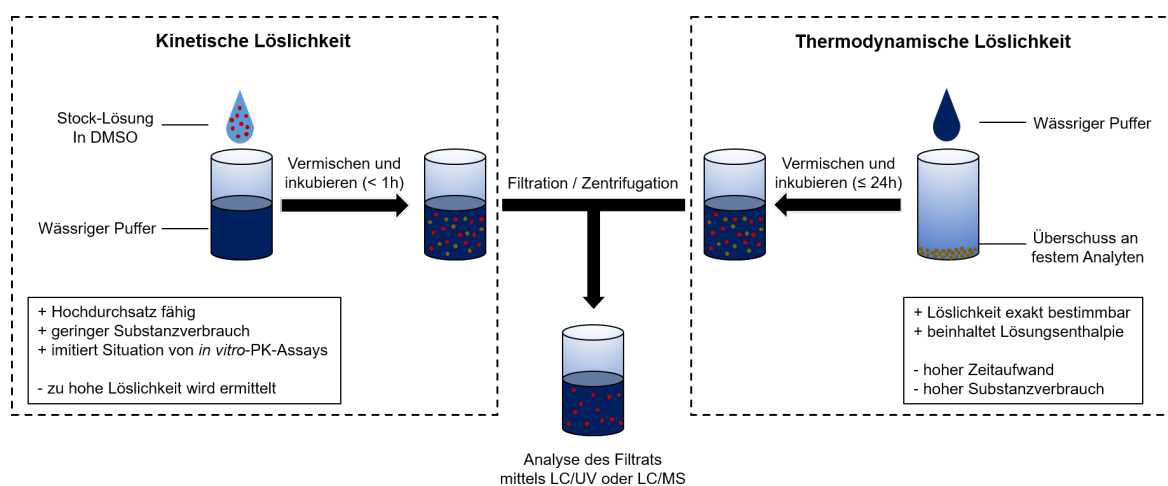
Verbindung	Name	Strukturformel	$\log D_{7,4}$	Verbindung	Name	Strukturformel	$\log D_{7,4}$
101	Acetophenon		1,7	105	Benzoessäurephenylester		3,6
102	Benzoessäuremethylester		2,1	106	Diphenylether		4,2
103	Benzoessäureethylester		2,6	107	1,2-Diphenylethan		4,8
104	Benzophenon		3,2	108	Triphenylamin		5,7

Die Referenzverbindungen müssen literaturbekannte  $\log D_{7,4}$ -Werte besitzen und werden gleichzeitig mit den zu untersuchenden Verbindungen vermessen. Außerdem sollte mit den Referenzverbindungen ein möglichst breiter Lipophilie-Bereich abgedeckt werden, damit über Extrapolation der von den

Bezugssubstanzen aufgestellten Kalibriergerade die Lipophilie-Bestimmung der neuen Verbindungen durchgeführt werden kann (vgl. **Tabelle 3.5**).<sup>[214]</sup>

Die Bestimmung des  $\log D_{7,4}$ -Wertes wurde für fünf ausgewählte 1,4-Dihydropyridin-Derivate durchgeführt, welche in **Tabelle 3.6** auf Seite 60 aufgelistet wird. Die Proben für die HPLC-Methode bestanden aus je 100  $\mu\text{L}$  der Stammlösungen der Referenzsubstanzen ( $c = 2 \text{ mg/mL}$  in Methanol), 100  $\mu\text{L}$  einer 1 mM Uracil-Lösung in Methanol (zur Bestimmung der Totzeit des HPLC-Systems) und 100  $\mu\text{L}$  einer Stocklösung einer untersuchten Verbindung ( $c = 2 \text{ mg/mL}$  in Methanol). Jede Probe wurde dreimal vermessen und die Ergebnisse sind ebenfalls in der **Tabelle 3.6** auf Seite 60 aufgeführt.

Als nächstes wurden für die selben Vertreter der 1,4-DHPs die wässrigen Löslichkeiten bestimmt. Für dieses Vorhaben sind in der Literatur eine Vielzahl von Assayformaten beschrieben.<sup>[134,215–220]</sup> Prinzipiell lassen sich die zur Verfügung stehenden Methoden in zwei verschiedene Kategorien einteilen, in eine kinetische und in eine thermodynamische Löslichkeitsbestimmung. Die unterschiedlichen Schritte in der Durchführung, sowie deren Vor- und Nachteile sind in **Abb. 3.24** dargestellt.



**Abb. 3.24:** Gegenüberstellung der kinetischen und der thermodynamischen Methode zur Bestimmung der Löslichkeit von Substanzen.<sup>[134,137,220]</sup> Rot: gelöster braun: ungelöster Analyt.

Bei der kinetischen Löslichkeit wird ein bereits in einem organischen Lösungsmittel (meist DMSO) vorgelöster Analyt in einer wässrigen Pufferlösung verdünnt. Nach Vermischung und kurzer Inkubation wird der ausgefallene Feststoff entfernt und das Filtrat vermessen. Im Gegensatz dazu wird bei der thermodynamischen Methode der Feststoff in deutlichem Überschuss zu der erwarteten Löslichkeit in der Pufferlösung suspendiert und für einen längeren Zeitraum inkubiert. Im Anschluss daran wird der überschüssige ungelöste Analyt abfiltriert oder -zentrifugiert und die feststofffreie Lösung wird auf dessen Konzentration untersucht. Somit stellen beide Assayformate zwei grundlegend unterschiedliche Fragen: Während bei der thermodynamischen Löslichkeitsbestimmung ermittelt wird, wie viel des Analyten aufgelöst wird, entspricht das Ergebnis des kinetischen Verfahrens vielmehr der Menge an Analyt, welche nach Verdünnung nicht präzipitiert.<sup>[134,137,220]</sup> Beide Varianten haben daher ihre Vorzüge in verschiedenen Zeitpunkten der Wirkstoffentwicklung. Die kinetische Löslichkeit wird meist in sehr frühen Stadien ermittelt, da sie sehr schnell durchzuführen ist, kaum Substanz benötigt

und auch für die Anwendung in Hochdurchsatzverfahren geeignet ist. Außerdem imitiert sie die Situation in einer Vielzahl von *in vitro*-Assays, da diese meist auch so durchgeführt werden, dass eine Stock-Lösung des Analyten zu wässrigen Puffersystemen gegeben wird. Allerdings ist die auf diese Weise ermittelte Löslichkeit meist zu hoch angesiedelt, nicht zuletzt wegen des Vorhandenseins eines Kosolvens.<sup>[134,220]</sup> Die thermodynamische Löslichkeit liefert ein weitaus genaueres Ergebnis als die Bestimmung der kinetischen Löslichkeit, da diese die Sättigungskonzentration des Analyten im thermodynamischen Gleichgewicht anstrebt. Dabei spielt jedoch zusätzlich die Polymorphie des Analyten eine große Rolle, da unterschiedliche Gitterstrukturen eine unterschiedliche Menge (externer) Energie benötigen, um diese aufzulösen, weswegen oft beobachtet werden kann, dass nicht kristalline (amorphe) Feststoffe besser löslich sind.<sup>[134,137,220]</sup> Die großen Nachteile bei der thermodynamischen Löslichkeitsbestimmung liegen in der hohen Menge an benötigtem Feststoff und in dem Verbrauch an benötigten Ressourcen (Zeit und Aufwand). Daher wird diese Methode erst zu späteren Zeitpunkten in der Wirkstoffentwicklung angewendet, beispielsweise bei der Entwicklung der Darreichungsform des Arzneistoffes.<sup>[220]</sup>

Auf Basis der oben dargelegten Gründe wurde sich dazu entschieden zunächst nur die kinetische Löslichkeit der Verbindungen zu ermitteln.

Dazu wurde von jeder Verbindung aus der in **Tabelle 3.6** auf Seite **60** aufgeführten Substanzauswahl zunächst eine Verdünnungsreihe in Methanol hergestellt und mittels HPLC-MS/SIM-Methode vermessen. Als höchste Konzentration wurde 200  $\mu\text{M}$  gewählt, welche sieben Mal je 1:1 mit Methanol verdünnt wurde. Als letztes wurden zu diesen Analytlösungen eine gleiche Menge einer Trazodon-Lösung ( $c = 10 \mu\text{M}$ ) hinzugefügt, um einen internen Standard für die Auswertung in der Massenspektrometrie zu erhalten. Somit liegt der finale Konzentrationsbereich, der von den Kalibrierlösungen abgedeckt werden kann, zwischen 100  $\mu\text{M}$  und 0,78125  $\mu\text{M}$ . Zur Erstellung der Kalibriergeraden wurde jede Probe zweimal mit je zwei technischen Replikaten vermessen.

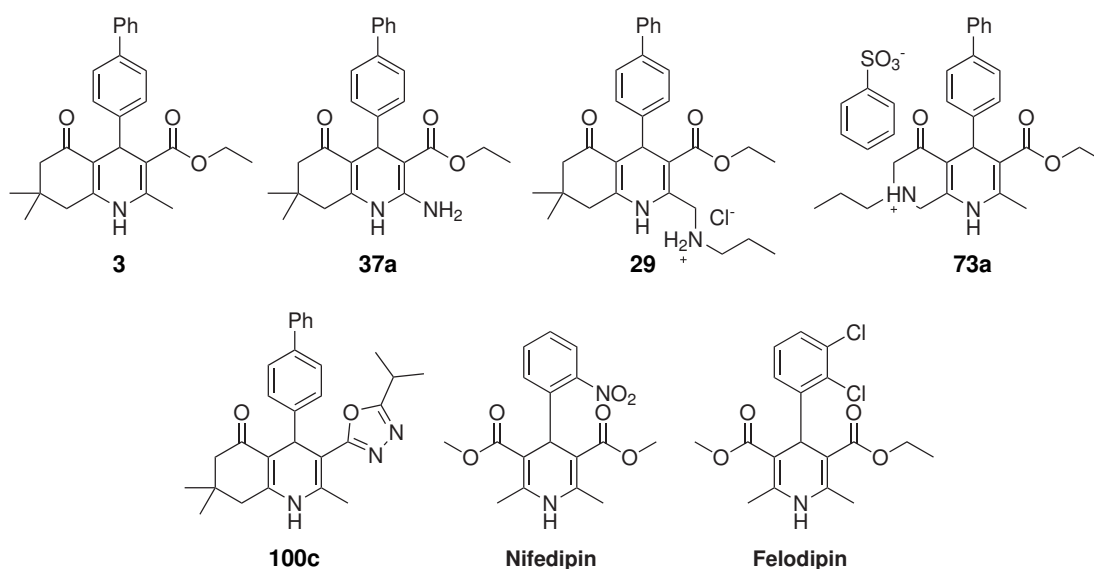
Die kinetische Löslichkeit wurde anschließend in Glasvials ermittelt, um eine Adhäsion an die Gefäßwand von Plastikgefäßen der recht unpolaren Analytmoleküle zu vermeiden. Als Puffersysteme wurden drei Phosphatpuffer untersucht, welche drei unterschiedliche pH-Werte besaßen (pH 3,0; 7,4; 9,0;  $c = 50 \text{ mM}$ ). Für den Assay wurden dann zu 950  $\mu\text{L}$  von einer dieser Puffer-Lösungen 50  $\mu\text{L}$  eines DMSO-Stocks ( $c = 10 \text{ mM}$ ) der zu untersuchenden Substanzen verdünnt und für 30 Minuten bei 25 °C inkubiert. Anschließend wurden die Lösungen durch einen Spritzenfilter (Porengröße: 0,45  $\mu\text{m}$ ) von allen Feststoffpartikeln befreit, mit einer gleichen Menge der bereits oben erwähnten Trazodon-Lösung in Methanol versetzt und per HPLC-MS/SIM-Methode vermessen. Auch hier wurde jede Probe jeweils zweifach angesetzt mit zwei technischen Replikaten.

Die Ergebnisse der Lipophilie-Untersuchung, sowie der Bestimmung der kinetischen Löslichkeit sind in **Tabelle 3.6** aufgelistet.

Zunächst sollen die ermittelten  $\log D_{7,4}$ -Werte diskutiert und in einen Kontext gesetzt werden. Für die Referenzverbindung, **3**, konnte ein relativ hoher Wert von 4,47 ermittelt werden, welcher sich mit den zuvor getroffenen Vorhersagen gut deckt. Diese hohe Lipophilie kann durch das Fehlen von lokalisierten polaren Strukturmerkmalen erklärt werden, denn die Ladungsdichten aller Heteroatome sind

durch mesomere Effekte breit im Molekül verteilt und somit konnte kein ausgeprägtes Dipolmoment erwartet werden. Entsprechend dieser Annahme zeigt Verbindung **37a** eine leichte Erniedrigung des logD-Werts auf 4,25, da hier eine zusätzliches Heteroatom in das DHP-Ringerüst eingeführt wurde, welches die Ladungsdichte in der Nähe des *N*-1-Atoms erhöht und somit ein stärkeres Dipolmoment erzeugt wird.

**Tab. 3.6:** Übersicht über die logD<sub>7,4</sub>-Werte ausgewählter optimierter Verbindungen, sowie deren kinetische Löslichkeit bei verschiedenen pH-Werten. Als Referenzverbindung wurde Substanz **3** verwendet. Die dargestellten Werte wurden durch den Mittelwert aus n = 2–4 unabhängigen Experimenten ermittelt. Die Daten in Klammern stellen Ergebnisse dar, welche den durch die Kalibrierkurven abgesteckten Bereich entweder unter- oder überschritten und wurden daher durch Extrapolation ermittelt. Zum Vergleich mit literaturbekannten Verbindungen, wurden die entsprechenden Werte für Nifedipin und Felodipin aufgeführt.<sup>[135]</sup> §: Thermodynamische Methode zur Bestimmung der wässrigen Löslichkeit<sup>[221,222]</sup>; §: Thermodynamische Methode zur Bestimmung der Löslichkeit, 0,01% Tween 80 als Kosolvens<sup>[221,223]</sup>



Substanz	<b>3</b>	<b>37a</b>	<b>29</b>	<b>73a</b>	<b>100c</b>	Nifedipin	Felodipin
	<b>Lipophilie</b>						
logD <sub>7,4</sub>	4,47 ± 0,007	4,25 ± 0,005	4,32 ± 0,002	4,38 ± 0,001	4,60 ± 0,001	2,20 <sup>[224]</sup>	3,86 <sup>[224]</sup>
	<b>Löslichkeit / µM</b>						
pH 3,0	0,87 ± 0,13	20,53 ± 0,15	> 100,00 (178,41 ± 5,05)	> 100,00 (195,61 ± 22,17)	< 0,78 (0,23 ± 0,06)		
pH 7,4	< 0,78 (0,75 ± 0,04)	1,90 ± 1,01	0,83 ± 0,17	5,09 ± 0,61	< 0,78 (0,26 ± 0,06)	16,75 <sup>§</sup>	11,79 <sup>§</sup>
pH 9,0	< 0,78 (0,51 ± 0,02)	1,95 ± 0,65	< 0,78 (0,34 ± 0,02)	14,81 ± 2,19	< 0,78 (0,58 ± 0,07)		

Überraschenderweise konnte durch die Einführung von nicht-konjugierten zusätzlichen Stickstoff-Atomen keine weitere Erniedrigung der Lipophilie bewirkt werden, wie die Derivate **29** und **73a** mit

logD-Werten von 4,32 bzw. 4,38 eindrucksvoll zeigen. Eine mögliche Erklärung für diese auf den ersten Blick widersprüchlichen Ergebnisse könnte in der räumlichen Ausrichtung der neuen Gruppen gelagert sein. Das Dipolmoment einer Verbindung ist vereinfacht gesprochen die vektorielle Summe der Einzeldipolmomente aller Strukturelemente. Falls nun ein neu eingeführter polarer *Hotspot* der vektoriellen Ausdehnung des bisher vorherrschenden Dipolmoments entgegen wirkt, so vermindert sich das Gesamtdipolmoment. Betrachtet man die literaturbekannten und bereits für den pharmazeutischen Markt zugelassenen Wirkstoffe Nifedipin und Felodipin, so sind diese mit logD-Werten von 2,20<sup>[224]</sup> und 3,86<sup>[224]</sup> deutlich hydrophiler als die in dieser Arbeit untersuchten Verbindungen. Bei einem Blick auf die chemischen Strukturen der Substanzen fällt auf, dass diese sich lediglich an der 4-Position signifikant unterscheiden, wodurch der deutliche Unterschied in der Lipophilie erklärbar wird. Während beim Nifedipin der durch eine Nitro-Gruppe hochgradig polarisierte Aromat eine sehr hohe Hydrophilie zur Folge hat, ist Felodipin mit einem weniger stark polarisierten 2',3'-Dichlorphenyl-Substituent deutlich lipophiler.<sup>[135]</sup>

Aus den beiden Vertretern aus der Literatur lässt sich daher schlussfolgern, dass die 4-Position einen ausschlaggebenden Einfluss auf die Lipophilie von 1,4-Dihydropyridinen ausübt. In dem Fall der hier untersuchten Derivate können jedoch aus Gründen der biologischen Wirksamkeit fast ausschließlich sehr unpolare (teilweise substituierte) Biphenylreste in dieser Molekülregion angebracht werden, weswegen höchstwahrscheinlich kaum eine Möglichkeit besteht, die Lipophilie der Verbindungen ohne grundlegende Veränderung der 4-Position zu senken.

Noch ungewöhnlicher ist der ermittelte Wert des 1,4-DHP-Derivats mit einem Oxadiazol-Ring, **100c** ( $\log D_{7,4} = 4,60$ ). Diese Gruppe an der 3-Position des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts wurde ursprünglich zur Verbesserung der metabolischen Stabilität synthetisiert, soll aber durch seine spezielle elektronische Beschaffenheit zusätzlich einen positiven Effekt auf die Hydrophilie der Substanz ausüben,<sup>[204]</sup> weswegen diese hier auch in diesem Assay untersucht wurde (vgl. **Abschnitt 3.2.1.4** auf Seite **48**). Interessanterweise konnte für dieses Derivat eine höhere Lipophilie als bei der Referenzverbindung **3** beobachtet werden und auch hier kann argumentiert werden, dass das neu dazugekommene Dipolmoment des Oxadiazol-Ringsystems entgegen der ursprünglichen Ladungsverteilung des 1,4-DHPs orientiert ist und somit diese teilweise negiert. Außerdem wäre es denkbar, dass der 1,3,4-Oxadiazol-Substituent in das mesomere System des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts eingegliedert wurde und dieses damit erweitert. So würde dessen Elektronendichte über einen noch größeren Bereich verteilt werden, wodurch die ohnehin schon niedrige Basizität des *N*-1-Atoms weiter reduziert würde und so schlussendlich in einem noch höheren logD-Wert resultiert.

Als nächstes soll nun ermittelt werden, ob die strukturellen Veränderungen im 1,4-DHP-Grundgerüst einen Effekt auf deren Löslichkeitsverhalten in wässrigen Medien ausüben. Betrachtet man zunächst die maximalen Analytkonzentrationen der Referenzverbindung **3**, so fällt auf, dass sich diese bei allen drei untersuchten pH-Werten in sehr niedrigen Konzentrationsbereichen von ungefähr 0,5 – 0,9  $\mu\text{M}$  bewegen. Dies ist nicht weiter verwunderlich, wenn man die strukturellen und physikochemischen Eigenschaften dieser Verbindung bedenkt. Dieses Derivat besitzt eine sehr hohe Lipophilie, weist kaum Flexibilität in der chemischen Struktur auf und besitzt einen Biphenylrest an der 4-Position, welcher

sehr einfach intermolekulare  $\pi$ - $\pi$ -Bindungen ausbilden kann. Außerdem besitzt dieses Molekül nur wenige Möglichkeiten starke *H*-Brücken mit dem wässrigen Medium auszubilden, da die Ladungsdichten sowohl im *N*-1-Atom, aber auch in dem 3-Ester und der Keton-Gruppe des *b*-Annelanten durch Delokalisation stark reduziert vorliegen.

Bei dem ersten Optimierungsversuch dieser Substanzklasse wurde eine Amino-Gruppe direkt an die 2-Position eingeführt, wodurch mehr Kontaktstellen mit dem Lösungsmittel entstehen und die Löslichkeit erhöht werden sollte. Tatsächlich zeigt das Derivat **37a** nicht nur eine leicht verbesserte Hydrophilie, sondern auch eine deutliche Verbesserung der Lösungskonzentration. Bei neutralen und basischen pH-Werten konnten so Sättigungskonzentrationen von bis zu 1,95  $\mu$ M erreicht werden, was fast einer Vervierfachung des Wertes von **3** entspricht. Daraus lässt sich schließen, dass dieses zusätzliche Stickstoffatom tatsächlich eine ausreichend hohe Basizität besitzt, um bei pH-Werten von 7,4 und 9,0 Interaktionen mit umliegenden Wassermolekülen auszuüben. Im sauren Milieu konnte sogar eine über 20-fache Verbesserung der Löslichkeit ermittelt werden, was zudem darauf hinweist, dass durch die Einführung der zusätzlichen Amino-Gruppe ein basisches Zentrum im Molekül erzeugt wurde, welches zu einem gewissen Anteil protoniert werden kann und so das Lösungsverhalten der Verbindung unterstützt. Ein noch deutlicheres Bild wurde bei den beiden Derivaten **29** und **73a** erwartet, da hier die neuen Stickstoffe nicht mit in das mesomere System des DHP-Grundgerüsts integriert sind. Bei einem pH-Wert von 3,0 konnte diese Erwartung klar bestätigt werden, da für beide Verbindungen Löslichkeiten ermittelt wurden, welche den Bereich der Kalibrierkurven deutlich überstiegen und die konkreten Werte mussten mittels Extrapolation ermittelt werden (**29**: 178,41  $\mu$ M; **73a**: 195,61  $\mu$ M). Diese Ergebnisse unterstützen die eingangs getroffene Hypothese, dass eine leicht ionisierbare Gruppe im Molekül die Löslichkeit drastisch erhöht. Allerdings kann dieser klare Trend bei höheren pH-Werten nur bedingt bestätigt werden, da hier bei beiden Verbindungen die gemessene Konzentration erneut stark absinkt. Derivat **29** zeigte bei pH 7,4 und 9,0 Werte, welche im selben Bereich der Referenzverbindung **3** angesiedelt sind. Möglicherweise ist die etwas sterisch anspruchsvollere Umgebung dieses Stickstoffatoms schon ausreichend, um eine problemlose Interaktion mit dem Lösungsmittel zu verhindern. Bei dem zweiten Derivat mit einem zusätzlichen stark basischen Stickstoff, **73a**, fällt das Ergebnis nicht derart drastisch aus. Hier wurden zwar bei höheren pH-Werten niedrigere gelöste Analytkonzentrationen verzeichnet, aber dennoch lagen diese noch bei 5,09 bzw. 14,81  $\mu$ M. Dies lässt sich vermutlich damit erklären, dass bei dieser Verbindung im Vergleich zu dem Derivat **73a** ein tertiärer Stickstoff vorliegt und somit ein etwas stärker basisches Zentrum erzeugt wurde, was selbst noch bei einem pH-Wert von 9,0 problemlos dazu in der Lage ist starke Wasserstoffbrücken auszubilden, welche sich in dem Zugewinn an Löslichkeit niederschlägt.<sup>[135]</sup>

Die letzte untersuchte Verbindung, **100c**, besitzt eine 1,3,4-Oxadiazol-Gruppe an der 3-Position im Austausch für einen Ester. Die ursprüngliche Idee dahinter lag in der Einführung einer Hydrolysestabilen Gruppe, welche zusätzlich einen Zugewinn an Ladungsdichte und somit Löslichkeit erbringen sollte (vgl. **Abschnitt 3.2.1.4** auf Seite 48). Tatsächlich musste analog zu der Bestimmung des  $\log D_{7,4}$ -Wertes auch hier festgestellt werden, dass die Einführung dieser Gruppe einen gegenteiligen Effekt erzielte und die Löslichkeit im Vergleich zu der Referenzverbindung weiter erniedrigte, was ver-

mutlich auf die erhöhte Lipophilie zurückzuführen ist.<sup>[135]</sup>

Vergleicht man nun die gemessenen Löslichkeiten der neu synthetisierten DHP-Derivate mit zwei bereits in der Literatur bekannten und in der Klinik eingesetzten Dihydropyridinen, Nifedipin und Felodipin, so muss man feststellen, dass diese mindestens um den Faktor zwei besser löslich sind, als die beste hier vorgestellte Verbindung **73a** bei einem pH-Wert von 7,4. Wie bereits diskutiert wurde, liegt die Ursache hierfür höchstwahrscheinlich in dem sehr lipophilen Biphenylrest an der 4-Position und dem damit verbundenen sehr hohen  $\log D_{7,4}$ -Wert der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine.

Zusammengefasst führten die hier vorgestellten Optimierungen der sehr lipophilen und sehr schlecht löslichen Ausgangsverbindung **3** nur teilweise zum Erfolg. Der  $\log D_{7,4}$ -Wert konnte durch die Einführung zusätzlicher Amino-Funktionalitäten zwar leicht angehoben werden, jedoch fiel der Effekt nur vergleichsweise gering aus. Auf der anderen Seite konnten mithilfe der vorgestellten Modifikationen deutlich verbesserte Löslichkeiten erreicht werden, insbesondere bei niedrigen pH-Werten. Hier führte das Einbringen von sekundären bzw. tertiären Stickstoffen an 2- bzw. 7-Position der DHPs zu Löslichkeitswerten von knapp 200  $\mu\text{M}$  bei einem pH-Wert von 3,0 und eine Verbesserung um fast das Siebenfache bei neutralem pH-Wert. Trotz alledem übertreffen die bereits auf dem Markt befindlichen 1,4-DHPs diese Werte nach wie vor deutlich. Daher sollten weitere Optimierungsrunden durchgeführt werden, bei denen zusätzlich die Veränderung des 4-Substituenten in Betracht gezogen werden sollte, da dieser einen offensichtlichen Beitrag zu der mangelhaften Hydrophilie und damit auch Wasserlöslichkeit leistet. Wie in anderen Teilen dieser Arbeit bereits gezeigt werden konnte steht hierfür zumindest die 4"-Position als denkbare Möglichkeit für eine Funktionalisierung zur Verfügung (vgl. **Abschnitt 3.3.1** auf Seite **73**).<sup>[135]</sup>

### 3.2.2.2 Ermittlung der chemischen und metabolischen Stabilität optimierter 1,4-Dihydropyridine

Die Geschwindigkeit, mit welcher ein Arzneistoff metabolisiert wird, besitzt einen hohen Einfluss auf diverse weitere pharmakokinetische Parameter, wie die Bioverfügbarkeit, die Halbwertszeit der Verbindung im biologischen System und wirkt sich somit direkt auf dessen Plasma- und Gewebekonzentration aus.<sup>[134]</sup> Ein idealer Wirkstoff sollte im Körper ausreichend stabil sein, damit eine mehrfache tägliche Einnahme durch den Patienten nicht notwendig ist (*Compliance*), jedoch auch nicht so lange im Körper verweilen, dass toxische Akkumulationseffekte eine Rolle spielen.<sup>[134,176]</sup>

Aus diesem Grund gibt es eine Vielzahl von verschiedenen Modellsystemen, welche während unterschiedlicher Stufen des Arzneimittelentwicklungsprozesses angewendet werden, um die Stabilität der Kandidaten im Patienten vorherzusagen. Diese reichen von einfachen (physikalisch) chemischen Untersuchungsmethoden bis hin zu *in vivo*-Modellen im Tier oder Menschen. Die Genauigkeit der Vorhersage steigt natürlich mit der Komplexität und damit der physiologischen Relevanz des verwendeten Assay-Formats. Allerdings erhöht sich in gleicher Weise der erforderliche Kosten- und Zeitaufwand, ganz abgesehen von behördlichen und regulatorischen Voraussetzungen, welche beispielsweise für Lebendmodelle erfüllt werden müssen.<sup>[176]</sup> Daher ist es offensichtlich, dass je nach Entwicklungsstatus des Arzneistoffkandidaten unterschiedliche Untersuchungsmethoden herangezogen werden müssen. Während in frühen Phasen oftmals *in vitro* Untersuchungen ausreichen, um über das weitere Vorgehen entscheiden zu können, müssen kurz vor der Zulassung eines Präparates ebenfalls entsprechenden Daten aus *in vivo* Modellen vorgelegt werden.

Im Falle der in dieser Arbeit behandelten 1,4-Dihydropyridine zur Regeneration von Herzmuskelgewebe mussten zunächst grundlegende Erkenntnisse bezüglich deren Pharmakokinetik ermittelt werden. Aus diesem Grund wurde vorerst die chemische, sowie die Plasma- und mikrosomale Stabilität der Verbindungen untersucht.

Wie bereits beschrieben, versteht man unter der chemischen Stabilität einer Verbindung deren Fähigkeit, einen längeren Zeitraum bei verschiedenen pH-Werten strukturell unverändert zu überstehen. Diese Information ist in fast allen Phasen der Wirkstoffentwicklung entscheidend. So gibt sie final nicht nur Aufschluss darüber, wie ein Medikament gelagert werden muss, sondern auch darüber, wie gut sie bei oraler Aufnahme die verschiedenen Bedingungen des gastrointestinalen Trakts unbeschadet übersteht und hat somit einen Einfluss auf die Dosierung des Arzneistoffes. Eine ähnlich entscheidende Rolle trägt sie in sehr frühen Phasen der Wirkstoffentwicklung, da Verbindungen in allen verwendeten biologischen Puffersystemen stabil genug sein müssen, um verlässliche und nicht verfälschte Daten aus Enzym- oder Zellassays zu liefern.<sup>[175]</sup>

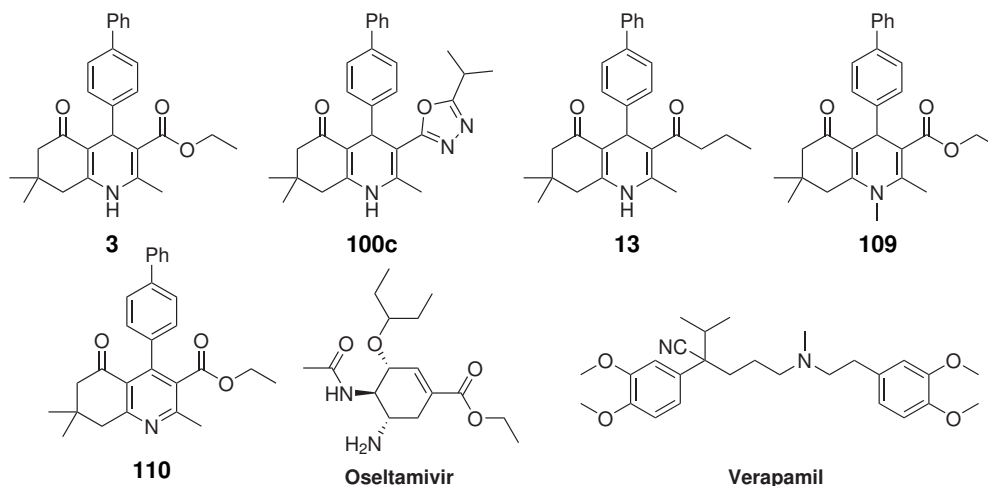
Aus diesem Grund wurde die chemische Stabilität der Referenzverbindung **3**, sowie vier weiteren 1,4-Dihydropyridin-Derivaten bei einem pH-Wert von 7,4 ermittelt. Die Strukturen, sowie die Ergebnisse sind in **Tabelle 3.7** auf Seite **66** gezeigt. Für die Bestimmung der chemischen Stabilität wurde eine 1 mM Stammlösung in DMSO der Verbindungen 100-fach in einem 10 mM Phosphat-Puffer (pH 7,4) verdünnt, durchmischt und mittels einer LC/MS-SIM-Methode auf dessen Gehalt nach 0 und 60 Mi-



nuten untersucht.

Im Anschluss daran wurde die Stabilität der Verbindungen in humanem und murinem Plasma untersucht. Hierbei wird vornehmlich die Widerstandskraft der 1,4-DHP-Derivate gegenüber Hydrolyasen und Esterasen überprüft, mit besonderem Augenmerk auf die 3-Estergruppe. Diese liegt in einem vinylogem Carbamat-System vor und besitzt daher eine sehr hohe chemische Stabilität, wie mehrfach im Rahmen dieser Arbeit festgestellt werden konnte, aber auch in der Literatur so beschrieben wird.<sup>[200,201]</sup> Es ist allerdings nicht ausgeschlossen, dass Esterasen die Möglichkeit besitzen diese zu spalten, weswegen diese Untersuchungen notwendigerweise durchgeführt werden mussten. Dazu wurde eine 1 mM Stammlösung des DHP-Derivats in DMSO 100-fach in entweder gepooltem Rattenplasma oder gepooltem menschlichen Plasma verdünnt. Nach kurzer Vermischung wurde sofort eine erste Probe entnommen, welche direkt mit derselben Menge einer 1 mM methanolischen Trazodon-Lösung versetzt und vermischt wurde. Das dient zum Einen dem Abstoppen der Enzymreaktionen, da so alle Proteine aus der Lösung präzipitiert werden, zum Anderen kann so der für die Quantifizierung notwendige Standard (Trazodon) dem Ansatz hinzugefügt werden. Anschließend wurde die Suspension zur Entfernung aller unlöslichen Bestandteile zweimal zentrifugiert und abschließend mit der LC/MS-SIM-Methode vermessen. Dieses Vorgehen wurde bei vier weiteren Zeitpunkten (nach 10, 20, 40 und 60 Minuten) wiederholt und der durch das Plasma induzierte Substanzabbau wurde über eine lineare Regression der logarithmierten prozentualen Abnahme im Vergleich zum Startpunkt ermittelt. Jede Substanz wurde mindestens zweimal untersucht und jede Probe wurde zweimal durch die LC/MS vermessen. Als Positivkontrolle wurde zudem die Stabilität der Verbindung Osetamivir untersucht, da dieses Prodrug eine leicht spaltbare Estergruppe besitzt und so Aufschluss über die Qualität der verwendeten Plasma-Quellen geben kann.<sup>[225]</sup> Da der Abbau von Osetamivir sehr schnell von statten geht, wurde hier eine Stammlösung mit einer Konzentration von 5 mM verwendet und die letzte Probe wurde bereits nach 10 statt nach 60 Minuten entnommen. Abschließend wurde die mikrosomale Stabilität der Verbindungen gegenüber gepoolten Ratten- und gepoolten humanen Lebermikrosomen ermittelt. Dazu wurde eine 1 mM DMSO-Stocklösung der zu untersuchenden Verbindungen in einem Gemisch aus einem Phosphat-Magnesiumchlorid-Puffer und den Lebermikrosomen (20 mg/mL) 100-fach verdünnt. Nach Zugabe einer NADH-Lösung (50 mM in Wasser) wurde kurz durchgemischt und analog zu den Plasmastabilitätsuntersuchungen direkt eine Probe entnommen und durch dasselbe Verfahren gestoppt und vermessen. Auch hier wurden insgesamt fünf Zeitpunkte für die Gehaltsbestimmung untersucht, 0, 10, 20, 40, 60 Minuten, und die Stabilität der Verbindungen wurde anhand des prozentualen Abbaus im Vergleich zu den Proben bei  $t = 0$  bewertet. Hier wurde als Positivkontrolle die Verbindung Verapamil verwendet, da diese Verbindung bekanntermaßen eine sehr starke Metabolisierung durchläuft und für die Bewertung dieser Ergebnisse gut geeignet ist.<sup>[226]</sup> Außerdem wurde abschließend die so genannte *intrinsic Clearance* ( $CL_{int}$ ) der Verbindungen berechnet. Dabei wird die Abbaurate einer Substanz (Steigung der Ausgleichsgeraden) mit der Konzentration der eingesetzten Mikrosomen ins Verhältnis gesetzt. Sie gibt somit schon einen ersten Aufschluss über die Metabolisierungsraten der Verbindungen *in vivo*, jedoch werden hier alle Leberunabhängigen Effekte, wie Proteinbindung oder der Transport zur Leber, außer Acht gelassen.<sup>[134,227]</sup>

**Tab. 3.7:** Auflistung der für die Stabilitätsuntersuchungen ausgewählten Verbindungen. Daneben sind die Ergebnisse der einzelnen Stabilitätsuntersuchungen und die  $CL_{int}$  aufgeführt. Die Mittelwerte und angegebenen Fehlerwerte resultieren aus  $n = 2-4$  verschiedenen Einzelmessungen mit je zwei Replikaten. Die maximale Inkubationszeit  $t_{max}$  beträgt außer bei den mit einem \* markierten Werten 60 min, sonst ist  $t_{max} = 10$  min.<sup>[135]</sup>



	<b>3</b>	<b>100c</b>	<b>13</b>	<b>109</b>	<b>110</b>	Oseltamivir	Verapamil
<b>Chemische Stabilität</b>							
% Verbindung bei $t_{60}$	104 ± 4	95 ± 3	102 ± 1	101 ± 1	99 ± 2	-	-
<b>murine Plasmastabilität</b>							
$t_{1/2}$ / min	249 ± 92	101 ± 44	116 ± 29	261 ± 1	76 ± 12	-	-
% Verbindung bei $t_{max}$	84 ± 7	64 ± 13	70 ± 6	84 ± 2	58 ± 8	12 ± 1 *	-
<b>humane Plasmastabilität</b>							
$t_{1/2}$ / min	205 ± 112	232 ± 97	237 ± 2	207 ± 95	140 ± 87	-	-
% Verbindung bei $t_{max}$	79 ± 10	90 ± 12	87 ± 3	81 ± 10	71 ± 18	101 ± 1 *	-
<b>murine Mikrosomenstabilität</b>							
$t_{1/2}$ / min	58 ± 12	64 ± 1	78 ± 29	73 ± 24	1751 ± 524	-	-
% Verbindung bei $t_{max}$	48 ± 7	50 ± 2	57 ± 15	55 ± 12	97 ± 1	-	44 ± 1
$CL_{int}$ / $\mu$ L/min/mg Protein	24 ± 5	22 ± 1	19 ± 7	20 ± 7	1 ± 1	-	-
<b>humane Mikrosomenstabilität</b>							
$t_{1/2}$ / min	82 ± 5	85 ± 21	30 ± 1	63 ± 9	268 ± 18	-	-
% Verbindung bei $t_{max}$	59 ± 1	60 ± 7	23 ± 1	51 ± 5	84 ± 2	-	11 ± 1
$CL_{int}$ / $\mu$ L/min/mg Protein	17 ± 1	17 ± 4	46 ± 1	22 ± 3	5 ± 1	-	-

Alle im Nachfolgenden diskutierten Stabilitätsuntersuchungen wurden mit fünf unterschiedlichen 1,4-Dihydropyridin-Derivaten durchgeführt. Als Referenzsubstanz wurde erneut das Derivat **3** ausgewählt, da dieses die Basis für sämtliche Optimierungsarbeiten darstellt und somit gut als Bezugspunkt dienen kann. Daneben wurden zwei Dihydropyridine ohne eine 3-Ester-Gruppe untersucht (**100c** und **13**), um den Effekt Esterasen-induzierter Abbaumechanismen zu untersuchen und zu bewerten. Außerdem wurden zwei vermeintlich metabolisch stabile Dihydropyridine in den Assays profiliert. Bei diesen Derivaten wurde der Dihydropyridin-Grundkörper derart verändert, sodass oxidative Vorgänge nicht mehr möglich sein sollten, allerdings zeigen diese Verbindungen keinerlei Aktivität auf den TGF $\beta$ -Signalweg.<sup>[79]</sup> Dennoch besitzen sie in diesem hier dargestellten Kontext einen sehr hohen Informationsgehalt, da sie gut als Vergleichsverbindungen für die Beurteilung der übrigen Derivate dienen können.

Die Ergebnisse der chemischen Stabilität der Verbindungen bei einem pH-Wert von 7,4 zeigt klar, dass keines der Dihydropyridine einen Abbau nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten aufweist. Außerdem bewegen sich die ermittelten Standardabweichungen in einem Bereich von maximal 4%, was für eine gute Qualität der verwendeten Methode spricht. Eine mögliche Fehlerquelle liegt in der Höhe der eingesetzten Analytkonzentrationen, da – wie im vorhergehenden Abschnitt gezeigt – die hier untersuchten Dihydropyridin-Derivate wässrige Löslichkeiten aufweisen, welche deutlich unter der hier verwendeten Konzentration von 10  $\mu$ M liegen. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine kleine Menge ungelöster Substanzpartikel mit in das LC/MS-System injiziert wurden und so das Ergebnis verfälschen. Eine Möglichkeit, diesen Fehler in der Zukunft zu reduzieren läge in einer Erniedrigung der eingesetzten Substanzkonzentrationen oder in der Filtration der Probenlösungen vor deren Vermessung. Allerdings scheint dieser Fehler nur kleinen Ausmaßes zu sein, da sonst deutlich stärkere Schwankungen und somit signifikant höhere Standardabweichungen zu erwarten wären. Außerdem lag das Hauptaugenmerk dieser Stabilitätsuntersuchung nur auf der Absicherung der strukturellen Integrität der Derivate während allen nachfolgenden Untersuchungen, um eine sinnvolle Bewertung durchführen zu können.<sup>[135]</sup>

Ein etwas anderes Bild zeichnet sich bei der Betrachtung der Ergebnisse des Plasma-Stabilitätsassays. In der **Tabelle 3.7** sind die aus der Regression berechneten Halbwertszeiten  $t_{1/2}$  aufgeführt, welche sehr große und über einen relativ breiten Bereich schwankende Standardabweichungen bis 62% aufweisen. Erklärbar könnte diese große Streuung vor allem dadurch sein, dass keine der ermittelten Halbwertszeiten innerhalb des abgedeckten Untersuchungszeitraums von 60 Minuten liegen und diese somit nur durch eine Extrapolation der Regressionsgeraden ermittelt werden konnten. Damit wirken sich vergleichsweise kleine Veränderungen in den Ausgleichsgeraden einzelner Messreihen sehr deutlich auf die derart berechneten Halbwertszeiten aus und somit auch auf die entsprechenden Mittelwerte und Standardabweichungen. Aus diesem Grund ist in der Tabelle zusätzlich der mittlere prozentuale Analytanteil während der letzten Probenentnahme angegeben. Auch hier sind vergleichsweise hohe Fehlerwerte bis zu 18% zu verzeichnen, welche jedoch auf andere Quellen zurückgeführt werden müssen wie der Probenaufarbeitung. Die verwendeten Plasmaquellen entsprechen analytisch betrachtet einem komplexen Gemisch aus einer Vielzahl von biologischen Strukturen, von denen je-

doch nur ein Teil mit Methanol entfernt werden konnte. Dieser Umstand war relativ leicht an dem Verhalten des Massenspektrometers zu erkennen, da mit jeder weiteren injizierten Plasmaprobe ein zunehmendes Verstopfen des Probeneinlasses bemerkt wurde. Trotz einer regelmäßigen Reinigung der entsprechenden Bauteile führte dies zu einer deutlichen Verschlechterung des Signal-Rausch-Verhältnisses und somit zu einer Einbuße in der Qualität der Daten. Eine klare Verbesserung hat der Einsatz des internen Standards Trazodon gebracht, aber dennoch konnten deutliche Schwankungen des TIC (*total ion count*) am Massenspektrometer innerhalb einer Messung beobachtet werden, was auf koeluiierende ionensuppressive biologische Matrix-Bestandteile, wie Phosphorlipide, zurückgeführt werden könnte. Eine Möglichkeit, dieses Problem zu umgehen, liegt in der Veränderung der Probenvorbereitung nach der Durchführung des Plasma-Assays. Hierzu sind diverse Varianten publiziert, um die Analyten aus dem Reaktionsgemisch zu isolieren, wie Flüssig- oder Festphasenextraktionen.<sup>[228,229]</sup> Bei beiden Methoden wird nach dem Abstoppen der Enzymreaktionen die verbleibende Restmenge der zu untersuchenden Verbindungen aus der wässrigen Plasmalösung mit geeigneten Methoden extrahiert. Während bei der Einen die Aufkonzentration mithilfe von organischen Lösungsmitteln gelingt, wird bei der Anderen eine feste Phase dazu genutzt, um ungewollte Bestandteile abzutrennen. Die Rückstände aus beiden Methoden können dann abschließend in einem für die LC/MS-Spektrometrie geeignetem Solvens aufgenommen und injiziert werden. So könnte die Signalqualität und Reproduzierbarkeit deutlich erhöht werden und verlässlichere Werte würden generiert werden. Auf diese Verfahren wurde wegen der wesentlich höheren Komplexität der Durchführungen verzichtet, da lediglich ein erstes *in vitro*-PK-Profil der Verbindungen erstellt werden sollte und genauere Untersuchungen in der Zukunft erfolgen sollten.<sup>[135]</sup>

Trotz alledem können die hier ermittelten Daten verwendet werden, um zumindest qualitative Aussagen über die Plasmastabilitäten der untersuchten 1,4-DHP-Derivate zu treffen. Interessanterweise konnten weder bei der murinen als auch bei der humanen Plasmaquelle eine Korrelation der 3-Estergruppe mit der Stabilität beobachtet werden. Vergleicht man die Halbwertszeiten der murinen Ansätze aller Derivate, so ist die Referenzverbindung **3** die stabilste Verbindung mit einer  $t_{1/2} = 249$  min und 84% verbleibender Substanzmenge nach 60 Minuten. Dieses Ergebnis überrascht, da die Verbindungen **13** und **100c** keinerlei hydrolysierbaren Strukturelemente besitzen und somit in Anwesenheit von Esterasen, bzw. im Plasma nicht abgebaut werden sollten. Nimmt man nun zusätzlich noch die beiden oxidationsstabilen Derivate **109** und **110** mit in die Betrachtung, so kann auch hier keine strukturbasierte Erklärung für die ermittelten Halbwertszeiten gefunden werden. Ein ähnliches Bild wird bei der Verwendung des humanen Plasmas gezeichnet, da auch hier kaum eine Verbindung zwischen den Halbwertszeiten und den chemischen Strukturen aufgefunden wird. Zwar verzeichnen die Verbindungen ohne eine Ester-Gruppe an 3-Position (**13** und **100c**) den geringsten Abbau, aber dennoch sind die Unterschiede zu den Ester-tragenden Derivaten zu gering, als dass dies klar auf die strukturellen Unterschiede zurückgeführt werden kann. Außerdem ist es recht verwunderlich, dass die Positivkontrolle, Oseltamivir, im humanen Plasma überhaupt nicht angegriffen wurde und nach 10 Minuten noch immer die gesamte ursprünglich eingesetzte Menge detektiert wurde. Dieses Ergebnis zeigte sich ebenfalls bei der Verwendung anderer Lots des humanen Plasmas und sollte in Zukunft

eingehender untersucht werden. Im murinen Plasma hingegen wurden erwartungsgemäß fast 90% des Oseltamivirs nach Ablauf der Inkubationszeit abgebaut.

Somit kann man insgesamt festhalten, dass die Plasmastabilität der 1,4-Dihydropyridine nicht bzw. kaum von der chemischen Natur der Gruppe an 3-Position abhängig ist und es offenbar andere deutlich dominierende Degradierungsmechanismen gibt, die es in der Zukunft zu entschlüsseln gilt.

Bei der Untersuchung der mikrosomalen Stabilität der Verbindungen sollte vornehmlich die Oxidationsanfälligkeit der 1,4-Dihydropyridin-Derivate ermittelt werden. Dies ist bekanntermaßen einer der Hauptabbauwege dieser Substanzfamilie *in vivo*,<sup>[228]</sup> welcher aber leider im Kontext der kardiogenen 1,4-DHPs nicht umgangen werden kann. Der Dihydropyridin-Ring stellt eines der wichtigsten Pharmakophorelemente dar, ohne welches sämtliche biologische Aktivität verloren ginge.<sup>[79]</sup> Dennoch sollte das Ausmaß dieses Metabolisierungsweges ermittelt und bewertet werden.

Bei der Betrachtung der in **Tabelle 3.7** aufgeführten Ergebnisse fällt sofort auf, dass die hier erhaltenen Standardabweichungen in deutlich kleineren Bereichen angesiedelt sind, als dies noch bei der Plasmastabilität der Fall war. Der größte Fehler in den Halbwertszeiten konnte bei Verbindung **13** während der Untersuchung der murinen Mikrosomenstabilität mit einem Wert von 37% beobachtet werden. Diese deutliche Verbesserung der Datenqualität liegt vermutlich unter anderem daran, dass die ermittelten Halbwertszeiten fast ausschließlich innerhalb des Messzeitraums angesiedelt sind und somit keine Fehler durch Extrapolationen zum Tragen kommen. Ein weiterer großer Vorteil ist hier, dass bei diesem Assay deutlich niedrigere Mengen an biologischer Matrix in den Proben vorhanden war, welche das Massenspektrometer weniger störten und dadurch verlässlichere Daten generiert werden konnten.

Daneben fällt bei der Betrachtung der Ergebnisse auf, dass fast alle Derivate Halbwertszeiten von 58 bis 82 Minuten aufweisen. Ausgenommen hiervon ist lediglich das bereits vollständig oxidierte Pyridin **110**. Diese Beobachtungen sind außerdem größtenteils unabhängig von der verwendeten Lebermikrosomenquelle, denn beim direkten Vergleich konnten nur unwesentliche Unterschiede zwischen murinen und humanen Enzymquellen ausgemacht werden. Die Ausnahme hierbei ist allerdings Verbindung **13**, da diese bei der Verwendung von unterschiedlichen Mikrosomenquellen deutlich unterschiedliche Halbwertszeiten aufweist. Dies wurde bei keiner anderen Verbindung in einem derartig hohen Ausmaß beobachtet, weswegen dies auf einen Fehler im Assay zurückgeführt wurde und dieser spezielle Wert nicht weiter betrachtet wurde.

Generell kann aus den metabolischen Untersuchungen der 1,4-DHP-Derivate geschlossen werden, dass einer der wichtigsten mikrosomalen Abbauwege der Verbindungen – analog zu den Studien aus der Literatur – über die Oxidation des Dihydropyridin-Ringes stattfindet. Bemerkenswerterweise kann dieser Metabolisierungsschritt nicht durch die Blockierung des N-1-Atoms mit einer Methylgruppe verhindert werden, wie man an der Geschwindigkeit und dem Ausmaß des mikrosomalen Abbaus bei Verbindung **109** im Vergleich zu der Referenzverbindung **3** erkennen kann.

Wie bereits vermutet kann aus diesen Ergebnissen geschlossen werden, dass die metabolische Stabilität der Verbindungen durch chemische Veränderungen der Grundstruktur kaum verbessert werden kann, da nur ein Verzicht auf das Dihydropyridin-Strukturelement langlebige Verbindungen ergibt, was

allerdings zu biologisch inaktiven Substanzen führt. Daher verbleibt als einziger Weg, um metabolisch stabile TGF $\beta$ -Inhibitoren zu erhalten, ein kompletter Wechsel zu *Scaffolds*, welche keine entsprechenden Schwachstellen aufweisen. Einige vielversprechende Ansätze werden im **Kapitel 3.4** auf Seite **119** genauer beleuchtet und diskutiert.<sup>[135]</sup>

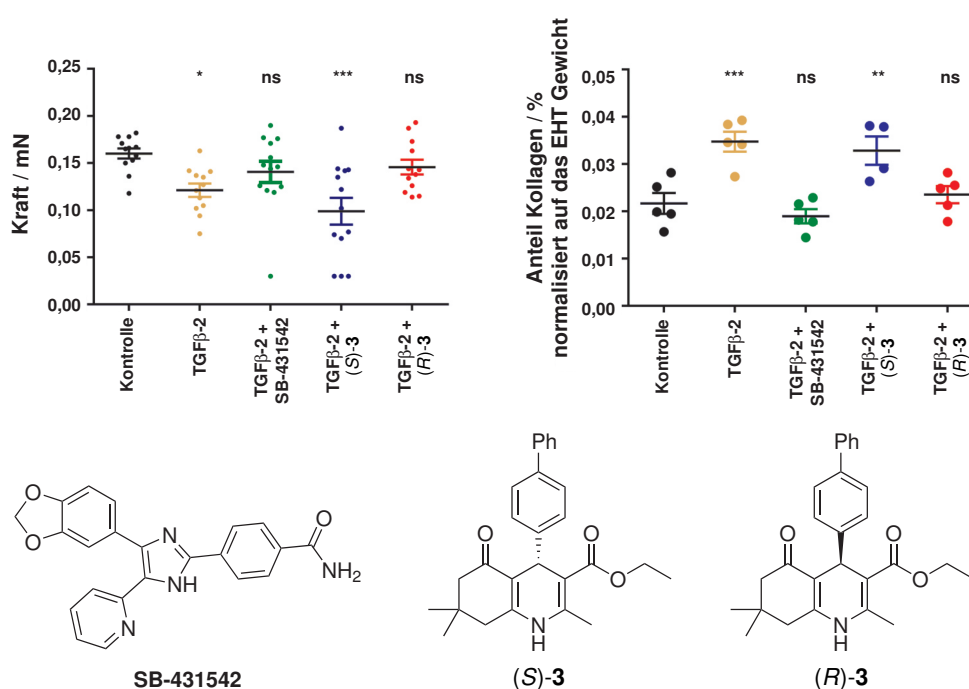
Als letztes sollen nun noch die *intrinsic Clearances* der untersuchten Derivate betrachtet und beurteilt werden. Diese errechneten Werte geben erste Anhaltspunkte wie schnell die Verbindungen in einer *in vivo*-Situation metabolisiert werden und können mithilfe von Literaturwerten eingeordnet werden. Bei der Verwendung von murinen Mikrosomenquellen sollten sich die CL<sub>int</sub>-Werte in einem Bereich von 13 bis 72  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$  Protein bewegen, wohingegen bei menschlichen Mikrosomen ein Bereich von 8,6 bis 47  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$  Protein für eine mittelmäßige Metabolisierung steht und somit erstrebenswert ist.<sup>[134]</sup> Höhere Werte sprechen generell für eine schnelle *Clearance in vivo* und sind daher nur bei der Verwendung von *Prodrugs* sinnvoll. Eine niedrige *intrinsic Clearance* hingegen korreliert oft mit einem sehr langsamen Abbau der Verbindungen, was schlussendlich zu Akkumulation und eventuell zu toxischen Nebeneffekten führen kann.<sup>[134]</sup>

Betrachtet man die hier untersuchten Verbindungen, so erkennt man, dass alle Verbindungen mit Ausnahme der Verbindung **110** mit einem oxidiertem Grundgerüst innerhalb der geforderten *intrinsic Clearance*-Bereiche angesiedelt sind. Das bedeutet, dass die hier untersuchten Verbindungen eine ausreichend hohe Stabilität besitzen, um den nächsten Schritt in der *Lead*-Optimierung in Richtung einer *in vivo*-Anwendung zu beschreiten.

Zusammengefasst konnten durch die Optimierungskampagnen zur Vorbereitung der Verbindungen für einem *in vivo*-Einsatz einige gute Ansätze zur Verbesserung der Lipophilie und der wässrigen Löslichkeit gefunden und auch angewendet werden. Ein vergleichbarer Erfolg stellte sich bei dem Versuch die Plasmastabilität zu verbessern allerdings nicht ein. Stattdessen wurden im Rahmen dieser Arbeit Hinweise auf neue, bislang unentdeckte Abbauwege dieser Substanzklasse gefunden, welche in Zukunft weiter untersucht werden sollten. Außerdem konnte aus dem mikrosomalen Stabilitätsassay herausgearbeitet werden, dass die Verbindungen nach etwa 60 Minuten immer noch zu ungefähr 50% aufzufinden sind, was den Einsatz in komplexeren oder *in vivo*-ähnlichen Assaysystemen durchaus ermöglicht. Weitere Bestätigungen konnten durch die Berechnungen der *intrinsic Clearances* der Derivate erhalten werden, da alle biologisch aktiven Verbindungen Werte im mittleren Bereich aufwiesen. Daneben konnte mithilfe dieser Optimierungsarbeiten der chemische Raum der kardiogenen 1,4-DHPs deutlich vergrößert werden, was schlussendlich zu weiteren wichtigen Erkenntnissen über den Bindungsmodus der Verbindungen führte und somit alle zukünftigen SAR-Studien deutlich erleichtern und beschleunigen wird.<sup>[135]</sup>

### 3.2.3 Anwendung der 1,4-Dihydropyridine in einem *Engineered Heart Tissue*-Modell

Im vorhergehenden Abschnitt konnte herausgearbeitet werden, dass die in dieser Arbeit behandelten 1,4-Dihydropyridine vielversprechende *in vitro*-PK Eigenschaften besitzen, insbesondere im Kontext der (metabolischen) Stabilität. Aus diesem Grund sollte anschließend ein weiterer Schritt in Richtung der angestrebten *in vivo* Anwendung dieser Substanzklasse besprochen werden und deren Einsatz in komplexeren Assayformaten untersucht werden. Ein Beispiel für ein solches Assaysystem ist das so genannte *Engineered Heart Tissue*-Modell (EHT-Modell). Das hier verwendete biologische System basiert auf neonatalen Rattenkardiomyozyten, welche mithilfe von Fibrin(ogen) und Matrigel schlaufenförmig kultiviert werden. Nach einer gewissen Inkubationszeit beginnen diese dann spontan zu kontrahieren und die dabei erzeugte Kraft und Frequenz kann videooptisch ausgemessen werden. Die so erzeugten EHT-basierten Myozyten weisen sehr vergleichbare histologische Eigenschaften wie natürlich (aus-)differenziertes Myokard-Gewebe auf und eignen sich daher besser zur Anwendung in *in vitro*-Modellen für (komplexere) Krankheitsbilder und Wirkstoffscreenings als einfache 2D Zellkulturen.<sup>[230,231]</sup>



**Abb. 3.25:** Effekte der beiden 1,4-Dihydropyridin-Enantiomere (*S*)-3 und (*R*)-3 auf TGFβ-2 behandelte EHTs. Als Kontrolle ist außerdem die Auswirkung des unselektiven TGFβ-Signalweginhibitors SB-431542 angegeben. Der Kollagenanteil wurde mittels eines Hydroxyprolin-Assays bestimmt. (ns: keine Signifikanz; \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ )

So gelang es beispielsweise mithilfe dieses Systems ein Modell für die kardiale Fibrosierung durch mechanische Erhöhung des Kontraktionswiderstands der EHTs zu entwickeln. Dabei wurden ähnliche strukturelle Veränderungen und Kompensationsmechanismen nachgewiesen, wie sie auch *in vivo* auftreten. Beispielsweise konnte eine deutliche Vergrößerung der Kardiomyozyten, ein erhöh-

ter Glukosebedarf und die zusätzliche Fibrosierung des Gewebes beobachtet werden. Diese Effekte führten schlussendlich zu einer reduzierten Kontraktionskraft und kürzeren Relaxierungszeiten der so behandelten Myozyten. Daneben konnte ebenfalls herausgearbeitet werden, dass die hypertrophe Intervention nicht nur mechanisch, sondern auch chemisch ausgelöst werden kann.<sup>[232]</sup>

In einer weiteren Studie konnte ein ähnliches Hypertrophie-Verhalten durch Zusatz von TGF $\beta$ -2, einem wichtigen fibrotischem Cytokin,<sup>[5]</sup> erzeugt werden. Die zugrundeliegende Idee basiert darauf, dass TGF $\beta$ -Liganden fibrotische Prozesse durch eine Missregulierung des Auf- und Abbaus der ECM (extrazellulären Matrix) induzieren. Dadurch wird der Anteil an Kollagen I und III – neben anderen Bestandteilen der extrazellulären Matrix –, sowie deren Quervernetzung deutlich erhöht, was schlussendlich zu einer Versteifung und somit eingeschränkter Kontraktilität des Gewebes führt.<sup>[5]</sup>

Der Effekt der TGF $\beta$ -2-Zugabe zu dem *engineered heart tissue* kann in **Abbildung 3.25** sehr gut sowohl an der Verringerung der Kontraktionskraft, sowie an der klaren Erhöhung des Kollagen-Anteils beobachtet werden. Werden nun gleichzeitig TGF $\beta$ -Signalweginhibitoren zugegeben, wie der ALK4-, ALK5- und ALK7-Inhibitor SB-431542,<sup>[77]</sup> so ist deutlich erkennbar, dass das Cytokin keinerlei hypertrophe Auswirkungen auf das EHT-Gewebe ausübt. Ein analoges Ergebnis wurde bei Zugabe des enantiomerenreinen Dihydropyridins (*R*)-**3**, jedoch nicht bei Applikation des (*S*)-Isomers beobachtet. Daraus lassen sich zwei Folgerungen ziehen. Zum Einen zeigen die in dieser Arbeit behandelten Dihydropyridine ihre Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg ebenfalls in komplexeren 3D-Assayformaten, was einen wichtigen Schritt in Richtung einer *in vivo*-Anwendung bedeutet. Daneben unterscheidet sich der Wirkmechanismus der 1,4-DHPs im EHT-Modell nicht oder kaum von dem, der in simpleren Assays herausgearbeitet wurde, da auch hier nur das (*R*)-Enantiomer eine Wirkung besitzt und daher höchstwahrscheinlich die TGF $\beta$  Rezeptor II-Inhibition die Ursache für die nicht auftretende Fibrosierung bzw. Hypertrophie innerhalb des EHT-Modells darstellt.<sup>[135]</sup>



### 3.3 Entwicklung und erste Evaluierungen einer chemischen Sonde auf Basis des 1,4-DHP-Grundgerüsts

In der medizinisch-chemischen Forschung ist es von großer Bedeutung zu ergründen, welche Funktion(en) einzelne Proteine oder isolierte Bestandteile von Signalwegskaskaden im physiologischen Kontext ausüben. Dann kann entschieden werden, ob diese als Wirkstoff-*Targets* weiter verfolgt werden sollen. Aber auch die umgekehrte Situation ist denkbar: in einem biologischen Assay wird durch Substanzzugabe ein neuer und wünschenswerter Phänotyp beobachtet, wobei die biologische Zielstruktur des Wirkstoffs unbekannt ist und er daher identifiziert werden muss. Für beide Fälle können hochspezialisierte molekulare Werkzeuge verwendet werden, die so genannten *Probes*. An solche Moleküle werden zwei unabdingliche Anforderungen gestellt: eine sehr hohe biologische Aktivität und zudem eine starke Selektivität für das angestrebte *Target*. Daneben wird die Signifikanz des Werkzeugs deutlich erhöht, wenn eine strukturell sehr eng verwandte Negativkontrolle – also ein Molekül ohne biologische Wirksamkeit am *Target* – hergestellt werden kann, um unspezifische Signale und Ergebnisse herauszufiltern.<sup>[129]</sup>

In dem Kontext der 1,4-Dihydropyridine als TGF $\beta$ -Signalwegsinhibitoren wurden in der Vergangenheit zwei SAR-Studien durchgeführt und somit besteht ein sehr gutes Verständnis dafür, welche Substitutionsmuster eine hohe biologische Effektivität erzeugen und welche Molekülreste die Aktivität der Verbindungen reduzieren (vgl. **Kapitel 1.3** auf Seite 9 und **3.1** auf Seite 19). Auf Basis dieser Informationen werden im Nachfolgenden die für eine hochwertige Sonde notwendigen Eigenschaften und Voraussetzungen der 1,4-Dihydropyridine diskutiert und gegebenenfalls optimiert. Die wichtigsten Synthesen und erste biologische Ergebnisse wurden im Jahr 2019 in der Fachzeitschrift *Chemical Communications* veröffentlicht.<sup>[233]</sup>

#### 3.3.1 Untersuchung des Selektivitätsprofils von kardiogenen 1,4-Dihydropyridinen

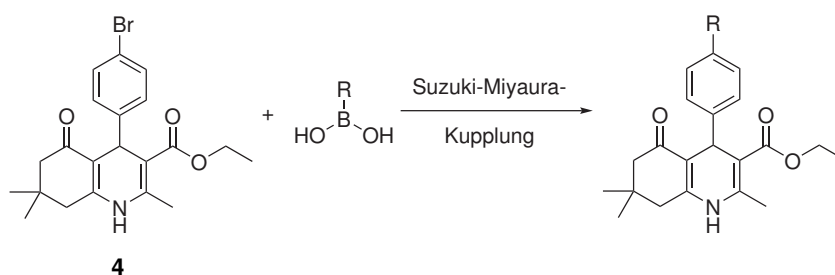
Der TGF $\beta$ -Superfamilie werden verschiedene Einzelsignalwege untergeordnet, wie der TGF $\beta$ -, der Activin A/Nodal- und der BMP-Signalweg (vgl. **Kapitel 1.2** auf Seite 2). Jede dieser einzelnen Signaltransduktionsketten besitzt ein eigenes Set an zugehörigen Liganden, sowie spezifische (Typ I, II und III-) Rezeptoren. Die Signalweiterleitung und auch -Regulation wird nach Bindung der Liganden an den Rezeptorkomplexen innerhalb der Zelle mithilfe von sogenannten r-Smads (*receptor specific Smads*) realisiert. Während dem BMP-Signalweg die Smads 1, 5 und 8 zugeordnet sind, werden die beiden übrigen Signalwege von der Kombination aus den Smads 2 und 3 gesteuert. Aus diesem Grund kann der BMP-Signalweg sehr gut einzeln und getrennt moduliert werden, wohingegen bei den übrigen Zweien gewisses Selektivitätsproblem vorherrscht.<sup>[13]</sup>

Bereits in der ersten SAR-Studie zu den kardiogenen 1,4-Dihydropyridinen wurde offensichtlich, dass bei der Hemmung des TGF $\beta$ -Signalwegs zusätzlich der Activin A-Signalweg inhibiert wird und dass auf struktureller Seite die 4-Position des DHP-Grundgerüsts das Schlüsselstrukturelement für diese Fragestellung darstellt (vgl. **Abschnitt 1.3**, S. 9).<sup>[79,80]</sup> So konnte bereits herausgearbeitet werden, dass eine 4"-Trifluormethylbiphenyl-Substitution eine deutlich höhere Präferenz für den TGF $\beta$ - als

für den Activin A-Signalweg aufweist, im Vergleich zu dem entsprechenden 4"-Methyl-derivatisierten Analogon.<sup>[79,80]</sup> Als Ursache für die verschiedenen Selektivitätsprofile der beiden Derivate wurde die Veränderung der Elektronendichte am angrenzenden aromatischen System verantwortlich gemacht, da so unterschiedlich starke Interaktionen mit den biologischen Zielstrukturen ausgebildet werden, was die Diskriminierung der jeweiligen Signalwege zur Folge hat.

Um diesen Sachverhalt weiter zu untersuchen wurde eine kleine Bibliothek von 4-Biphenyl-substituierten 1,4-Dihydropyridinen hergestellt, welche sich durch die Substituenten an der 4"-Position unterscheiden. Die Synthesen der meisten dieser Verbindungen wurden im Rahmen der Bachelor-Arbeit von DIRK FLÖTGEN<sup>[157]</sup> und der Master-Arbeit von VIKTORIA MARQUARDT<sup>[202]</sup> durchgeführt.

Da sich die zu synthetisierenden Verbindungen alle durch verschiedene Substituenten an der 4'-Position eines 4-Phenyl-derivatisierten 1,4-DHPs unterscheiden, erschien es sinnvoll, diese Verbindungen mithilfe von Suzuki-Miyaura-Kupplungen des 4-(4'-Bromphenyl)-Dihydropyridins **4** mit diversen kommerziell verfügbaren Boronsäuren darzustellen, wie in **Abbildung 3.26** gezeigt.

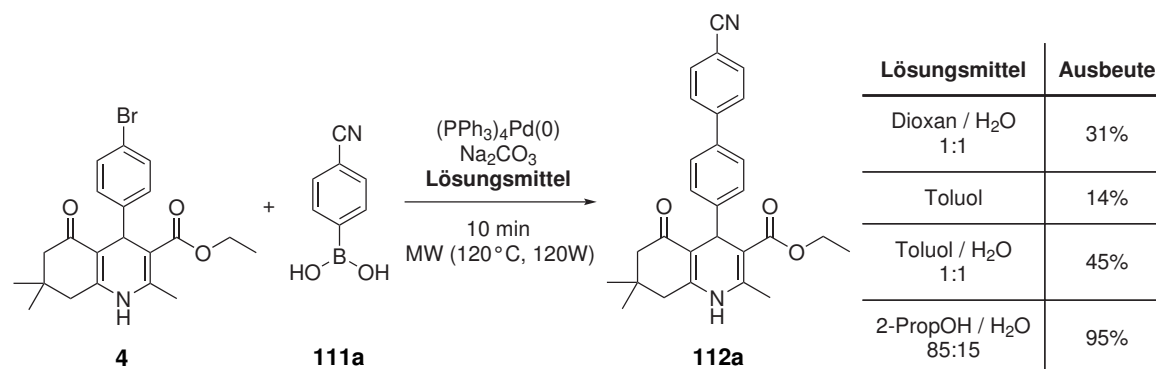


**Abb. 3.26:** Strategie zum Aufbau einer Substanzbibliothek mit verschiedenen Substituenten an der 4'-Position des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts.

Die Suzuki-Miyaura-Reaktion ist in der Literatur verbreitet sehr weit, da sie zu den effizientesten Methoden zählt, um  $sp^2$ - $sp^2$ -hybridisierte Kohlenstoffatome miteinander zu verbinden. Daneben toleriert sie eine Vielzahl an Substituenten und zeichnet sich durch sehr milde Reaktionsbedingungen aus. Ein weiterer großer Vorteil besteht in der einfachen (kommerziellen) Verfügbarkeit der benötigten Ausgangsverbindungen. Probleme treten oftmals nur bei der Verwendung elektronenarmer Ausgangsverbindungen auf, da hier die Reaktionsausbeuten tendenziell niedrig ausfallen.<sup>[234]</sup> In dem hier vorliegenden Fall sollten vornehmlich Boronsäuren mit elektronenziehenden Substituenten verwendet werden, weswegen im Vorfeld einige Optimierungsarbeiten notwendig waren, um akzeptable Ausbeuten zu erreichen.

Die Kreuzkupplungsreaktionen sollten in einem Mikrowellenreaktor durchgeführt werden, da auf diese Weise die Reaktionsdauer deutlich reduziert werden kann und eine schnelle Synthese der angestrebten Substanzbibliothek ermöglicht wird. Dazu hat sich in einigen Vorversuchen bezüglich der Mikrowellenparameter gezeigt, dass eine Reaktionstemperatur von 120 °C und eine Mikrowellenleistung von 120W die besten Ergebnisse lieferten.<sup>[157]</sup> Da das Lösungsmittel einen sehr großen Einfluss auf den Reaktionserfolg besitzt und für diesen Reaktionstyp in der Literatur eine Vielzahl von möglichen Lösungsmittelsystemen publiziert ist, wurde hierzu ebenfalls eine kleine Studie durchgeführt.

**Tab. 3.8:** Modellreaktion zur Untersuchung des Lösungsmittelinflusses bei der mikrowellengestützten Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung.<sup>[157]</sup>

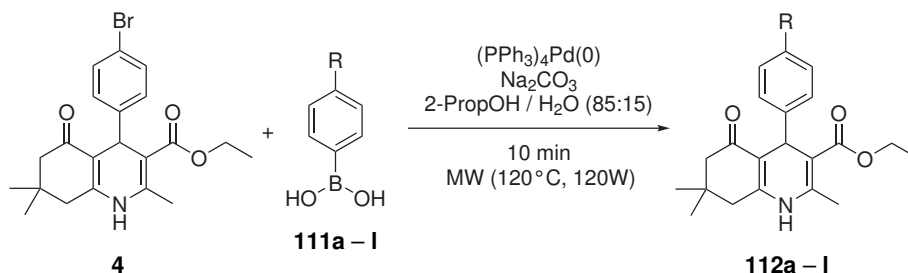


Die Wahl des Lösungsmittel hängt oftmals von den verwendeten Reaktionspartnern ab, weswegen gerade dieser Parameter häufig bei diesem Reaktionstyp optimiert werden muss.<sup>[79,235–237]</sup> Als Modellreaktion wurde eine Boronsäure (4-Cyanphenylboronsäure, **111a**) willkürlich ausgewählt und vier verschiedene übliche Lösungsmittelgemische untersucht. Die Beurteilung der Reaktionserfolge geschah durch eine HPLC-UV/Vis-Untersuchung der Reaktionslösungen über die Ermittlung der Absorptionsbande. Außerdem wurde dem Analysenansatz zur Normierung ein interner Standard in bekannter Konzentration hinzugefügt, auf welchen die Peakflächen bezogen werden konnten. Nach zuvor erstellter Kalibriergeraden konnten so die Ausbeuten der Testreaktionen bestimmt werden. Bei der Auswahl der Lösungsmittel wurde sich an Literaturvorschriften orientiert. Die erste Kombination, bestehend aus Dioxan und Wasser, wurde bereits für Mikrowellengestützte Suzuki-Kupplungen von 1,4-Dihydropyridinen verwendet,<sup>[79]</sup> zeigte aber hier nur eine moderate Ausbeute von 31%, wie man in **Tabelle 3.8** erkennt. Dieser niedrige Wert ist vermutlich durch die elektronische Natur der Boronsäure erklärbar. Während in der Literaturvorschrift aktivierte Edukte, wie Cyclohexylboronsäure, verwendet wurde,<sup>[79]</sup> ist die hier verwendete 4-Cyanophenylboronsäure deutlich elektronenärmer und somit unreaktiver.

Als nächstes wurde reines Toluol als Lösungsmittel verwendet, wodurch die Ausbeute sogar noch weiter auf 14% reduziert wurde. Hier drängt sich vermutlich ein wohlbekanntes Problem bei Mikrowellenreaktionen in den Vordergrund: Das nur sehr schwach ausgeprägte Dipol-Moment des Toluens führt zu einer schlechten Absorption der Mikrowellenstrahlung und damit zu einer geringeren Aufheizung der Reaktionslösung. Eine Bestätigung für diese Vermutung findet sich bei der Verwendung eines Toluol/Wasser-Gemisches als Reaktionsmedium. Hier kann die Mikrowellenstrahlung deutlich besser aufgenommen werden und das Produkt wird zu 45% gebildet. Die beste Umsetzungsrate allerdings fand sich bei einem binären Gemisch aus 2-Propanol und Wasser (85:15, v/v) und die Reaktion fand in quantitativem Ausmaß statt.

In **Tabelle 3.9** sind die 12 Derivate aufgelistet, die mithilfe der Suzuki-Kupplung hergestellt wurden.

**Tab. 3.9:** Übersicht über die synthetisierte Substanzbibliothek, welche sich durch verschiedene Substituenten an 4'-Position unterscheiden. Daneben sind die Hammett-Konstanten der verschiedenen Reste<sup>[238]</sup> und die IC<sub>50</sub>-Werte, sowie die prozentualen Inhibitionen bei einer Konzentration von 2,5 µM auf den TGFβ- und den Activin A-Signalweg aufgeführt. Die biologischen Daten wurden in Smad4-binding element (SBE4) Reporterassays in HEK293T-Zellen, deren Signalwege entweder über TGFβ-2 oder Activin A induziert wurden, ermittelt. Die Werte und Standardabweichungen wurden in n = 2–4 unabhängig durchgeführten Experimenten ermittelt.<sup>[202]</sup> Die mit \* markierten Verbindungen wurden über die konventionelle Hantzsch DHP-Synthese hergestellt.<sup>[130]</sup>



Verbindung	R	Ausbeute	Hammett-Konstante $\sigma$	IC <sub>50</sub> (µM) TGFβ	% Inhibition (2,5 µM) TGFβ	% Inhibition (2,5 µM) Activin A
<b>3*</b>	Ph	-	0,00	0,85 ± 0,30	83 ± 8	62 ± 2
<b>111b / 112b</b>	4"-CF <sub>3</sub> -Ph	77%	0,53	0,97 ± 0,29	88 ± 6	45 ± 14
<b>111c / 112c</b>	4"-SO <sub>2</sub> Me-Ph	77%	0,72	2,76 ± 0,18	44 ± 1	40 ± 3
<b>5*</b>	4"-Br-Ph	-	0,23	0,46 ± 0,25	94 ± 3	61 ± 6
<b>111d / 112d</b>	4"-Cl-Ph	76%	0,23	0,76 ± 0,22	91 ± 2	49 ± 13
<b>111e / 112e</b>	4"-F-Ph	72%	0,06	1,23 ± 0,02	74 ± 16	53 ± 4
<b>111f / 112f</b>	4"-NO <sub>2</sub> -Ph	59%	0,66	1,88 ± 0,15	58 ± 25	46 ± 0
<b>111g / 112g</b>	4"-OCF <sub>3</sub> -Ph	52%	0,35	0,48 ± 0,06	95 ± 1	47 ± 2
<b>111a / 112a</b>	4"-CN-Ph	50%	0,78	1,79 ± 0,42	52 ± 2	54 ± 1
<b>111h / 112h</b>	4"-Pyridinyl	46%	-	6,14 ± 1,55	27 ± 11	39 ± 6
<b>111i / 112i</b>	4"-CH <sub>3</sub> -Ph	39%	-0,17	0,35 ± 0,03	94 ± 2	73 ± 5
<b>111j / 112j</b>	4"-NMe <sub>2</sub> -Ph	36%	-0,83	0,33 ± 0,15	95 ± 2	67 ± 5
<b>111k / 112k</b>	4"-OMe-Ph	25%	-0,27	0,42 ± 0,21	93 ± 4	78 ± 1
<b>111l / 112l</b>	4"-OH-Ph	15% (2 Schritte)	-0,37	0,73 ± 0,26	74 ± 6	57 ± 1

Die Ausbeuten bewegen sich in einem sehr breiten Bereich von 15% bis hin zu 77%, wobei jedoch die in den Vorversuchen erreichte quantitative Umsetzung nicht erreicht werden konnte. Dies hängt vor allem damit zusammen, dass die in den Optimierungsreaktionen ermittelten Ausbeuten nicht isolierten Ausbeuten entsprechen, sondern vielmehr einer Analyse der Reaktionslösung. So ist es durchaus denkbar, dass bei dem Aufreinigungsprozess des Rohproduktes ein Teil des Produkts verloren gegangen

gen ist. Außerdem wurden die Reaktionsansätze in sehr kleinem Maßstab durchgeführt, weswegen sich dieser Verlust verhältnismäßig stark auf die Ausbeute niederschlägt.

Die schlechteste Ausbeute wurde bei der Verbindung **112l** erreicht mit 15%. Dies liegt aber vor allem daran, dass für die Darstellung der Verbindung zwei Einzelreaktionen durchgeführt werden mussten, da eine freie Hydroxylgruppe mit den Bedingungen der Suzuki-Kupplung nicht kompatibel ist. Aus diesem Grund wurde die Kreuzkupplung mit einem TBDMS-Ether-geschützten (*tert.*-Butyldimethylsilyl-Ether) Ausgangsmaterial durchgeführt, welches nach einer groben Aufreinigung mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) entschützt wurde. Die Ausbeute bezieht sich daher auf zwei Reaktionsschritte und kann somit nicht mit den anderen Suzuki-Reaktionen verglichen werden. Interessanterweise konnte eine gewisse Korrelation zwischen den Reaktionseffizienzen und den Hammett-Konstanten der Substituenten ausgemacht werden. Diese empirisch entwickelten Konstanten wurden ursprünglich zur Vorhersage von Reaktionsgeschwindigkeiten und -Gleichgewichten organischer Umsetzungen verwendet. Die Basis hierfür war der Ionisierungsgrad von verschiedenen Benzoesäuren in Abhängigkeit von deren Substitutionsmuster. Auf diese Weise konnten elektronischen, mesomeren und sterischen Einflüssen unterschiedlicher Reste in Kombination mit deren Verknüpfungsort am Benzolring einzelne numerische Werte zugewiesen werden. Auch wenn quantitative Aussagen mithilfe dieser Parameter kaum möglich sind, können sie sehr gut für qualitative Vorhersagen von Reaktionsverläufen verwendet werden. Daneben sind heutzutage noch eine Vielzahl weiterer Anwendungsgebiete bekannt, wie beispielsweise bei der Berechnung von quantitativen Struktur-Aktivitätsbeziehungen (QSAR).<sup>[238]</sup>

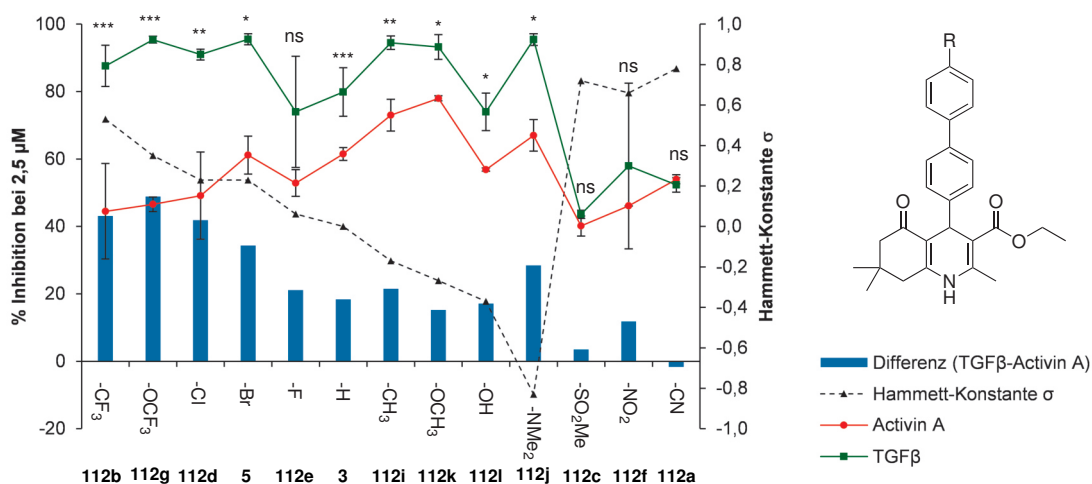
Betrachtet man erneut die Reaktionsausbeuten in **Tabelle 3.9**, so ergeben Umsetzungen von Borsäuren, welche Substituenten mit positiver Hammett-Konstante tragen, tendenziell bessere Ausbeuten. Viele diese Substituenten haben gemein, dass sie neben einem sehr ausgeprägten –I- auch einen +M-Effekt auf das aromatische System ausüben und so den Mechanismus der Kreuzkupplung unterstützen können. Jedoch trifft dies nicht auf alle Derivate zu und daher sollte dieser Sachverhalt Gegenstand weiterer Arbeiten sein.

Neben den Reaktionsausbeuten sind in der **Tabelle 3.9** die Ergebnisse der biologischen Untersuchungen bezüglich des Inhibitionsverhaltens der Verbindungen gegenüber des TGF $\beta$ - und des Activin A-Signalwegs angegeben. Zum Vergleich sind außerdem die entsprechenden Werte für die Verbindung **3** angegeben. Bis auf wenige Ausnahmen (**112c**, **112f**, **112a** und **112h**) zeigen die Verbindungen gute bis sehr gute Wirkpotenzen gegenüber dem TGF $\beta$ -Signalweg. Fünf Derivate (**5**, **112d**, **112g**, **112i**, **112j**) zeigen sogar eine deutlich höhere biologische Aktivität als die Referenzverbindung **3**.

Wendet man sich nun dem Selektivitätsprofil und damit der Hemmung des Activin A-Signals zu, so zeigt sich ein etwas anderes Bild, wie in **Abbildung 3.27** zu sehen ist. Die grünen Datenpunkte spiegeln die prozentuale Restaktivität des TGF $\beta$ -, die roten die des Activin A-Signalwegs wider. Die blauen Balken zeigen den Unterschied in den Hemmpotenzen der beiden untersuchten Signalwege. Daneben sind außerdem die Hammett-Konstanten der Substituenten aufgeführt.

Betrachtet man die Inhibitionsprofile der Substanzen, so fällt auf, dass Derivate mit starken elektronenziehenden Eigenschaften generell eine gute Diskriminierung zwischen den beiden untersuchten Signalwegen aufweisen (z.B.: 4"-CF<sub>3</sub>- **112b**, 4"-OCF<sub>3</sub>- **112g** und 4"-Cl-Phenylderivat **112d**). Daneben

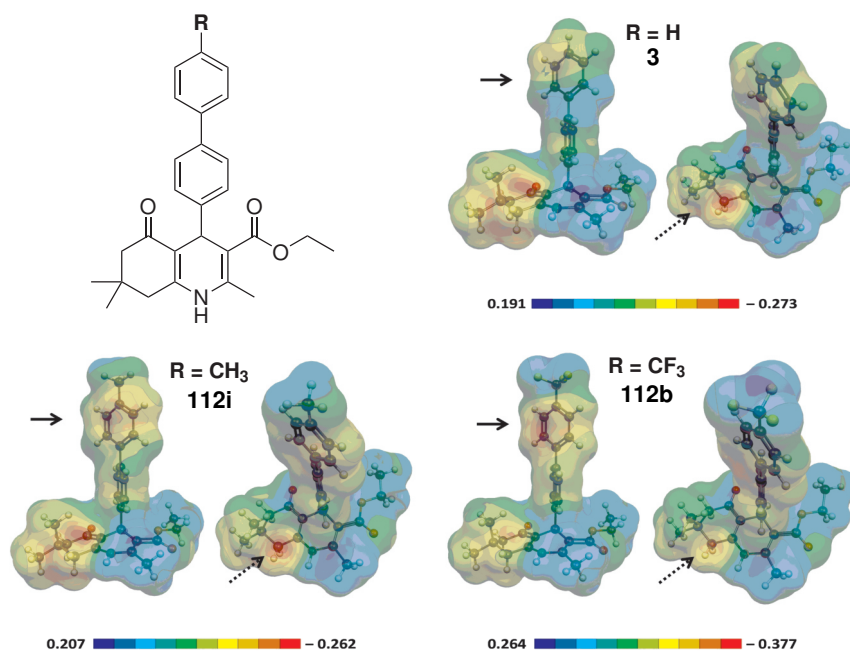
scheint es einen Zusammenhang zwischen den Hammett-Konstanten der Substituenten und den Signalwegsselektivitäten der Derivate zu geben. Ein hoher (positiver) Wert korreliert größtenteils mit einem großen Unterschied in den Hemmpotenzen der beiden untersuchten Signalwege und daher auch mit einer erstrebenswerten Selektivität. Allerdings gilt diese Regelmäßigkeit nicht ohne Einschränkung, denn leider konnte diese These durch die Untersuchung von Derivaten mit sehr hohen Hammett-Konstanten nicht weiter untermauert werden, wie man bei den Derivaten **112c** (4''-SO<sub>2</sub>Me), **112f** (4''-NO<sub>2</sub>) und **112a** (4''-CN) erkennen kann. Bei diesen Verbindungen ist kaum ein Unterschied in ihren Inhibitionsverhalten bzgl. beider Signalwege erkennbar, allerdings ist bei diesen Verbindungen insgesamt wenig biologische Aktivität zu beobachten. Strukturell fällt auf, dass diese relativ inaktiven und unselektiven Derivate zwar durchweg sehr stark elektronenziehende Reste besitzen, allerdings daneben ebenfalls ausgeprägte elektronenziehende mesomere Effekte (-M-Effekte) auf das Ringsystem ausüben.



**Abb. 3.27:** Graphische Gegenüberstellung der prozentualen Inhibition verschiedener 4-substituierter 1,4-Dihydropyridine bei einer Konzentration von 2,5 µM, welche in Smad4-binding element (SBE4) Reporter-genassays in HEK293T-Zellen ermittelt wurden, deren Signalwege entweder über TGFB-2 oder Activin A induziert wurden. Die Werte und Standardabweichungen wurden in n = 2 – 4 unabhängigen Experimenten ermittelt. Statistische Analyse: Paardifferenztest p-Werte: \*\*\* (p ≤ 0.0001), \*\* (p ≤ 0.001), \* (p ≤ 0.05), ns (nicht signifikant). Zusätzlich wurde die Hammett-Konstante für die jeweiligen Substituenten aufgetragen.<sup>[130,202]</sup>

So kann an dieser Stelle gefolgert werden, dass mit verschiedenen Substitutionen an der 4''-Position der 1,4-Dihydropyridine eine möglichst gute Signalwegsselektivität erreicht werden kann, falls Reste eingeführt werden, die starke elektronenziehenden Eigenschaften, einen positiv mesomeren Einfluss auf das aromatische Ringsystem und eine kleine räumliche Größe besitzen. Trägt der Substituent hingegen  $\pi$ -Bindungen, so scheint die Aktivität gegenüber beiden Signalwegen stark reduziert zu sein. Die herausgearbeiteten Ergebnisse unterstreichen, dass die elektronische Struktur der 4-Region von größter Wichtigkeit für die Selektivitätsprofile der 1,4-DHPs sind, weswegen diese genauer untersucht werden sollten. Aus diesem Grund wurde von der Arbeitsgruppe STROHMANN der Technischen Uni-

versität Dortmund von drei Derivaten das jeweilige *molecular electrostatic potential* (MEP) mithilfe von Gaussian 03 (revision E.01)<sup>[239]</sup> berechnet, wie in **Abbildung 3.28** gezeigt. Die Substanzen wurden derart gewählt, dass eine sehr selektive Verbindung **112b** mit einem elektronenziehenden Rest an 4"-Position, ein sehr eng verwandtes, jedoch nur moderat selektives Analogon mit einem elektro-nenschiebenden Substituenten **112i** und die unsubstituierte Referenzverbindung **3** verwendet wurde.

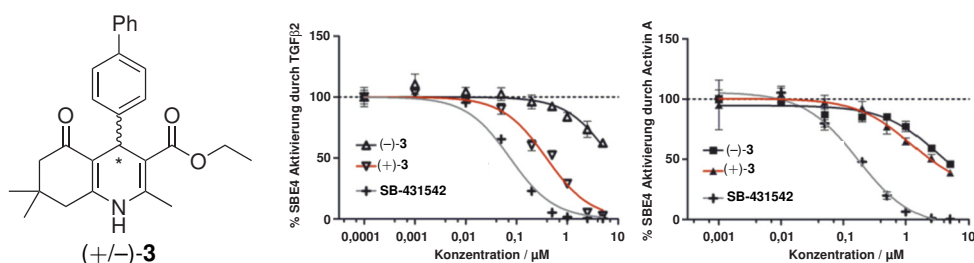


**Abb. 3.28:** Graphische Darstellung der Moleküloberflächen (Radius 1 Å), welche die molekularen Oberflächenpotential- (MEP-) Berechnungen von drei Derivaten zeigen. Die Farben repräsentieren die elektrostatische Oberflächenladung.<sup>[130]</sup>

Interessanterweise widersprechen die Ergebnisse der MEP-Berechnungen der zuvor aufgestellten Erwartung, dass durch stark elektronenziehende Substituenten die Elektronendichte am direkt gebundenen Ring erniedrigt wird. Stattdessen wird durch Substituenten mit  $-I$ -Einfluss hier ein relativ elektronenreiches aromatisches System erzeugt, indem Elektronendichte aus dem weiter entfernten Phenylring abgezogen wird (schwarzer durchgezogener Pfeil in **Abbildung 3.28**), ähnlich wie dies bei Substituenten mit einem  $+M$ -Effekt zu erwarten wäre. Diese Berechnungen führen also zu der Vermutung, dass eine hohe Elektronendichte in diesem Ringsystem (durch  $-I$ - und  $+M$ -Substituenten) nicht nur zu einer hohen Aktivität, sondern auch einer guten Selektivität für den TGF $\beta$ -Signalweg führt.<sup>[130]</sup> Eine weitere unerwartete Entdeckung konnte bei der weiteren Betrachtung der Oberflächenpotentiale gemacht werden: Gemäß der MEP-Berechnungen tragen die *b*-annelierten 1,4-Dihydropyridine einen weiteren Hotspot an Elektronendichte direkt im Grundgerüst. Dieser ist entgegen der Erwartung nicht am Stickstoff lokalisiert, sondern vielmehr zu der benachbarten Methylengruppe in 8-Position verschoben (gestrichelter Pfeil in **Abbildung 3.28**). Dies könnte eine mögliche Erklärung dafür sein, dass ein *b*-annelierter Ring im 1,4-DHP-Grundgerüst für wirksame Inhibitoren des TGF $\beta$ -Signalwegs unabdingbar ist.<sup>[130]</sup>

### 3.3.2 Ermittlung der absoluten Konfiguration des Eutomers von 1,4-Dihydropyridinen als TGF $\beta$ -Signalwegsinhibitoren

In der ersten mechanistischen Untersuchung wurde bereits festgestellt, dass die biologische Wirkung (Kardiogenese und TGF $\beta$ -Signalwegsinhibition) der 1,4-Dihydropyridine enantiomerenabhängig ist. So konnte erarbeitet werden, dass das (+)-Enantiomer allein für die biologische Wirksamkeit verantwortlich ist, wohingegen das (-)-Enantiomer kaum bis keine Aktivität aufweist (vergleiche **Kapitel 1.3.2** auf Seite 11 und **Abbildung 3.29**). Umgekehrt dazu zeigte das (-)-Enantiomer einen deutlich stärkeren Hemmeffekt auf den Activin A-Signalweg als das (+)-Enantiomer, welches hier nur eine sehr geringe Inhibition zeigte.<sup>[79,80]</sup> Diese Entdeckungen erhärten die Vermutung, dass der Wirkmechanismus dieser Verbindungsklasse auf ein einzelnes (TGF $\beta$ -Signalweg-assoziiertes) *Target* abzielt und nicht durch eine Vielzahl von unspezifischen Wechselwirkungen hervorgerufen wird.



**Abb. 3.29:** Übersicht über die unterschiedlichen Aktivitäten der einzelnen 1,4-Dihydropyridin-Enantiomere in einem Smad4-binding element (SBE4) Reporterassay in HEK293T-Zellen, deren Signalweg über TGF $\beta$ -2 oder Activin A induziert wurde. Die Werte und Standardabweichungen wurden in  $n = 2 - 4$  unabhängigen Experimenten ermittelt. Als zusätzliche Kontrolle ist die Inhibitionskurve eines unspezifischen ALK4/5/7-Inhibitors (SB-431542<sup>[77]</sup>) gezeigt.<sup>[79]</sup>

Zusätzlich bietet das Vorhandensein eines Eutomer-/Distomer-Paares einen großen Vorteil bei der Verwendung der 1,4-DHPs zur Aufklärung des Wirkmechanismus. Wie bereits erwähnt, kann der Wert und die Aussagekraft einer *Probe* immens gesteigert werden, falls eine Negativkontrolle generiert werden kann, welche eine sehr hohe strukturelle Ähnlichkeit zur aktiven Verbindung besitzt.<sup>[129]</sup> Die fast ideale Situation liegt bei einem Enantiomerenpaar vor, weil sich die beiden Verbindungen nicht durch chemische Gruppen und damit potentiell andersgearteten Bindungsmodi unterscheiden, sondern lediglich durch die räumliche Orientierung einiger Reste.

Die erste SAR-Studie zu den kardiogenen 1,4-DHPs erreichte die Trennung der Enantiomere durch die Einführung chiraler Ester und der säulenchromatographischen Trennung der so erzeugten Diastereomere.<sup>[79]</sup> Allerdings verblieb die Frage nach der absoluten Konfiguration der einzelnen Enantiomere an dieser Stelle noch offen. Diese Information wäre jedoch von hohem Wert für im Rahmen dieser Arbeit avisierte Computer-gestützte Analysen.



### 3.3.2.1 Versuche zur Synthese von enantiomerenreinen 1,4-Dihydropyridinen mithilfe eines chiralen Phosphorsäurekatalysators

In der Literatur werden vier grundsätzlich unterschiedliche Möglichkeiten vorgestellt, mit deren Hilfe man einzelne Enantiomere von 1,4-Dihydropyridinen erhalten kann, welche im Anschluss kurz vorgestellt werden sollen.

Die erste Methode nutzt zur Trennung der einzelnen Isomere die Säure-Basen-Eigenschaften der Substanzklasse aus. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die Säurefunktionalität an der 3-Position benutzt werden kann, um nach Zusatz von chiralen Basen (z.B.: Cinchonin oder Cinchonidin) diastereomere Salze zu erhalten. Für dieses Verfahren muss die Carbonsäure allerdings frei, d.h. unverestert vorliegen, weshalb ein zusätzlicher Hydrolyse-Schritt notwendig war. Die Trennung des Diastereomerenpaares gelang anschließend aufgrund der unterschiedlichen Kristallisationseigenschaften der diastereomeren Salze. Nach Entfernung der chiralen Hilfsbasen, sowie der Einführung des finalen Esters an die 3-Position, konnten die Enantiomere aufgetrennt erhalten werden.<sup>[240]</sup>

Die zweite Möglichkeit zur Enantiomerentrennung liegt in der kovalenten Einführung von zusätzlichen chiralen Informationen in das 1,4-DHP-Grundgerüst. Auch für diese Methode hat sich die 3-Position bewährt, da chirale Ester sehr einfach über entsprechende Bausteine in der Hantzsch-Synthese eingeführt werden können. Die so hergestellten diastereomeren Verbindungen können dann säulenchromatographisch getrennt werden und nach der Abspaltung der zusätzlichen chiralen Information von der 3-Position, sowie einer entsprechenden Neuveresterung, können die Enantiomere optisch rein erhalten werden.<sup>[241]</sup>

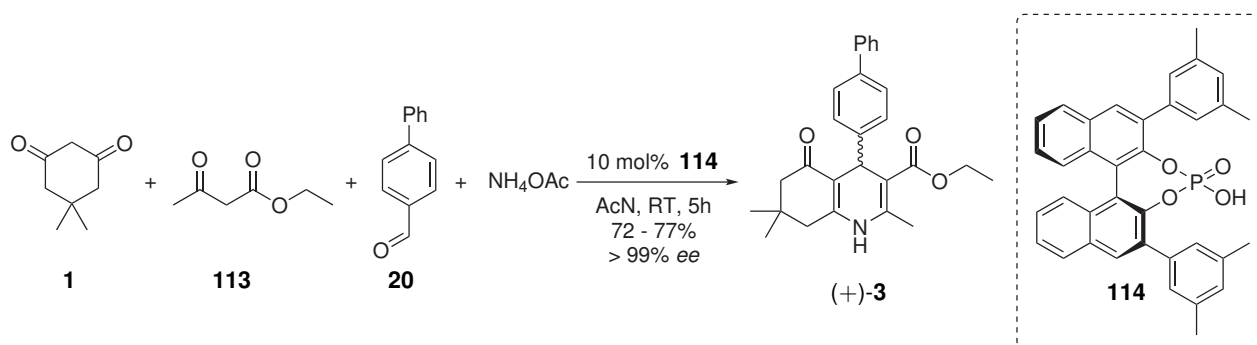
Daneben sind auch viele Beispiele in der Literatur bekannt, bei denen die 1,4-DHP-Enantiomere ohne chemische Modifikationen des Grundgerüsts getrennt werden können. Dies gelingt hauptsächlich über spezielle säulenchromatographische Methoden mit chiral modifizierten festen Phasen wie Cyclodextrinen,<sup>[242]</sup> Methacrylaten<sup>[243]</sup> oder Amylose- und Zellulose-Derivaten.<sup>[244,245]</sup> Der große Vorteil bei diesem Verfahren liegt in der einfachen Reproduzierbarkeit. Das bedeutet, dass sobald eine (HPLC-) Methode entwickelt wurde, diese unbegrenzt und problemlos für weitere Enantiomerentrennungen ohne erneuten großen Aufwand eingesetzt werden kann. Auf der anderen Seite müssen die entsprechenden Trennbedingungen für jedes einzelne Derivat neu entwickelt werden, da diese sich selbst bei ähnlichen Verbindungen kaum ableiten lassen. Außerdem sind die verwendeten Säulenmaterialien sehr kostspielig und werden daher meist nur auf analytischer Basis verwendet.

Die letzte Möglichkeit, die an dieser Stelle diskutiert werden soll, ist die enantiomerenreine Synthese. Hier wird im Gegensatz zu den bisher vorgestellten Techniken versucht, nur ein einzelnes Enantiomer gezielt zu synthetisieren. So sind theoretisch Ausbeuten von bis zu 100% möglich, sofern die Reaktion effizient genug abläuft. Die größte Herausforderung bei diesem Ansatz liegt in der Entwicklung eines Synthesystems mit einer entsprechend hohen Selektivität für ein einzelnes Enantiomer. Gerade bei Multikomponenten-Reaktionen ist dies nicht immer einfach zu erreichen, da sie oftmals aus einer Kaskade von mehreren einzelnen (Gleichgewichts-)Reaktionen zusammengesetzt sind und die Ausbildung des Stereozentrums meist in nur einem Teilschritt abgeschlossen ist. In der Literatur gibt

es prinzipiell zwei Herangehensweisen für die enantiomerenreine Synthese von 1,4-Dihydropyridinen, welche sich durch die Art und Weise unterscheiden, um nur eine einzelne Konfiguration der Produktmoleküle zu erzeugen. Bei der Substrat-kontrollierten Variante wird eine chirale Induktion durch einen der Reaktanden erzeugt. Es hat sich gezeigt, dass sich die Verwendung von chiral substituierten Stickstoffquellen besonders anbot, da diese relativ leicht zu erhalten sind (z.B.: in der Form von Aminosäuren) und nach der vollendeten Reaktion problemlos abspaltbar sind. Daneben kann so relativ gut eine Seite des Dihydropyridin-Ringsystems abgeschirmt werden, da sich das *N*-1-Atom in räumlicher Nähe zu dem späteren Chiralitätszentrum bei *C*-4 befindet und so durch sterisch anspruchsvolle Reste eine gewisse Induktion erreicht werden kann. Ein Beispiel hierfür ist die Synthese von (–)-FRC 8411, bei welcher die chirale Information durch ein Valin-Derivat übertragen wurde.<sup>[241]</sup> Allerdings können bei dieser Methode selbst bei sehr niedrigen Reaktionstemperaturen Enantiomerenüberschüsse von nur maximal 94% erreicht werden, weshalb sie sich nur bedingt zu Herstellung von Derivaten mit sehr hoher optischer Reinheit eignet.<sup>[241]</sup>

Die eleganteste, aber gleichzeitig anspruchsvollste Variante zur enantiomerenreinen Synthese von 1,4-Dihydropyridinen wird als Reagenz-kontrolliert bezeichnet und stellt die Verwendung eines chiralen Katalysators dar. Die Vorteile im Detail liegen darin, dass dieser nach der Reaktion wieder zurückgewonnen werden kann, nicht in stöchiometrischen Mengen eingesetzt werden muss und es keiner zusätzlichen Reaktion nach der 1,4-DHP-Synthese bedarf, sondern das gewünschte Enantiomer direkt isoliert werden kann. Allerdings muss der Katalysator alle Teilreaktionen (effizient) katalysieren können und zusätzlich seine chirale Information bei der Ausbildung des Stereozentrums auf das Zielmolekül übertragen.

Im Jahr 2009 wurde von der Arbeitsgruppe EVANS im Fachjournal *Organic Letters* die enantioselektive Synthese (Enantiomerenüberschuss über 99%) von Verbindung **3** mithilfe eines chiralen Phosphorsäurekatalysators unter recht milden Bedingungen berichtet. Die Reaktion ist in **Abbildung 3.30** gezeigt.<sup>[246]</sup>

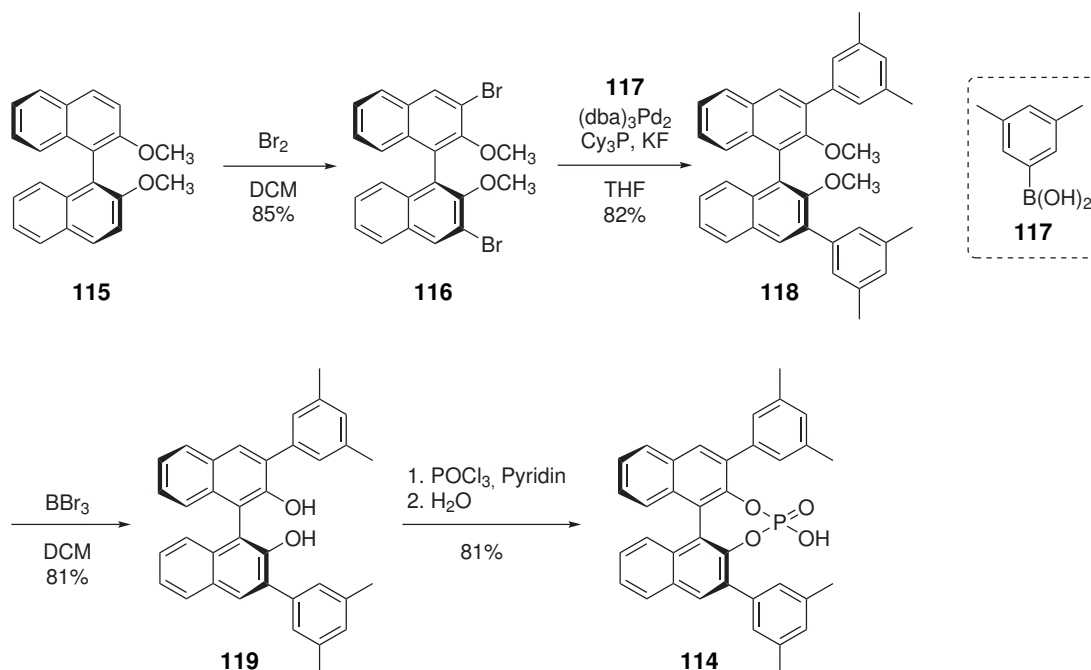


**Abb. 3.30:** Übersicht über die enantioselektive Synthese des (+)-Enantiomers von **3** mit einer Bis(3,5-Dimethylphenyl)-derivatisierten BINOL-basierter Phosphorsäure.<sup>[246]</sup>

Auf dem Markt ist zwar eine sehr große Auswahl an Phosphorsäureestern mit BINOL-Gerüst als chiraalem Rest kommerziell verfügbar, jedoch nicht das von EVANS beschriebene Derivat. Stattdessen kann man eine nah verwandte Verbindung erwerben, welche sich nur durch Trifluormethylgrup-

pen statt der Methylgruppen von dem angesprochenen Katalysator unterscheidet. Interessanterweise kann beim Einsatz dieses Derivats lediglich ein Racemat der Verbindung **3** isoliert werden und es kann keine Enantiomerenanreicherung beobachtet werden. Somit scheinen die elektronischen Eigenschaften elementar für die Wirkungsweise des Katalysators zu sein, weswegen dieser zunächst hergestellt wurde.

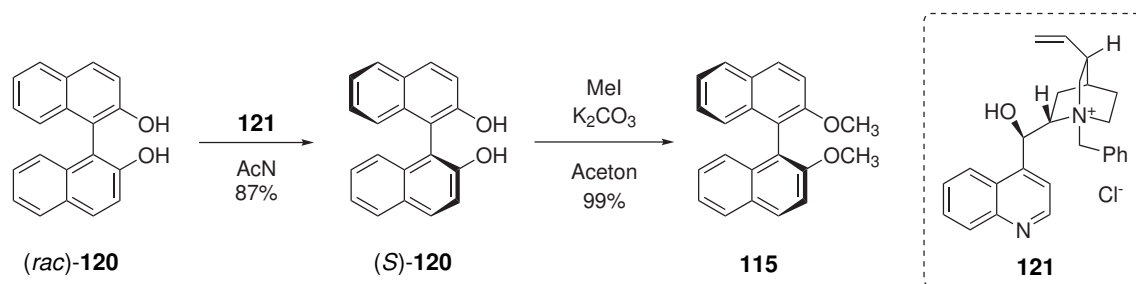
Die Synthese der chiralen Phosphorsäure **114** ist ebenfalls in dem genannten Fachzeitschriftenartikel<sup>[246]</sup> beschrieben und besteht aus vier einzelnen Reaktionsschritten, wie in **Abbildung 3.31** dargestellt.



**Abb. 3.31:** Synthese des Katalysators **114** nach EVANS.<sup>[246]</sup>

Ausgehend von dem kommerziell erhältlichen (*S*)-2,2'-Dimethoxy-1,1'-binaphthalen (**115**) werden zunächst mithilfe von elementarem Brom die Positionen 3 und 3' bromiert, welche anschließend mit 3,5-Dimethylphenylboronsäure (**117**) in einer Suzuki-Kupplung umgesetzt werden. Nach Entfernung der beiden Methylgruppen an den Positionen 2 und 2' mit Bortribromid kann Verbindung **119** mit Phosphorylchlorid einen Phosphorsäurediester ausbilden. Abschließend wird das Säurechlorid mit Wasser hydrolysiert und man erhält den Katalysator in einer Gesamtausbeute von 46%.<sup>[246]</sup>

Zunächst wurde das enantiomerenreine (*S*)-2,2'-Dimethoxybinaphthalen hergestellt, da hiervon eine so große Menge benötigt wurde, dass der Einkauf des einzelnen Enantiomers der Verbindung nicht kosteneffizient war. Die Herstellung der enantiomerenreinen Substanz **115** ist vielfach in der Literatur beschrieben und besteht aus zwei Schritten. Zunächst wurden dazu die Enantiomere der entsprechenden Dihydroxy-Verbindung unter Verwendung von (*8S,9R*)-(-)-*N*-Benzylcinchonidiniumchlorid (**121**) durch Kristallisation getrennt, welche im Anschluss dann mit Methyljodid fast quantitativ zum gewünschten Produkt **115** umgesetzt wurden.<sup>[247]</sup>

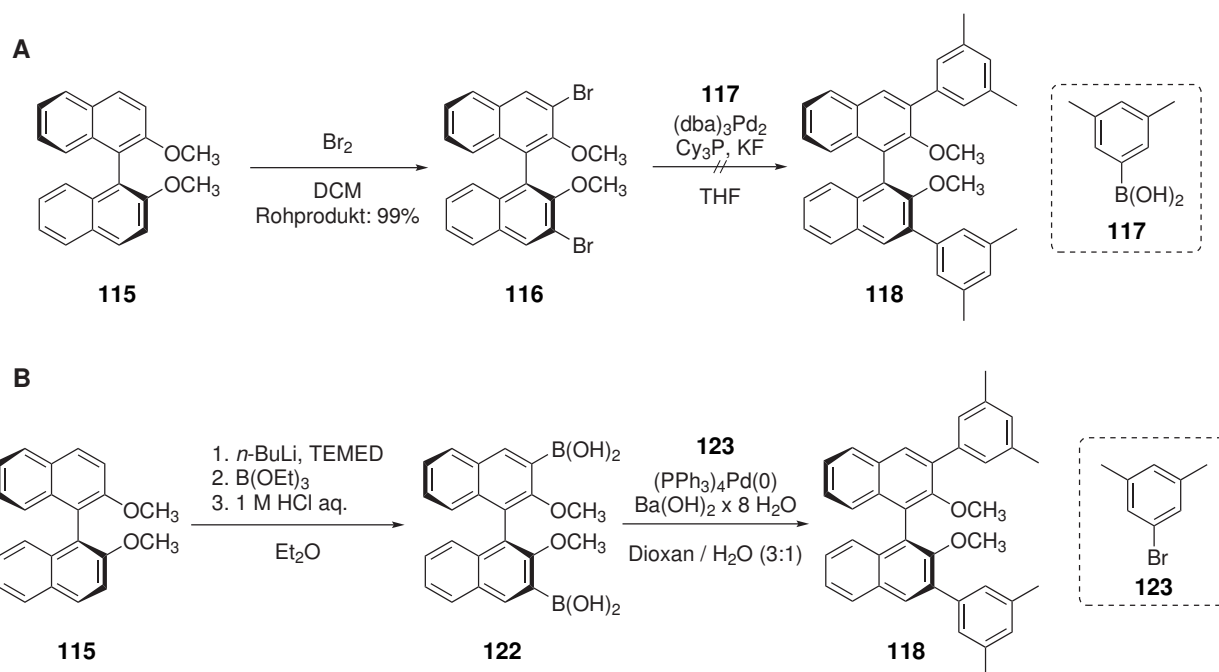


**Abb. 3.32:** Darstellung des enantiomerenreinen BINOL-Derivats **115**.<sup>[247]</sup>

Als nächstes sollte die oben aufgeführte Synthese des Katalysators gemäß der Literatur<sup>[246]</sup> durchgeführt werden. Bei der Durchführung traten jedoch einige Probleme auf. So konnte nach dem ersten Schritt, der Bromierungsreaktion, Verbindung **116** nicht aufgereinigt werden, da weder mithilfe der beschriebenen Chromatographiemethode, noch mithilfe von verschiedensten Kristallisationsversuchen ein reines Produkt erhalten werden konnte. Somit musste der nächste Schritt, die Suzuki-Reaktion, mit dem Rohprodukt durchgeführt werden. Betrachtet man allerdings die Literaturvorschrift, so fällt auf, dass auch hier kein reines Edukt für die Kreuzkupplungsreaktion eingesetzt wurde, sondern auch direkt ein nicht aufgereinigtes Edukt verwendet wurde. Nach der Umsetzung mit 3,5-Dimethylphenylboronsäure (**117**) unter Suzuki-Bedingungen konnte jedoch kein Reaktionsumsatz beobachtet werden. Isoliert wurde hingegen ein Addukt aus der bromierten Ausgangsverbindung **116** und dem Palladiumliganden dba (Dibenzylidenacetone). Auch durch diverse Variationen der Reaktionsbedingungen, wie Erhöhung der Katalysator- und Boronsäureäquivalente oder der Reaktionszeit, erbrachten keine Produktbildung. Vermutlich kann das Scheitern der Reaktion auf die unzureichende Reinheit des Edukts zurückgeführt werden, welche aber nicht verbessert werden konnte. Daher wurde als nächstes zwar an dem Konzept der Suzuki-Kupplung festgehalten, jedoch wurde die Funktionalisierung der Edukte variiert.<sup>[248]</sup> Dies ist in **Abbildung 3.33** noch einmal gezeigt.

Bei der alternativen Route zur Synthese der Verbindung **118** wird das 2,2'-Dimethoxybinaphthalen (**115**) zunächst mit einer starken Base (*n*-Butyllithium) an den Positionen 3 und 3'-deprotoniert, welche im Anschluss nukleophil mit Borsäuretriethylester reagieren. Der so erhaltene doppelte Boronsäure-diethylester wird darauffolgend mit wässriger Salzsäure hydrolysiert, wodurch die Diboronsäure **122** entsteht. Dieser Schritt war allerdings in der Aufreinigungsprozedur problematisch. Entsprechend der Literaturvorschrift<sup>[248]</sup> sollte das Rohprodukt aus Toluol kristallisiert werden, jedoch löste sich auch bei sehr großen Mengen der aus der Synthese erhaltene Feststoff nicht vollständig, weswegen die Isolation des Produkts über eine Normalphasen-Säulenchromatographie durchgeführt wurde (Fließmittel: Cyclohexan/Ethylacetat, 20% – 100%). Interessanterweise konnte selbst bei maximalem prozentuaalem Anteil des polaren Lösungsmittels keine Fraktion identifiziert werden, welche die Verbindung **122** enthielt. Zusätzlich konnte durch deutliche Verfärbungen der Chromatographiesäule beobachtet werden, dass eine sehr große Menge an Substanz noch auf der Trennsäule zurückgeblieben ist. Diese konnte erst durch einen Wechsel zu einem neuen Fließmittelsystem (Ethylacetat/Methanol) und einem sehr hohen Anteil an Methanol (40%) von der Säule eluiert werden. NMR-spektroskopische

Untersuchungen ergaben, dass diese Fraktion aber nicht dem Produkt **122** entsprach, da es keine freien Boronsäure-Gruppen trug, sondern stattdessen 1–3 Methylestergruppen beinhaltete. Nach erneuter Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure konnte das gewünschte Reaktionsprodukt **122** je nach Ansatzgröße mit Ausbeuten von 49 – 63% erhalten werden.



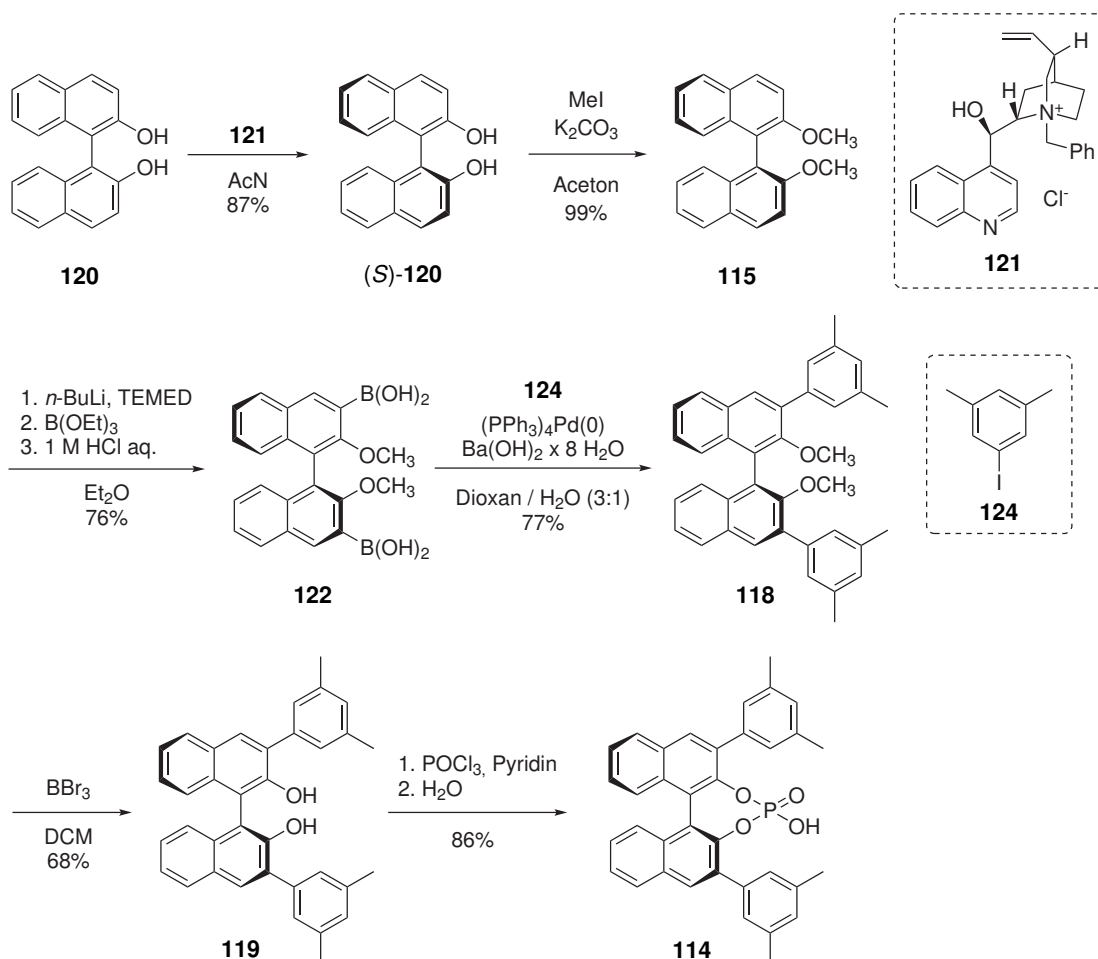
**Abb. 3.33:** **A:** Vorgeschlagene Syntheseroute zur Darstellung des Intermediates **118** gemäß der Literaturvorschrift,<sup>[246]</sup> wobei die Suzuki-Kupplung fehlschlug. **B:** Neue Syntheseroute mit umgekehrten Funktionalitäten der Edukte.<sup>[248]</sup>

Eine Erklärung für dieses unerwartete Verhalten während der Säulenchromatographie könnte die spontane Veresterung der Boronsäuren mit den Hydroxyl-Gruppen des Kieselgels bieten. Diese konnten dann später durch den sehr hohen Anteil an Methanol zur Elution gebracht werden, indem diese partiell neu verestert wurden (Alkoholyse). Ein ähnliches Verhalten konnte bei dem Versuch das Rohprodukt aus einem Gemisch aus Cyclohexan und Ethylacetat zu kristallisieren beobachtet werden. Hier wurde eine unvollständige Veresterung der Boronsäurefunktionalitäten mit Ethylgruppen festgestellt, was bedeutet, dass eine Umesterung mit dem Lösungsmittel Ethylacetat stattfand. Die Umkristallisation als Aufreinigungsmethode erbrachte allerdings höhere Ausbeuten von bis zu 76%, weswegen in allen nachfolgenden Reaktionsansätzen diese Variante verwendet wurde.

Die anschließende Suzuki-Kreuzkupplung mit 3,5-Dimethylphenylbromid (**123**) verlief mit nur mäßigen Ausbeuten von 62%, welche aber durch die Verwendung des entsprechenden Iodids **124** auf 77% gesteigert werden konnte. Als nächstes folgte die Etherspaltungen der 2,2'-Dimethoxygruppen mithilfe der starken Lewisäure Bortribromid, welche unproblematisch mit soliden Ausbeuten von 68% verlief.<sup>[246,248]</sup>

Der finale Schritt der Katalysatorsynthese besteht aus der Phosphorylierung der Dihydroxygruppen unter Verwendung von Phosphorylchlorid. Dazu wird das Edukt **119** in einer Mischung aus dem

Phosphorylierungsreagenz (Phosphorylchlorid) und Pyridin bei Raumtemperatur für fünf Stunden gerührt.<sup>[246]</sup> Allerdings konnte zu Beginn kein Reaktionsumsatz festgestellt werden, trotz vollständiger analytischer Verifizierung des Edukts und der Verwendung von frisch und unter einer Schutzgasatmosphäre destilliertem Phosphorylchlorids. Ein Reaktionserfolg stellte sich erst nach dem Wechsel des Pyridin-Herstellers ein und der finale Katalysator konnte im letzten Schritt mit einer Ausbeute von 86% erhalten werden.



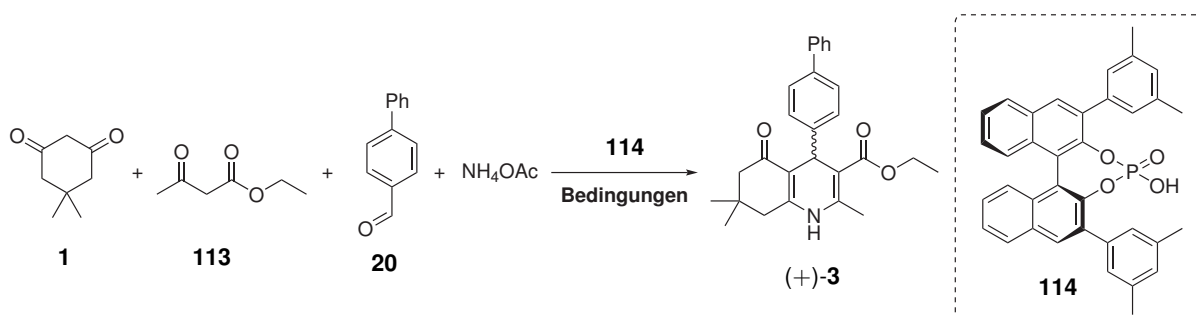
**Abb. 3.34:** Gesamte Syntheseübersicht zur Darstellung des chiralen Phosphorsäurekatalysators **114** mit einer Gesamtausbeute von 29%.

Die gesamte Syntheseroute ausgehend von 1,1'-Bi-2-naphthol (**120**) bis zum gewünschten Endprodukt **114** umfasste sechs Einzelreaktionen mit einer Gesamtausbeute von 29% und ist in **Abbildung 3.34** gezeigt.

Anschließend wurde der hergestellte Katalysator für die 1,4-Dihydropyridin-Synthese angewendet. Die Reaktionsbedingungen wurden aus der Literaturstelle von EVANS übernommen und 10 mol% der chiralen Phosphorsäure wurden bei Raumtemperatur mit den Edukten **1**, **113**, **20** und Ammoniumacetat in Acetonitril für fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt (vgl. **Tabelle 3.10**, Eintrag 1).<sup>[246]</sup> Die Enantiomerenreinheit des so hergestellten 1,4-DHPs wurde anschließend mithilfe einer

NMR-Methode unter Zuhilfenahme eines chiralen Adduktbildners bestimmt, wie bereits in der Literatur beschrieben.<sup>[79]</sup>

**Tab. 3.10:** Übersicht über die verschiedenen getesteten Reaktionsbedingungen zur Darstellung des enantiomerenreinen 1,4-DHP-Derivats (+)-**3** mithilfe des Katalysators **114**.

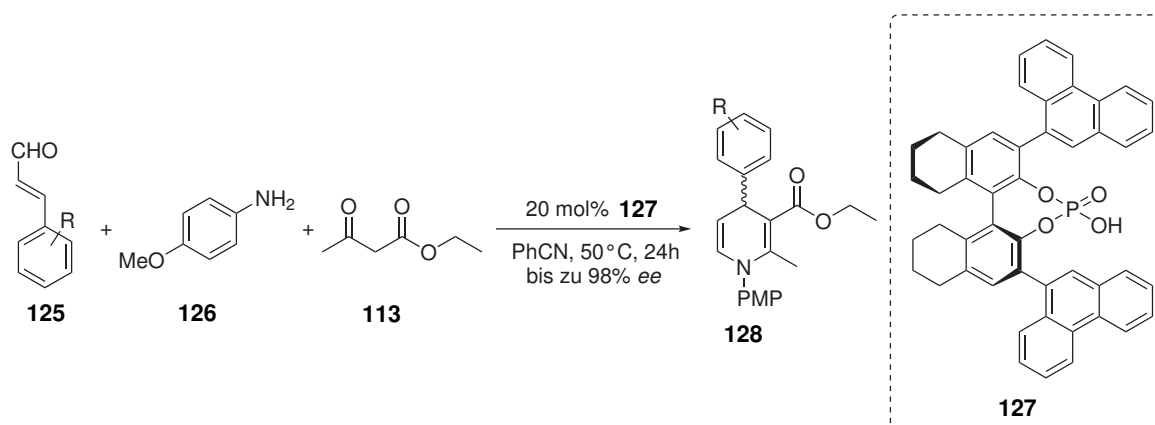


Bedingung	Moläquivalente Katalysator	Lösungsmittel	Temperatur	Reaktionsdauer	Enantiomerenanreicherung
1	0,1	Acetonitril	Raumtemperatur	5h	keine
2	1,0	Acetonitril	Raumtemperatur	5h	keine
3	0,1	Toluol	Raumtemperatur	5h	keine
4	0,1	Dichlormethan	Raumtemperatur	5h	keine
5	0,1	Acetonitril	4 °C	24h	keine

Das Ergebnis dieses ersten Ansatzes führt zu einem gewissen Grad an Verwunderung, da auf diese Weise leider kein einzelnes Enantiomer isoliert werden konnte, sondern vielmehr ein Racemat der Verbindung **3** isoliert wurde. Auch bei diversen Anpassungen der Reaktionsbedingungen, wie die Erhöhung der Katalysatormenge auf 100 mol%, der Wechsel zu unpolaren Lösungsmitteln zur Verstärkung des Bindungskontakts zwischen Katalysator und Zwischenprodukten und die Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf 4 °C führte nicht zum Erfolg, wie **Abbildung 3.10** zu entnehmen ist. Um sicher auszuschließen, dass der im Rahmen dieser Arbeit hergestellte Katalysator nicht ursächlich für den ausbleibenden Erfolg der enantiomerenreinen Synthese ist, wurden intensivere NMR-Studien durchgeführt. So konnte mit diversen ein- und zweidimensionalen Kernresonanzexperimenten zweifelsfrei die Identität diverser Zwischenstufen, sowie des finalen Katalysators bestätigt werden. Daneben konnte außerdem die Inkooperation eines Phosphoratoms in der Struktur durch <sup>31</sup>P-Messungen nachgewiesen werden. Zuletzt wurde die optische Rotation des hergestellten Katalysators auf  $[\alpha]_D = +380,2^\circ$  (Literaturwert für das *R*-Enantiomer:  $-299,1^\circ$ ,  $c = 1,3\text{g}/100\text{mL}$  in Chloroform<sup>[249]</sup>) bestimmt. Der im Vergleich zu der Literatur etwas erhöhte Wert kann auf die fehlende Möglichkeit zur Temperaturkontrolle am verwendeten Polarimeter zurückgeführt werden. Allerdings lässt sich aus dem hohen spezifischen Drehwert der Verbindung auf eine sehr klare Enantiomerenreinheit des hier hergestellten Katalysators schließen und somit kann auch dies als mögliche Fehlerquelle ausgeschlossen werden. Auf Basis dieser Daten bleibt nun lediglich die Schlussfolgerung, dass mit den in dieser Arbeit verwendeten Materialien die Ergebnisse der Literatur<sup>[246]</sup> nicht reproduzierbar

waren.

Zusätzliche Zweifel an den Erfolgsaussichten dieser enantioselektiven Synthese säht ein weiterer Artikel aus der Literatur, welcher die asymmetrische Synthese von 1,4-Dihydropyridinen mit chiralen Phosphorsäure-basierten Katalysatoren beschreibt.<sup>[250]</sup> In **Abbildung 3.35** sind das Reaktionsschema und der verwendete Katalysator gezeigt.



**Abb. 3.35:** Die von JIAN *et al.* vorgestellte asymmetrische Synthese eines enantiomerenangereicherten 1,4-Dihydropyridins mithilfe des chiralen Phosphorsäurekatalysators **127**.<sup>[250]</sup>

In den beiden angesprochenen Veröffentlichungen wurden mithilfe von leicht verschiedenen Katalysatoren zwar recht ähnliche, jedoch nicht die selben 1,4-DHP-Derivate hergestellt. Daraus lassen sich einige Schlussfolgerungen zu den Erfolgswahrscheinlichkeiten beider Methoden ziehen. Die prinzipiellen Abweichungen der beiden Studien soll im Folgenden kurz dargelegt und abschließend bewertet werden.

Betrachtet man zunächst die Zielstrukturen der einzelnen Synthesen, so lassen sich zwei grundlegende Unterschiede zwischen den von JIAN *et al.* publizierten 1,4-Dihydropyridinen und den hier behandelten Derivaten feststellen. Zum einen ist hier das *N*-1-Atom mit einer *p*-Methoxyphenyl-Gruppe (PMP-Gruppe) substituiert und zum anderen fehlt die Annelierung der *b*-Bindung mit einem zusätzlichen Ringgerüst. Diese zwei Punkte sind entscheidend für die Ausbildung des chiralen Zentrums während der Synthese, da als Reaktionsmechanismus eine enge Koordination des Phosphorsäurekatalysator an den Stickstoff postuliert wird, wodurch dieser seine chirale Information an das Produkt weitergibt.<sup>[250]</sup> Bietet das Stickstoffatom nun wenig Platz für die Bindung des Katalysators wie durch die Substitution mit einem (PMP-) Rest, so ist die Beweglichkeit der sterisch anspruchsvollen Phosphorsäure während der Koordination an das Molekül deutlich eingeschränkt und eine starrere Konformation wird bei dem Übertrag der chiralen Information eingenommen. Außerdem sind wie bereits angesprochen beide Seiten des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts deutlich verschiedener Natur. Während die eine Seite eine Methyl- und eine Ethylestergruppe (Position 2 und 3 im Molekül) trägt, sind auf der anderen Seite lediglich Wasserstoffatome zu finden und es liegt kein *b*-Annelant vor. Somit ist hier deutlich mehr Raum für die sterisch sehr anspruchsvollen Reste des Katalysators vorhanden und dieser kann sich so besser ausrichten und stärker binden.

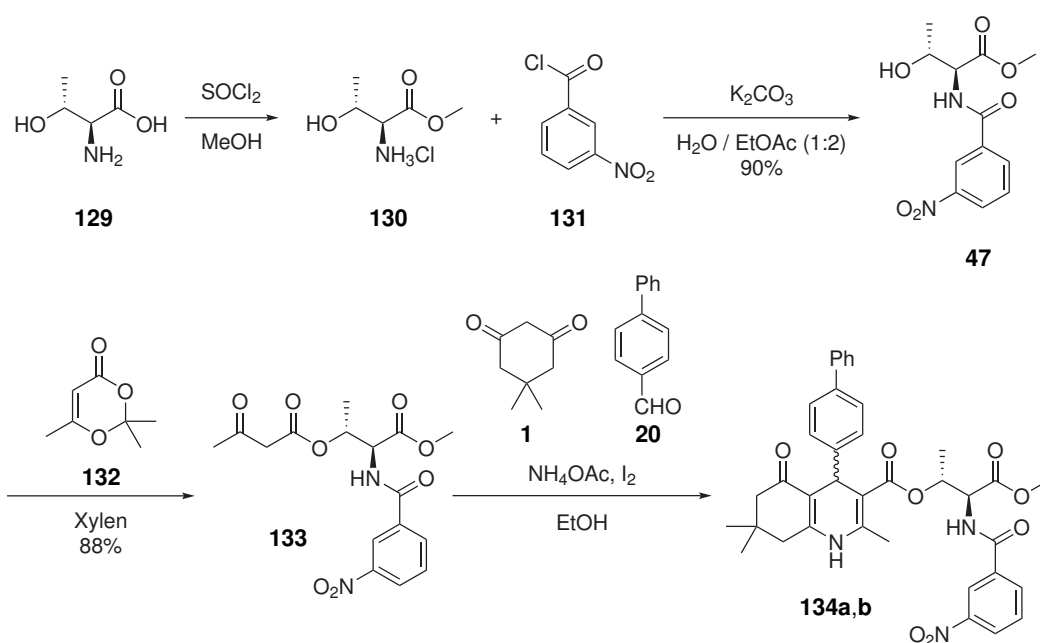


Vergleicht man als nächstes die verwendeten Katalysatoren, so fallen auch hier zwei große Unterschiede zwischen denjenigen von EVANS und von JIANG *et al.* berichteten auf. Zum einen sind beim zuletzt genannten die Reste an den Positionen 3 und 3' deutlich platzfordernder und zum anderen liegen die annelierten Ringsysteme hydriert vor, sodass ein noch stärkerer Torsionswinkel um die Bindung zwischen den Positionen 1 und 1' erzwungen wird. Diese beiden Unterschiede führen also dazu, dass der Katalysator eine größere Ebene aufspannt und noch stärker zwischen den möglichen Enantiomeren diskriminiert. Zuletzt fällt auf, dass die maximale Enantiomerenanreicherung in dieser Synthese bei 98% liegt, wohingegen bei der von EVANS beschriebenen Route >99% ee möglich sein sollen.<sup>[246,250]</sup>

Zusammenfassend wurde von JIANG also ein Synthesystem beschrieben, welches durch strukturelle Eigenschaften der 1,4-Dihydropyridin-Edukte, aber auch durch die des Katalysators die Synthese eines einzelnen Enantiomers begünstigt, jedoch keine vollständige optische Reinheit erreicht werden kann. Bei EVANS hingegen wurde eine enantiomerenreinen Synthese von 1,4-Dihydropyridinen mit höheren Enantiomerenanreicherungen berichtet, welche jedoch aufgrund der strukturellen Eigenschaften der Produkte und des geringeren sterischen Anspruchs der chiralen Phosphorsäure deutlich ambitionierter anzusehen sind.<sup>[246,250]</sup> Durch diesen direkten Vergleich sind begründete Zweifel an der von EVANS<sup>[246]</sup> veröffentlichten Synthese angebracht. Ähnliche Bedenken scheinen auch bei den Autoren dieser als kritisch anzusehenden Studie aufgetaucht zu sein, da nach einigen Jahren eine Korrektur des Artikels vorgenommen wurde, in welcher das hier untersuchte 1,4-DHP-Derivat, **3**, aus der Substanzliste gestrichen wurde.<sup>[251]</sup>

### 3.3.2.2 Synthese von enantiomerenreinen 1,4-Dihydropyridinen durch Einführung eines chiralen Esters

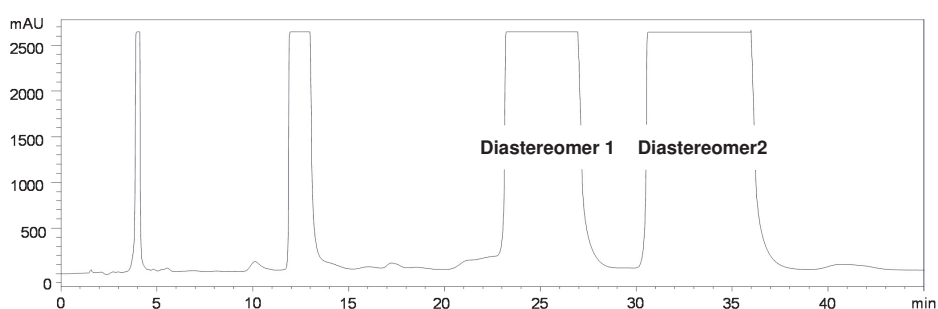
Nachdem der Versuch ein enantiomerenreines 1,4-Dihydropyridin mithilfe eines chiralen Katalysators zu synthetisieren fehlschlug, wurde nach einer weiteren Möglichkeit gesucht, dieses Ziel möglich zeiteffizient und mit geringem Optimierungsaufwand zu erreichen. Es ist bereits bekannt, dass einzelne Enantiomere der Verbindung **3** über chirale Ester mit anschließender säulenchromatographischer Auftrennung erhalten werden können.<sup>[79]</sup> Hierzu wurde als chirales Auxiliar ein Threoninmethylester-Derivat verwendet, welches nach der Diastereomerenauftrennung über eine  $\beta$ -Eliminierung mit der sterisch anspruchsvollen Base DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en) entfernt werden kann. Nach erneuter Veresterung mit Ethylbromid können auf diese Weise die einzelnen Enantiomere erhalten werden.<sup>[130]</sup> Die Schlüsselschritte sind noch einmal in **Abbildung 3.36** gezeigt.



**Abb. 3.36:** Übersicht über die Synthese des Diastereomerenpaares **134a,b** nach der Literatur, welches im Anschluss säulenchromatographisch getrennt werden muss.<sup>[79]</sup>

Das Diastereomerenpaar **134a,b** konnte problemlos entsprechend der Literaturvorschrift<sup>[79]</sup> nachsynthetisiert werden und sollte im Anschluss über eine Säulenchromatographie aufgetrennt werden. Entgegen der in der Literatur beschriebenen Methode zur Auftrennung über eine Normalphasen-Schwerkraft-getriebene Chromatographie gelang es, eine isokratische HPLC-Umkehrphasen-Methode zu entwickeln, welche eine Basislinientrennung der Diastereomere ermöglichte. Die Methode verwendete ein ternäres Fließmittelsystem aus Wasser, Acetonitril und Methanol im Verhältnis 30:27:43 auf einer Macherey-Nagel, VarioPrep, Nucleodur C18ec-Säule (5 $\mu$ , 250 mm x 21 mm) und einem Fließmittelfluss von 20 mL/min. So konnten pro Durchlauf bis zu 40 mg des Diastereomerenpaares getrennt werden. Ein repräsentatives Chromatogramm ist in der **Abbildung 3.37** gezeigt. Interessanterweise entstehen während der Synthese beide Diastereomere nicht zu gleichen Anteilen und

stattdessen wird das später eluierende Derivat in doppelt so großer Menge erhalten. Daraus lässt sich vermuten, dass die Orientierung der zusätzlichen chiralen Zentren und Resten des Threonin-Esters eine Art von chiraler Induktion erzeugen und so die Bildung von einem Diastereomer bevorzugt wird. Benutzt man für diese Synthese nun den oben beschriebenen chiralen Katalysator **114** und die entsprechenden Bedingungen,<sup>[246]</sup> so ist das Verhältnis noch weiter in Richtung des zweiten Diastereomers verschoben und das Verhältnis beider Isomere liegt bei 4:1. Hieraus lässt sich schließen, dass der beschriebene Katalysator doch funktional sein könnte, solange sich die beiden Seiten in direkter Nachbarschaft zu dem chiralen Zentrum hinreichend stark unterscheiden. Jedoch muss an dieser Stelle angemerkt werden, dass dies nur die Ergebnisse von Vorversuchen darstellt und im Rahmen dieser Arbeit konnte keine vollständige Untersuchung dieses Sachverhalts durchgeführt wurde.

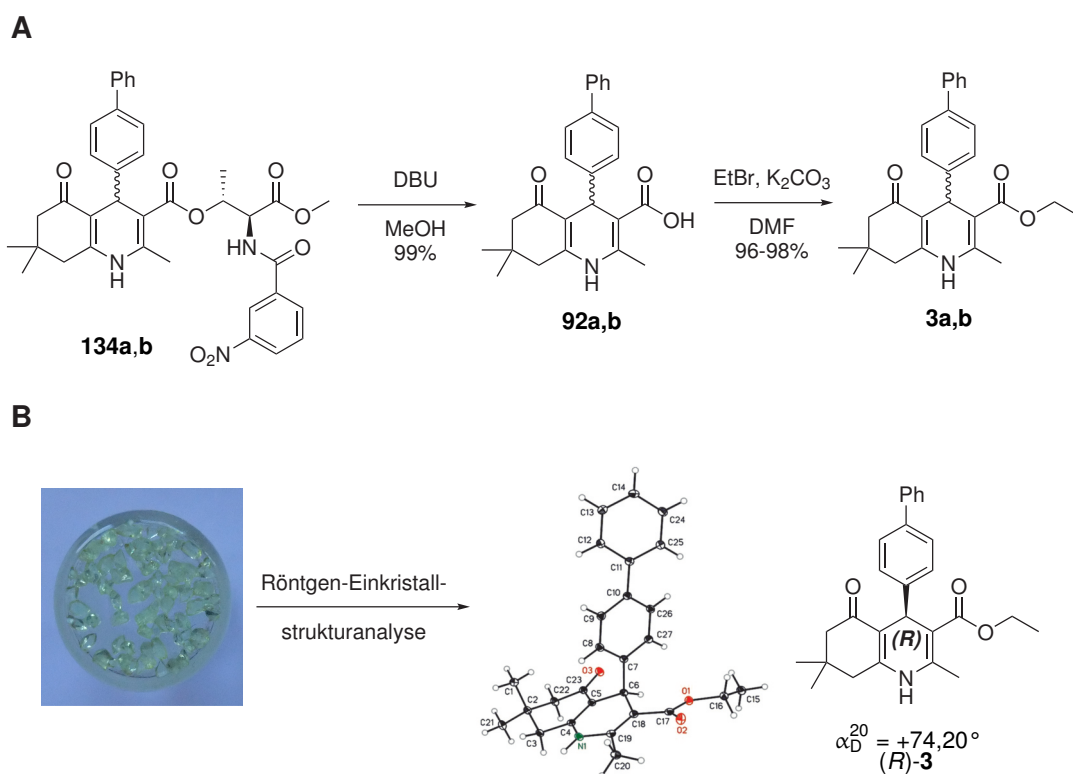


**Abb. 3.37:** Repräsentatives HPLC-Chromatogramm von der Auftrennung des Diastereomerenpaares **134a,b** auf einer HPLC-Säule von Macherey-Nagel, VarioPrep, Nucleodur C18ec (5 $\mu$ , 250 mm x 21 mm) und einem Fluss von 20 mL/min mit einem ternären Fließmittelgemisch aus Wasser, Acetonitril, Methanol (30:27:43).<sup>[130]</sup>

Nachdem nun beide Diastereomere getrennt wurden, konnten entsprechend der Literatur<sup>[79]</sup> die Threonin-basierten Estergruppen mithilfe von DBU in quantitativer Ausbeute entfernt werden und mit Ethylbromid zu den entsprechenden Enantiomeren der Verbindung **3** umgesetzt werden.<sup>[130]</sup> Tatsächlich bestätigt sich durch den Vergleich der optischen Rotation des (+)-Enantiomers mit dem Literaturwert ( $[\alpha]_D^{20} = +74,20^\circ$ ,<sup>[130]</sup> Literaturwert:  $+68,05^\circ$ <sup>[79]</sup>), dass durch die neu entwickelte HPLC-Methode eine deutlich bessere Trennung der Diastereomere erreicht werden konnte. Nun besitzen die Verbindungen eine ausreichend hohe Reinheit, um diese kristallisieren und mittels Röntgen-Einkristallstrukturanalyse die absolute Konfiguration ermitteln zu können. Die Kristallisation wurde durch langsames Verdampfen einer gesättigten ethanolischen Lösung des (+)-Enantiomers erreicht. Aus den so erhaltenen Einkristallen konnte durch die Arbeitsgruppe STROHMANN der Technischen Universität Dortmund die Kristallstruktur gelöst werden.<sup>[130]</sup>

Anhand der Kristallstrukturanalyse konnte herausgearbeitet werden, dass das kardiogene Eutomer der Verbindung **3** (*R*)-konfiguriert ist und somit das (–)-Enantiomer die (*S*)-Konfiguration besitzt. Generell ist bei dieser Kristallstruktur wie in entsprechenden Literaturstrukturen<sup>[252,253]</sup> die für 1,4-Dihydropyridine typische abgeflachte Boot-Konformation des Grundkörpers zu erkennen, sowie dass das Sauerstoffatom der Carbonyl-Gruppe des Esters in Richtung C20 verdreht ist. Einen interessanten Unterschied erkennt man lediglich, wenn man die Winkel zwischen der Ebene des 1,4-Dihydro-

pyridin-Rings und des Substituenten an 4-Position mit Daten aus der Literatur vergleicht, da dieser relativ flach in Verbindung **3** ausfällt. Ob dieser Aspekt jedoch einen entscheidenden Einfluss auf die Wirkungsweise der 1,4-Dihydropyridine im Kontext der TGF $\beta$ -Hemmung besitzt, bleibt weiteren Untersuchungen überlassen.<sup>[130]</sup>



**Abb. 3.38:** **A:** Übersicht über die Synthese der finalen Enantiomere nach der Diastereomerentrennung mittels HPLC-Methode.<sup>[79]</sup> **B:** Einkristalle und der entsprechende ORTEP-Plot des (+)-, bzw. (*R*)-Enantiomers von Verbindung **3**.<sup>[130]</sup>

Zusammengefasst lässt sich also festhalten, dass es gelungen ist, die absolute Konfiguration des kardiogenen Eutomers als (*R*)-Enantiomer mithilfe von Röntgenkristallstrukturanalysen zu identifizieren. Zwar war die initiale Strategie zum Erhalt der enantiomerenreinen Verbindung mithilfe eines literaturbekannten chiralen Katalysators erstaunlicherweise nicht erfolgreich, jedoch konnte über einen etwas aufwändigeren Weg hochreine Verbindungen erhalten werden. Dazu musste ein bereits bekanntes Diastereomerenpaar<sup>[79]</sup> synthetisiert und anschließend über eine neu entwickelte HPLC-Methode getrennt werden, wodurch hoch enantiomerenreine Verbindungen erzeugt wurden.<sup>[130]</sup>

Bei der Diskussion der Kristallstruktur der Verbindung **3** konnten einige Parallelen bereits literaturbekannten 1,4-Dihydropyridinen aufgestellt werden. So zeigen alle eine abgeflachte Boot-Konformation, wobei jedoch einige Winkel in der Nähe des 4-Restes je nach Substitutionsmuster abweichen. Mit diesen neu gewonnen Informationen konnten nun anschließend auch Computergestützte Verfahren Anwendung finden, wie die Erstellung von 3D-QSAR-Modellen (s. **Abschnitt 3.3.3**) oder der Einsatz von *Scaffold Hopping*-Ansätzen zum vollständigen Wechsel der Grundstruktur (vgl. **3.4** auf Seite **119**).

### 3.3.3 Erstellung und Bewertung eines 3D-QSAR-Modells auf Basis der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine

3D-QSAR-Modelle werden häufig zur Korrelation von biologischen Aktivitäten mit den strukturellen Eigenschaften einer Bibliothek niedermolekularer Verbindungen genutzt und finden breite Anwendung in der modernen medizinisch-chemischen Forschung.<sup>[254]</sup> Häufig wird diese Technik dazu verwendet, Bindungsmodi zu validieren und Vorschläge für neue Substitutionsmuster zu generieren. Die höchste Genauigkeit bei QSAR-Berechnungen kann typischerweise erreicht werden, wenn *Target*-basierte Daten von spezifischen biochemischen Assays für die Erstellung des Modells verwendet werden, da sich bei komplexeren zellulären Assays typischerweise viele zusätzliche Effekte, wie beispielsweise *Off-Target*-Aktivitäten oder Zellmembrangängigkeit auf die gemessenen biologischen Werte niederschlagen. Außerdem werden die Rechenmodelle umso aussagekräftiger, je breiter der biologische numerische Wertebereich ist, in welchem die zu untersuchende Substanzbibliothek Aktivitäten aufweist. In diesem Zusammenhang gilt die Faustregel, dass drei Zehnerpotenzen für ein hinreichend valides Modell benötigt werden.<sup>[255–258]</sup>

Für die Substanzbibliothek der in dieser Arbeit beschriebenen 1,4-Dihydropyridine liegt das Hauptaugenmerk des 3D-QSAR-Modells in der Untermauerung der Eingangsvermutung, dass durch diese Verbindungen nur ein einzelnes *Target* bzw. ein spezieller Wirkmechanismus im Kontext des TGF $\beta$ -Signalwegs adressiert wird und keine allzu gravierenden *Multitarget*-Effekte oder intrinsische Einflüsse der Substituenten, wie zum Beispiel Lipophilie, in der biologischen Wirkung beobachtet werden. Das hier vorgestellte Modell wurde innerhalb der Masterarbeit von ELENA HEIDER<sup>[194]</sup> in einem Kollaborationsprojekt mit der Arbeitsgruppe von KOCH der Technischen Universität Dortmund erarbeitet und wurde bereits in einer Fachzeitschrift veröffentlicht.<sup>[130]</sup>

Zunächst wurden aus allen erstellten Struktur-Aktivitätsbeziehungen diejenigen Verbindungen ausgewählt, die bei einer Konzentration von 2,5  $\mu$ M eine generelle Aktivität in unserem SBE4-Reporterassay aufzeigen, was zu einem Trainingsdatensatz von 58 Molekülen und einem Testdatensatz von 19 Derivaten führte. Im Anschluss wurden von diesen Verbindungen die möglichen Konformationen so festgelegt, dass sie mit der Kristallstruktur des (*R*)-konfigurierten Enantiomers der Verbindung **3** überlagern, da die Orientierung des 4-Substituenten maßgeblichen Einfluss für die biologische Aktivität besitzt und daher auch von entscheidender Bedeutung für das 3D-QSAR-Modell sein muss.<sup>[79,130]</sup>

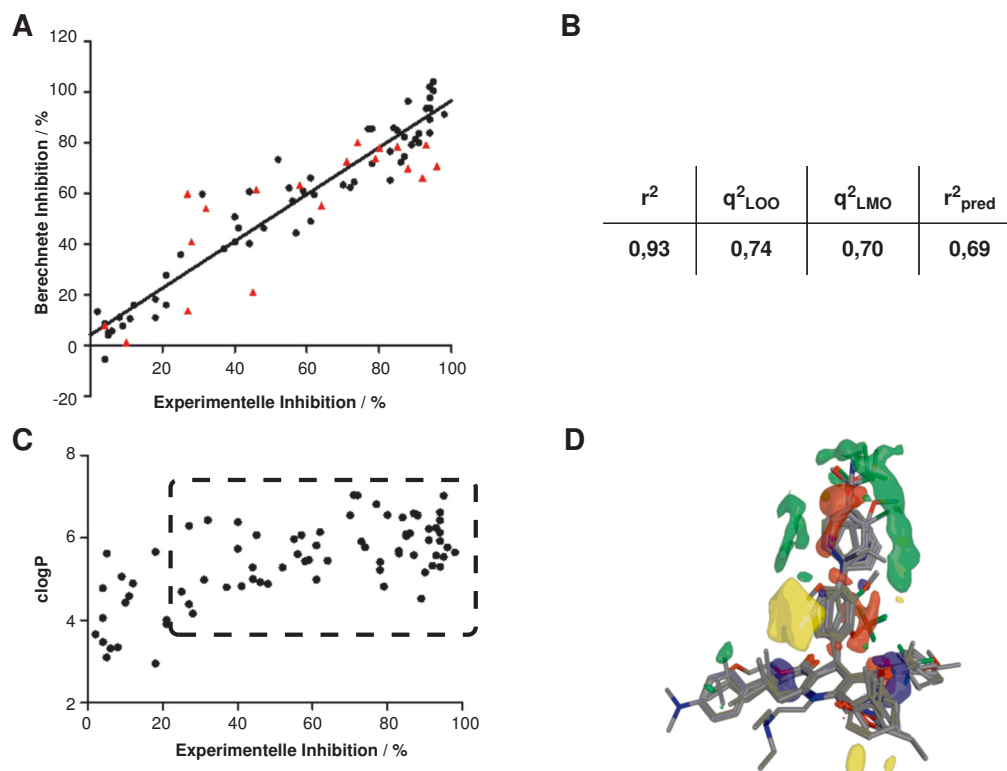
In **Abbildung 3.39 A** und **B** sind die Ergebnisse der Berechnungen aufgeführt und es ist eine sehr gute Korrelation zwischen experimenteller und der berechneten Inhibition ( $r^2 = 0,93$ ) der Substanzbibliothek erkennbar. Dies kann außerdem über die Bestimmung von diversen internen Kreuzvalidierungen bestätigt werden. Ein Beispiel für eine solche Validierung wird *Leave one out*-Methode (LOO) genannt, wobei je eine Struktur des Trainingsdatensatzes herausgenommen wird, das Modell neu berechnet und für die herausgelassene Verbindung ein Wert auf dessen Basis bestimmt wird. Diese Vorhersage wird anschließend mit dem tatsächlichen biologischen Wert korreliert und bewertet. Ein 3D-QSAR-Modell wird als robust angesehen, falls der  $q_{LOO}^2$ -Wert größer als mindestens 0,60 berechnet wird.<sup>[259]</sup> Ähnlich dazu gibt es eine weitere Validierungsmethode, für welche gleich mehrere

Strukturen aus dem Modell entfernt werden, dieses dann neu berechnet und abschließend überprüft wird, wie gut der experimentelle Wert vorhergesagt wird (*Leave many out*-Validierung, kurz: LMO). In dem hier vorliegenden Modell konnten mithilfe der Kreuzvalidierungen Werte von  $q_{\text{LOO}}^2 = 0,74$  und  $q_{\text{LMO}}^2 = 0,70$  erreicht werden, was für eine hohe Qualität der Modelle spricht. Eine weitere und noch anspruchsvollere Validierungsmethode besteht in der Berechnung von biologischen Aktivitäten von Verbindungen, welche nicht im Trainingsdatensatz enthalten waren und anschließendem Vergleich dieser so erhaltenen Werte mit experimentell bestimmten Daten. Auch hierbei wurde in diesem Modell eine starke Korrelation von  $r_{\text{pred}}^2 = 0,69$  bestimmt, was die Robustheit und Aussagekraft des hier erstellten 3D-QSAR-Modell weiter untermauert. Daraus lässt sich ableiten, dass der hier betrachtete Hemmeffekt der 1,4-Dihydropyridine auf den TGF $\beta$ -Signalweg höchstwahrscheinlich stark von einem einzelnen Wirkmechanismus oder gar von einer einzelnen *Target*-Interaktion abhängt und *Off-Target*-Effekte oder intrinsische physikochemische Eigenschaften der einzelnen Substituenten nur eine untergeordnete Rolle spielen.<sup>[130,194]</sup>

Auch wenn ein recht robustes 3D-QSAR-Modell erstellt werden konnte, wurde noch einmal extra überprüft, ob die Lipophilie einen treibenden Einfluss auf die Hemmpotenz der 1,4-Dihydropyridine besitzt. Daher wurde für alle Verbindungen der clogP-Wert berechnet und dieser gegen die experimentell bestimmten Hemmpotenzen bei 2,5  $\mu\text{M}$  in unserem SBE4-Reporterassay aufgetragen (siehe **Abbildung 3.39 C**). Der erste Eindruck, dass hochaktive Verbindungen eine hohe Lipophilie aufweisen, ist durchaus nachzuvollziehen, da hochpotente Derivate tendenziell eher hohen clogP-Wert besitzen. Betrachtet man jedoch nur den Bereich der Verbindungen, die eine prozentuale Hemmwirkung oberhalb von 20% aufweisen, so ist so gut wie keine Korrelation mehr beobachtbar. Dieser Befund macht auch durchaus Sinn, da diese Daten aus zellulären Assay-Systemen entstammen und daher benötigten hochpotente Substanzen auch ein gewisses Maß an Membrangängigkeit, um innerhalb der Zelle eine Wirkung zu entfalten.<sup>[130,194]</sup>

Ein großer Vorteil bei 3D-QSAR-Modellen ist die Möglichkeit die molekularen Interaktionspotentiale als Konturdiagramm darzustellen, welches in **Abbildung 3.39 D** zu sehen ist. Man erkennt die Überlagerung aller 58 Derivate, welche für den Trainingsdatensatz verwendet wurden, sowie weitere farblich markierte Regionen, die sich aus dem QSAR-Modell ergeben. Eine gelbe Farbe steht für ungünstige sterische Interaktionen, wohingegen in grün Regionen gekennzeichnet sind, an denen sich große Reste positiv auf die biologische Aktivität auswirken. Außerdem sind auch Bereiche angezeigt, in welchen elektrostatische Wechselwirkungen einen positiven Effekt auf die Wirkungsweise ausüben (rot: negative Partiaalladungen, blau: positive Partiaalladungen). Auch wenn so nicht direkt erkannt werden kann, welcher Rest einen besonders günstigen Einfluss auf die Hemmpotenz besitzt, lassen sich doch allgemeine Schlüsse aus diesem Konturdiagramm ziehen und es kann so relativ einfach einen Gesamteindruck von potenten Inhibitoren gewonnen werden. So erkennt man an der 3-Position den klaren positiven Einfluss der Carbonyl-Gruppen, die durch blaue und rote Regionen im Diagramm visualisiert werden. Das deckt sich sehr gut mit den biologischen Daten, da an dieser Stelle Ester oder Ketone sehr potente Verbindungen liefern. Betrachtet man als nächstes den 4-Substituenten, so erkennt man auch sehr schnell die Ergebnisse der bisherigen SAR-Studien wieder, da nur eine

geradlinige 4'-Substitution mit großen Resten, wie einem weiteren Phenylring, gute Inhibitoren liefert (grüner Bereich) und abgewinkelte Substituenten schnell keine biologische Aktivität aufweisen (gelbe Wolke oberhalb der 1,4-DHP-Ebene). All diese hier gesammelten und visualisierten Informationen zu den 1,4-Dihydropyridinen können damit sehr gut für weitere Computergestützte Berechnungen verwendet werden, wie beispielsweise der *Scaffold Hopping*-Ansatz und den daran angeschlossenen virtuellen Screen-Kampagnen zur Identifikation neuer Pharmakophore mit gleichem Wirkmechanismus (vgl. **Abschnitt 3.4** auf Seite 119).<sup>[130,194]</sup>



**Abb. 3.39:** **A:** Auftragung der experimentellen gegen die vorhergesagte Inhibition des TGF $\beta$ -Signalwegs entsprechend des aufgestellten 3D-QSAR-Modells. In schwarz ist der Trainingsdatensatz und in rot der Testdatensatz gezeigt. **B:** Statistische Parameter des QSAR-Modells. **C:** Auftragung des clogP-Wertes gegen die experimentell bestimmte TGF $\beta$ -Signalwegs-Inhibition. Der eingegrenzte Bereich unterstreicht, dass hochaktive 1,4-DHP-Derivate über einen breiten clogP-Bereich verteilt sind und daher eine einfache Erhöhung der Lipophilie nicht zwingend mit einer hohen biologischen Aktivität korreliert. **D:** Berechnetes Konturdiagramm der Interaktionspotentiale aus dem 3D-QSAR-Modell. Grün symbolisiert Regionen, bei denen sich sterisch anspruchsvolle Gruppen positiv auf die biologische Wirkung auswirken, gelb zeigt Regionen, bei denen sterisch große Gruppen unvorteilhaft sind, positive Auswirkung auf die biologische Aktivität über elektrostatische Wechselwirkungen werden durch blau (negative Partialladung) und rot (positive Partialladung) dargestellt.<sup>[130,194]</sup>

Also lässt sich zusammenfassen, dass anhand des aufgestellten robusten 3D-QSAR-Modells der Verdacht weiter erhärtet werden konnte, dass die hier betrachteten Inhibitoren mit 1,4-Dihydropyridin-Grundstruktur einen zentralen Wirkmechanismus aufweisen, welcher (größtenteils) unabhängig von physikochemischen Eigenschaften auftritt. Dazu ist allerdings anzumerken, dass eine gewisse Lipophilie für eine hohe biologische Wirksamkeit notwendig zu sein scheint, was allerdings Sinn macht,

sobald man den konkreten Effekt der 1,4-Dihydropyridine auf den TGF $\beta$ -Signalweg überdenkt. Bei der Anwendung der Verbindungen wird der Rezeptorabbau, bzw. dessen Transport durch die 1,4-DHPs beeinflusst, weswegen ein Zellmembranständiges *Target* durchaus denkbar ist. Somit wäre ein gewisser Grad an Lipophilie durchaus notwendig, um die entsprechenden Bindestellen effizient zu erreichen.<sup>[130,194]</sup>

### 3.3.4 Entwicklung von *Probe-Molekülen* zur *Target-Identifizierung*

Die Entwicklung biologisch aktiver Moleküle, sei es nun zur Anwendung als Wirkstoffe oder in der Funktion von *molecular Probes*, erfordert fast immer die Kenntnis der biologischen Zielstruktur (*Target*), welche durch die Anwendung dieser Verbindungen adressiert wird, um vollständige Optimierungen oder Validierungsarbeiten durchzuführen. Modulatoren von biologischen Makromolekülen können prinzipiell über zwei Wege identifiziert und optimiert werden. Auf der einen Seite steht der *Target-basierende Ansatz*, auch *reversed chemical genetics* genannt. Hierbei kennt man bereits die biologische Zielstruktur und versucht über diverse *Screening-Methoden* Moleküle zu identifizieren und zu optimieren, welche die Funktion oder Aktivität des Biomoleküls verändern. Daher ist es bei dieser Methode vergleichsweise einfach, einen selektiven und hochpotenten Wirkstoff zu entwickeln, da hier in den meisten Fällen biochemische Assay-Systeme verwendet werden können. Der größte Nachteil dieses Vorgehens ist jedoch, dass die so identifizierten niedermolekularen Verbindungen ihren gewünschten Effekt ebenfalls in komplexeren biologischen Systemen zeigen müssen, diese aber für vergleichsweise primitive Assays entwickelt und optimiert wurden. Auch ist im Vorfeld nicht immer ersichtlich, ob die Modulation des biologischen *Targets* auch wirklich den postulierten makroskopischen Effekt im hochkomplexen Lebensformen erbringt.<sup>[260,261]</sup>

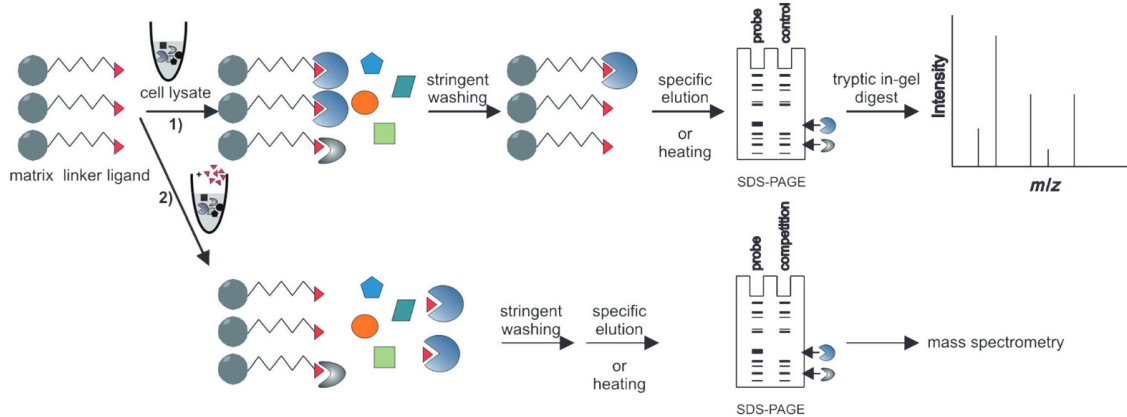
Auf der anderen Seite steht der *forward chemical genetics*- oder auch Ligandenbasierte Ansatz. Hier werden bioaktive Verbindungen meist über phänotypische Assay-Systeme identifiziert. Der Vorteil dieser Methode liegt dementsprechend darin, dass sehr schnell entschieden werden kann, ob und mit welcher Art von organischen Molekülen die aufgestellte biologische Fragestellung beantwortet werden kann. Außerdem beinhalten phänotypische Assays bereits zusätzliche wichtige Informationen für die Wirkstoffoptimierung, wie beispielsweise ob eine ausreichende Zellgängigkeit der Verbindungen gewährleistet ist. Allerdings bleibt hier zunächst das konkrete biologische *Target* unbekannt und es kann daher nicht direkt entschieden werden, ob der beobachtete biologische Effekt durch die Beeinflussung von nur einem oder von mehreren verschiedenen Biomolekülen hervorgerufen wird. Daher muss für die Entwicklung von *chemical Probes* auf Basis des Ligandenbasierten Ansatz die Fragestellung nach dem *Target* früher oder später adressiert werden, da sonst keine Verbindungen mit sehr hoher Aktivität und Selektivität erzeugt werden können.<sup>[129,260,261]</sup>

Für die *Target-Identifizierung* (*Target-ID*) ist eine sehr gute SAR und gutes Wissen über die Modifizierbarkeit der bioaktiven Verbindungen unablässig, weil sich die Suche nach der biologischen Zielstruktur sehr schwierig gestalten kann. Bedenkt man, wie viele unterschiedliche Proteine aus dem humanen Genom hervorgehen<sup>[262]</sup> und daneben auch weitere Strukturen (beispielsweise Nukleinsäuren) durch



niedermolekulare Verbindungen adressiert werden können, wird es schnell ersichtlich, dass die Suche nach einem einzelnen *Target* zu einer der anspruchsvollsten Aufgaben der Chemischen Biologie zählt. Dementsprechend vielfältig sind die in der Literatur bekannten Ansätze und es ist unmöglich, ein universelles Vorgehen aufzustellen, da die Fragestellungen je nach gesuchtem *Target*, SAR und der chemischen Natur des *small molecules* variieren.<sup>[261]</sup>

Eine der am weitesten verbreiteten Methoden, die *affinity-based proteomics*-Methode, basiert auf der Affinität eines *Probe*-Moleküls zu dem gesuchten *Target*, um dieses zu identifizieren. Eine Technik, welche dieses Prinzip ausnutzt, ist die Affinitätschromatographie. Hierbei wird das *Probe*-Molekül über einen Linkerteil an einer festen Phase (z.B.: *beads*) fixiert und nach Inkubation mit einem Proteingemisch (z.B.: Zellextrakt) und anschließenden Waschvorgängen sollten die gesuchten biologischen Zielstrukturen auf den *beads* angereichert sein. Diese Proteine können dann von der festen Phase entfernt, über eine SDS-PAGE aufgetrennt und massenspektroskopisch identifiziert werden (vgl. **Abbildung 3.40**).<sup>[261]</sup>

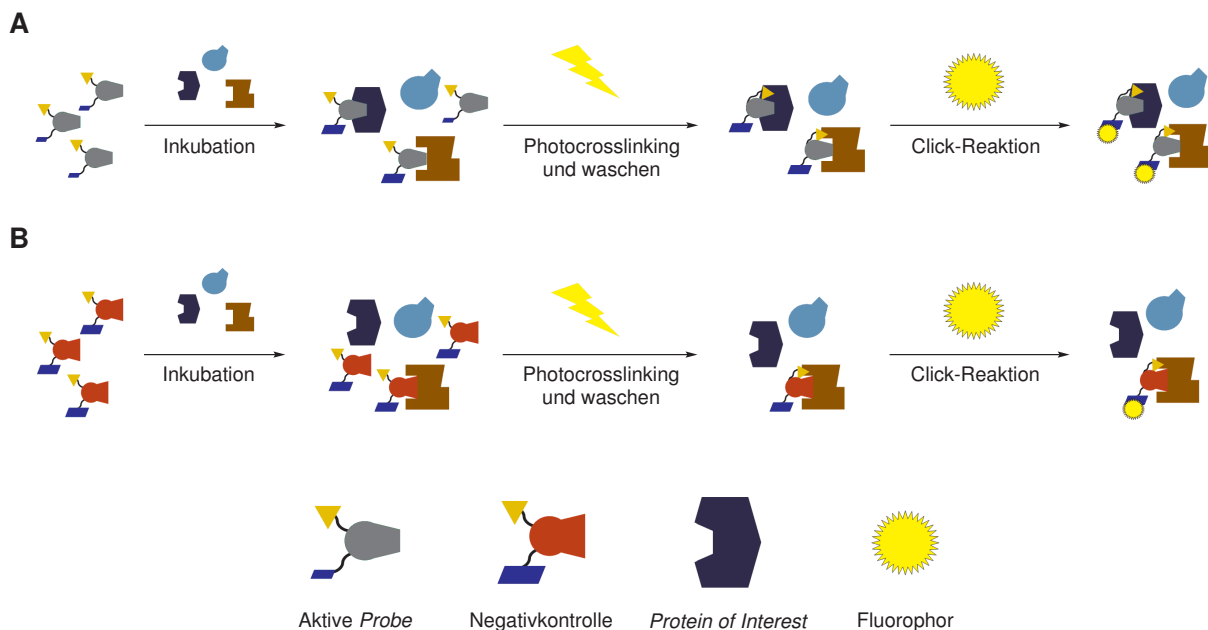


**Abb. 3.40:** Schematischer Ablauf eines *Pull-down*-Experiments als Beispiel für eine *affinity-based proteomics*-Methode. Das biologisch aktive Molekül ist über eine feste Phase fixiert und wird mit Zelllysate entweder in Abwesenheit (1) oder in Anwesenheit (2) des freien niedermolekularen Modulators inkubiert. Danach werden nicht gebundene Zellbestandteile durch Waschen entfernt und die gebundenen Proteine über SDS-PAGE und Massenspektrometrie identifiziert. Durch den Vergleich mit Negativkontrollen lassen sich unspezifische Bindungen und *Off-targets* identifizieren.<sup>[261]</sup>

Der große Nachteil dieser Methode zur *Target*-Identifikation liegt darin, dass hier die chemische Struktur der bioaktiven Moleküle deutlich verändert werden muss, damit sie an der festen Phase fixiert werden können. In einigen Fällen kommt es durch diese Modifikation zum Verlust der biologischen Aktivität, weswegen andere Methoden für die Markierung des *Targets* mithilfe eines niedermolekularen, selektiven Modulators müssen angewendet werden.

Eine Alternative besteht darin, dass die bioaktiven Moleküle nach ihrer Bindung an die biologische Zielstruktur über eine Cu(I)-katalysierte Huisgen-Sharpless-Meldal-Click-Reaktion markiert werden. Für diese Art der Reaktion wird zwar auch eine zusätzliche Funktionalität an der *Probe* benötigt, jedoch ist diese deutlich weniger invasiv für die Gesamtstruktur, da es sich hierbei um kleine Gruppen wie Alkine oder Azide handelt. So kann dann für die Markierung entweder wieder eine feste Phase

oder ein Fluorophor an den *Probe-Target*-Komplex gebunden werden.<sup>[261]</sup> Allerdings besteht auch hier das Problem, dass die durch die Click-Chemie angebrachte neue voluminöse Gruppe die Bindung an das Zielprotein deutlich behindert und meist eine Auflösung des *Probe-Target*-Komplexes zur Folge hat. So ist es sinnvoll, eine zweite Gruppe in das Sondenmolekül einzuführen, welche eine kovalente Bindung zur Zielstruktur eingehen kann, bevor die Click-Chemie durchgeführt wird. Sehr beliebt sind hierfür photoaktivierbare Gruppen, welche durch Lichtbestrahlung einer bestimmten Wellenlänge angeregt werden und dann eine Reaktion mit nahe liegenden Molekülen eingehen und sich so dort kovalent verankern. In der modernen Literatur werden als photoreaktive Gruppen (*Warheads*) oftmals Diazirine verwendet, da sie einige Vorteile gegenüber zuvor üblichen Gruppen wie Benzophenone oder Arylazide besitzen. Sie zeigen eine hohe chemische Stabilität gegenüber Säuren, Basen und Nucleophilen, sind sterisch nicht besonders anspruchsvoll, ihre Photoaktivierung ist irreversibel, die Aktivierungswellenlänge von ca. 350 nm liegt in einem für biologische Systeme nicht übermäßig toxischem Bereich und die nötige Bestrahlungsdauer ist vergleichsweise kurz.<sup>[263,264]</sup> Die größte Herausforderung für die Verwendung von Diazirinen liegt in deren Synthese, da die meisten Protokolle aggressive Bedingungen verwenden, welche andere Gruppen im *Probe*-Molekül attackieren und zersetzen können. Das prinzipielle Konzept dieses *Target-ID*-Ansatzes ist in **Abbildung 3.41** gezeigt.



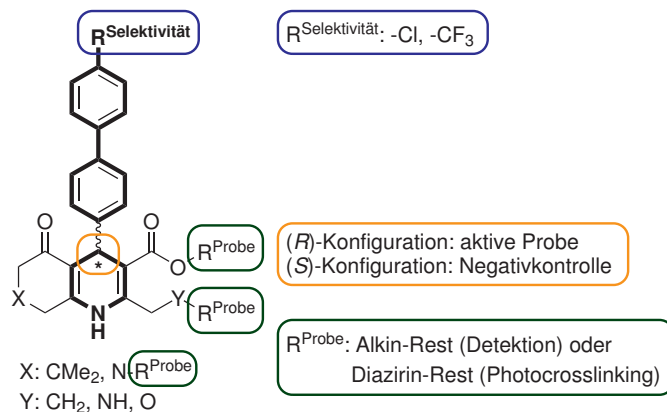
**Abb. 3.41:** Schematische Übersicht über die *Target*-Identifizierung mithilfe einer *Affinity-based Probe*. Zunächst wird entweder die aktive *Probe* (**A**) oder die Negativkontrolle (**B**) mit einem Protein-Mix inkubiert und anschließend mit Licht bestrahlt, um die photoreaktiven Gruppen zu aktivieren und diese kovalent an nahe gelegene Proteine zu binden. Nach intensivem Waschen wird die Click-Reaktion an der zweiten Funktionalität der Moleküle durchgeführt, wodurch die Markierung (hier mit einem Fluorophor) durchgeführt wird.

Somit benötigt also eine molekulare Sonde, welche sowohl *Photocrosslinking*-, als auch Click-Reaktionen eingehen können soll, insgesamt zwei zusätzliche Gruppen, welche vom *Target* toleriert werden müssen. Aus diesem Grund müssen im Vorfeld weitreichende SAR-Studien durchgeführt werden

sein, damit Moleküle mit einer hohen Wahrscheinlichkeit auf gute biologische Aktivitäten designt werden können. Auch hier ist die Fragestellung nach geeigneten Negativkontrollen sehr bedeutsam, da durch die *Photocrosslinking*-Reaktion ebenfalls unspezifische Verknüpfungen der *Probe*-Moleküle an unbeteiligten biologischen Strukturen auftreten und so falsch-positive Ergebnisse erhalten werden.

### 3.3.4.1 Design, Synthese und biologische Testungen von *Affinity-based Probes* auf Basis des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts

In dem speziellen Fall der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine als TGF $\beta$ -Signalwegs-Inhibitoren muss die *Target*-Identifizierung über den *Photocrosslinking*-Ansatz erfolgen, da aus allen vorhergehenden SAR-Studien eindeutig hervorgegangen ist, dass große Linker-Gruppen (wie für eine Affinitätschromatographie benötigt) jegliche biologische Aktivität minimieren würden. In **Abbildung 3.42** ist gezeigt, welche Positionen des Grundgerüsts unerlässlich sind und an welchen Stellen eine dementsprechende chemische Modifikation möglich sein sollte.



**Abb. 3.42:** Übersicht über die Positionen des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts an denen Gruppen angebracht werden können, welche für die *Target*-Identifikation notwendig sind.

Die fett gezeichneten Bereiche sind entweder für eine hohe Aktivität oder für eine gute *Target*-Selektivität von größter Bedeutung. So darf der 1,4-DHP-Kern nicht verändert werden, wie die mangelnden Aktivitäten des *N*-Methyl-, als auch des oxidierten Pyridin-Derivats deutlich illustrieren.<sup>[79]</sup> Daneben ist das Biphénylsystem an der 4-Position nicht nur essentiell für die Aktivität, sondern zusätzlich lässt sich über die 4"-Position eine gewisse Selektivität gegenüber dem Activin A-Signalweg erreichen (vgl. **Kapitel 3.3.1** auf Seite 73). Außerdem ist ein *b*-anneliertes Ringsystem unbedingt notwendig für ein aktives Molekül und lediglich eine Derivatisierung an der 7-Position ist denkbar. Das chirale Zentrum der Moleküle (4-Position und durch ein \* gekennzeichnet) könnte sich für die Entwicklung von *affinity-based probes* (ABPs) als sehr nützlich erweisen, da nur das (R)-Enantiomer eine biologische Aktivität besitzt, wohingegen das (S)-Enantiomer inaktiv ist. Somit lässt sich relativ einfach eine qualitativ hochwertige Negativkontrolle erzeugen, welche sich nur durch die Orientierung des 4-Rests von der aktiven *Probe* unterscheidet.

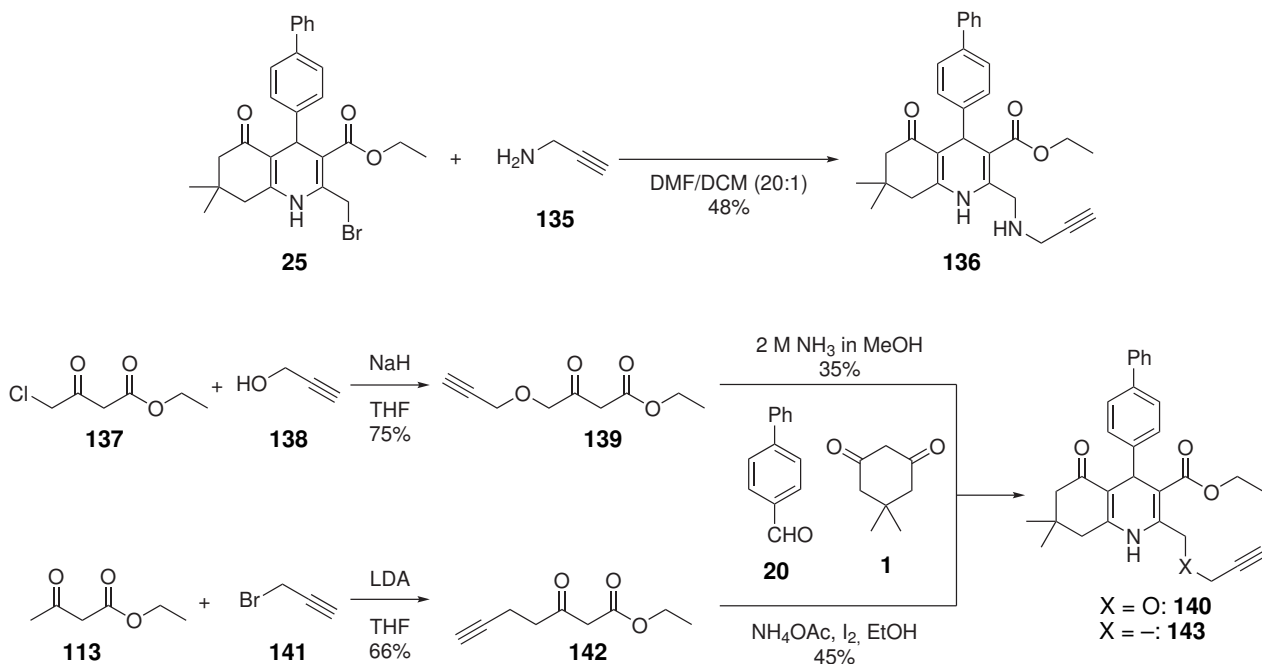
Somit kommen nur die Positionen 2, 3 und 7 (über ein Stickstoffatom) als mögliche Positionen für die

Anbringung von *Photocrosslinking*- und Markierungsgruppen in Frage.

Zur generellen Überprüfung der Machbarkeit dieses Konzepts und der Identifikation der besten Substitutionsmuster sollten die für die *Target*-Identifikation benötigten Gruppen zunächst einzeln in das Grundgerüst eingeführt werden. Diese Verbindungen sollten dann in unserem TGF $\beta$ -Signalwegs-Inhibitionsassay auf ihre biologische Aktivität untersucht werden und die aktivsten Substitutionsmuster anschließend kombiniert werden. Zuletzt müssten dann die enantiomerenreinen Derivate der ein oder zwei erfolgreichsten Kombinationen hergestellt werden. Die Synthesen der einfach substituierten Verbindungen wurden im Rahmen der Masterarbeit von DIRK FLÖTGEN<sup>[165]</sup> durchgeführt und sollen im Nachfolgenden kurz beschrieben werden.

Die Reaktionssequenzen zur Synthese von 2-Alkin-funktionalisierten 1,4-DHPs sind in **Abbildung 3.43** gezeigt.

Prinzipiell stehen dazu zwei unterschiedliche Synthesestrategien zur Verfügung. Bei der ersten Variante wird die Alkin-Gruppe nach dem Aufbau des Grundgerüsts über das bereits beschriebene 2-Bromo-Derivat **25** geführt, wie für Verbindung **136** gezeigt. Allerdings führte diese Reaktionssequenz nur bei dieser einen Verbindung mit einer Ausbeute von 48% zum Erfolg.<sup>[165,233]</sup>



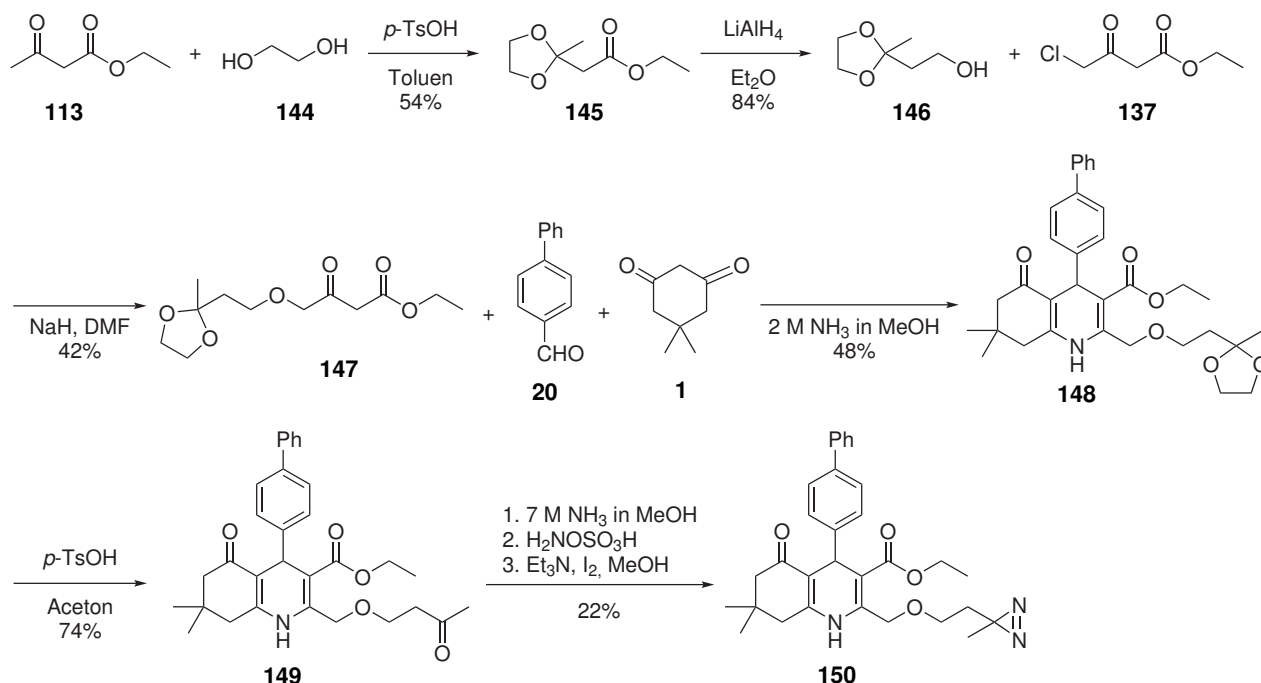
**Abb. 3.43:** Reaktionsübersicht zur Einführung einer Alkin-Gruppe mit verschiedenen Linkerbausteinen an die 2-Position des 1,4-Dihydropyridin-Grundgerüsts.<sup>[165,233]</sup>

Die zweite Darstellungsmöglichkeit basiert darauf, dass der entsprechende Alkintragende Baustein direkt in der Multikomponentenreaktion zur Synthese des 1,4-Dihydropyridins eingesetzt wird. In der Literatur sind die Herstellungsprotokolle der benötigten Bausteine bereits beschrieben und konnten relativ problemlos übertragen werden. Für das erste 2-Alkin-Derivat mit einem Sauerstofflinker zwischen Dreifachbindung und Grundgerüst wurde 4-Chloracetoacetatethylester (**137**) mit Propargylalcohol (**138**) mithilfe von Natriumhydrid zu der entsprechenden 1,3-Dicarbonylverbindung **139** in einer

Ausbeute von 75% umgesetzt.<sup>[265]</sup> Dieses konnte dann anschließend mit 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) und Dimedon (**1**) zu dem entsprechend 2-substituierten 1,4-DHP **140** zur Reaktion gebracht werden und ergab einen Reaktionsumsatz von 35%.<sup>[165,233]</sup>

Außerdem konnte auch ein Derivat ohne ein Heteroatom zwischen 1,4-DHP-Grundgerüst und Alkin-Funktionalität synthetisiert werden. Der benötigte Baustein wurde ausgehend von Ethylacetoacetat (**113**) und Propargylbromid (**141**) unter basischen Bedingungen in einer Ausbeute von 66% erhalten.<sup>[266]</sup> Dieser wurde anschließend zusammen mit **20** und **1** unter Verwendung von Iod als Katalysator mit 45%-iger Reaktionseffizienz zu dem korrespondierenden Dihydropyridin **143** umgesetzt.<sup>[165,233]</sup>

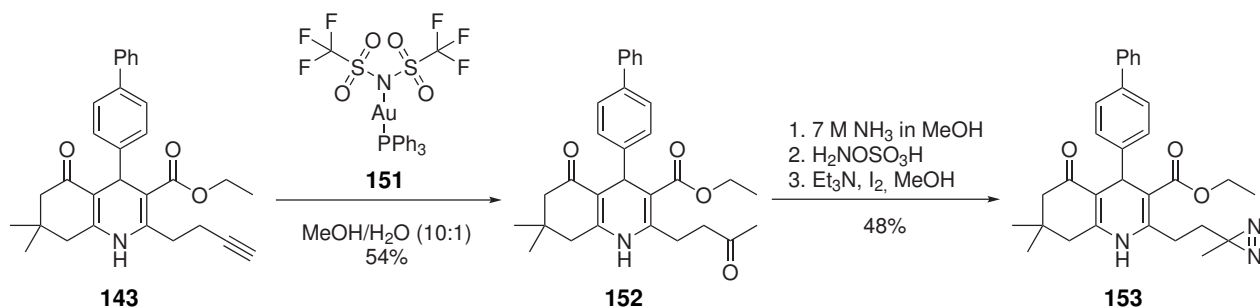
Als nächstes wurden Verbindungen mit einer Diazirin-Gruppe an der 2-Position hergestellt. Bei dem ersten Derivat sollte die photoreaktive Gruppe über einen sauerstofftragenden Linker mit dem 1,4-DHP-Grundgerüst verbunden sein. Die Synthese bedarf einiger weiterer Reaktionsschritte, wie in **Abbildung 3.44** gezeigt ist.



**Abb. 3.44:** Synthese des 1,4-DHP-Derivats **150** mit einem Sauerstofflinker zwischen Diaziringroupe und der 2-Position des 1,4-DHP-Grundgerüsts.<sup>[165,233]</sup>

Diazirin-Gruppen werden grundsätzlich ausgehend von Keton-Funktionalitäten hergestellt. Allerdings können diese nicht in der Hantzschschen Synthese eingesetzt werden, da Nebenreaktionen oder eine vollständige Unterbindung der Reaktion zu erwarten wären. Also musste für die 1,4-DHP-Synthese zunächst das Intermediat **147** mit einer maskierten Keton-Gruppe synthetisiert werden. Dies gelang über eine ähnliche Synthesemethode wie für die Darstellung des Propargylalkohol-tragenden Acetoacetats, allerdings mussten hierbei noch einige Reaktionsschritte vorgeschaltet werden. Zunächst wurde die Keto-Gruppe von Ethylacetoacetat (**113**) unter sauren Bedingungen mit Ethylenglykol mit einem 54%igen Reaktionserfolg Acetal-geschützt.<sup>[267]</sup> Anschließend musste die Esterfunktion mit Li-

thiumaluminiumhydrid zu dem entsprechenden Alkohol **146** mit einer Ausbeute von 84% reduziert werden,<sup>[268]</sup> welcher dann mit **137** mithilfe von Natriumhydrid in trockenem Dimethylformamid zu dem benötigten Baustein **147** in 42%iger Ausbeute umgesetzt werden konnte.<sup>[165,233]</sup> Die anschließende 1,4-Dihydropyridinsynthese mit dem Aldehyd **20** und Dimedon (**1**) verlief problemlos mit einer Reaktions-effizienz von 48%. Nach der Entfernung der Acetal-Schutzgruppe mit *para*-Toluensulfonsäure und Aceton in einer Transacetylierungsreaktion folgte abschließend die Diazirin-Synthese. Dazu wurden anhand einer Modellverbindung diverse literaturbeschriebene Reaktionsprotokolle getestet und der größte Erfolg mit möglichst wenigen Nebenreaktionen wurde in einer zweistufigen Eintopfsynthese erzielt. Zunächst wird aus dem Keton das entsprechende Imin mithilfe von 7 M methanolischem Ammoniak erzeugt, welches im Anschluss mit Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure zum Diaziridin zur Reaktion gebracht wird. Dieses konnte dann *in situ* mithilfe von Iod zu dem Diazirin **150** umgesetzt werden. Die Gesamtausbeute von 22% für diese drei Schritte erscheint gering, kann jedoch durch verunreinigte Ausgangsmaterialien erklärt werden.<sup>[165,233]</sup>

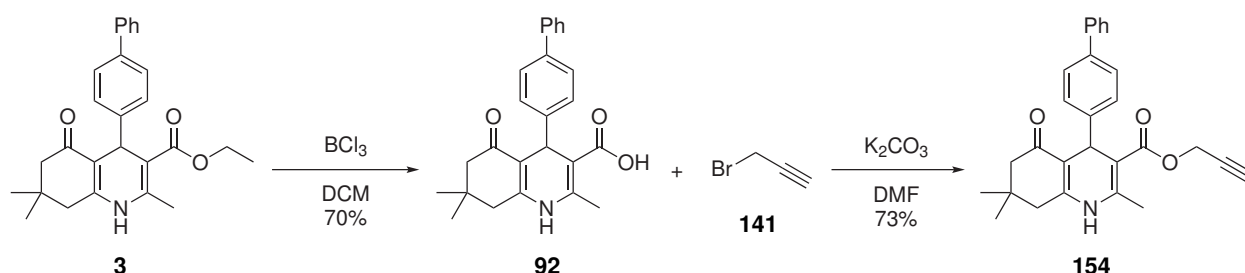


**Abb. 3.45:** Syntheschema zum Erhalt eines 1,4-DHPs mit einer Diaziridgruppe an 2-Position, welches nicht über ein Heteroatom mit dem Grundgerüst verbunden ist. Eine Besonderheit ist hierbei die im ersten Schritt durchgeführte Markownikow-Hydratisierung der Dreifachbindung mithilfe eines Gold(I)-Katalysators.<sup>[233]</sup>

Diese langwierige Reaktionsroute könnte auch für eine Verbindung eingesetzt werden, bei der kein Heteroatom zwischen Diazirid-Gruppe und 2-Position des 1,4-DHP-Kerns liegt. Allerdings wurde durch erneuten und genaueren Blick in die Literatur erkannt, dass die erforderliche Keton-Gruppe auch über eine Hydratisierungsreaktion von Alkinen dargestellt werden kann. Dieser Reaktionstyp an sich ist schon seit dem 19. Jahrhundert bekannt, wurde aber nur selten angewendet, da diese Reaktion fast ausschließlich von hochtoxischen Quecksilber-Salzen katalysiert werden muss. Erst vor ein paar Jahren, als die Gold-Katalyse wieder stärker in den Fokus der organisch-chemischen Synthese rückte, wurde entdeckt, dass Gold(I)-Komplexe eine ähnlich hohe Affinität zu Dreifachbindungen besitzen, wie es bis dahin nur von Quecksilbersalzen bekannt war. Kurz darauf konnte auch gezeigt werden, dass Gold-Komplexe mit schwach koordinierenden Gegenionen eine ausreichend hohe Azidität am Metallzentrum besitzen, dass eine Markownikow-Hydratisierung von Alkinen in guten Ausbeuten möglich wurde.<sup>[269]</sup> Also wurde für diese Synthese das terminale Alkin **143** mit dem Goldbasierten Katalysator [AuPPh<sub>3</sub>NTf<sub>2</sub>] in einem Methanol-Wasser-Gemisch zu 54% zu dem entsprechenden Keton **152** umgesetzt. Aus diesem konnte dann im Anschluss mit dem bereits erarbei-

teten Diazirin-Synthese-Protokoll die gewünschte Verbindung **153** synthetisiert werden (**Abbildung 3.45**).<sup>[165,233]</sup>

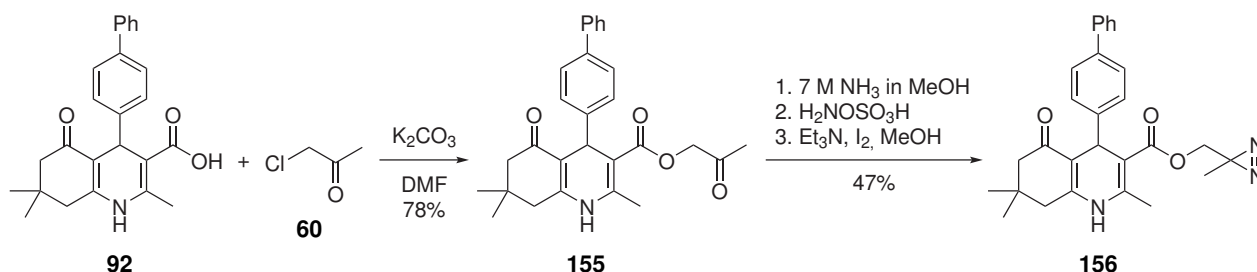
Als nächstes sollte die 3-Position des 1,4-Dihydropyridins funktionalisiert werden. Hier bieten sich einfache Alkylierungsreaktionen der Säure-Gruppe an, wie sie schon vielfach für die Aufstellung der SAR-Studien durchgeführt wurde.<sup>[79,130]</sup> Im ersten Schritt wurde der Ethylester der Verbindung **3** mithilfe der starken Lewis-Säure Bortribromid gespalten. Dieser Schritt an sich birgt keine größeren Schwierigkeiten während der Umsetzung, jedoch wurden einige Probleme bei der Aufreinigung in großem Maßstab beobachtet. Es gestaltete sich schwierig, eine säulenchromatographische Aufreinigung zu erreichen, da diese Verbindung nur sehr langsam und über einen großen Fraktionsbereich eluierte.



**Abb. 3.46:** Reaktionsschema zur Synthese der Verbindung **154** über eine Alkylierung der freien Carbonsäure **92**.<sup>[165,233]</sup>

Daher wurde die Isolation des Reinprodukts über dessen Säure-Base-Verhalten erreicht. Zunächst wurde diese mit Kaliumhydroxid in eine wasserlösliche Form überführt und die Nebenprodukte konnten mit Ethylacetat extrahiert werden, während das 1,4-DHP-Anion in der wässrigen Phase verbleibt. Nach Ansäuern präzipitiert das Produkt als sehr reiner Feststoff aus der Wasserfraktion und kann auch in großen Maßstäben mit einer Ausbeute von 70% isoliert werden. Der so erhaltene Ausgangsstoff **92** wurde im Anschluss mit Propargylbromid (**141**) alkyliert und man erhielt die Verbindung **154** mit einer Ausbeute von 73%.<sup>[165,233]</sup>

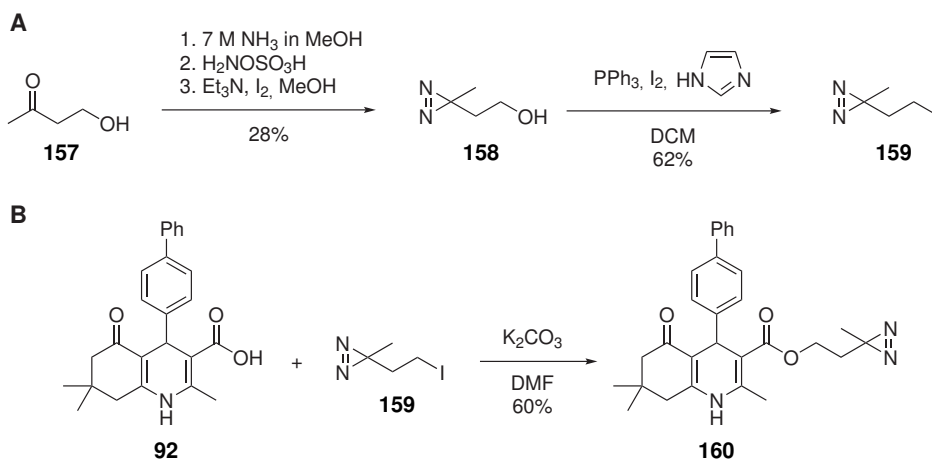
Eine Diazirin-Funktionalität konnte auf ähnliche Weise in das Molekül eingeführt werden, nur musste nach der Alkylierung der Carbonsäure **92** mit Chloraceton (**60**) die allgemeine Diazirin-Synthese mit einem Reaktionserfolg von 47% angeschlossen werden, wie in **Abbildung 3.47** abgebildet.<sup>[165,233]</sup>



**Abb. 3.47:** Reaktionsschema zur Synthese der Verbindung **156**.<sup>[165,233]</sup>

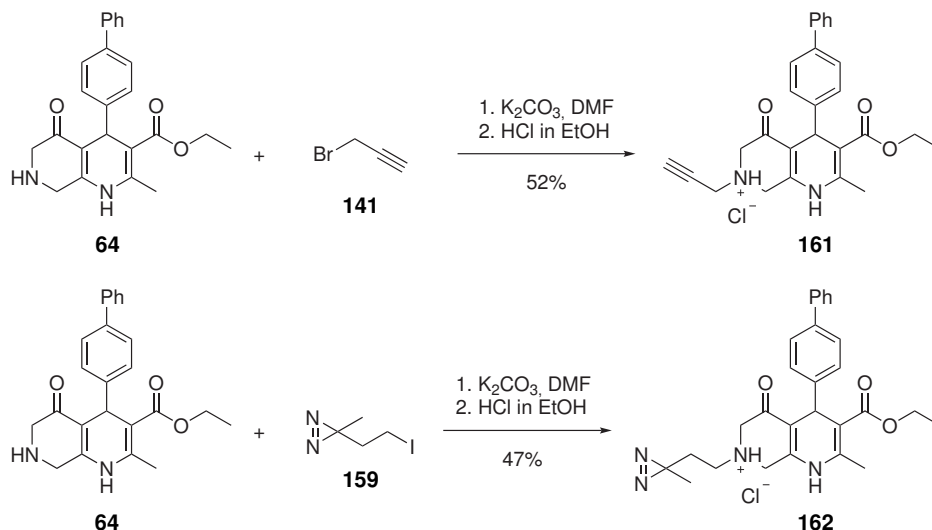
Um die Flexibilität der Diazirin-Gruppe an der Ester-Position zu erhöhen, sollte des weiteren ein Derivat synthetisiert werden, welches im Vergleich zu **156** um eine Methylen-Einheit verlängert ist. Der

für die entsprechende Alkylierung benötigte Baustein wurde in der Literatur bereits beschrieben und dessen Synthese, sowie die Alkylierungsreaktion ist in **Abbildung 3.48** gezeigt.<sup>[165,233,270]</sup>



**Abb. 3.48:** Syntheseübersicht des Bausteins **159** (**A**), sowie dessen Alkylierungsreaktion mit der Verbindung **92** (**B**).<sup>[165,233,270]</sup>

Für die Synthese wird zunächst der Alkohol **157** über das übliche Diazirin-Protokoll mit einer Ausbeute von 28% umgesetzt, welcher anschließend über eine Appel-Reaktion zu dem gewünschten Alkylierungsreagenz **159** weiter funktionalisiert werden konnte.<sup>[270]</sup> Die abschließende Alkylierung zur gewünschten Verbindung **160** verlief problemlos mit einer Ausbeute von 60%. Diese Reaktionssequenz unterstreicht noch einmal die bereits angesprochene hohe chemische Stabilität einer Diazirin-Gruppe.<sup>[165,233]</sup>



**Abb. 3.49:** Syntheseübersicht von 1,4-DHPs, die an 7-Position entweder eine Alkin- oder eine Diazirin-Gruppe tragen.<sup>[165,233]</sup>

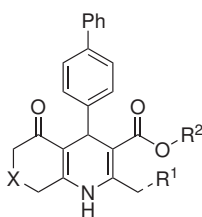
Zuletzt sollte auch die 7-Position des 1,4-Dihydropyridins mit Alkin- bzw. Diazirin-tragenden Gruppen funktionalisiert werden. Diese Verbindungen konnten ausgehend von dem 7-N-tragenden DHP-Edukt



**64** hergestellt werden, dessen Synthese bereits in **Kapitel 3.2.1.2** auf Seite **33** beschrieben wurde. Dieses konnte dann entweder mit Propargylbromid (**141**) oder dem zuvor beschriebenen Diazirintragenden Baustein **159** umgesetzt werden und es ergaben sich nach einer Hydrochlorid-Fällung Ausbeuten von 52% (**161**) bzw. 47% (**162**).<sup>[165,233]</sup>

Die biochemische Charakterisierung der synthetisierten Derivate ist in **Tabelle 3.11** gezeigt.

**Tab. 3.11:** Übersicht über die biologische Aktivitäten der für die *Target-ID* synthetisierten monofunktionalisierten Verbindungen in Smad4-binding element (SBE4) Reporterassays in HEK293T-Zellen, deren Signalwege über TGF $\beta$ -2 induziert wurden. Die Werte und Standardabweichungen wurden über n = 2 unabhängige Experimente ermittelt.<sup>[165,233]</sup> Zur Referenz wurde außerdem die biologische Aktivität von Verbindung **3** aufgeführt.



Verbindung	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (μM)
<b>3</b>		H	Et	0,85 ± 0,30
<b>136</b>			Et	1,30 ± 0,09
<b>140</b>			Et	0,80 ± 0,19
<b>143</b>			Et	0,35 ± 0,06
<b>150</b>			Et	2,92 ± 0,58
<b>153</b>			Et	0,54 ± 0,04
<b>154</b>		H		0,34 ± 0,06
<b>156</b>		H		0,39 ± 0,09
<b>160</b>		H		0,65 ± 0,07
<b>161</b>		H	Et	1,89 ± 0,36
<b>162</b>		H	Et	1,37 ± 0,03

Betrachtet man zunächst die biologischen Daten der hier aufgeführten 1,4-DHP-Derivate mit verschiedenen Resten an der 2-Position, so zeigen fast alle Verbindungen eine gute bis sehr gute TGF $\beta$ -

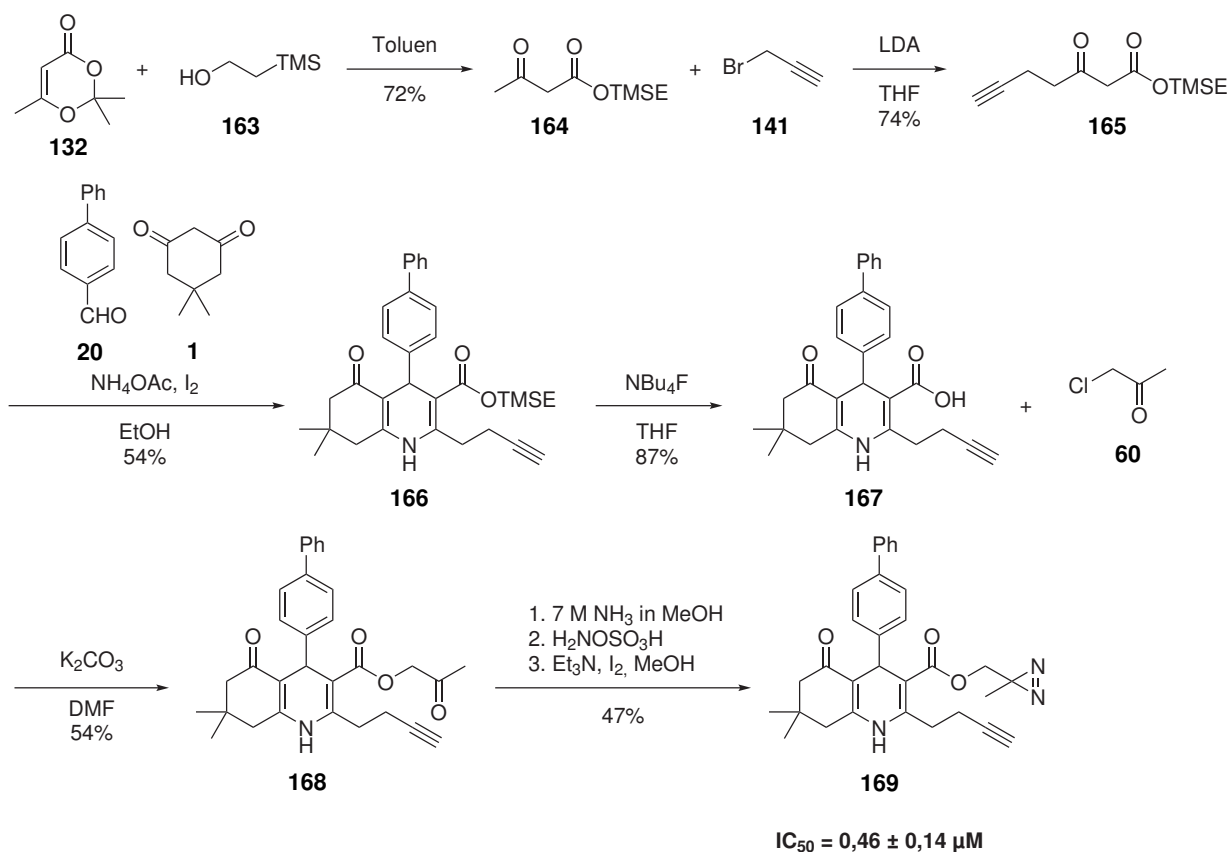
Signalwegs-Inhibition. Interessanterweise scheint die chemische Natur der funktionellen Gruppen (Alkin oder Diazirin) an dieser Molekülregion weniger eine Rolle zu spielen, sondern eher deren räumlichen Ausdehnungen. Während sehr kurze Reste, wie bei den Derivaten **143** und **153**, recht niedrige IC<sub>50</sub>-Werte zur Folge haben, zeigt das Derivat **150** mit einer relativ langen Gruppe an der 2-Position die schlechteste Aktivität der gesamten Serie.<sup>[165,233]</sup> Im Gegensatz dazu scheinen die chemischen Eigenschaften der Linker einen gewissen Einfluss auf die TGFβ-Signalwegs-Inhibition auszuüben. Dies kann anhand des Unterschiedes in den biologischen Aktivitäten der beiden Verbindungen **136** und **150** gut erkannt werden, denn die Verwendung eines sekundären Amins als Bindeglied bewirkt einen deutlich höheren IC<sub>50</sub>-Wert als ein entsprechender Ether-basierter Linker.<sup>[165,233]</sup> Diese Beobachtung deckt sich jedoch sehr gut mit der bisher aufgestellten SAR der 1,4-Dihydropyridine, denn ein ähnliches Verhalten wurde bereits in **Kapitel 3.2.1.1** auf Seite **31** bei der Einführung polarer Gruppen an die 2-Region zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit beobachtet.

Ein sehr ähnliches Bild zeigt sich bei den Derivaten mit speziell für den *Photocrosslinking*-Ansatz designeden Estergruppen. Es ist für die Aktivität unerheblich, ob an der 3-Position ein Diazirin- oder ein Alkinrest vorliegt, jedoch scheint auch hier die Größe des Restes entscheidend zu sein. Tendenziell sind hier ebenfalls kürzere Gruppen vorteilhaft für die biologische Aktivität (vgl. Verbindungen **154** und **156**), während ein längerer Ester eine Erhöhung des IC<sub>50</sub>-Wertes nach sich zieht, wie bei Derivat **160** zu erkennen ist.<sup>[165,233]</sup>

Zuletzt wurden die beiden 7-*N*-funktionalisierten 1,4-DHP-Derivate auf ihre biologische Aktivität untersucht. Auch hier stehen die Ergebnisse der TGFβ-Signalwegs-Inhibition im Einklang mit den bisher aufgestellten Struktur-Aktivitätsbeziehungen. So zeigen diese hier untersuchten Derivate einen ähnlichen IC<sub>50</sub>-Wert wie das in **Kapitel 3.2.1.1** auf Seite **31** vorgestellten 7-*n*-Propyl-funktionalisierte 1,4-Dihydropyridin **73a**.<sup>[165,233]</sup>

Zusammenfassend kann also festgehalten werden, dass alle synthetisierten monofunktionalisierten 1,4-DHP-Derivate biologische Aktivitäten aufweisen, welche sich komplett mit den bisher erhaltenen SAR-Informationen decken.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurden zwei Verbindungen designt, welche die beiden Gruppen für den *Photocrosslinking*-Ansatz vereinen. Auf die Verwendung von 7-funktionalisierten Verbindungen wurde wegen der hohen synthetischen Komplexität vorerst verzichtet und so wurde als erste Verbindung eine Kombination aus **143** und **156** gewählt. Daher sollte an der 2-Position eine Alkinfunktion eingeführt werden, welche über einen Ethylenlinker mit dem Dihydropyridinkern verbunden ist, und an der 3-Position sollte eine Diaziringruppe nur durch eine Methylengruppe vom Grundgerüst getrennt sein. Die zweite Verbindung trägt die umgekehrte Position für die Alkin- und die Diaziringruppen und kombiniert somit die Derivatisierungen der Verbindungen **153** und **154**. Es war notwendig beide Kombinationsmöglichkeiten zu synthetisieren, da bis dahin noch keine Informationen dazu vorlagen, wo – nach der Bindung am biologischen *Target* – die Alkingruppe genügend Platz für die angestrebte Click-Reaktion und das Diazirin eine große Nähe zu der biologischen Zielstruktur für eine hohe *Photocrosslinking*-Effizienz besitzt.



**Abb. 3.50:** Darstellung einer 1,4-DHP-*Probe*, welches sowohl eine Alkin- (2-Position), als auch eine Diaziringeruppe (3-Position) trägt. Zusätzlich ist dessen biologische Aktivität in Smad4-binding element (SBE4) Reporterassays in HEK293T-Zellen, deren Signalwege über TGFβ-2 induziert wurden, gezeigt. Der Wert und die Standardabweichung wurden über  $n = 2$  unabhängige Experimente ermittelt.<sup>[233,271]</sup>

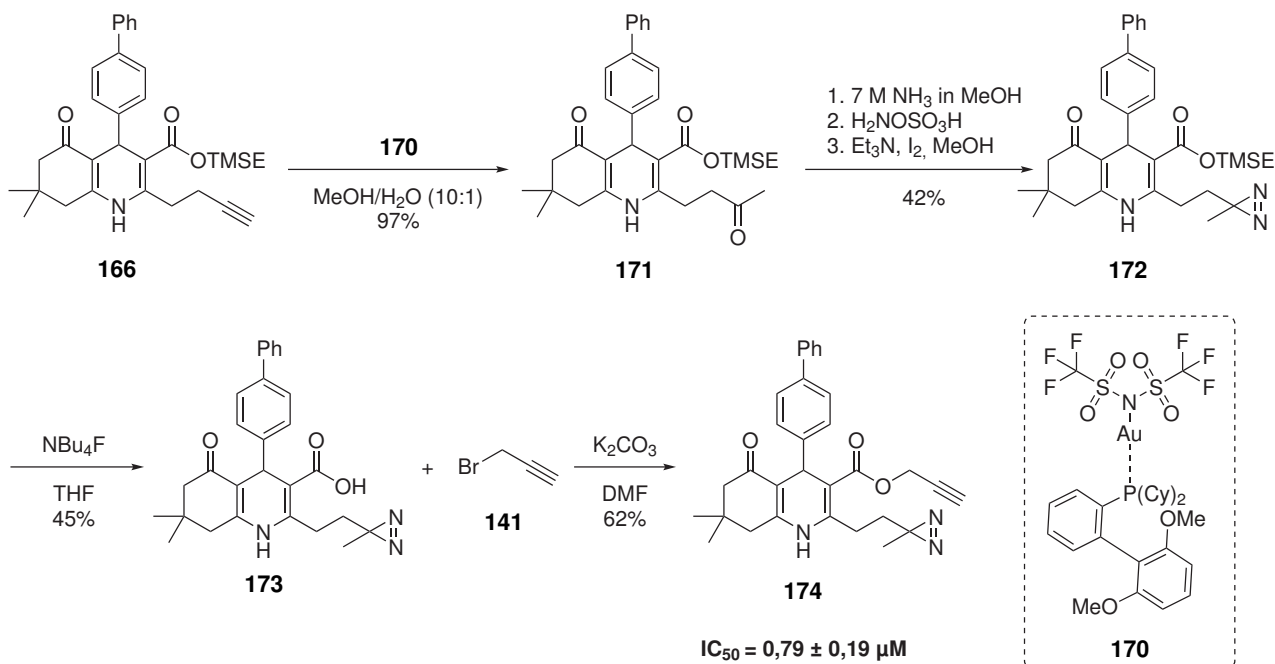
Die Syntheseplanung zur Darstellung der ersten Kombination offenbarte recht schnell ein strategisches Problem: Die Alkingruppe an 2-Position muss bereits bei der 1,4-DHP-Synthese im Edukt vorhanden sein und kann nur schwer durch stabile (Schutz-) Gruppen maskiert werden. Gleichzeitig muss zur Einführung des Diazirin-Bausteins an die 3-Position der 3-Ethylester des Dihydropyridins mit sehr starken Lewis-Säuren oder Brønstedt-Basen gespalten werden, was zu einer Zersetzung des 2-Alkinrests führen würde. Entsprechende Vorversuche im kleinen Maßstab bestätigten diesen Verdacht.

Ein Ausweg bot die Verwendung von speziell und mild abspaltbaren Esterderivaten in der 1,4-DHP-Synthese und deren anschließende selektive Entfernung. Die optimale Lösung wurde mit der Trimethylsilylester-Gruppe (TMSE-Gruppe) gefunden, da diese sehr einfach einzuführen ist, einer Vielzahl von (harschen) Reaktionsbedingungen stand hält und gleichzeitig mild und selektiv durch Fluoridionen in einer β-Eliminierung entfernt werden kann.

Die Darstellung des Bausteins, sowie die Darstellung eines bifunktionalisierten Dihydropyridins ist in **Abbildung 3.50** gezeigt.

Zunächst wurde die für die DHP-Synthese benötigte 1,3-Dicarbonylverbindung **165** in zwei Schritten hergestellt. Dazu wurde das Dioxinon **132** mit 2-Trimethylsilylethanol (**163**) zum Ethylacetoacetat-

Analogon **164** in einer guten Ausbeute von 72% umgesetzt. Dieses wurde dann im Anschluss zunächst mit LDA deprotoniert und mit Propargylbromid (**141**) zur Reaktion gebracht, wodurch die benötigten Zwischenstufe **165** mit einer Reaktionseffizienz von 74% erhalten werden konnte. Diese konnte dann in der Hantzschen Dihydropyridinsynthese mit 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) und Dimedon (**1**) zu dem 1,4-DHP **166** in einer für diesen Reaktionstyp guten Ausbeute von 54% reagieren. Nach Entfernung der Estergruppe mittels  $\text{NBu}_4\text{F}$  und einer Alkylierung der Carbonsäuregruppe mit Chloraceton (**60**) konnte die Diazirinsynthese mit dem im Rahmen dieser Arbeit etablierten Standardprotokoll und einer Ausbeute von 47% durchgeführt werden.<sup>[233]</sup>



**Abb. 3.51:** Darstellung einer 1,4-DHP-*Probe*, welches sowohl eine Alkin- (3-Position) als auch eine Diaziringroupe (2-Position) trägt. Zusätzlich ist dessen biologische Aktivität in Smad4-binding element (SBE4) Reporterassays in HEK293T-Zellen, deren Signalwege über TGFβ-2 induziert wurden, gezeigt. Der Wert und die Standardabweichung wurden über  $n = 2$  unabhängige Experimente ermittelt.<sup>[233,271]</sup>

Das zweite 1,4-Dihydropyridin für den *Photocrosslinking*-Ansatz, welches zwar die selben Gruppen trägt, sich jedoch in den Derivatisierungsorten unterscheidet, konnte recht einfach hergestellt werden. Als Edukt wurde die Zwischenstufe **166** aus der vorhergegangenen Sequenz verwendet und die Folgereaktionen sind in **Abbildung 3.51** gezeigt.<sup>[233]</sup>

Ausgehend von Verbindung **166** konnte die bereits beschriebene Gold(I)-katalysierte Markownikow-Hydratisierungsreaktion mit hervorragenden Ausbeuten von 97% erreicht werden. Die deutliche Verbesserung der Reaktionseffizienz im Vergleich zu der zuvor diskutierten Gold-katalysierten Reaktion aus **Abbildung 3.45** kann vermutlich auf die Verwendung eines Gold-Katalysators mit einem SPhos- statt eines Triphenylphosphin-Liganden zurückgeführt werden. Im Anschluss daran wurde zunächst die Diazirin-Gruppe in 42%iger Ausbeute dargestellt, welche auch in der darauffolgenden Esterspaltung, sowie Alkylierung mit Propargylbromid (**141**) stabil blieb. So konnte die gewünschte

Verbindung **174** in vier Schritten synthetisiert werden.<sup>[233]</sup> In den Syntheschemata der beiden *dual-functionalized Probes* sind die IC<sub>50</sub>-Werte der TGFβ-Signalwegs-Inhibition der entsprechenden Verbindungen angegeben. Diese liegen erwartungsgemäß im selben Bereich wie die der monofunktionalisierten 1,4-DHPs und daher können beide Derivate für *Photocrosslinking*-Experimente verwendet werden.

### 3.3.4.2 Erste Untersuchungen zur zellulären Lokalisation der 1,4-Dihydropyridin-basierten *Affinity-based Probes*

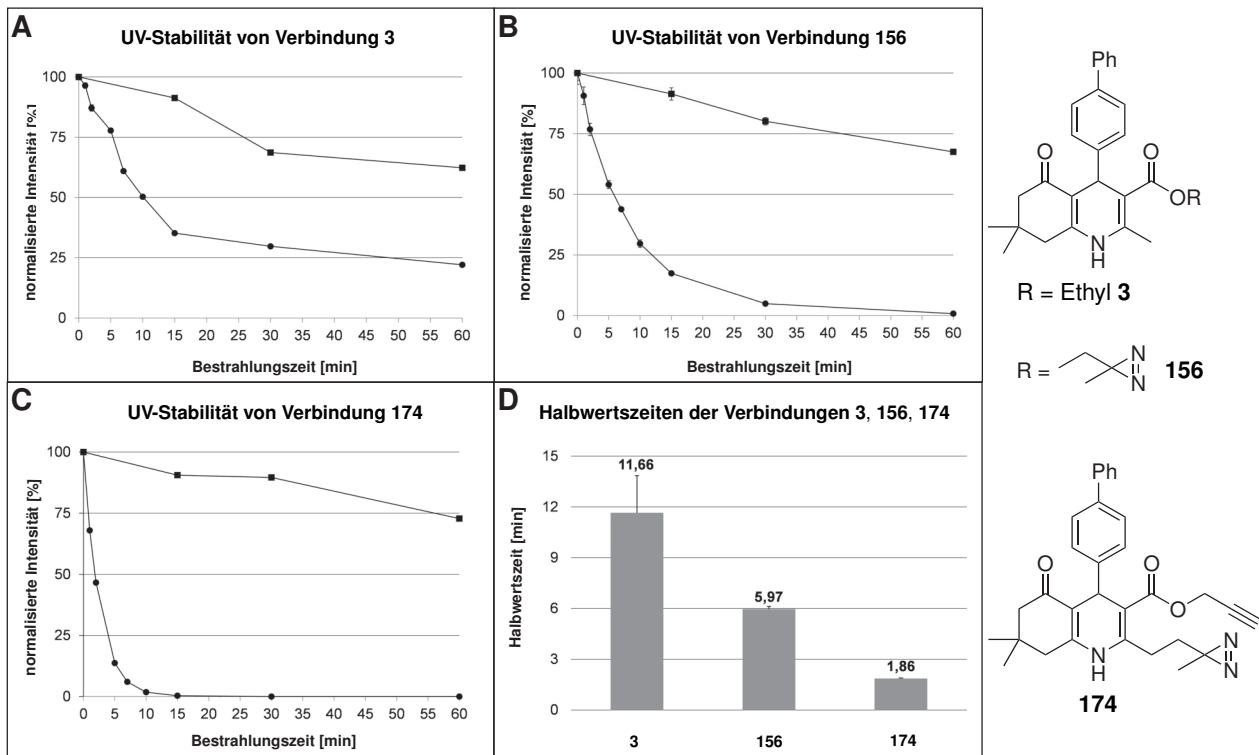
Nachdem nun die Synthesen der *Affinity-based Probes* erfolgreich abgeschlossen wurden, sollte im nächsten Schritt überprüft werden, ob das Konzept der Photoaktivierung der Diazirintragenden 1,4-Dihydropyridine angewendet werden kann. Dazu müssen vor deren Einsatz zur *Target*-Identifikation einige Parameter bestimmt werden, wie die Photostabilität des 1,4-Grundgerüsts und der Diazirin-Gruppe, sowie die Effizienz der Click-Reaktion. Diese Untersuchungen wurden im Rahmen der Masterarbeit von FABIAN WESSELER durchgeführt.<sup>[271]</sup>

Es ist schon lange bekannt und weit verbreitet, dass 1,4-Dihydropyridine eine starke Labilität gegenüber UV-Licht besitzen, da der Grundkörper je nach (4-)Substitution schnell bei Lichtbestrahlung zu einem Pyridin oxidiert werden kann.<sup>[272–275]</sup> Daher musste vor der Anwendung der Substanzen in zellulären System überprüft werden, ob die intrinsische, Grundstrukturbedingte Instabilität für die angedachte Anwendung ausreichend ist. Dazu wurden drei verschieden substituierte 1,4-DHPs jeweils in einer Puffer-Lösung inkubiert und mit UV-Licht ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ) bestrahlt. Nach verschiedenen Zeitpunkten wurden dann Proben über eine LC-MS-SIM-Methode (*liquid chromatography – mass spectrometry – single ion monitoring*) vermessen und der prozentuale Abbau durch die Lichteinstrahlung ermittelt. Als Kontrollreaktionen wurden bei Tageslicht gelagerte Ansätze verwendet. In der **Abbildung 3.52** sind für jede Substanz je eine beispielhafte Degradierungskurve, sowie die gemittelten Halbwertszeiten gezeigt.<sup>[271]</sup>

Betrachtet man zunächst die Degradierungskurve der Referenzsubstanz **3**, so erkennt man klar die deutliche Abbaureaktion unter UV-Bestrahlung. Diese ist vermutlich auf die bereits angesprochene lichtinduzierte Oxidation des 1,4-Dihydropyridinrings zurückzuführen, sodass nach 60 Minuten Bestrahlung nur noch ca. 20% der ursprünglichen Menge detektiert werden konnte. Außerdem wurde ein gewisses Aufheizen der Lösung – vermutlich durch die Lichtabsorption – beobachtet, was den Abbau eventuell beschleunigt haben könnte. Der genaue Einfluss dieses Parameters wurde nicht weiter untersucht. Bei Betrachtung der DHP-Abbaukurve im Kontrollansatz konnte interessanterweise ebenfalls ein gewisser Abfall der DHP-Konzentration auf ca. 60% erkannt werden. Wie in **Kapitel 3.2.2.2** auf Seite **64** beschrieben, besitzt diese Verbindung eine recht hohe chemische Stabilität im Dunkeln, weswegen auch dieser Abbau vermutlich auf eine (Tages-) lichtabhängige Zerfallsreaktionen zurückzuführen sein sollte.<sup>[271]</sup>

Als nächstes wurde der Einfluss einer Diaziringruppe auf die photochemische Stabilität von Dihydropyridinen untersucht. Dazu wurde Verbindung **156** ebenfalls unter UV-Licht inkubiert und dessen

Zerfallskurve ist in **Abbildung 3.52 B** gezeigt. Man erkennt sehr schnell, dass der Abbau dieser Substanz unter Bestrahlung deutlich rapider als bei der Referenzsubstanz **3** vonstatten geht und nach 60 Minuten konnte keinerlei Ausgangssubstanz detektiert werden. Das Kontrollexperiment hingegen weist einen sehr ähnlichen Abbauverlauf wie bei den Messungen der Referenzverbindung **3** auf. Daraus lässt sich folgern, dass die Zersetzungsreaktionen ohne eine starke UV-Quelle bei beiden DHP-Derivaten etwa gleich ablaufen und somit die Diazirin-Gruppe nicht durch einfaches Tageslicht gespalten werden kann und der etwa doppelt so schnelle Abbau der Verbindung **156** bei Bestrahlung (Vergleich der Halbwertszeiten: **3**: 11,6 min, **156**: 6,0 min) ist höchstwahrscheinlich ausschließlich auf die Aktivierung und den Zerfall der Diaziringruppe zurückzuführen. Es wurde versucht, entsprechende Zwischenprodukte dieser Zerfallsreaktionen massenspektroskopisch nachzuweisen, was jedoch aufgrund der sehr kurzen Lebensdauer der erwarteten Reaktionsprodukte erfolglos blieb. Die intermediär gebildete Carbenspezies besitzt eine derart hohe chemische Reaktivität, sodass in einer wässrigen Puffer-Lösung eine Vielzahl an unterschiedlichen Quenchreaktionen denkbar sind und somit einzelne Zwischenprodukte nicht detektierbar waren.<sup>[271]</sup>



**Abb. 3.52:** A–C: Repräsentative Stabilitätskurven der Verbindungen **3**, **156** und **174** bei einer Konzentration von 10  $\mu$ M unter UV-Bestrahlung ( $\lambda = 365$  nm). Die Wertereihen mit kastenförmigen Markierungen repräsentieren die Kontrollmessungen, bei welchen die Inkubation unter Tageslicht durchgeführt wurde. Die Werte und Standardabweichungen wurden in  $n = 2 - 4$  unabhängigen Experimenten ermittelt. D: Vergleich der Halbwertszeiten der Verbindungen **3**, **156** und **174**.<sup>[271]</sup>

Zuletzt wurde eine doppel-funktionalisierte Verbindung, **174**, dem selben Stabilitäts-Assay unterzogen, um den Einfluss einer zusätzlichen neuen Alkin-Gruppe auf die Rate des Substanzabbaus zu

untersuchen. Dadurch sollten Rückschlüsse auf den benötigten Bestrahlungszeitraum im zellulären System zur vollständigen kovalenten Verknüpfung erhalten werden.

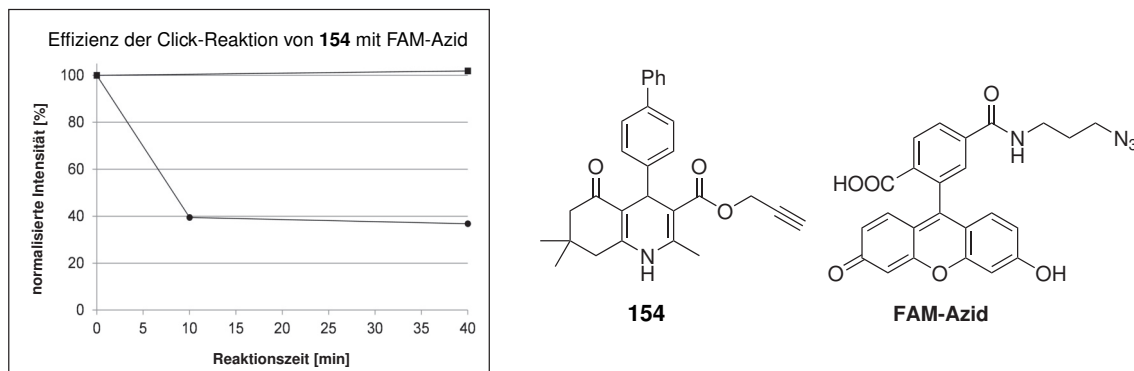
Tatsächlich ist die Geschwindigkeit der Abbaureaktionen im Vergleich zu der monofunktionalisierten Verbindung um den Faktor drei erhöht (Halbwertszeit: ca. 2 Minuten), sodass nach 10 Minuten nur noch etwa 2% der Ausgangssubstanz detektiert werden konnten. Dieser extrem schnelle Zersetzungsprozess ist vermutlich ebenfalls auf photochemisch induzierte Reaktionen zurückzuführen, da die Abbaukurve der Kontrollprobe wieder einen sehr ähnlichen Verlauf wie bei der Referenzsubstanz annimmt (vgl. **Abbildung 3.52 C**). Es erscheint recht unwahrscheinlich, dass die zusätzliche Labilität der Verbindung auf eine photochemische Zersetzung der neu dazugekommenen Alkin-Gruppe zurückzuführen ist, da diese in der Regel UV-Strahlungen mit Wellenlängen von  $\lambda = 365$  nm recht gut tolerieren. Dies kann man beispielsweise daran erkennen, dass bei einigen Schutzgruppen-Strategien für terminale Alkine die Freisetzung dieser Gruppe mithilfe einer intensiven UVA-Bestrahlung durchgeführt werden kann.<sup>[276]</sup> Das führt zu der Vermutung, dass der beschleunigte Abbau wahrscheinlich auf intra- und/oder intermolekulare Reaktionen von (photoaktivierten) Diazirinegruppen, bzw. von entsprechenden Zerfallsprodukten mit Alkingruppen zurückzuführen ist. Allerdings konnte auch hier kein massenspektrometrischer Nachweis von intramolekularen Ringschlüssen oder intermolekularen Polymerisationen geführt werden.<sup>[271]</sup>

Aus diesen letzten Experimenten lässt sich folgern, dass die Substanzen trotz ihrer recht hohen Rate der Photodegradierung für Lokalisationsexperimente anwendbar sind, da der photochemisch induzierte Zerfall der Diazirinegruppe deutlich schneller als die intrinsische Abbaureaktion des 1,4-DHP-Grundgerüsts abläuft. Daher sollte die lichtinduzierte kovalente Bindung an potentielle *Targets* ebenfalls schneller als die Zersetzung der Moleküle stattfinden und somit eine ausreichend hohe Substanzmenge an den biologischen Zielstrukturen binden. Außerdem ist es fraglich, ob das Problem von intra- bzw. intermolekularen Reaktionen der reaktiven Molekülgruppen bei der Bindung der *dual functionalized Probes* an die *Target*-Proteine in hohem Ausmaß auftritt, da vermutlich mindestens eine der beiden Funktionalitäten in einer Bindetasche vergraben sein sollte und so nicht für Reaktion mit der jeweils anderen Rest zur Verfügung stünde. Auch würden auf diese Art abreagierte Dihydropyridine nicht detektiert werden, weil sie entweder nicht am *Target* gebunden vorliegen oder die Alkin-Gruppe nicht mehr für eine Detektionsreaktion zur Verfügung steht.

Auf Basis dieser Vorevaluierung der *Probe*-Moleküle sollte die Bestrahlungsdauer während zellulären *Labelling*-Experimenten in einem Zeitraum von 5 – 10 Minuten stattfinden, um möglichst wenig Zersetzung, aber gute Markierungseffizienzen zu erreichen.<sup>[271]</sup> Diese Bestrahlungsdauer deckt sich außerdem sehr gut mit entsprechenden Literaturstellen zu Diazirinbasierten *Photolabelling*-Experimenten, da hier ebenfalls häufig UV-Behandlungen von nur wenigen Minuten berichtet werden.<sup>[264,277–279]</sup> Daneben ist auch aus Sicht der verwendeten Zellen eine kurze UVA-Bestrahlung erstrebenswert. Während des gesamten Experiments muss die Vitalität der Zellen gewährleistet werden, um eine Markierung unspezifischer Proteine zu verhindern. Um diesen Faktor genauer zu beleuchten, wurde die Viabilität von unterschiedlich lange UV-bestrahlten Zellen daher mithilfe eines WST-Assays untersucht. Interessanterweise nahm die Zellviabilität nach zehnminütiger UV-Bestrahlung bereits um 26%

ab, weswegen die Bestrahlungsdauer während der konkreten *Labelling*-Experimente auf fünf Minuten beschränkt werden sollte.<sup>[271]</sup> Allerdings ist es unumgänglich, dass eine gewisse Menge an unspezifisch gebundenen Proteinen durch die *Probe*-Moleküle markiert werden, weshalb ein besonderes Augenmerk auf Negativkontrollen für eine Devalidierung gelegt werden muss.

Der nächste Parameter, welcher vor der Anwendung der Dihydropyridine in zellulären Systemen untersucht werden muss, ist die Effizienz und Geschwindigkeit der Click-Reaktion zur Fluoreszenzmarkierung der *Probe*-Moleküle. Dazu wurde zunächst der Farbstoff, ein Carboxyfluoreszin Azid (FAM-Azid), mit dem 3-Alkin-tragenden 1,4-Dihydropyridin **154** in einem Puffersystem umgesetzt und die DHP-Konzentration der Reaktionslösung mithilfe massenspektrometrischer Methoden in Abhängigkeit von der Zeit gemessen. Neben den Reaktionspartnern ist für die Click-Reaktion ein Kupfer(I)-Salz als Katalysator notwendig, welches direkt zugegeben oder – so wie in dem vorliegenden Fall – *in situ* aus einer Cu(II)-Spezies und einem Reduktionsmittel (Natriumascorbat, NaAsc) erzeugt werden kann. Dieses Vorgehen hat den entscheidenden Vorteil, dass alle Reagenzien im Vorfeld gemischt und inkubiert werden können, während die Reaktion gezielt durch die Zugabe des Natriumascorbats gestartet werden kann. Außerdem ist für eine intrazelluläre Click-Reaktion ein organischer Ligand für den Kupferkatalysator notwendig, damit dieser den Ort der Markierung erreichen kann. Es stehen hierbei diverse Möglichkeiten zur Verfügung, wobei das tertiäre Amin TBTA (Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin) die besten Ergebnisse erzielen konnte. Außerdem wurde in den Vorexperimenten eine DMSO-Konzentration von 5% eingesetzt, um die Situation während der zellulären Behandlung zu simulieren.<sup>[165,271]</sup> Die Ergebnisse der Untersuchung sind in **Abbildung 3.53** gezeigt.

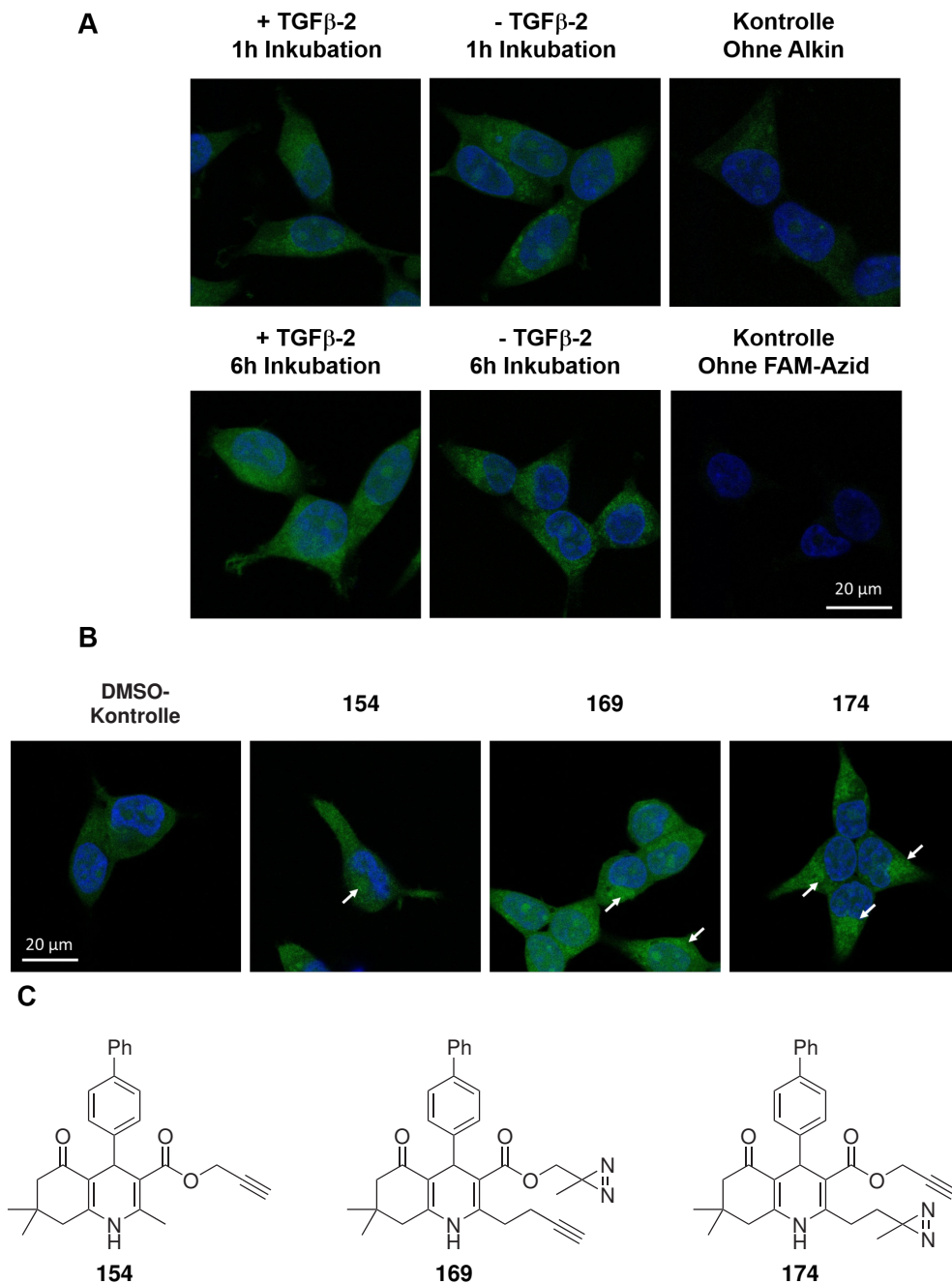


**Abb. 3.53:** Umsetzung des 3-Alkin-tragenden 1,4-DHPs **154** mit FAM-Azid mithilfe einer Click-Reaktion. Die Wertereihe mit kastenförmigen Markierungen repräsentiert die Kontrollmessung, bei welcher keinerlei Kupfer-Salz zugegeben wurde. Bedingungen:  $c(\mathbf{154}) = 5 \mu\text{M}$ ,  $c(\text{CuSO}_4) = 75 \mu\text{M}$ ,  $c(\text{TBTA}) = 187,5 \mu\text{M}$ ,  $c(\text{FAM-Azid}) = 25 \mu\text{M}$ ,  $c(\text{NaAsc}) = 2 \text{mM}$ ,  $c(\text{DMSO}) = 5\%$ .<sup>[271]</sup>

Die Fluoreszenzmarkierung verlief in einer hohen Geschwindigkeit und nach zehn Minuten ist kein weiteres Voranschreiten der Reaktion zu beobachten. Interessanterweise konnte allerdings keine quantitative Umsetzung des 1,4-DHPs mit dem Fluoreszenzfarbstoff erreicht werden und selbst bei Erhöhung der Anteile verschiedener Reaktionskomponenten (Kupfer-, TBTA-, NaAsc-, FAM-Azid-Konzentrationen) wurde eine Ausbeute von maximal 60% erreicht. Die Ursachen konnten daher nicht ermittelt und umgangen werden, aber eine Markierung von 60% aller eingesetzten *Probes* sollte für



eine effiziente Markierung während der Bindung an das *Target* ausreichen. Die Kontrollreaktion ohne Kupfersulfat zeigte wie erwartet nach 40 Minuten keinen Reaktionsumsatz.<sup>[271]</sup>



**Abb. 3.54:** (A): Konfokalmikroskopische Aufnahmen von HEK293T-Zellen, welche mit dem 1,4-DHP-Derivat **154** und mit bzw. ohne TGFβ-2 für 1h oder 6h inkubiert und mit FAM-Azid markiert wurden. **B:** Konfokalmikroskopische Aufnahmen von HEK293T-Zellen, welche mit einem der 1,4-DHP-Derivate **154**, **174** und **169** für 1h inkubiert, dann für 5 Minuten UV-bestrahlt ( $\lambda = 365\text{nm}$ ) und abschließend mit FAM-Azid markiert wurden. Die Aufnahmen erfolgten mit einem H<sub>2</sub>O-Objektiv (63x, 1.2 NA). Blau: DAPI (Zellkern); Grün: FAM-Azid. Bedingungen für die Click-Reaktionen: Inkubationszeit: 1h, c(DHP-Derivat) = 5 μM, c(Saponin) = 0,5%, c(CuSO<sub>4</sub>) = 75 μM, c(TBTA) = 187,5 μM, c(FAM-Azid) = 25 μM, c(NaAsc) = 2 mM, c(DMSO) = 5%, **C:** Übersicht die Strukturformeln der verwendeten Substanzen.<sup>[233,271]</sup>

Nachdem nun die Vorevaluierung der Substanzen und deren Reaktionsverhalten *in vitro* abgeschlossen war, wurden erste zelluläre Lokalisationsexperimente der 1,4-Dihydropyridine durchgeführt. Dies geschah ebenfalls im Rahmen der Masterarbeit von FABIAN WESSELER.<sup>[233,271]</sup>

Die von uns untersuchten 1,4-Dihydropyridine besitzen bekanntermaßen eine Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg,<sup>[79]</sup> weswegen zunächst untersucht wurde, ob eine Stimulation der Zellen mit TGF $\beta$ -2 einen Einfluss auf das Lokalisationsverhalten der *Probes* besitzt. Diese ersten Versuche wurden mit der monofunktionalisierten Verbindung **154** durchgeführt, da zu dem Zeitpunkt des Experiments die Synthese der doppelt substituierten Derivate noch nicht beendet war. Dies bot aber die Möglichkeit die Markierungs- und Lokalisierungseigenschaften der *Probe*-Moleküle mit und ohne kovalenter Fixierung zu vergleichen.<sup>[233,271]</sup>

Betrachtet man die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen in **Abbildung 3.54** Abschnitt **A**, so erkennt man zunächst, dass die Click-Markierungsreaktion mithilfe des FAM-Azids im zellulären System erfolgreich durchgeführt werden konnte, aber das Signal insgesamt relativ breit und gleichmäßig in der Zelle verteilt ist. Dennoch lässt sich eine gewisse perinukleäre Akkumulation des *Probe*-Moleküls feststellen, welche möglicherweise der spezifischen Interaktion der Verbindungen mit dem *Target* entsprechen könnte. Weiterhin erkennt man, dass mit und ohne Stimulation der Zellen durch TGF $\beta$ -2 keine erkennbar unterschiedlichen Phänotypen ausgebildet werden, wie es auch bei Variation der Inkubationsdauer zu beobachten ist.<sup>[233,271]</sup>

Aus diesem Experiment können allerdings nur sehr vorsichtige Aussagen und Interpretationen getroffen werden, da das Level und die Verteilung der Untergrundfluoreszenz sehr ähnlich zu der FAM-Azid-Kontrolle liegen und daher hier nur ein geringes Signal/Rauschverhältnis herausgearbeitet werden konnte. Dieses Problem könnte eventuell durch eine höhere Anzahl an Waschvorgängen vermindert werden, wobei jedoch dabei gleichzeitig das gewünschte Lokalisierungssignal abgeschwächt würde, da die markierten Substanzen nicht kovalent an den Proteinen gebunden wurden.<sup>[271]</sup> Derartige mikroskopisch-technischer Schwierigkeiten unterstreichen erneut die Wichtigkeit kovalent bindende *photocrosslinking Probes* zu verwenden.

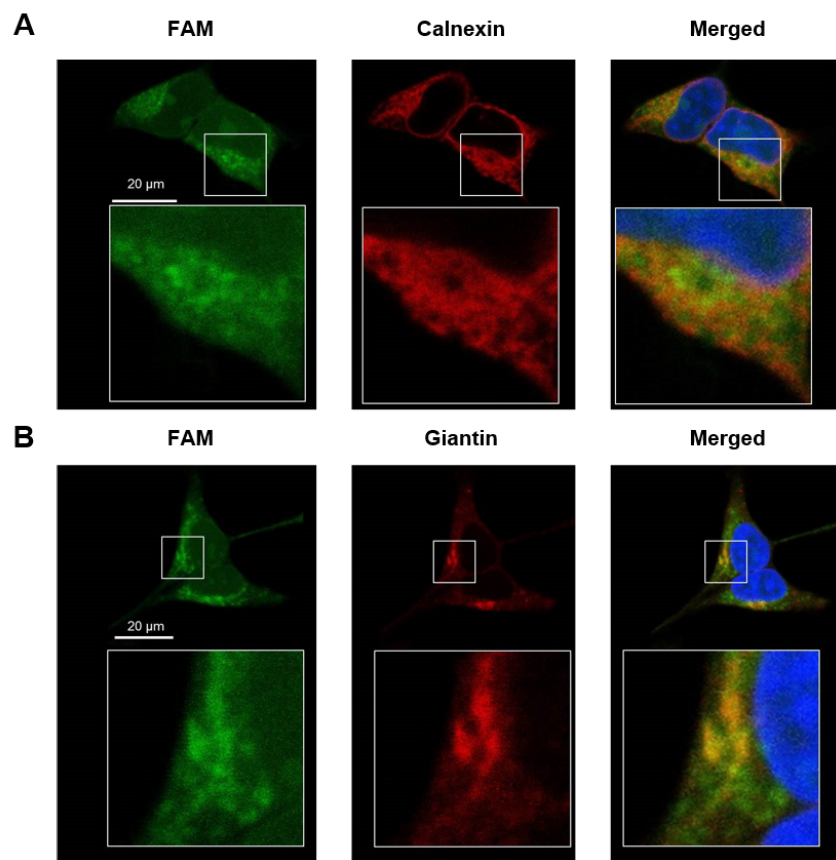
Insgesamt lässt sich aus diesen Experimenten zusammenfassen, dass die Markierung Alkin-derivatisierter 1,4-Dihydropyridine in HEK293T-Zellen erfolgreich durchgeführt wurde und nun alle Parameter herausgearbeitet wurden, um diese auf die doppeltfunktionalisierte *Probes* zu übertragen.

**Abbildung 3.54** Abschnitt **B** zeigt den Unterschied in den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen bei Verwendung der beiden doppelt funktionalisierten *Probes* (**174** und **169**) nach kovalenter Bindung an Zellbestandteile im direkten Vergleich zu der Inkubation mit der monosubstituierten Verbindung **154**.<sup>[233,271]</sup>

Erwartungsgemäß sind die von den photoaktivierten *Probes* erhaltenen Fluoreszenzsignale deutlich besser vom Hintergrund abgegrenzt, was wahrscheinlich auf die nun möglichen, zusätzlichen Waschschritte nach der Click-Reaktion zurückzuführen ist. Abgesehen von dem verbesserten Signal-zu-Rausch-Verhältnis zeigen beide doppeltfunktionalisierten Derivate den gleichen Phänotyp mit einer deutlichen perinukleären und vesikulären Lokalisation der Signale auf. Auch erkennt man, dass die Verwendung des Derivats **174** zwar zu einer etwas schwächeren Fluoreszenzintensität führt, jedoch

gleichzeitig eine klarere Akkumulation um den Zellkern bewirkt, weswegen alle darauffolgenden Experimente mit diesem Derivat durchgeführt wurden.<sup>[233,271]</sup>

In einem nächsten Schritt sollte nun überprüft werden, ob die ausgeprägt vesikuläre Lokalisation der 1,4-DHPs auf bestimmte Zellkompartimente beschränkt ist. Daher wurde in einem weiteren Experiment nach der *Photocrosslinking*- und Click-Reaktionen mit dem DHP das endoplasmatische Retikulum (ER, Marker: Calnexin), sowie der Golgi-Apparat (Marker: Giantin) durch Immunofärbungen visualisiert und auf eine Kolo-kalisation mit dem *Probes* überprüft.



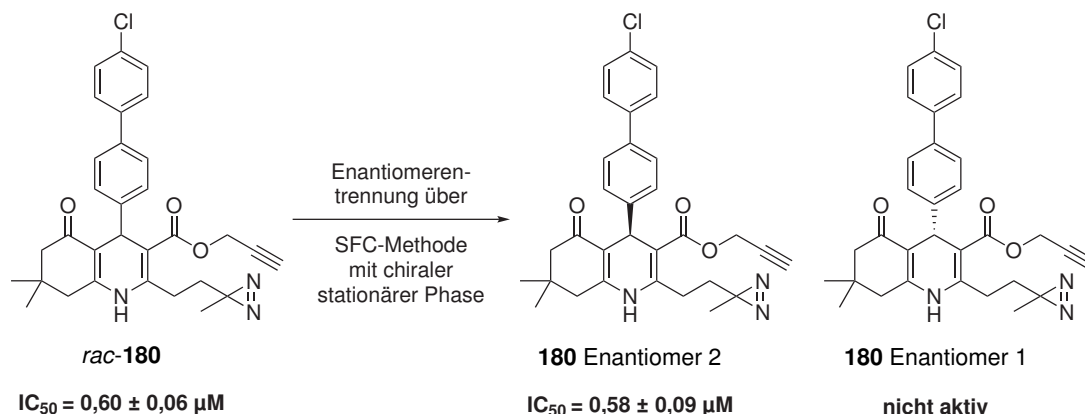
**Abb. 3.55:** Konfokalmikroskopische Aufnahmen von HEK293T-Zellen, welche mit dem 1,4-DHP-Derivat **174** für 1h inkubiert, dann für 5 Minuten UV-bestrahlt ( $\lambda = 365\text{nm}$ ) und abschließend mit FAM-Azid markiert wurden. **A:** Zusätzliche Anfärbung des endoplasmatischen Retikulums (Marker: Calnexin), **B:** Zusätzliche Anfärbung des Golgi-Apparates (Marker Giantin). Die Aufnahmen erfolgten mit einem  $\text{H}_2\text{O}$ -Objektiv (63x, 1.2 NA). Blau: DAPI (Zellkern); Grün: FAM-Azid, Rot: Alexa-Fluor 647 oder Giantin.<sup>[233,271]</sup>

Betrachtet man die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen in **Abbildung 3.55** nach der *Photocrosslinking*- und der Click-Reaktionen, so erkennt man erneut durchweg eine starke perinukleäre Lokalisation. Bezieht man nun noch die Anfärbung des endoplasmatischen Retikulums in diese Betrachtung ein, so kann hier durchaus eine Kolo-kalisation über weite Teile aufgefunden werden. Allerdings weist das ER eine größere Verteilung in der Zelle auf als das Fluoreszenzsignal des eingesetzten 1,4-DHPs, weswegen nicht von einer vollständigen Übereinstimmung gesprochen werden kann. Betrachtet man

nun die Ergebnisse bei simultaner Anfärbung des Golgi-Apparats, so zeigt sich eine deutlich bessere Überlagerung der *Probe*-Fluoreszenz mit der des Giantin-Markers. Allerdings sind auch hier FAM-Signale außerhalb der Golgi-Region zu finden, weswegen nicht von einer klaren Kolo-kalisation gesprochen werden kann. Zusammengefasst scheinen sich die *Probe*-Moleküle also deutlich in den membranären Strukturen der Zellen anzureichern, insbesondere in vesikulären, intrazellulären Systemen mit einer besonderen Akkumulation in den perinukleären Bereichen.<sup>[233,271]</sup>

Eine genauere Untersuchung des Lokalisationsverhaltens der 1,4-DHPs sollte durch den Einsatz von qualitativ noch hochwertigeren *Probe*-Molekülen, sowie durch entsprechende chemische Negativkontrollen deutlich erleichtert werden. Daher wurde eine neue bifunktionalisierte Verbindung mit einem 4'-(4"-Chlorphenyl)-Substituent, **180**, designt und entsprechend der in **Abbildung 3.51** gezeigten Syntheseroute hergestellt. Dieses Substitutionsmuster sollte eine erhöhte Selektivität der Verbindung für den TGF $\beta$ -Signalweg erzeugen, wodurch geringere *Off Target*-Effekte beobachtbar sein sollten (vgl. **Kapitel 3.3.1** auf Seite 73).

Dieses Derivat wurde zunächst als Racemat hergestellt und konnte durch ein Kooperationsprojekt mit der Firma ASTRAZENECA enantiomerenrein erhalten werden. Die Auftrennung in die Enantiomere gelang mit einer SFC-Methode unter Verwendung einer chiralen stationären Phase.<sup>[233]</sup> Die Ergebnisse der anschließenden Untersuchung des Enantiomerenpaares im TGF $\beta$ -Reportergeren-Assay sind in **Abbildung 3.56** dargestellt.



**Abb. 3.56:** Übersicht über die neue bifunktionalisierte, racemische und enantiomerenreine *Target ID Probe* **180** mit erhöhter Selektivität gegenüber des Activin A-Signalwegs und dessen Negativkontrolle (inaktives Enantiomer). Zusätzlich sind deren biologische Aktivitäten in Smad4-binding element (SBE4) Reportergerenassays in HEK293T-Zellen, deren Signalwege über TGF $\beta$ -2 induziert wurden. Die Werte und die Standardabweichungen wurden über n = 2 unabhängige Experimente ermittelt.<sup>[233]</sup>

Der IC<sub>50</sub>-Wert von 0,60 μM von racemischem **180** liegt bereits in einem sehr guten Potenzbereich und ist um einen Faktor von ca. 1,5 geringer als von der Referenzverbindung **3**. Es ist allerdings erstaunlich, dass beim enantiomerenreinen Eutomer von **180** ein sehr ähnlicher Wert bestimmt wurde, da bei allen anderen bisher untersuchten (*R*)-konfigurierten DHP-Enantiomeren ein deutlicher Potenzanstieg gemessen wurde. Daher sollten zunächst diese Daten aus dem Reportergeren-Assay wiederholt werden, um finale Aussagen treffen zu können. Das Distomer von **180** besitzt keinerlei biologische

Aktivität gegenüber dem TGF $\beta$ -Signalweg, was sich mit den zuvor getroffenen Erwartungen deckte und sich somit für zum Einsatz als Negativkontrolle hervorragend eignet.<sup>[233]</sup>

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass sich das Konzept der *Affinity-based Probes* erfolgreich auf die Substanzklasse der 1,4-Dihydropyridine übertragen ließ. Es konnten nach intensiven synthetischen Bemühungen basierend auf den ausgiebigen SAR-Studien die für *Target ID*-Experimente benötigten Gruppen an verschiedenen Stellen in das Grundgerüst eingeführt werden ohne Hemmpotenz gegenüber dem TGF $\beta$ -Signalweg einzubüßen. Nach biologischer Evaluierung der monosubstituierten Verbindungen wurden diverse Synthesestrategien für doppelt-funktionalisierte *Probe*-Verbindungen erarbeitet und erfolgreich angewendet. Auch diese Derivate wurden in einem Reportergergen-Assay biologisch evaluiert und diese zeigten eine hohe Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg. 1,4-Dihydropyridine besitzen eine intrinsische Anfälligkeit für lichtinduzierte Oxidationen zu Pyridinen, weswegen vor deren Anwendung in zellulären Systemen die photochemischen Halbwertszeiten von drei 1,4-DHP-Derivaten untersucht wurden. Die Anwesenheit einer Diazirinegruppe im Grundgerüst führt zu einer deutlichen Beschleunigung des photochemischen Abbaus, woraus geschlossen werden konnte, dass die *Photocrosslinking*-Gruppe deutlich schneller aktiviert wird als der Zersetzungsprozess der Grundgerüste einsetzt. Die Einführung einer Alkylgruppe erniedrigt weiter die Photostabilität der Derivate, was vermutlich auf nicht näher identifizierte intra- oder intermolekulare Nebenreaktionen schließen lässt. Um dieser unspezifischen Deaktivierung der Moleküle entgegenzuwirken und die Schädigung der verwendeten Zellen während der Bestrahlung möglichst gering zu halten, wurde der Bestrahlungszeitraum während der Zellexperimente auf 5 Minuten festgesetzt.<sup>[233]</sup>

Auch die Effizienz der Markierungsreaktion der Dihydropyridine mit FAM-Azid wurde im Vorfeld massenspektrometrisch untersucht. Dabei wurden die Konzentrationen aller Komponenten für die Click-Reaktion in Zellen durchtitriert und es konnte nur eine maximale Umsetzung von 60% erreicht werden.<sup>[233]</sup>

Anschließend wurden erste Markierungsexperimente in HEK293T-Zellen durchgeführt und man erkennt sowohl mit als auch ohne kovalente Fixierung der Verbindungen an die Proteine eine rasche TGF $\beta$ -unabhängige perinukleäre und versikuläre Lokalisation der 1,4-Dihydropyridine. Die *Photocrosslinking*-Reaktion durch UV-Bestrahlung verbesserte erwartungsgemäß das Signal-Rausch-Verhältnis deutlich und der Phänotyp kann klarer erkannt werden. Im nächsten Schritt wurde die Kollokalisierung der *Probe*-Moleküle mit zwei Zellkompartimenten (ER und Golgi-Apparat) durchgeführt und es konnte zwar jeweils eine Überlagerung festgestellt werden, jedoch ist entweder das Fluoreszenzsignal der angefärbten Zellbestandteile (ER) oder das des 1,4-DHPs (Experiment mit Koanfärbung des Golgi-Apparats) breiter in der Zelle verteilt. Zur weiteren Untersuchung wurde eine neue Verbindung mit einem 4"-Chlor-Substituenten synthetisiert, wodurch eine verbesserte Selektivität für den TGF $\beta$ -Signalweg und somit weniger unspezifische Markierungen erreicht werden soll. Dieses Racemat wurde dann in einem Kollaborationsprojekt durch ASTRAZENECA in die einzelnen Enantiomere getrennt und wurde uns für biologische Experimente zur Verfügung gestellt. Die ersten Ergebnisse des Reportergergen-Assay mit dieser neuen *dual functionalized Probe* zeigen ein analoges Inhibitionsverhalten wie alle bisher hergestellten 1,4-DHP-Enantiomere. Das Eutomer besitzt eine ausgeprägte

Hemmwirkung und das Distomer zeigt einen vollständigen Verlust der biologischen Aktivität, weswegen dieses sehr gut als Negativkontrolle zur Devalidierung von *Off-Targets* genutzt werden kann.<sup>[233]</sup> Nachdem nun diese große Menge an Informationen über die Funktionalität und Einsetzbarkeit der hier vorgestellten Verbindungen erarbeitet wurde, sollten auch proteomische Analysen zur *Target*-Identifizierung in Betracht gezogen werden. Außerdem sollte auch genauer überprüft werden, ob der in den HEK2913T-Zellen beobachteten Phänotyp auch bei anderen Zellsystemen herausgearbeitet werden kann, insbesondere bei stark TGF $\beta$ -abhängigen Zelllinien (z.B.: Mv1Lu-Zellen).

Abschließend sollte der Wirkmechanismus der 1,4-Dihydropyridine mit demjenigen der kürzlich publizierten Verbindung Pentabromophenol verglichen werden. Beide Substanzklassen zeichnen sich durch eine Internalisierung des TGF $\beta$  Rezeptors II und dessen proteasomalen Abbau aus (vgl. **Abschnitt 1.2.3** auf Seite 6). Bei PBP wird der Wirkmechanismus in der unspezifischen Veränderung von Membranzusammensetzungen intrazellulärer Vesikel vermutet,<sup>[78]</sup> was aufgrund der sehr lipophilen Eigenschaften des Moleküls auch durchaus sinnvoll erscheint. 1,4-DHPs besitzen ebenfalls eine ausgeprägte Lipophilie, jedoch konnten durch die ausgeprägten SAR-Studien, sowie durch Computergestützte Verfahren deutliche Hinweise auf die Adressierung eines einzelnen *Targets* gefunden werden.

### 3.4 Identifizierung neuer Pharmakophore für die TGF $\beta$ -Inhibition

Verbindungen von der 1,4-Dihydropyridin-Klasse werden zu den *privileged scaffolds* gezählt, weil sie – wie in der Einleitung (**Kapitel 1.3**, S. 9) ausführlich beschrieben – je nach Substitutionsmuster an eine Vielzahl von verschiedensten biologischen *Targets* binden können. Somit stellt diese Substanzklasse zwar einen hervorragenden Startpunkt für eine medizinisch-chemische Kampagne zur Entwicklung neuer Modulatoren von biologischen Zielstrukturen dar, jedoch ist es gut möglich, dass bei Verwendung dieser Substanzklasse polypharmakologische Effekte auftreten. Ein wahrscheinliches *Off-Target* von den hier bearbeiteten 1,4-Dihydropyridinen stellen (Calcium-)Ionenkanäle dar, da diese Substanzklasse bekanntermaßen intrinsisch sehr hohe Affinitäten für diese Proteinklasse aufweisen und schlussendlich durch diese Eigenschaft historisch ihre Relevanz in der Medizinischen Chemie erhalten haben.<sup>[4,121,122]</sup> Zusätzlich hat sich bei der Anwendung der 1,4-Dihydropyridine im Kontext der TGF $\beta$ -Inhibition eine zusätzliche Interaktion mit eng verwandten Signalwegen (insbesondere Activin A) gezeigt (vgl. **Kapitel 3.3.1** auf Seite 73). Neben der Selektivitätsproblematik besitzt diese Substanzklasse zusätzlich diverse metabolische und physikochemische Schwachstellen. In **Kapitel 3.2.1.3** auf Seite 46 wurden beispielsweise die Anfälligkeit der Verbindungen gegenüber chemischer und enzymatischer Einflüsse genauer betrachtet und diskutiert. Auch wurde im Rahmen dieser Arbeit bereits herausgearbeitet, dass eine hohe biologische Aktivität oftmals mit einer hohen Lipophilie und damit einer geringen Löslichkeit in wässrigen Medien (vgl. **Kapitel 3.2.1.1** auf Seite 31) einhergeht.

Diese Problemstellungen konnten zwar im Rahmen diverser Optimierungskampagnen adressiert und auch teilweise gelöst werden, jedoch konnten manche problembehaftete Strukturelemente nicht ersetzt oder chemisch modifiziert werden, da sie für die Wirkpotenz essentiell sind. Aus diesen Gründen erschien es sinnvoll, neue niedermolekulare Verbindungsklassen zu identifizieren, die zwar denselben Wirkmechanismus aufweisen wie die kardiogenen 1,4-Dihydropyridine, jedoch eine komplett unterschiedliche Grundstruktur besitzen. Dieses Vorgehen wird in der Medizinischen Chemie als *Scaffold-Hopping*-Ansatz bezeichnet.<sup>[280,281]</sup> Dieser Begriff wurde 1999 von G. SCHNEIDER eingeführt<sup>[282]</sup> und seitdem mannigfaltig in der Literatur beschrieben.<sup>[281,283,284]</sup> Es gibt unterschiedliche Auffassungen darüber, wie stark ein neues Grundgerüst nach dem *Scaffold Hopping* abzuweichen hat, um es als eine neue chemische Entität zu zählen. So kann es beispielsweise ausreichen, wenn die beiden Grundstrukturen auf zwei unterschiedlichen Synthesewegen hergestellt werden, unabhängig davon, wie sehr sich die beiden Verbindungen strukturell unterscheiden.<sup>[280]</sup> Diese Definition macht vor allem im Kontext der Patentierbarkeit neuer biologisch aktiver Moleküle Sinn, da selbst chemisch kaum veränderte Modulatoren für eine bereits bekannte biologische Aktivität neu patentierbar sind.<sup>[281]</sup> Die Komplexität und die Erfolgchancen von *Scaffold-Hopping*-Ansätzen variieren mit dem Ausmaß der durchgeführten strukturellen Veränderung. Werden beispielsweise nur die Positionen einzelner Atome in einem Heterozyklus verändert (z.B.: Sildenafil vs. Vardenafil als PDE5-Inhibitoren<sup>[285]</sup>), so besteht eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass das neue Grundgerüst eine Aktivität im biologischen System zeigt, als wenn das Grundgerüst komplett verändert wird (z.B. Fluoxetin vs.

Paroxetin<sup>[286]</sup>),<sup>[281]</sup>

Neue Verbindungen können entweder auf Basis der Bindetasche einer biologischen Zielstruktur (strukturbasiertes Vorgehen) oder durch Betrachtungen von der räumlichen Anordnung von Liganden bereits bekannter Effektoren (ligandenbasiertes Vorgehen) entwickelt werden.<sup>[287]</sup> Anhand dieser Informationen wird ein Pharmakophormodell aufgestellt, welches die räumliche Ausrichtung von allen sterischen, sowie elektronischen Eigenschaften eines bioaktiven Moleküls beschreibt, die notwendig sind, um eine optimale Interaktion mit einem *Target* eingehen zu können.<sup>[288]</sup> Es entspricht also einer abstrakten Beschreibung und Ausrichtung von Interaktionspotentialen wie hydrophobe oder aromatische Regionen, elektrostatische Bindestellen und Positionen von Wasserstoffbrückenakzeptoren beziehungsweise -Donoren.<sup>[280]</sup> Solche Modelle werden mit entsprechenden Rechenalgorithmen erstellt und es lassen sich direkt im Anschluss virtuelle Screenings mit hinterlegten Bibliotheken durchführen, um so neue Substanzen und Grundgerüste zu identifizieren.

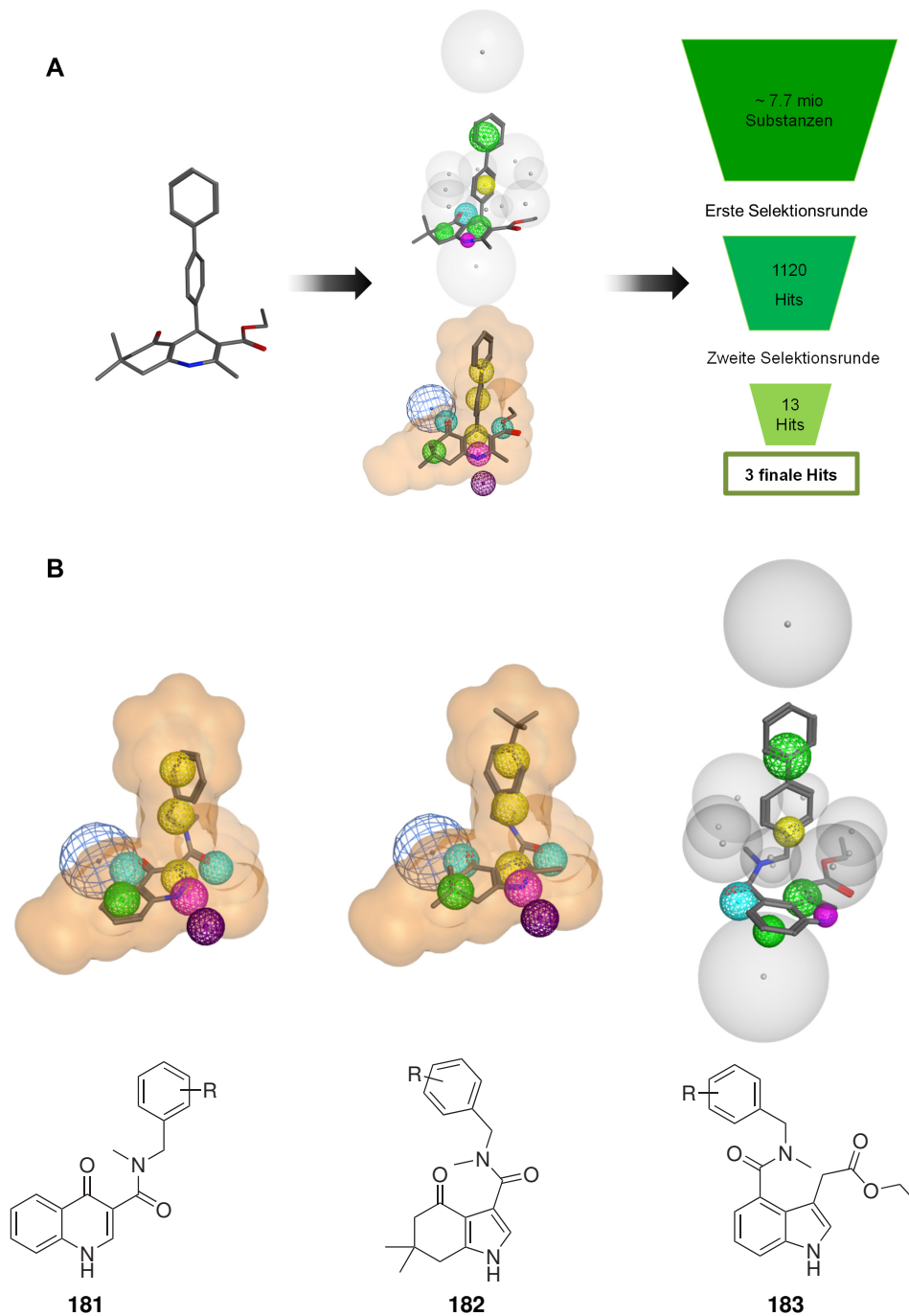
In dem Fall der in dieser Arbeit beschriebenen kardiogenen 1,4-Dihydropyridine wurden im Rahmen einer Masterarbeit von ELENA HEIDER und in Kooperation mit der Arbeitsgruppe KOCH der Universität Dortmund zwei Pharmakophormodelle auf Basis der Kristallstruktur der enantiomerenreinen Verbindung (+)-**3** erstellt (**Abbildung 3.57 A**) und genauer betrachtet.

Beide Pharmakophormodelle besitzen die in den bereits beschriebenen SAR-Studien (vgl. **Kapitel 1.3** auf Seite **9** und **Kapitel 3.1** auf Seite **19**) als essentiell erachteten Strukturmerkmale, wie den Wasserstoffbrückenakzeptor an 5-Position, den -Donor an *N*-1, sowie den hydrophoben Bereich am *b*-annelierten Ringsystem und die aromatische Region, die den 4-Substituenten repräsentiert. Die Unterschiede der beiden Modelle liegen zum Einen in der zusätzlichen Berücksichtigung der Wasserstoffbrückenakzeptor-Eigenschaften der 3-Position, sowie in der Methodik zur Beschreibung der speziellen Konformation der 1,4-Dihydropyridine. Während das eine Modell (**Abbildung 3.57 A** oben) dies durch sphärische verbotene Bereiche, in welchem keine Liganden liegen dürfen, nachzustellen versucht, wird beim anderen Modell (**Abbildung 3.57 A** unten) durch Festlegung des erlaubten Raumes die Ausgangsgeometrie imitiert.<sup>[194]</sup>

Im Anschluss an die Erstellung der Pharmakophormodelle wurde ein virtuelles Screening mit der *ZINC-leadlike-Database* (ca. 7,6 Millionen hinterlegte Verbindungen<sup>[289]</sup>) und es mussten einige Kriterien zur Einschränkung der Ergebnismenge angelegt werden. Zunächst wurden diejenigen Hits nicht weiter verfolgt, die einen RMSD (*root mean square distance*)-Wert von 0,83 Å überschritten, da dieser ein Maß für die Passgenauigkeit einer Verbindung in ein Pharmakophormodell ist. Außerdem wurde erneut Wert darauf gelegt, dass unter den Hits kein 1,4-Dihydropyridin zu finden ist, sie jedoch bicyklische Strukturen besitzen (Relevanz der *b*-Annelierung der 1,4-DHPs, siehe **Abschnitt 1.3** auf **Seite 9**). Auch Verbindungen, welche keinerlei oder nur Wasserstoffbrücken mit anderer Direktionalität als die Verbindungen der 1,4-Dihydropyridin-Klasse ausbilden können, wurden aus der Hitliste eliminiert. Die letzten Auswahlkriterien betraf die chemisch-synthetische Zugänglichkeit. Hier wurde darauf geachtet, dass die neuen Grundgerüste in nur wenigen Schritten von kommerziell verfügbaren Ausgangsmaterialien herstellbar waren und die Verbindungen nur maximal ein Stereozentrum besitzen, um die notwendigen Synthesestrategien deutlich zu vereinfachen. Zur weiteren Vereinfachung



wurden den so gefundenen Verbindungen in einem letzten Schritt alle zusätzlichen Substituenten entfernt, welche auf Basis der 1,4-DHP-SAR als nicht essentiell erachtet wurden.



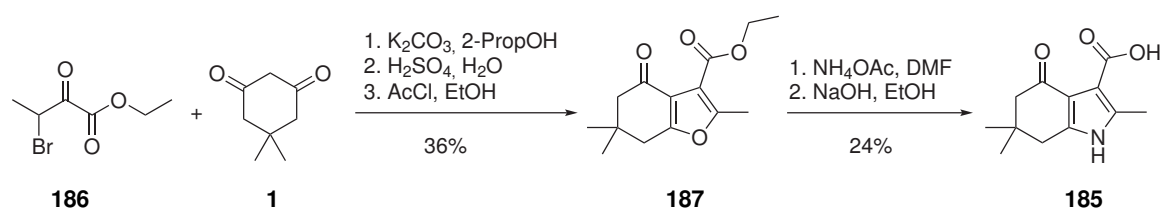
**Abb. 3.57:** **A:** Übersicht über die Erstellung der beiden Pharmakophormodelle auf Basis der Kristallstruktur von (+)-**3** und über den Selektionsprozess der neuen Grundgerüste.<sup>[194]</sup> **B:** Übersicht über die drei neu identifizierten *Scaffolds* in den entsprechenden Pharmakophormodellen.<sup>[194]</sup> Grün: hydrophob, gelb: hydrophob/ aromatisch, türkis: *H*-Brückenakzeptor, violett: *H*-Brückendonor, dunkelviolett: komplementärer *H*-Brückenakzeptor, dunkelblau: komplementärer *H*-Brückendonor, grau: ausgeschlossene Volumina, orange: Ligandvolumen.

Schlussendlich konnten so die drei Grundstrukturen identifiziert werden, die in **Abbildung 3.57** gezeigt sind. Diese sind namentlich ein Chinol-4-on **181**, ein 2-Methyltetrahydro-4-oxindol **182** und ein 3,4-disubstituiertes Indol **183**. Bei all diesen Grundgerüsten erkennt man die bereits herausgearbeiteten essentiellen strukturellen Eigenschaften, wie beispielsweise eine *N-H*-Gruppe und mindestens eine Carbonylgruppe, welche Wasserstoffbrücken mit dem *Target* ausbilden kann. Außerdem wurde die sehr spezielle spatiale Anordnung der 4-Substituenten der 1,4-Dihydropyridine in den neuen *Scaffolds* durch Methylamid-Gruppen mit entsprechenden (aromatischen) Resten nachgestellt. Diese sind zu diesem Zeitpunkt des *Scaffold Hopping*-Prozess' größtenteils variabel belassen worden, da der genaue sterische Anspruch von neuen Chemotypen noch nicht abgeschätzt werden konnte und außerdem diese Stelle sehr gut für den Aufbau von fokussierten Substanzbibliotheken ausgenutzt werden kann. Der nächste Schritt bestand nun darin, die neu identifizierten Grundgerüste mit freier Carbonsäure entweder kommerziell zu erwerben oder zu synthetisieren.

### 3.4.1 Synthese der neu identifizierten Grundgerüste für die Herstellung von Amid-Bibliotheken

Das erste *Scaffold*, das Chinol-4-on **184**, ist kommerziell verfügbar und konnte daher sofort für den Aufbau der Substanzbibliothek herangezogen werden.

Das zweite neue Grundgerüst, **185**, ist ebenfalls bei diversen Anbietern erhältlich, jedoch zu einem sehr hohen Kostenfaktor. Daher wurde die Synthese von ANNA RUDO aus dem Arbeitskreis KOCH der TU Dortmund in Anlehnung an die Literatur<sup>[290–292]</sup> durchgeführt, welche aus einer 2-stufigen Synthesesequenz besteht.



**Abb. 3.58:** Syntheseübersicht zur Darstellung des 2-Methyltetrahydro-4-oxindolgrundgerüsts **185**.

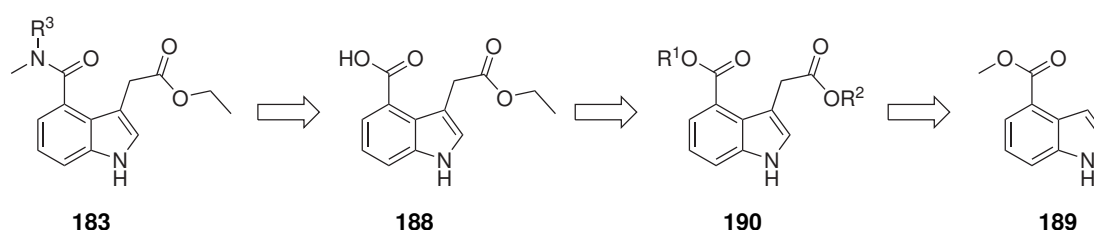
Zunächst wurde die Bromverbindung **186** mit Dimedon (**1**) unter basischen Bedingungen kondensiert. Nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure wird diese Reaktion komplettiert, allerdings unter gleichzeitiger Spaltung der Ethylester des Tetrahydrobenzofuran-Derivats **187**. Daher musste dieser für den nächsten Schritt mithilfe von Acetylchlorid in Ethanol wiederhergestellt werden. Diese Zwischenstufe reagiert durch Erhitzen mit Ammoniumacetat unter Rückfluss zu dem Ethylester der Zielverbindung **185**, welcher abschließend basisch hydrolysiert wurde. So konnte dieses Grundgerüst mit einer niedrigen Gesamtausbeute von 9% in zwei Schritten hergestellt werden. Bei dieser Synthesesequenz bedarf es offensichtlich noch einiger Optimierungsarbeit, die jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt werden konnte.

Das letzte Grundgerüst, das 3,4-substituierte Indol **188**, stellt eine Ausnahme zu den ersten beiden

*Scaffolds* dar, da es nach den zusätzlichen Anpassungen im Anschluss an das virtuelle Screening nicht mehr literaturbekannt war. Dies ist erstaunlich, da Indole ebenfalls wie 1,4-Dihydropyridine zu den privilegierten Grundgerüsten gezählt werden und daher eine Vielzahl an Substitutionsmustern und biologische *Targets* in der Literatur bekannt sind. Die publizierten biologischen Anwendungen der Indole reichen von Serotonin als Neurotransmitter<sup>[293]</sup> über antitumorale Agenzien, wie Rucaparib<sup>[294]</sup> und Vinblastin,<sup>[4]</sup> bis hin zu Verbindungen, welche die Differenzierung von embryonalen Stammzellen zu Pankreasvorläuferzellen stimulieren ((-)-Indololactam V<sup>[295,296]</sup>). Jedoch sind noch keinerlei Indol-basierte Verbindungen bekannt, bei denen an der 3-Position ein Ester über einen Methylen-Linker substituiert und gleichzeitig an der 4-Position ein zusätzlicher, andersartiger Ester verknüpft ist. Eine genauere Analyse der Ausgangslage in der Literatur, sowie die Relevanz für die Untersuchung dieses besonderen Substitutionsmuster bei Indolen ist in **Abschnitt 3.4.4** auf Seite **145** zu finden.

Für die Synthese des neuen Grundgerüsts mussten zunächst einige Vorüberlegungen angestellt werden. Eine erste retrosynthetische Analyse ist in **Abbildung 3.59** gezeigt.

Der Aufbau der fokussierten Bibliothek auf Basis der 3,4-substituierten Indole soll über Amidkupplungen mit verschiedenen Aminen an der 4-Position durchgeführt werden. Daher ist es sinnvoll, diese Diversität zum letztmöglichen Zeitpunkt einzuführen, um Reaktionen zum Aufbau des 3,4-Substitutionsmusters nur einmalig im großen Maßstab durchzuführen. Also musste eine Synthesestrategie entwickelt werden, über welche sich die Carbonsäure **188** gezielt und in guten Ausbeuten herstellen ließ. Ein wichtiges Merkmal dieser Verbindung ist, dass sie zwar zwei Carbonsäurefunktionalitäten besitzt, jedoch nur eine davon verestert sein darf, wohingegen die andere frei vorliegen muss. Dies lässt sich am einfachsten mit der Verwendung von einer oder zwei orthogonal abspaltbaren Schutzgruppen ( $R^1$  und  $R^2$ ) realisieren. Daneben müssen sowohl diese Gruppen, als auch die zu verwendenden Reaktionsbedingungen mit dem Rest des Moleküls kompatibel sein, um etwaige Zersetzungsreaktionen zu vermeiden. Als Ausgangsverbindung wurde 1*H*-Indol-4-methylester (**189**) gewählt, da dieses bereits eine wichtige Carbonsäurefunktionalität beinhaltet und kommerziell leicht verfügbar war.

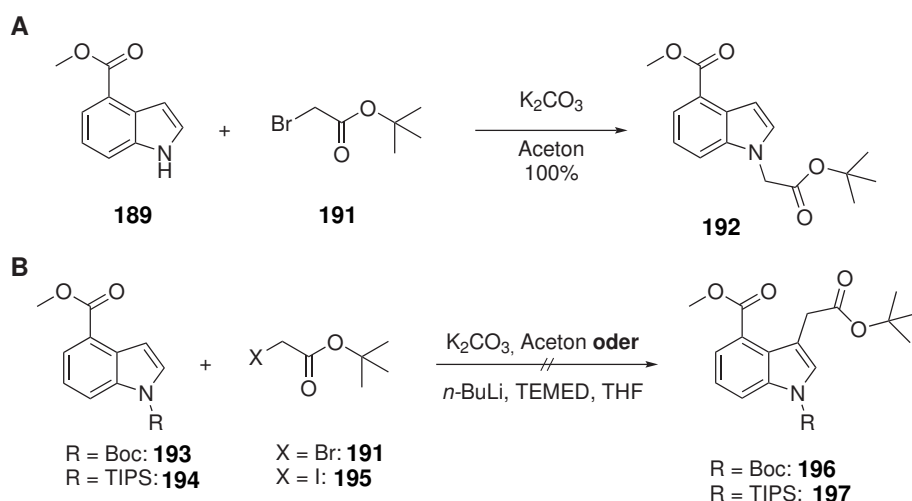


**Abb. 3.59:** Retrosynthetische Analyse zur Darstellung der fokussierten Bibliothek auf Basis 3,4-substituierten Indolgrundgerüsts.

Die ersten Vorversuche zur Synthese des Indol-basierten Grundgerüsts wurde von ELENA HEIDER im Rahmen einer Masterarbeit durchgeführt.<sup>[194]</sup>

Zunächst wurde eine einfache Alkylierungsreaktion mit dem kommerziell erhältlichen 2-Bromessigsäure-*tert.*-butylesters (**191**) in Betracht gezogen, da die 3-Position des Indol-Grundkörpers für einfache elektrophile aromatische Additionen bekannt ist. Die neu eingeführte *tert.*-Butylestergruppe wäre

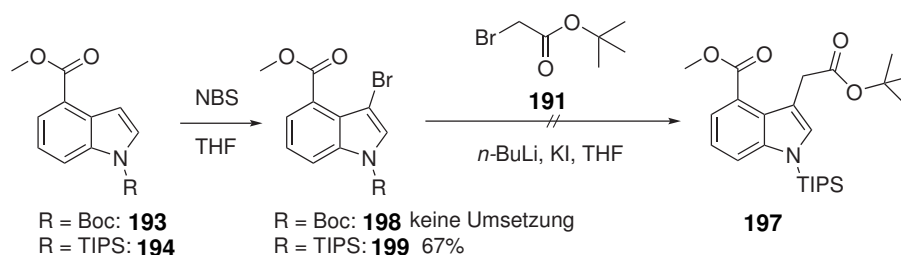
dann im Anschluss sauer abspaltbar, sodass der bereits im Molekül vorhandene Methylester nicht angegriffen wird. Auf diese Weise könnte also eine Diskriminierung beider Säurefunktionalitäten vorgenommen werden und eine selektive Derivatisierung wäre möglich. Ein Reaktionsprotokoll zur Einführung des neuen Substituenten ist bereits in der Literatur vorhanden, allerdings beschreibt dieses nur die 3-Alkylierung von unsubstituiertem Indol<sup>[194,297]</sup> ohne zusätzliche Gruppen im Ringsystem. Die entsprechende durchgeführte Synthese ist in **Abbildung 3.60 A** gezeigt.



**Abb. 3.60:** Syntheschema zur 3-Alkylierung von Indol-4-carbonsäuremethylester ohne (**A**) und mit (**B**) Schutzgruppe am Indolstickstoff über direkte Alkylierungsreaktionen.<sup>[194,297]</sup>

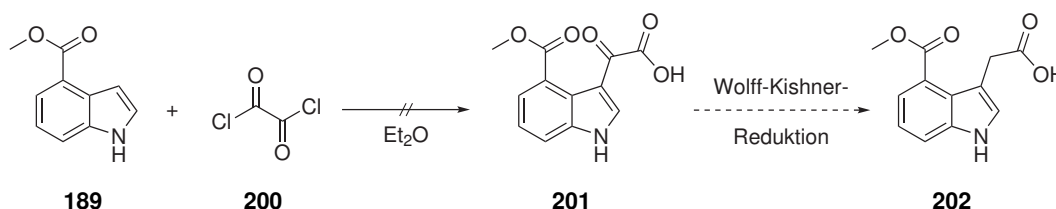
Überraschenderweise konnte mithilfe der literaturbeschriebenen Bedingungen<sup>[297]</sup> nicht das gewünschte Produkt isoliert werden, stattdessen wurde das *N*-alkylierte Derivat **192** in quantitativer Ausbeute erhalten. Diese Nebenreaktion kann durch die Verwendung von Schutzgruppen am Stickstoffatom verhindert werden, weswegen zunächst gemäß Literatur zwei verschiedene Schutzgruppen, die *tert*-Butyloxycarbonyl- (Boc)<sup>[298]</sup> und die Triisopropylsilyl-Gruppen (TIPS)<sup>[299]</sup>, jeweils in quantitativen Ausbeuten, eingeführt wurden. Die anschließende elektrophile Addition an die 3-Position mit 2-Bromessigsäure-*tert*-butylester allerdings führte mit beiden Verbindungen erneut zu keiner Produktbildung. Selbst die Verwendung der deutlich potenteren Base *n*-Butyllithium zur Entfernung des Protons der 3-Position führte zu keinem Erfolg. Stattdessen wurden Zersetzungen, zum Teil unter Abspaltung der Schutzgruppen und erneuter *N*-Alkylierung beobachtet. Zur Erhöhung der Reaktionschance wurde daher überprüft, ob eine Variation der Abgangsgruppe am Alkylanz die gewünschte Produktbildung erbringt. Der Austausch des Bromatoms durch ein Iod (gemäß einer Literaturvorschrift<sup>[300]</sup> in 89%-iger Ausbeute) resultiert in einem stärkeren Alkylierungsmittel, da das durch die Reaktion freiwerdende Iodid die negative Ladung dank seiner Atomgröße besser stabilisieren kann als ein Bromid. Dennoch konnte auch mithilfe dieses Reagenzes keinerlei Alkylierungsprodukt erhalten werden. Daraus lässt sich mutmaßen, dass die zusätzliche 4-Esterfunktion des Indols **189** die Elektronendichte des aromatischen Ringsystems derart erniedrigt, dass keine 3-Alkylierung erfolgen kann.<sup>[194]</sup>

In vielen Fällen können elektrophile Additionen an unreaktiven Aromaten durch einen Metall-Halogen-Austausch ermöglicht werden. Das dafür benötigte 3-Bromderivat des Indol-4-methylesters sollte auch hier einen geschützten Indolstickstoff besitzen, da ansonsten die Gefahr besteht statt die gewünschte Lithierungsreaktion zu durchlaufen, das Proton des Indolstickstoffs zu abstrahieren. Interessanterweise war die Halogenierungsreaktion nur bei dem TIPS-geschützten Derivat **194** zu 67% erfolgreich, wohingegen das Boc-blockierte Indol **194** keine Reaktion einging (**Abbildung 3.61**). Dies lässt sich höchstwahrscheinlich darauf zurückführen, dass die elektronische Struktur des Indol-Grundkörpers durch die beiden unterschiedlichen Schutzgruppen verändert wird. Silyl-basierte Substituenten haben einen +I-Effekt, erhöhen somit die Elektronendichte im Indol-Ringsystem, wohingegen Carbamat-Schutzgruppen diese zusätzlich zu der 4-Carboxyl-Funktion erniedrigen, sodass die Umsetzung unterbunden wird. Die angestrebte Alkylierungsreaktion mit Bromessigsäure-*tert.*-butylester **191** unter Verwendung von *n*-Butyllithium verlief allerdings ebenfalls ohne Produktbildung, wie in **Abbildung 3.61** dargestellt. Es kann abschließend nicht geklärt werden, ob diese Reaktionssequenz aufgrund eines ausbleibenden Lithium-Halogen-Austauschs fehlschlug oder ob das erzeugte metallorganische Nukleophil eine nicht ausreichende Reaktivität aufweist.



**Abb. 3.61:** Syntheseübersicht zur versuchten 3-Alkylierung eines Indolderivats mittels eines Halogen-Metall-Austauschs.

Als nächstes wurde eine weitere Möglichkeit untersucht, diesen Substituenten möglichst direkt und weitestgehend vollständig in das Indol-Grundgerüst einzuführen (s. **Abbildung 3.62**). Hierbei sollte zunächst ein Glyoxylsäure-Rest an der 3-Position durch Behandlung des Indols mit Oxalylchlorid eingeführt werden.<sup>[301]</sup> Die überschüssige Keto-Gruppe des neuen Substituenten könnte dann im Anschluss durch beispielsweise eine Wolff-Kishner-Reaktion entfernt werden und man gelangt zum gewünschten Produkt als freie Carbonsäure.

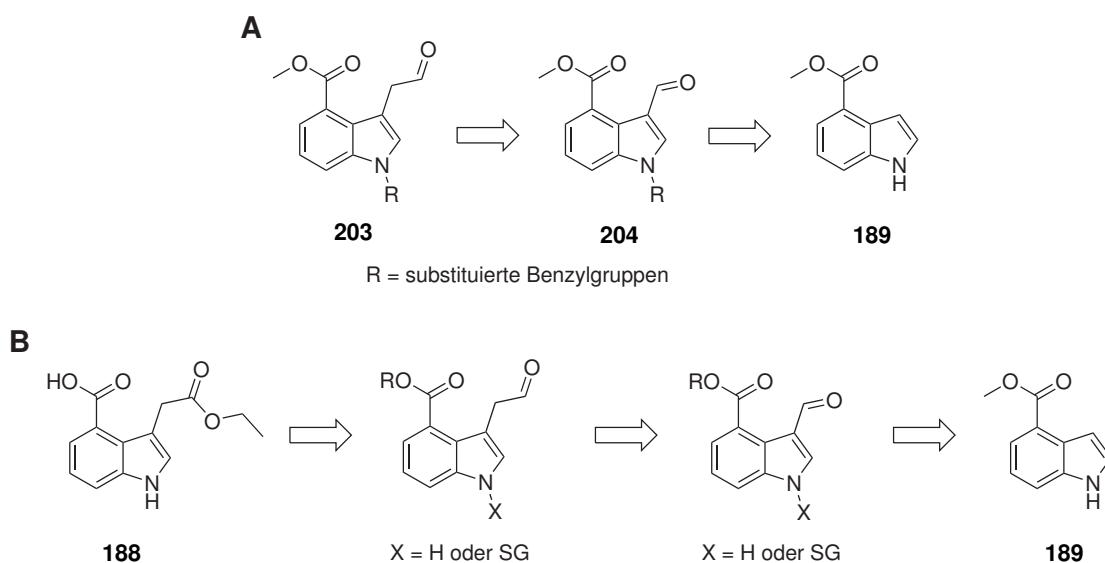


**Abb. 3.62:** Syntheschema zur Einführung des neuen 3-Substituenten über die Glyoxylsäure-Route.<sup>[302]</sup>

Allerdings konnte auch bei der Einführung des Glyoxylsäure-Rests keinerlei Umsetzung detektiert

werden. Damit erhärtet sich der Verdacht, dass die niedrige Elektronendichte des 4-Carboxyindol-Grundgerüsts an der 3-Position die meisten elektrophilen Additionsreaktionen inhibiert. In entsprechenden Literaturstellen wurde auch bereits darauf verwiesen, dass elektronenarme Indole, wie Nitrosubstituierte Indole, kaum bis keine Reaktionserfolge aufweisen.<sup>[302]</sup> Möglicherweise könnte eine Acylierung durch den Zusatz von Lewisäuren, wie Eisenchlorid, ermöglicht werden. Mit dieser Methode werden *in situ* deutlich stärkere Elektrophile erzeugt, welche auch mit elektronenarmen Aromaten reagieren könnten. Jedoch gehen mit dieser Strategie deutlich aggressivere Reaktionsbedingungen einher, weswegen dies nicht weiter verfolgt wurde.

Nachdem es nun nicht möglich war, mithilfe der bis hierhin beschriebenen Versuche einen Methylencarboxy-Substituenten in einer möglichst ganzheitlichen Form an die 3-Position einzuführen, wurde eine höhere Komplexität der Synthesestrategie in Kauf genommen. In einem Patent aus dem Jahr 2013<sup>[303]</sup> wurden bereits Verbindungen (**203** in **Abbildung 3.63 A**) publiziert, die einen guten Startpunkt für eine neue Synthesestrategie zum Erhalt der Zielmoleküle darstellen könnten. Sie besitzen nicht nur ebenfalls eine 4-Carbonsäuregruppe, sondern zusätzlich eine 3-Aldehydfunktionalität, welche über eine Methylengruppe mit dem Ringsystem verknüpft ist. Dieses Substitutionsmuster wurde mithilfe einer Wittig-Reaktion erhalten, die sich an eine Vilsmeier-Haack-Formylierung von Indol-4-methylester (**189**) anschloss.<sup>[303]</sup> Entsprechend wurde die retrosynthetische Route zur Darstellung des Zielmoleküls **188**, wie in **Abbildung 3.63** gezeigt, angepasst.

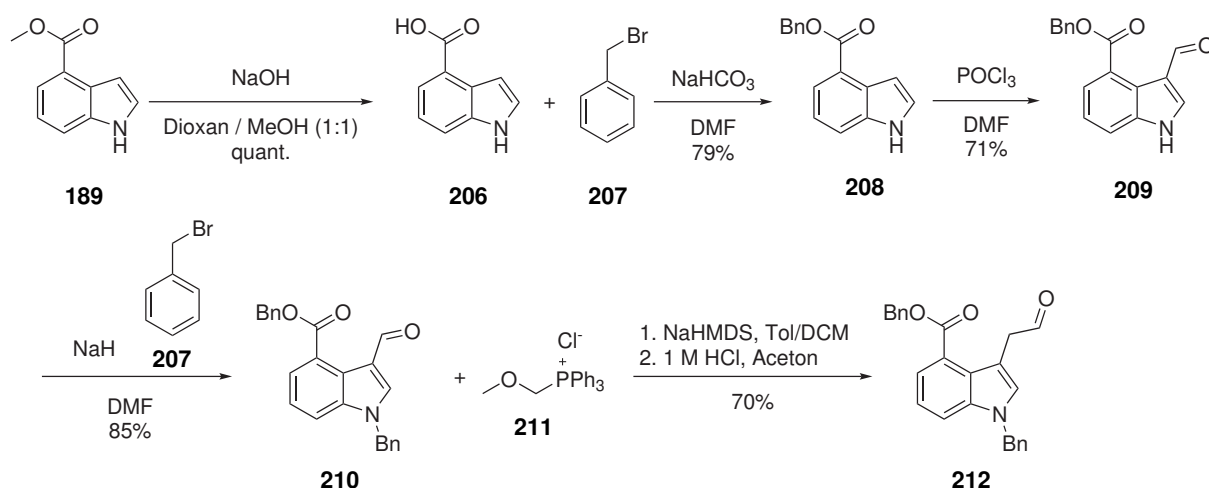


**Abb. 3.63:** **A:** Beschriebene Synthese für ein 4-Carboxyindolderivat mit einer 3-Methylenaldehydgruppe.<sup>[303]</sup> **B:** Angepasste retrosynthetische Analyse zur Darstellung des Zielmoleküls **188**

Bei der neuen Synthesestrategie soll im ersten Schritt der Austausch der 4-Estergruppe stattfinden, um auch hier sicherzustellen, dass diese Carbonsäure im letzten Schritt freigesetzt werden kann ohne den neu eingeführten Ester in 3-Position zu gefährden. Im Anschluss daran sollten die Formylierung und die Homologisierung der 3-Position entsprechend der Reaktionsbedingungen des bereits angesprochenen Patents<sup>[303]</sup> durchgeführt werden. Abschließend daran sollte die verlängerte Alde-

hydgruppe zu einer Säure- oder direkt zu dem gewünschten Ethylester oxidiert werden. Abschließend sollten dann geschützte Molekülteile möglichst mild freigesetzt werden, um das finale Substitutionsmuster zu erhalten.

Die sinnvollste Esterschutzgruppenstrategie für die 4-Position war die Verwendung eines Benzylesters, da dieser fast ausschließlich hydrogenolytisch gespalten werden kann. Daneben ist dieser äußerst inert gegenüber einer Vielzahl von Reaktionsbedingungen. Dazu wurde zunächst der Methyl ester der Verbindung **189** unter stark alkalischen Bedingungen in einem Dioxan-Methanol-Gemisch quantitativ gespalten und anschließend mit Benzylbromid (**207**) und Natriumhydrogencarbonat zu dem entsprechenden Benzylester in guten Ausbeuten (79%) umgesetzt. Interessanterweise konnte die gewünschte Veresterung nur dann in guten Ausbeuten durchgeführt werden, sofern darauf geachtet wurde, dass das verwendete Natriumhydrogencarbonat zusammen mit der freien Carbonsäure **206** ausgiebig im Hochvakuum getrocknet wurde. Anderenfalls konnten zusätzliche, noch nicht vollständig aufgeklärte, Nebenprodukte beobachtet werden und die Ausbeute wurde drastisch erniedrigt. Es ist daher wahrscheinlich, dass jegliches Vorhandensein von Wasser oder protischen Lösungsmitteln die Reaktion unterdrückt und andere Reaktionspfade begünstigt.



**Abb. 3.64:** Synthesesequenz zur Darstellung des Aldehyds **212**.

Der nächste Schritt in der Synthesesequenz war die Formylierung der 3-Position mithilfe der Vilsmeier-Haack-Reaktion. Die angestrebte elektrophile aromatische Substitution an der 3-Position wurde als der kritische Schritt in dieser Synthesesequenz angesehen, da bislang alle Reaktionen vom  $S_EAr$ -Typ an dem Indolgrundgerüst erfolglos blieben. Überraschenderweise gelang die Einführung der Formylgruppe in einer guten Ausbeute von 71%. Ein Grund hierfür könnte sein, dass bei dieser Reaktion zunächst *in situ* ein Formylierungsreagenz aus Phosphorylchlorid und Dimethylformamid (DMF) hergestellt wird, welches dann eine ausreichend hohe Elektrophilie besitzt, um die Formylierung zu durchlaufen.

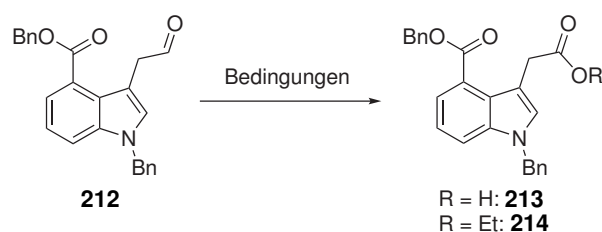
Das nächste wichtige Zwischenprodukt wird mithilfe der Wittig-Reaktion hergestellt. Die Homologisierung wird allerdings mithilfe von sehr starken Basen durchgeführt, weswegen ein abstrahierbares

Proton im Molekül (z.B. am *N*-1) die Reaktion sehr wahrscheinlich stören oder sogar inhibieren könnte. Daher musste vor diesem Reaktionsschritt das Stickstoffatom mit einer Benzylgruppe blockiert werden. Diese Schutzgruppe wurde aus zwei Gründen gewählt: Zum Einen wurden in der verwendeten Literaturvorschrift<sup>[303]</sup> für die Wittig-Reaktion ebenfalls Indole mit diversen Benzylsubstituenten am Indolstickstoff durchgeführt, wodurch der Reaktionserfolg wahrscheinlicher wurde. Zum Anderen würde die hydrogenolytische Abspaltung auch die Benzylschutzgruppe der Carbonsäure an 4-Position betreffen, weswegen ein Reaktionsschritt der Sequenz eingespart werden könnte und somit höchstwahrscheinlich eine Verbesserung der Gesamtausbeute nach sich ziehen würde.

Die Alkylierungsreaktion gelang problemlos mit entsprechender Literaturvorschrift mithilfe von Natriumhydrid und Benzylbromid (**207**) in einer Ausbeute von 85% (vgl. **Abbildung 3.64**).<sup>[304]</sup>

Nun konnte das angestrebte Strukturmotiv, die verlängerte Seitenkette an 3-Position, gemäß des bereits beschriebenen Patents,<sup>[303]</sup> eingeführt werden. Wittig-Reaktionen werden zur Darstellung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen aus Carbonyl-Gruppen und Phosphonium-Salzen verwendet. Werden für diese Reaktion, wie in diesem Fall auch, ein Aldehyd und ein Alkoxyethylphosphoniumsalz verwendet, so entsteht durch die Olefinierung ein maskierter Aldehyd (hier ein Methylenolether). Die Homologisierung des Aldehyds ist eine zweistufige Synthese, welcher ohne zwischenzeitliche Aufreinigung direkt im Anschluss durchgeführt werden kann. Dazu wurde zunächst unter basischen Bedingungen (NaHMDS) das Ylid des Methoxymethylphosphoniumsalz (**211**) erzeugt, welches mit der Aldehydfunktion des Indolderivats **210** unter Abspaltung von Triphenylphosphinoxid kondensiert. Der so erhaltene Enolether wurde nach rudimentärer Abtrennung von Nebenprodukten direkt im Anschluss unter sauren Bedingungen (1 M HCl in Aceton) zu dem gewünschten Produkt **212** zersetzt. Diese Umsetzung konnte in einer guten Gesamtausbeute von 70% durchgeführt werden.

**Tab. 3.12:** Untersuchte Reaktionsbedingungen zur Oxidation des Aldehyds **212** zu einem der Carbonsäurederivate **213** oder **214**.



Nr.	Reaktionsbedingungen	R	Ausbeute	Referenz
1	PCC (2 mol%), H <sub>5</sub> I <sub>6</sub> , AcN	H	-	[305]
2	I <sub>2</sub> , KOH, EtOH	Et	-	[306]
3	I <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , EtOH	Et	-	[307]
4	1. HC(OEt) <sub>3</sub> , DCM, Amberlyst® 15 2. BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub> , mCPBA, DBU	Et	-	[308]

Der nächste Schritt bestand in der Oxidation der verlängerten Aldehydfunktionalität zu einem Car-



bonsäure-Derivat (entweder zur freien Säure oder direkt zum Ethylester). Dazu wurden verschiedene Bedingungen getestet, wie in **Tabelle 3.12** aufgezeigt.

Als erste Bedingung wurde eine generelle Methode zur Oxidation von Alkoholen zu Carbonsäuren mithilfe eines chromhaltigen Reagenzes (Pyridiniumchlorochromat, PCC) und Periodsäure getestet. Beide Oxidationsmittel sind dafür bekannt, dass sie Alkohole typischerweise nur bis zum Aldehyd- bzw. Keton-Derivat oxidieren, in ihrer Kombination hingegen wird häufig eine sehr milde Weiteroxidation zur Carbonsäure erreicht.<sup>[305]</sup> Dies ist vermutlich auf eine *in situ* gebildete Zwischenspezies zurückzuführen, das Chlorchromatoperiodat, welches eine etwas stärkere Oxidationskraft besitzt. Ein weiterer Vorteil dieses Tandemsystems ist, dass es nur mit katalytischen Mengen der krebserregenden Chromverbindung PCC auskommt.<sup>[305]</sup> Trotz der bekanntermaßen recht milden Bedingungen, konnte bei deren Anwendung lediglich eine Reihe von nicht identifizierbaren Zersetzungsprodukten beobachtet werden. Eine weitere schonende Möglichkeit, ein Carbonsäure-Derivat aus einer Aldehydgruppe zu generieren, liegt in der Verwendung von alkalischen Iod-Lösungen. Der molekulare Reaktionsmechanismus ist noch nicht vollständig geklärt, jedoch wird als aktives Reagenz Hypoiodische Säure vermutet, welche die Oxidation über eine acetalische Zwischenstufe des Aldehyds durchführt.<sup>[306,307]</sup> Daher ist es sinnvoll, die Reaktion nicht in wässrigen Lösungen, sondern in alkoholischem Milieu durchzuführen, weil hier direkt der gewünschte Ester anstelle der freien Carbonsäure erhalten werden kann. Typischerweise wird bei dieser Oxidationsmethode eine starke Base wie Kaliumhydroxid verwendet (**Abbildung 3.12**, Eintrag 2),<sup>[306]</sup> aber auch mildere Basen wie Kaliumcarbonat sind beschrieben (**Abbildung 3.12**, Eintrag 3).<sup>[307]</sup> Allerdings musste festgestellt werden, dass auch hierbei lediglich Zersetzungsprodukte erzeugt werden.

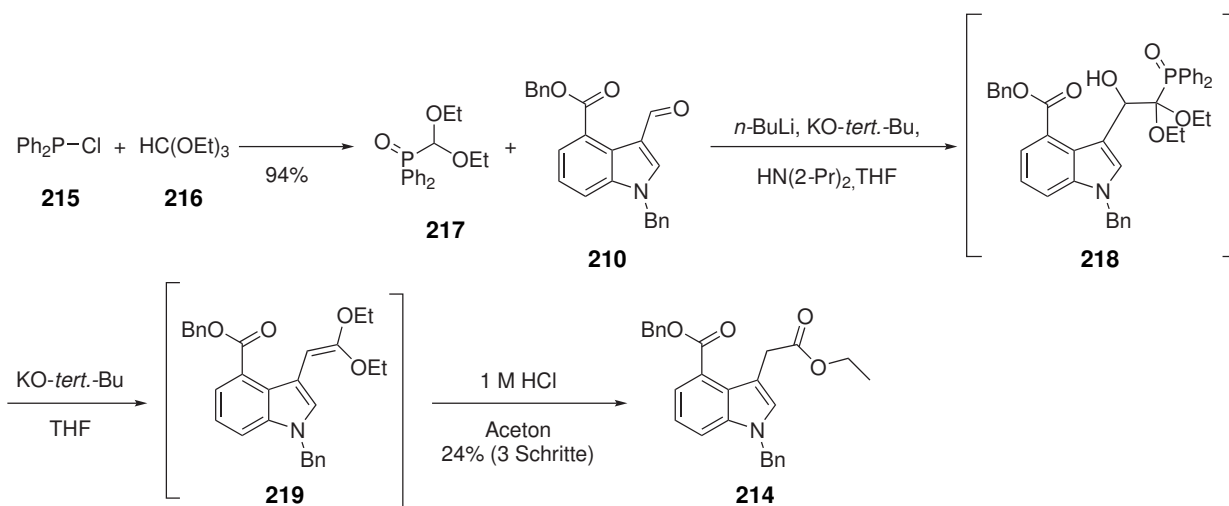
Bei der letzten untersuchten Oxidationsmethode wird ebenfalls zunächst eine Acetalzwischenstufe durchlaufen und führt daher auch direkt zu dem angestrebten Ethylester **214** (**Abbildung 3.12**, Eintrag 4).<sup>[308]</sup> Dazu wurde der Aldehyd **212** zunächst mithilfe von Triethylorthoformiat und des sauren Katalysators Amberlyst®-15 in das Diethylacetal überführt. Danach wurde die eigentliche Oxidation mit einer Mischung bestehend aus katalytischen Mengen der Lewis-Säure Bortrifluorid-Etherat, *meta*-Chlorperbenzoesäure (mCPBA) und DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en) angeschlossen. Jedoch konnte erneut nur eine Vielzahl von unerwünschten Nebenprodukten und Zersetzungsprodukten beobachtet werden.

Es lässt sich aus den oben beschriebenen Ansätzen ableiten, dass Oxidationsreaktionen bei diesen 3,4-disubstituierten Indolen nicht erfolgreich anwendbar sind. Ein denkbarer Grund hierfür wäre, dass die Anfälligkeit für oxidative Zersetzungsreaktionen auf die strukturelle Lage der neu eingeführten 3-Methylengruppe zurückzuführen ist. Sie liegt in direkter Nachbarschaft zu dem bereits ausgiebig diskutierten elektronisch stark deaktivierten Indolgrundgerüst und zusätzlich auch zu einer Aldehydgruppe, welche ihrerseits einen ausgeprägten negativen induktiven Einfluss besitzt. Somit ist höchstwahrscheinlich auf der Methylengruppe eine starke positive Partialladung lokalisiert, welche die Ursache für die beobachtete oxidative Instabilität sein könnte. Daher wurde nach einer Möglichkeit gesucht, ein Carbonsäurederivat ausgehend von dem Aldehyd **210** direkt herzustellen.

Eine zu der Wittig-Reaktion eng verwandte Homologisierungsvariante ist die Horner-Wittig-Reaktion.

Sie beruht auf einem sehr ähnlichen Reaktionsmechanismus, verwendet jedoch statt eines Phosphonium-Salzes ein Phosphinoxid als Synthon. Die Synthese und dessen Umsetzung ist in **Abbildung 3.65** gezeigt.

Zunächst wurde Diphenylphosphinchlorid (**215**) in einer 94%igen Ausbeute mit dem Triethylester der Orthoameisensäure (**216**) ohne Lösungsmittelzusatz zur Reaktion gebracht.<sup>[309]</sup> Das so entstandene Phosphinoxid **217** wurde im Anschluss unter stark basischen Bedingungen mit **210** zu dem Addukt **218** umgesetzt. Die folgenden zwei Reaktionsschritte zum gewünschten Produkt **214** konnten ohne säulenchromatographische Aufreinigung angeschlossen werden. So konnte nach kurzer wässriger Aufarbeitung der Reaktionslösung Diphenylphosphinsäure mit Kalium-*tert.*-butanolat abgespalten werden, worauf direkt die sauer katalysierte Zersetzung der Dialkoxyvinyl-Verbindung **219** durchgeführt wurde. Auf diese Weise gelangte man zu der gewünschten Zielverbindung **214** in einer Ausbeute von 24% über drei Schritte.

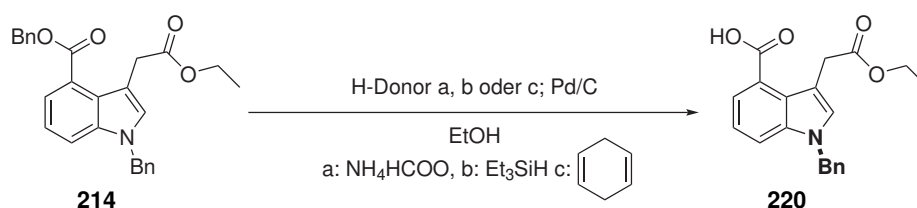


**Abb. 3.65:** Übersicht über die Herstellung des Phosphinoxids **217** und dessen Umsetzung zu der gewünschten Verbindung **214**.

In einem finalen Schritt sollten abschließend beide Benzyl-Schutzgruppen hydrogenolytisch abgespalten werden. Wie in **Abbildung 3.66** ersichtlich, wurden drei unterschiedliche Quellen für den in der Hydrogenolyse benötigten *in situ* erzeugten Wasserstoff verwendet (Ammoniumformiat, Triethylsilan und Cyclohexadien).

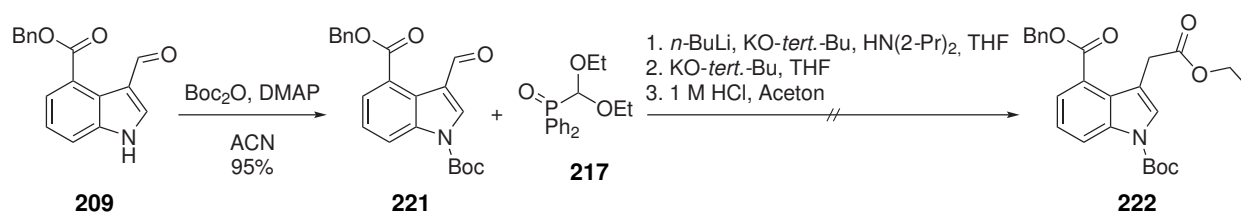
Interessanterweise wurde bei allen untersuchten Reaktionsbedingungen lediglich die Abspaltung der Benzylgruppe an der 4-Esterposition des Indols erreicht, wohingegen der Indol-Stickstoff durchgehend blockiert blieb. Weder eine Erhöhung der Reaktionstemperatur, noch eine Verlängerung der Reaktionszeit ermöglichte eine Abspaltung. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer Literaturrecherche bezüglich Debenzylierungsreaktionen von Indolstickstoffen bei Reaxys<sup>®</sup>. Nur etwa 2% der Literatur bekannten Reaktionen wurden mit einer der drei oben beschriebenen Wasserstoffquellen durchgeführt. Die weitestgehend dominierende Methode zur Entfernung des *N*-Benzylrestes liegt in der Verwendung von starken Lewis-Säuren wie Aluminiumchlorid. Diese Art der Hydrolyse lässt je-

doch wenig Spielraum für das Vorhandensein weiterer komplexerer Substitutionsmuster im Molekül zu, weswegen die Schutzgruppenstrategie für den Indolstickstoff überdacht werden musste.



**Abb. 3.66:** Übersicht verschiedener Versuche zur vollständigen hydrogenolytischen Abspaltung der Benzylschutzgruppen zur Freisetzung des 4-Esters und der 1-*N*-Position des Indolgrundgerüsts. Mit den hier verwendeten Reaktionsbedingungen konnte lediglich eine Entfernung des Benzylesters erfolgen, wohingegen die *N*-Benzylgruppe intakt blieb.

Wie bereits erwähnt, muss die *NH*-Gruppe lediglich während der Horner-Wittig-Reaktion und vor den dabei verwendeten stark basischen Bedingungen geschützt werden, weswegen sich erneut die fast ausschließlich sauer abspaltbare *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe anbietet. Diese hält typischerweise harsche Reaktionsbedingungen, wie metallorganische Basen, zuverlässig stand und ist sehr leicht einzuführen.<sup>[310]</sup>



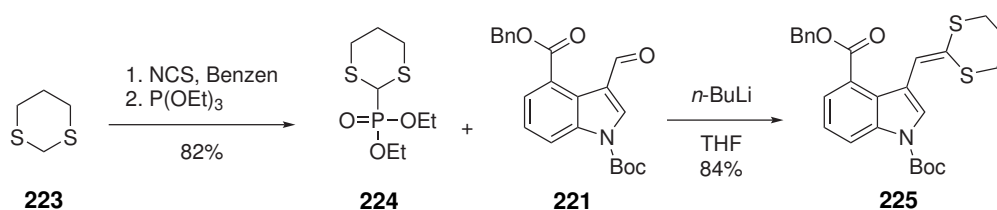
**Abb. 3.67:** Reaktionsübersichten zur Einführung einer Boc-Schutzgruppe am formylierten Indolderivat **209** und zur versuchten Einführung einer Methylen-verknüpften Estergruppe an 3-Position nach dem erarbeiteten Protokoll.

Zur Blockierung des Indolstickstoffes mit einer Boc-Schutzgruppe wurde das Indolderivat **209** in Acetonitril gelöst und mit Boc-Anhydrid unter Verwendung einer katalytischen Menge von DMAP (4-Dimethylaminopyridin) zur Reaktion gebracht. Dieser Schritt gelang in einer sehr guten Ausbeute von 95%, wobei es wichtig war, dass die Aufarbeitung ohne säulenchromatographische Aufreinigung durchgeführt wurde. Diese führte in Vorversuchen zur spontanen Abspaltung der Schutzgruppe und das Startmaterial wurde zum Großteil zurück erhalten, was vermutlich auf die leicht sauren Eigenschaften des Kieselgels zurückzuführen war. Glücklicherweise gelang die Blockierungsreaktion ohne Bildung von Nebenprodukten und es konnte durch eine einfache wässrige Aufreinigung zur Abtrennung von überschüssigem  $\text{Boc}_2\text{O}$  und DMAP ein hochreines Produkt erhalten werden.

Im Anschluss daran sollte die Horner-Wittig-Reaktion analog zu der bereits beschriebenen Vorschrift durchgeführt werden. Während der Reaktionsdurchführung konnte im ersten Schritt, der Kondensation der Aldehydfunktionalität mit dem Phosphorylid **217**, ein deutlicher Umsatz mittels Dünnschichtchromatographie ohne Bildung vieler Nebenprodukte beobachtet werden. Im zweiten Schritt allerdings, der Eliminierung der Phosphorsäure, färbte sich die Reaktionslösung sehr dunkel und eine

große Zahl neu gebildeter Substanzen wurde bei der Reaktionskontrolle entdeckt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung oder Aufkonzentration der gewünschten Substanz konnte nicht stattfinden, da durch eine massenspektroskopische Untersuchung des Rohprodukts weder eines der Edukte, noch das gewünschte Produkt zu finden war. Es wurde geschlussfolgert, dass unter diesen Bedingungen eine Reihe von Zersetzungsreaktionen ablaufen, welche allerdings nicht aufgeklärt oder rationalisiert werden konnten.

Dieses Ergebnis zeigte jedoch, dass die prinzipielle Strategie, den benötigten Ester mithilfe einer Horner-Wittig-Reaktion einzuführen, durchaus erfolgversprechend war und lediglich ein passendes Synthon eingesetzt werden musste. Bei der Auswahl wurde besonderes Augenmerk darauf gelegt, dass durch die Abspaltung der Phosphorspezies eine stabilere Verbindung erzeugt wurde und somit Degradierungsreaktionen keine Gefahr darstellen. Eine Möglichkeit liegt hier in der Bildung von *S,S*-Thioacetalen, da diese Gruppen bekanntermaßen eine sehr hohe hydrolytische Stabilität aufweisen. Das benötigte Phosphonsäurederivat **224** wurde gemäß einer Literaturvorschrift in zwei Schritten hergestellt.<sup>[311]</sup> Hierfür wurde zunächst 1,3-Dithian (**223**) in Benzen an der 2-Position chloriert, worauf sich eine Michaelis-Arbuzov-Reaktion mit Triethylphosphit anschloss. So konnte der Phosphonsäure-diethylester **224** in einer Ausbeute von 82% über zwei Schritte erhalten werden.<sup>[311]</sup> Anschließend konnte dann die geplante Horner-Wittig-Reaktion mit dem Boc-geschützten Aldehyd **221** in Anlehnung an eine entsprechende Literaturvorschrift durchgeführt werden.<sup>[312]</sup> Diese gelang mit Zusatz der starken Basen *n*-Butyllithium in THF in einer guten Ausbeute von 84%. Das so erhaltene Ketendithioacetal **225** war wie erwartet ausreichend stabil, dass eine säulenchromatographische Aufreinigung, sowie eine spektroskopische Charakterisierung problemlos stattfinden konnte.



**Abb. 3.68:** Syntheseübersicht zur Darstellung des Ketenthioacetals **225** aus Dithian (**223**) und dem Indol-basierten Aldehyd **221**.

Die Hydrolyse von Thioacetalen wird typischerweise mit Quecksilber(II)salzen durchgeführt, da dieses Metall eine hohe Affinität zur Ausbildung von Koordinationskomplexen mit *S,S*-Acetalen aufweist und eine hydrolytische Abspaltung ermöglicht. Allerdings geht mit der Verwendung von Quecksilberderivaten immer ein hohes Gefährdungspotential aufgrund der prominenten Toxizität dieser Verbindungen einher, weswegen diese Möglichkeit nicht in Betracht gezogen wurde. Eine weitere in der Literatur weit verbreitete Methode ist die Oxidation der Thiogruppen zu Sulfoxiden, welche einfacher hydrolysiert werden können.<sup>[310]</sup> Diese Methode wurde ebenfalls verworfen, da bereits gezeigt werden konnte, dass die Indolverbindungen eine gewisse Anfälligkeit für oxidative Bedingungen besitzen. In neuerer Literatur wurde jedoch gezeigt, dass durch die zusätzliche Doppelbindung des Ketenthioacetals eine erhöhte Labilität im Vergleich zu reinen Thioacetalen vorliegt, weswegen stark saure

Bedingungen oder andere Schwermetallsalze, wie Kupfer(II)chlorid, in der Lage sein könnten, die Abspaltung zu ermöglichen. Daher wurden im Rahmen der Masterarbeit von MAREN FLASSHOFF eine Reihe verschiedenster Möglichkeiten untersucht, das maskierte Carbonsäurederivat freizusetzen, wie in **Tabelle 3.13** gezeigt.<sup>[313]</sup>

**Tab. 3.13:** Untersuchte Möglichkeiten zur Hydrolyse des Ketenthioacetals **225**.<sup>[313]</sup>

Nr.	Bedingungen	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Verbindung	Ausbeute	Referenz
1	37% HCl, AcOH	H	H	<b>226</b>	-	[314]
2	CuCl <sub>2</sub> , CuO, Aceton	H	Boc	<b>227</b>	-	[315–317]
3	CuCl <sub>2</sub> , CuO, EtOH	Et	Boc	<b>222</b>	-	-
4	1. CuSO <sub>4</sub> , EtOH 2. TFA, DCM	Et	H	<b>228</b>	14%	[312]
5	AgNO <sub>3</sub> , EtOH	Et	Boc	<b>222</b>	55%	[318]

Die erste untersuchte Bedingung zur Thioacetalspaltung, eine Kombination aus konzentrierter Salzsäure und konzentrierter Essigsäure (**Tabelle 3.13**, Eintrag **1**), sollte die unveresterte Carbonsäure an 3-Position erzeugen, wie in der entsprechenden Literaturstelle beschrieben.<sup>[314]</sup> Zudem ist bei der Anwendung von konzentrierten Säuren die gleichzeitige Entfernung der Boc-Gruppe und somit die Bildung des Produkts **226** zu erwarten. Tatsächlich führte die stark saure Umsetzung zu nicht identifizierbaren Zersetzungsprodukten, weswegen diese Variante nicht weiter verfolgt wurde.<sup>[313]</sup>

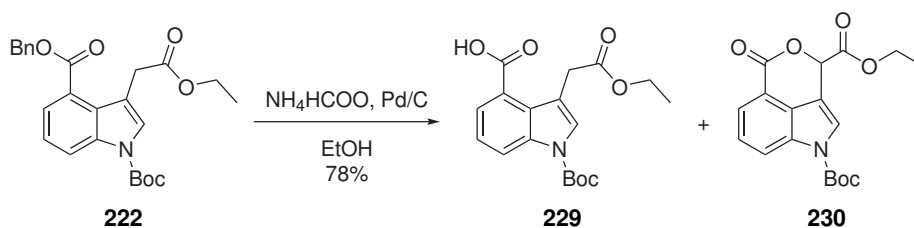
Als nächstes wurde in zwei weiteren Testansätzen die Verwendung einer Mischung aus Kupferoxid und Kupferchlorid entweder in Aceton oder in Ethanol untersucht (**Tabelle 3.13**, Eintrag **2** und **3**). In diversen Literaturstellen konnte auf diese Weise ein Ketenthioacetal gespalten werden und es wurde entweder die freie Carbonsäure **227** oder der finale Ethylester **222** erwartet.<sup>[315–317]</sup> Tatsächlich aber zeigte sich bei beiden Reaktionsansätzen, dass keinerlei Umsetzung stattgefunden hatte und das Ausgangsmaterial **225** zurückgewonnen wurde. Selbst bei Erhöhung der Reaktionstemperatur bis zum Rückfluss blieb das Startmaterial intakt.<sup>[313]</sup>

Der erste Erfolg konnte mit dem Wechsel der Kupferspezies erreicht werden. Die Verwendung von Kupfersulfat in Ethanol führte zur Spaltung der Ketenthioacetal-Gruppe, jedoch wurde auch partiell die Boc-Gruppe am Indolstickstoff entfernt.<sup>[312]</sup> Das Produktgemisch aus **222** und **228** konnte säulenchromatographisch nicht aufgetrennt werden, weswegen direkt im Anschluss an die Esterbildung die sauerkatalysierte Boc-Entfernung mithilfe von Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlormethan durchgeführt wurde. So konnte das gewünschte Produkt **228** mit einer nicht zufriedenstellenden Ausbeute von 14%

über beide Schritte erhalten werden.

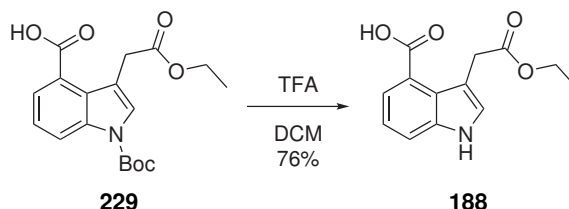
Aus diesem Grund wurde noch eine weitere Möglichkeit, das Produkt **222** zu erhalten, gesucht. In einem Patent aus dem Jahr 2011 wurde berichtet, dass statt eines Kupfer(II)salzes die Umsetzung mit Silber(I)nitrat zum gewünschten Erfolg führen kann.<sup>[318]</sup> Tatsächlich führte die Umsetzung von Verbindung **225** mit Silbernitrat in Ethanol zu dem immer noch Boc-geschützten Ethylester **222** in einer akzeptablen Ausbeute von 55%.<sup>[313]</sup>

Für die Verwendung des Indolgrundgerüsts zum Aufbau von Substanzbibliotheken mussten nur noch beide Schutzgruppen entfernt werden. Zunächst wurde die Hydrogenolyse des Benzylesters untersucht, da hier eine größere Gefahr bestand, nicht erwünschte Reaktionsprodukte zu erhalten oder Zersetzungsreaktionen zu katalysieren. Als Bedingungen wurden, wie bereits zuvor, drei Wasserstoffdonoren (Ammoniumformiat, Cyclohexadien und Triethylsilan) in Kombination mit Palladium auf Aktivkohle untersucht. Tatsächlich konnte nur bei der Reaktion unter Verwendung von Ammoniumformiat in Ethanol ein Reaktionsumsatz beobachtet werden, wohingegen die beiden anderen Wasserstoffquellen keinerlei Reaktion eingingen und das Ausgangsmaterial fast vollständig zurückgewonnen wurde. Die Ausbeute bewegte sich in einem guten Rahmen von 78% und lediglich ein weiteres Nebenprodukt wurde beobachtet. Die genaue Identität der Verbindung konnte nicht ermittelt werden, jedoch deuten Massenspektren und 2D-NMR-Analysen auf das trizyklische Lakton **230** hin.<sup>[313]</sup>



**Abb. 3.69:** Übersicht über die hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters **222** zur Darstellung der freien Säure **229**. Außerdem wurde ein Nebenprodukt identifiziert, welches vermutlich die Struktur von **230** besitzt.<sup>[313]</sup>

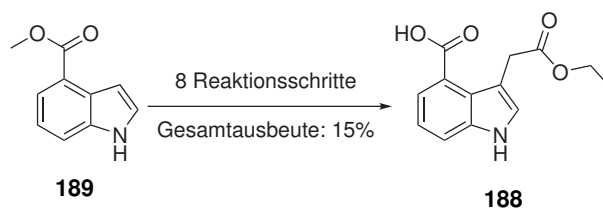
Die Entfernung der Boc-Schutzgruppe gelang problemlos mithilfe von TFA in Dichlormethan (1:3 v/v) in einer Ausbeute von 76%.<sup>[313]</sup>



**Abb. 3.70:** Übersicht zur Entschützung des Indolstickstoffes zur Darstellung des finalen Indolderivats **229**.<sup>[313]</sup>

Zusammengefasst konnte somit das gewünschte 3,4-disubstituierte Indol **188** ausgehend von dem kommerziell verfügbaren Indol-4-methylester (**189**) in acht Schritten in einer linearen Sequenz und

einer Gesamtausbeute von 15% hergestellt werden. Dabei wurde festgestellt, dass eine direkte Alkylierung mit dem gewünschten Substituenten an die 3-Position ebenso wenig erfolgreich war, wie mithilfe eines Halogen-Metallaustausches. Dies ist vermutlich auf die starke elektronische Deaktivierung des Indolgrundgerüsts zurückzuführen. Es musste daher ein Umweg über das 3-formylierte Indolderivat **209** und einer anschließenden Horner-Wittig-Reaktion beschriftet werden, wobei eine passende Schutzgruppenstrategie von großer Wichtigkeit war. Die Freisetzung des Horner-Wittig-Produkts zum benötigten Ethylester in Position 3 konnte nach einiger Optimierungsarbeit in guten Ausbeuten erreicht werden.



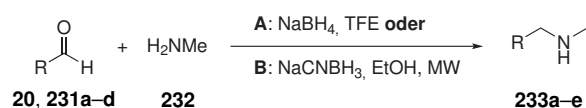
**Abb. 3.71:** Schematische Bruttoreaktionsgleichung zur Darstellung des 3,4-disubstituierten Indols **188**.

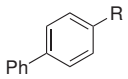
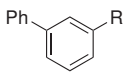
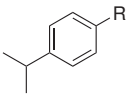
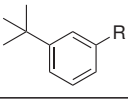
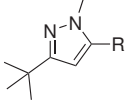
### 3.4.2 Aufbau von fokussierten Substanzbibliotheken auf Basis der neu identifizierten Grundgerüste

Die geplanten Substanzbibliotheken sollten über modifizierte Methylamine an den freien Säuregruppen der neuen *Scaffolds* aufgebaut werden. Die Reste sollten eine hohe chemische Diversität aufweisen, damit ein möglichst großer Informationsgewinn aus den anschließenden SAR-Untersuchungen erhalten werden kann. Die Auswahl der dafür nötigen Methylamine geschah in Kooperation mit der Arbeitsgruppe KOCH an der Technischen Universität Dortmund anhand der aufgestellten Pharmakophormodelle und sollten die 4-Position der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine nachahmen. Die 26 ausgewählten Substituenten sind in den **Tabellen 3.17** und **3.16** gezeigt.

Einige der benötigten Amine waren nicht kommerziell erwerbbar, weswegen diese ausgehend von den entsprechenden Aldehyden und Methylamin (**232**) mittels einer reduktiven Aminierung synthetisiert wurden. Diese Reaktionen sind in **Tabelle 3.14** zusammengefasst.

**Tab. 3.14:** Übersicht über die Synthese zum Erhalt der substituierten Methylamine **233a – e**.



Aldehyd \ Amin	Rest	Route	Ausbeute
<b>20 / 233a</b>		<b>A</b>	64%
<b>231a / 233b</b>		<b>A</b>	57%
<b>231b / 233c</b>		<b>B</b>	32%
<b>231c / 233d</b>		<b>B</b>	46%
<b>231d / 233e</b>		<b>B</b>	10%

Die neu zu synthetisierenden Methylamine wurden über zwei unterschiedliche Routen dargestellt. In einem ersten Versuchsansatz wurden die Aldehyde mit Natriumborhydrid in 2,2,2-Trifluorethanol (TFE) bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht, was jedoch nicht mit allen Substitutionsmustern zum gewünschten Amin führte. Möglicherweise lief bei diesen Ansätzen die Reaktion so langsam, dass eine Erhöhung der Reaktionstemperatur notwendig wäre. Dies ist jedoch in diesem Fall nicht praktikabel, da zum Einen Methylamin einen sehr niedrigen Siedepunkt besitzt und sich trotz intensiver Rückflusskühlung der Reaktion entzog. Zum Anderen ist bekannt, dass Natriumborhydrid bei hohen Temperaturen ebenfalls Aldehyde zu Alkoholen zu reduzieren kann, welche so nicht mehr zur



Reaktion beitragen können. Daher wurde ein zweites Protokoll angewendet, welches Natriumcyanoborhydrid in Ethanol als Reduktionsmittel und die Verwendung von Mikrowellenbedingungen zur Erhitzung der Reaktionslösung vorsah. Dadurch wurde sichergestellt, dass Aldehyde nicht reduziert werden und das geschlossene Mikrowellengefäß verhinderte ein Verdampfen der Edukte bei gleichzeitiger intensiver Wärmeaufnahme. So konnten alle benötigten Amine in mäßigen bis guten Ausbeuten von 10% – 64% erhalten werden.

Für die Reaktion der Amine mit den neuen Grundgerüsten **184**, **185** und **188** wurde zunächst probeweise eine allgemeine Kupplungsmethode angewendet, welche in **Tabelle 3.15**) gezeigt ist. Hierbei bearbeitete jeweils eine andere Studentin ein Grundgerüst (4-Oxo-1,4-dihydrochinolin: ELENA HEIDER<sup>[194]</sup> 4-Oxo-4,5,6,7-tetrahydroindol: NATALIE JAKOBS,<sup>[319]</sup> 3,4-disubstituiertes Indol: MAREN FLASSHOFF,<sup>[313]</sup>).

**Tab. 3.15:** Übersicht über allgemeine Kupplungsmethode der drei neuen *Scaffolds* mit dem Amin **233a**.<sup>[194,313,319]</sup>



Carbonsäure / Amid	Grundgerüst	Ausbeute
<b>184 / 234a</b>		85%
<b>185 / 235a</b>		70%
<b>188 / 236a</b>		43%

Die Amidkupplungen konnten mit allen drei neuen Grundgerüsten mithilfe von [O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorphosphat] (HATU), 1-Hydroxy-benzotriazol (HOBT) und der Base Di-2-propylethylamin (DIPEA) in Ausbeuten von 43% bis 70% erreicht werden und wurden nicht weiter optimiert.<sup>[194,313,319]</sup>

Tab. 3.16: Übersicht über die Amidsynthesen auf Basis des Chinol-4-ons. (n.i.: nicht isoliert)

184			234a – 234z		
Amin / Amid	Rest	Ausbeute	Amin / Amid	Rest	Ausbeute
233f / 234b		26%	233o / 234n		n. i.
233c / 234c		n. i.	233p / 234o		n. i.
233g / 234d		100%	233e / 234p		n. i.
233d / 234e		n. i.	233q / 234q		74%
233h / 234f		64%	233r / 234r		62%
233a / 234a		30%	233s / 234s		n. i.
233b / 234g		55%	233t / 234t		n. i.
233i / 234h		57%	233u / 234u		n. i.
233j / 234i		24%	233v / 234v		14%
233k / 234j		62%	233w / 234w		n. i.
233l / 234k		82%	233x / 234x		n. i.
233m / 234l		55%	233y / 234y		n. i.
233n / 234m		n. i.	233z / 234z		36%

Tab. 3.17: Übersicht über die Amidsynthesen auf Basis des Indolgrundgerüsts. (n.i.: nicht isoliert.)<sup>[313]</sup>

188			236a – 236z		
Amin / Amid	Rest	Ausbeute	Amin / Amid	Rest	Ausbeute
<b>233f / 236b</b>		91%	<b>233o / 236n</b>		n. i.
<b>233c / 236c</b>		n. i.	<b>233p / 236o</b>		n. i.
<b>233g / 236d</b>		83%	<b>233e / 236p</b>		n. i.
<b>233d / 236e</b>		34%	<b>233q / 236q</b>		52%
<b>233h / 236f</b>		56%	<b>233r / 236r</b>		39%
<b>233a / 236a</b>		43%	<b>233s / 236s</b>		n. i.
<b>233b / 236g</b>		n. i.	<b>233t / 236t</b>		36%
<b>233i / 236h</b>		80%	<b>233u / 236u</b>		n. i.
<b>233j / 236i</b>		84%	<b>233v / 236v</b>		30%
<b>233k / 236j</b>		75%	<b>233w / 236w</b>		46%
<b>233l / 236k</b>		82%	<b>233x / 236x</b>		n. i.
<b>233m / 236l</b>		100%	<b>233y / 236y</b>		11%
<b>233n / 236m</b>		n. i.	<b>233z / 236z</b>		17%

Für den Aufbau der Amidbibliotheken sollte zur Vereinfachung der Durchführung ein Festphasenprotokoll mit entsprechender Parallelsynthese erarbeitet werden. In der Abschlussarbeit von NATALIE JAKOBS<sup>[319]</sup>, sowie in der Masterarbeit von MAREN FLASSHOFF<sup>[313]</sup> wurde versucht, die neuen *Scaffolds* mithilfe von drei unterschiedlich funktionalisierten festen Phasen an diverse Amine zu koppeln. Leider konnte kein sinnvolles und effizientes Reaktionsprotokoll etabliert werden, weswegen entschieden wurde, die Amidsynthesen in einzelnen Ansätzen in Lösung durchzuführen.<sup>[313,319]</sup> Auch wurde bei diesen Vorversuchen sämtliches Ausgangsmaterial des 4,5,6,7-Tetrahydro-4-oxoindol-Grundgerüsts **185** aufgebraucht, sodass dieses für den Aufbau einer Amidbibliothek im Rahmen dieser Arbeit nicht zur Verfügung stand. Die Amidkupplungen der beiden übrigen beiden *Scaffolds* sind in den **Tabellen 3.17** und **3.16** gezeigt.

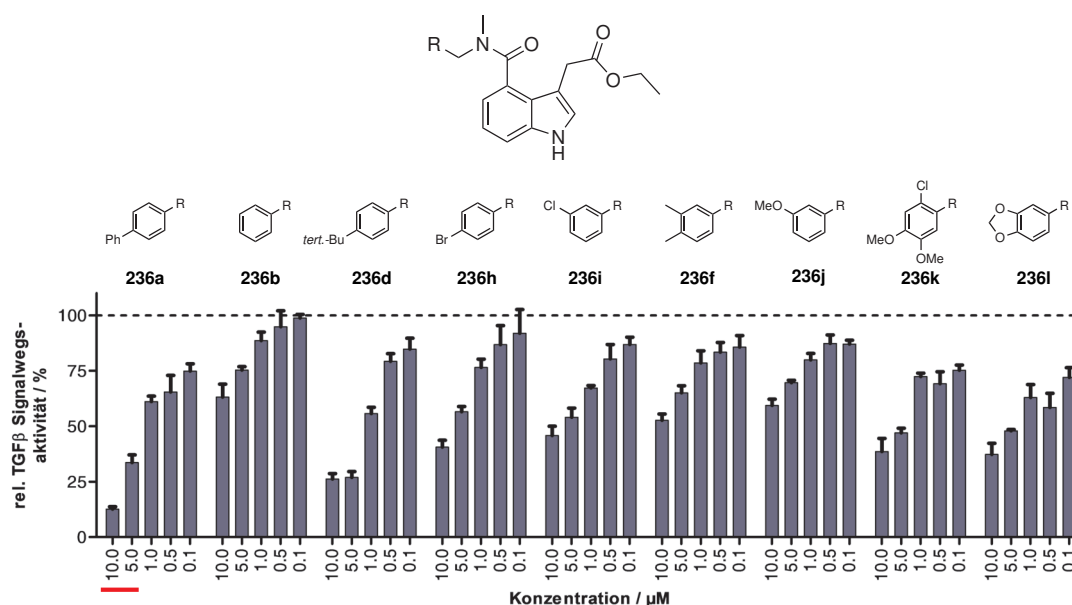
Die Amidsynthesen gelangen bei beiden Grundstrukturen nicht mit allen der ausgewählten 26 Aminen. Tatsächlich konnten für das Chinol-4-on-*Scaffold* nur 14 Amide und beim 3,4-disubstituierten Indol-Grundgerüst 17 Derivate mit stark schwankenden Ausbeuten isoliert werden. Interessanterweise waren acht der nicht erfolgreich umsetzbaren Methylamine bei beiden Grundstrukturen identisch. Bei sechs Derivaten davon konnte mittels NMR-spektroskopischer Untersuchung festgestellt werden, dass diese entweder ein hohes Maß an Verunreinigung beinhalten (**233c, e, n, o, p**) oder überhaupt nicht im Edukt gefunden werden konnten (**233s**). Insbesondere bei Amin **233e** war dies verwunderlich, da es erst wenige Tage zuvor selbst hergestellt wurde und zweifelsfrei mit hoher Reinheit identifiziert wurde. Das führt zu der Vermutung, dass zumindest die Pyrazol-basierten Amine (**233e, n, o, p**) eine starke Tendenz zu Zersetzungsreaktionen bei Lagerung neigen.

Ein zusätzlicher Grund für die sehr niedrigen bis fehlenden Ausbeuten könnte in den benötigten Aufreinigungsschritten nach den Amidkupplungen gelagert sein. Bei fast allen Derivaten beider Grundgerüste konnte eine nicht geklärte Verunreinigung beobachtet werden, welche laut LC/MS-Untersuchungen um  $m/z = 14$  niedrigere Molekülmasse besaß. Dieses Nebenprodukt ließ sich außerdem nur sehr schwer abtrennen, es sei denn, es wurde zunächst eine Normalphasenchromatographie durchgeführt, an welche sich eine Umkehrphasenchromatographie anschloss. Je nach Derivat war aber selbst auf diese Weise eine vollständige Auftrennung der beiden Verbindungen nicht möglich und nur ein Teil des Produkts konnte rein erhalten werden, was sich in großen Ausbeuteverlusten bemerkbar machte.<sup>[313]</sup>

Bei dem Aufbau einer Chinol-4-on-basierten Bibliothek musste neben drei weiteren nicht synthetisierbaren Derivaten auch eine deutlich höhere Reaktionszeit in Kauf genommen werden. Dies lässt sich wahrscheinlich auf die etwas andere chemische Natur der Carbonsäure-Funktionalität zurückführen. Diese ist mit der *NH*-Gruppe des Grundgerüsts konjugiert, sodass hier – analog zu den 1,4-Dihydropyridinen – eher von einem vinylogenen Carbamat gesprochen werden muss. Außerdem ist eine tautomere Struktur mit der 4-Oxo-Gruppe denkbar, wodurch weiter die Elektronendichte vermindert wird und somit ist die Reaktivität im Vergleich zu einer „echten“ Carboxyl-Gruppe deutlich verschieden, was sich auf die Reaktionszeiten und Ausbeuten niederschlägt.

### 3.4.3 Biologische Evaluierung einiger Mitglieder der Indolamid-Bibliothek

Die neu dargestellten 3,4-disubstituierten Indole konnten bereits auf ihre inhibitorische Aktivität bezüglich des TGF $\beta$ -Signalwegs untersucht werden. Dies wurde in dem angesprochenen SBE4-Reporterassay durchgeführt und die Ergebnisse von neun Derivaten sind in **Abbildung 3.72** und **Tabelle 3.18** dargestellt.

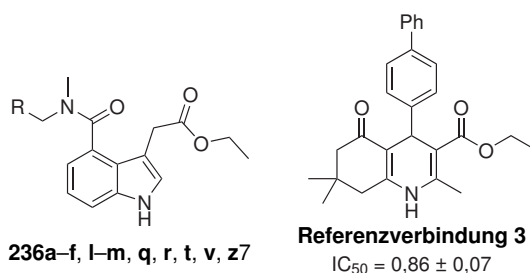



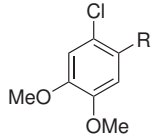
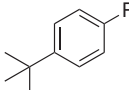
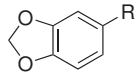
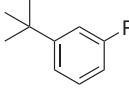
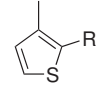
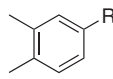
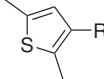
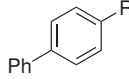
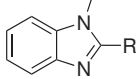
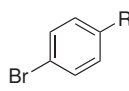
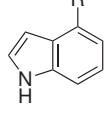
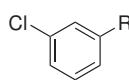
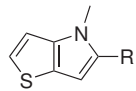
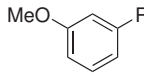
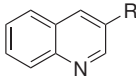
**Abb. 3.72:** Übersicht über die relative TGF $\beta$ -Signalwegsaktivität in Prozent bezogen auf DMSO bei Anwendung der Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen in einem Smad4-binding element (SBE4) Reporterassay in HEK293T-Zellen, deren Signalweg über TGF $\beta$ -2 induziert wurde. Die Werte und Standardabweichungen wurden in  $n = 3$  unabhängigen Experimenten ermittelt. Der rote Balken weist darauf hin, dass diese Verbindung bei der höchsten Konzentration zytotoxische Effekte an den Tag legte.<sup>[313]</sup>

Betrachtet man zunächst die prozentuale Signalwegsaktivität der Verbindungen, so fällt bei fast allen Derivaten (**236a – f, h – j, m, q, r, t, v, z**) eine vorhandene konzentrationsabhängige Hemmwirkung auf den TGF $\beta$ -Signalweg auf. Dies deutet darauf hin, dass die zugrundeliegende Idee, über einen *Scaffold Hopping* Verbindungen zu identifizieren, welche einen ähnlichen Inhibitionsmechanismus auf den TGF $\beta$ -Signalweg besitzen wie die kardiogenen 1,4-Dihydropyridine, erfolgreich umgesetzt wurde. Außerdem erkennt man anhand der Hemmkurven, dass fast alle Derivate in der niedrigsten hier aufgetragenen Konzentration (0,1  $\mu$ M) eine gewisse Restwirkung auf die Signalwegsaktivität aufweisen, was auf unspezifische Interaktionen der Verbindungen hindeuten könnte. Bei der Anwendung der höchsten Substanzkonzentration (10,0  $\mu$ M) hingegen kann eine maximale prozentuale Inhibition von knapp 30% (Verbindung **236d**) erreicht werden. Dieser Wert stellt für eine erste SAR-Studie ein gutes Ergebnis dar, denn hier wurde noch keinerlei SAR-Optimierungsarbeit investiert. Die Derivate **236k** und **l** zeigen keinen ausgeprägten Dosis-abhängigen Effekt, weswegen davon ausgegangen werden muss, dass diese Verbindungen lediglich unspezifische Wechselwirkungen mit ungeklärten *Targets* eingehen. Insbesondere das Derivat mit dem Methyldioxophenyl- (oder 1,3-Benzodioxol-)

Rest gehört zu den sogenannten *PAINS* (*pan assay interference compounds*). Dies sind Verbindungen, welche bekanntermaßen unspezifisch mit einer Reihe von verschiedenen biologischen *Targets* interagieren und so falsch positive Ergebnisse in diversen Assayformaten liefern.<sup>[320,321]</sup> Diese beiden Derivate werden daher im Folgenden nicht weiter diskutiert.<sup>[313]</sup>

**Tab. 3.18:** Übersicht über die TGF $\beta$ -Inhibitionen der neu synthetisierten Indolderivate. Die Werte und Standardabweichungen wurden über  $n = 2 - 3$  unabhängige Experimente in einem TGF $\beta$ /Smad Reporter gen Assay ermittelt. Außerdem ist ebenfalls der Wert der Referenzverbindung **3** aufgeführt.<sup>[313]</sup>



Substanz	Rest	IC <sub>50</sub> (μM) (TGFβ)	Substanz	Rest	IC <sub>50</sub> (μM) (TGFβ)
<b>236c</b>		13,64 ± 2,95	<b>236k</b>		3,38 ± 0,30
<b>236d</b>		1,49 ± 0,26	<b>236l</b>		2,05 ± 0,54
<b>236e</b>		2,51 ± 1,11	<b>236q</b>		1,53 ± 0,35
<b>236f</b>		7,43 ± 1,90	<b>236r</b>		1,96 ± 0,88
<b>236a</b>		1,26 ± 0,16	<b>236t</b>		2,94 ± 0,62
<b>236h</b>		5,95 ± 0,22	<b>236v</b>		2,75 ± 2,47
<b>236i</b>		5,33 ± 0,17	<b>236v</b>		3,33 ± 0,55
<b>236j</b>		9,19 ± 3,42	<b>236z</b>		1,80 ± 0,43

Betrachtet man nun die IC<sub>50</sub>-Werte der neuen Verbindungen so lassen sich erste Rückschlüsse auf die Struktur-Aktivitäts-Beziehung des 3,4-disubstituierten Indolgrundgerüsts ziehen. Wie auch bei den

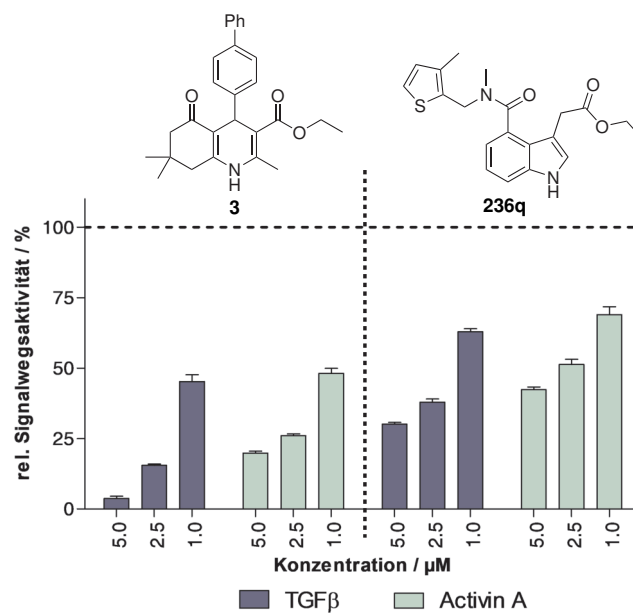
1,4-Dihydropyridinen erhöht ein Substituent in der 4'-Position des Phenylrestes die Hemmpotenz deutlich, wohingegen ein unsubstituierter Aromat zu fast inaktiven Molekülen führt (vgl. **236a**, **d** und **h** vs. **236b**). Außerdem sind unpolare Reste an der 4-Position, wie ein Phenyl- oder *tert.*-Butyl-Substituent, gegenüber einem Bromid favorisiert, wie in den IC<sub>50</sub>-Werten deutlich erkennbar ist (**236a**: 1,26 µM, **236d**: 1,49 µM vs. **236h**: 5,95 µM). Allerdings muss dabei beachtet werden, dass das Indolderivat mit einem Biphenylsubstituenten (**236a**) in der höchsten Konzentration toxische Nebeneffekte im Reporterassay zeigte und daher der ermittelte Hemmwert unter Vorbehalt betrachtet werden sollte. Dennoch zeigt sich eine ähnliche Situation bei den 1,4-DHPs, da bei diesen ebenfalls die 4'-Position nicht mit einem Halogenid derivatisiert werden kann ohne einen starken Aktivitätsverlust zu riskieren.<sup>[79]</sup> Eine sich daraus ergebende Fragestellung wäre, ob ein 4"-Halogenbiphenylamid am Indolgrundgerüst wieder vom biologischen System toleriert werden würde und gegebenenfalls dazu genutzt werden kann, eine bessere Selektivität für den TGFβ-Signalweg zu erzeugen, analog zu den kardiogenen Dihydropyridinen (vgl. **Kapitel 3.3.1** auf Seite **73**). Zur Beantwortung dieser Frage müsste jedoch zunächst geklärt werden, ob die Indolderivate eine gleiche Orientierung in der Bindetasche des *Targets* vorliegen. Weitere Hinweise darauf können in der Betrachtung der IC<sub>50</sub>-Werte von drei weiteren getesteten Indolamiden gefunden werden, da diese darauf hindeuten, dass – wieder ähnlich zu den 1,4-DHPs – ein gewinkelter Substituent eine Verringerung der Hemmaktivität mit sich bringt und eine 3-Substitution am Phenylring nicht weiter verfolgt werden sollte (**236f**: 7,43 µM, **236i**: 5,33 µM, **236j**: 9,19 µM).<sup>[313]</sup> Erstaunliche Resultate liefern die Heterozyklen-basierten Indolamid-Derivate. So führen Thiophen-Reste zu vergleichsweise potenten Verbindungen (**236q** und **r**) mit IC<sub>50</sub>-Werten von 1,53 µM bzw. 1,96 µM. Aber auch bityklische Reste, wie ein Benzindazol-, Indol- oder ein Chinolin-Substituent, resultieren in recht aktiven Vertretern (**236t**: 2,94 µM, **236v**: 2,75 µM, **236z**: 1,80 µM). Diese Substitutionsmuster wurden bei den 1,4-Dihydropyridinen bisher noch nicht dargestellt und können daher zu diesem Zeitpunkt nicht verglichen werden. Allerdings sollten diese Derivate und ähnliche Substitutionsmuster genauer untersucht und deren Einfluss auf die Signalwegshemmung in einer Folge-SAR genauer beleuchtet werden.

Insgesamt ist die biologische Aktivität der untersuchten Indol-basierten Methyamide niedriger als die der Referenzverbindung **3**. Diese Beobachtung ist nicht weiter verwunderlich, da die hier untersuchten Indolderivate keine optimierten Verbindungen repräsentieren, sondern vielmehr ein *Proof-of-Concept* des *Scaffold Hopping*-Ansatzes darstellen und somit einen Startpunkt für neue Leitstrukturen anbieten können. Dennoch wurden mit einigen Vertretern der Indol-Bibliothek Verbindungen identifiziert, deren IC<sub>50</sub>-Wert weniger als ein Faktor zwei von demjenigen der Referenz **3** abweicht und man somit durchaus von einem ähnlichen Wirkungsbereich sprechen kann.

Diese vorgestellten Daten sind als sehr vielversprechende Ergebnisse zu bewerten, da nicht vergessen werden darf, dass die für die Rechenmodelle zugrundeliegende Datenlage aus zellulären Assays stammt und somit die Identifikation von nur einem aktiven *Scaffold* mehr als unsicher schien. Sollte sich nun jedoch zeigen, dass auch die zweite hergestellte Bibliothek (die Chinol-4-on-basierten Methyamide **234a–z**) wirksame Moleküle hervorbrachte, so könnte der ohnehin schon große Erfolg dieses Ansatzes noch weiter gesteigert werden, weswegen diese Derivate schnellstmöglich biolo-

gisch untersucht werden sollten.

Trotz der sehr positiven Ergebnisse aus der Testung der Indol-Derivate ist es nun unerlässlich den Wirkmechanismus der neuen Verbindungen genauer zu untersuchen. Ein ähnliches Vorgehen und Experimente wie dies bereits bei den 1,4-Dihydropyridinen geschehen ist (Phosphorylierungsstatus der Smads und TGF $\beta$ -Rezeptor-II-Internalisierung, vgl. **Kapitel 1.3**)<sup>[79,80]</sup> wären dabei äußerst sinnvoll. In einem ersten Versuch wurde in diesem Zusammenhang die Signalwegsselektivität einer der potentesten Verbindungen, **236q**, gegenüber des Activin A-Signalwegs untersucht. In **Abbildung 3.73** ist die prozentuale Inhibition des TGF $\beta$ - und des Activin A-Signalwegs der Indol-Verbindung und der Referenz **3** bei je drei Konzentrationen (5,0, 2,5 und 1,0  $\mu$ M) gegenüber gestellt. Man erkennt bei beiden Verbindungen, dass der TGF $\beta$ -Signalweg zwar deutlich stärker gehemmt wird, aber auch, dass eine klare *Off-Target*-Aktivität auf den konkurrierenden Activin A-Signalweg beobachtbar ist. Weiterhin wird erneut die deutlich höhere Potenz der Referenzverbindung **3** deutlich, aber es scheint, als würde das Selektivitätsprofil beider Verbindungen ähnlich verlaufen. Dies stellt einen weiteren Hinweis für einen vergleichbaren Wirkmechanismus beider Verbindungsklassen dar, welcher jedoch in der Zukunft mit deutlich mehr Daten untermauert und validiert werden muss.



**Abb. 3.73:** Gegenüberstellung der relativen TGF $\beta$ - und Activin A-Signalwegsaktivität in Prozent bezogen auf DMSO bei Applikation der beiden Verbindungen **236q** und **3** in drei verschiedenen Konzentrationen in einem Smad4-binding element (SBE4) Reporterassay in HEK293T-Zellen, deren Signalweg über TGF $\beta$ -2 bzw. Activin A induziert wurde. Die Werte und Standardabweichungen wurden in n = 2 unabhängigen Experimenten ermittelt.



### 3.4.4 Untersuchung des chemischen Raums von 3,4-disubstituierten Indolen

In **Kapitel 3.4.1** wurde bereits darauf hingewiesen, dass das neu identifizierte 3,4-disubstituierte Indolgrundgerüst mit seinen zwei unterschiedlichen Carbonsäurefunktionalitäten noch nicht in der Literatur beschrieben wurde. Eine mögliche Ursache dafür stellt sicherlich die hohe Komplexität des Synthesewegs dar, welcher nur über eine Reihe von Etablierungsarbeiten erreicht werden konnte. Nichtsdestotrotz sind Indole eine prominente Verbindungsklasse im medizinisch-chemischen Kontext, da diese eine Vielzahl von biologischen *Targets* adressieren können und somit interessante Moleküle für die Wirkstoffentwicklung oder als molekulare *Probes* darstellen. Aus diesem Grund wurde eine genauere Literaturanalyse aller bekannten Indolverbindungen durchgeführt, um einen Einblick in die Notwendigkeit für dieses neue Substitutionsmuster zu erhalten.

Die Untersuchung wurde im Rahmen einer Master-Arbeit von MAREN FLASSHOFF unter Zuhilfenahme von Scifinder<sup>®</sup> durchgeführt und die wichtigsten herausgearbeiteten Ergebnisse sind in **Abbildung 3.74** gezeigt. Interessanterweise gibt es absolut gesprochen eine sehr große Anzahl von Indol-Derivaten, welche sowohl 3- als auch 4-substituiert sind (ca. 21000 Vertreter), jedoch in Relation zu allen bekannten doppelt substituierten Indol-Verbindungen hat diese Gruppe nur einen Anteil von 5%. Diese Menge wird noch weiter drastisch reduziert, sobald die 4-Position eine Carbonylgruppe tragen und der 3-Substituent über eine Methylen-Gruppe mit dem Indolringsystem verbunden sein soll. Diese Kriterien können nur noch rund 1% aller 3,4-disubstituierter Indole erfüllen. Engt man die Analyse noch weiter ein, so dass beide Positionen ein Carbonsäure-Derivat tragen müssen, so gibt es nur noch zwei Verbindungen, welche derartig substituiert sind: Die kommerziell erwerbbar Dicarbonsäure **205** und der entsprechende Dimethylester **239**. Die Synthese der beiden Verbindungen bietet allerdings keinerlei Möglichkeit, beide Carbonsäurefunktionen zu diskriminieren und ist somit zur Darstellung unterschiedlich derivatisierter Verbindungen, wie in dieser Arbeit beschrieben wurden, nicht geeignet.<sup>[313,322,323]</sup>

Ein gleiches Bild zeichnet sich bei Indol-verwandten Grundgerüsten, wie den Azaindolen, Pyrrolopyrimidinen, Isoindolen und Indazolen ab. Insgesamt sind bei allen *Scaffolds* weniger Verbindungen mit einem generellen 3,4-Substitutionsmuster publiziert und es gibt keinerlei Berichte von Molekülen mit zwei Carbonsäurefunktionalitäten. Gerade bei 7-Azaindolen verwundert dieser Befund, da diese Verbindungen oftmals Anwendung als Kinaseinhibitoren finden. Durch die beiden Stickstoffe innerhalb des aromatischen Grundgerüsts können gut Interaktionen mit der *Hinge*-Region von Kinasen erreicht werden, weswegen die entgegengesetzte Molekülregion (3- und 4-Position) sehr attraktiv für die weitere Optimierung der Inhibitoren (z.B.: Aktivität und Selektivität) sein könnte.<sup>[313]</sup>

Als letztes wurden noch zwei *Scaffolds* mit Stickstoffatomen an der 3-Position hinsichtlich ihrer publizierten Häufigkeit untersucht. Bei diesen Grundgerüsten, Benzimidazole und Benzimidazol-8-one, sollte dieses Substitutionsmuster leichter synthetisch zugänglich sein, da hierfür lediglich eine Alkylierung von einem Stickstoffatom durchgeführt werden muss. Tatsächlich konnten für beide Verbindungsklassen einige Vertreter gefunden werden, welche sowohl an der 3-, als auch an der 4-Position Carbonsäuregruppen tragen, die auch unterschiedlich substituiert sind. Daraus lässt sich schließen,

dass durchaus ein Bedarf an derartig substituierten Indol-ähnlichen Derivaten besteht, jedoch bis zum jetzigen Zeitpunkt das synthetische Werkzeug zur Herstellung fehlte.

**A**

Struktur				
Anzahl	21163 (5%)	6500	11	2

**B**

**205**

**239**

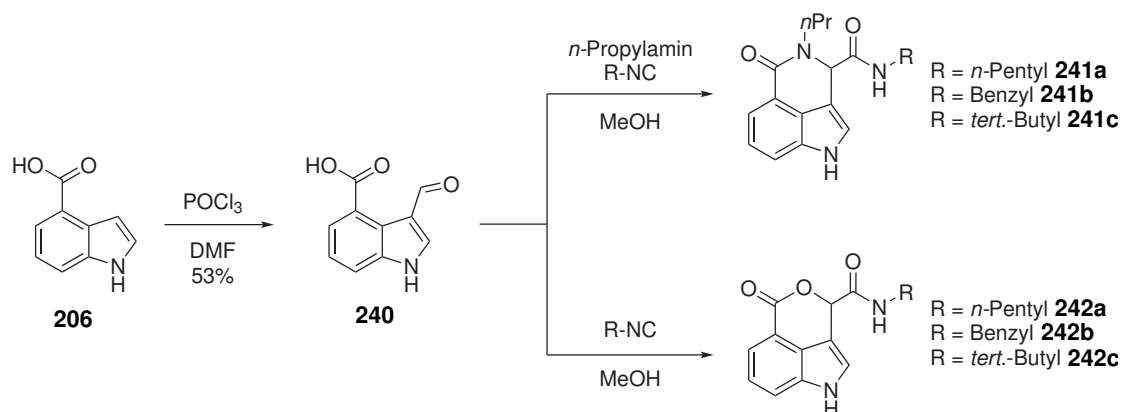
**C**

Struktur				
Anzahl	3121 (8%)	0	102 (2%)	0
Struktur				
Anzahl	223 (10%)	0	4651 (36%)	0
Struktur				
Anzahl	285 (0,8%)	0	2681 (3%)	0
Struktur				
Anzahl	2107 (0,25%)	40	2621 (6%)	14

**Abb. 3.74:** **A:** Häufigkeitsanalyse zu 3,4-substituierten Indolen in der Literatur. **B:** Strukturen der literaturbekannten 3,4-disubstituierten Indolen mit zwei Carbonsäuregruppen. **C:** Häufigkeitsanalyse zu Indol-ähnlichen Grundgerüsten mit analogem Substitutionsmuster in der Literatur. In Klammern ist der prozentuale Anteil der 3,4-disubstituierten Verbindungen bezogen auf alle zweifach substituierten Derivate der Substanzklassen angegeben. Stand: September 2016.<sup>[313]</sup>

Diese Ergebnisse unterstreichen die Einzigartigkeit und somit auch die Wichtigkeit derartig aufgebauter Indol-Derivate und es ist von sehr großem Interesse Verbindungen dieser Art herzustellen. Über die anschließende biologische Evaluierung könnten so nicht nur neue Alternativen für bereits bekannte Modulatoren gefunden werden, auch könnten so bisher nicht bekannte Wirkmechanismen und *Targets* für eine Vielzahl von Anwendungen identifiziert werden.

Von den Ergebnissen aus der Literaturrecherche motiviert, wurde als nächstes eine generelle Erweiterung des (medizinal-)chemischen Raums von 3,4-disubstituierten Indolen untersucht. Dies wurde ebenfalls von MAREN FLASSHOFF im Rahmen ihrer Abschlussarbeit durchgeführt.<sup>[313]</sup> Eine einfache Möglichkeit schnell eine große Menge von verschiedenen Derivaten zu erzeugen, liegt in der Verwendung von MCRs (*multi component reactions*), wie beispielsweise einer Passerini- oder Ugi-Reaktion. Beide Reaktionstypen führen typischerweise zu recht komplexen Verbindungen, die außerdem einen hohen Wirkstoffcharakter besitzen.<sup>[324]</sup> Für diese Umsetzungen sind drei wichtige Strukturelemente notwendig, eine Carbonsäure, ein Aldehyd und ein Isonitril, bei der Ugi-Reaktion wird außerdem ein primäres Amin benötigt. Sind zwei von diesen Funktionalitäten in einem Molekül vorhanden, so wird ein intramolekularer Ringschluss durchgeführt und ein Makrozyklus kann erhalten werden. Dieses Konzept wurde zwar bereits bei Indolen angewendet, allerdings wurde der Ringschluss zwischen der 1- und 2-Position durchgeführt.<sup>[325]</sup> Für den Fall der 3,4-disubstituierten Indole liegt die einfachste Variante zwei der benötigten Funktionalitäten in einem Molekül vorliegen zu haben darin, wenn die 3-Position den Aldehyd und die 4-Position die freie Carbonsäure trägt. Zur Untersuchung der synthetischen Machbarkeit wurde zunächst ein Indol mit einer 3-Formylgruppe verwendet, anstelle des interessanteren Derivats mit einer Methylen-verlängerten Aldehydfunktion, da dieses über viele Stufen zu synthetisieren wäre. Die Synthese ist in **Abbildung 3.75** gezeigt.<sup>[313]</sup>



**Abb. 3.75:** Übersicht über die durchgeführten intramolekularen Ugi- und Passerini-Reaktionen auf Basis von 3,4-disubstituierten Indolen.<sup>[313]</sup>

Zur Einführung der Aldehydfunktion wurde die 1H-Indol-4-carbonsäure (**206**) in einer Vilsmeier-Haack-Reaktion zu der 3-Formylverbindung **240** in 53%iger Ausbeute problemlos zur Reaktion gebracht.<sup>[313]</sup>

Das doppeltfunktionalisierte Indol wurde im Anschluss mit drei verschiedenen Isonitrilen (*n*-Pentyl-,

Benzyl- und *tert.*-Butylisonitril) für die Durchführung der Passerini-Reaktion und für die Ugi-Variante zusätzlich mit *n*-Propylamin umgesetzt. Bei allen Reaktionen konnte mithilfe von LC/MS-Analysen das gewünschte Produkt identifiziert werden. Eine Aufreinigung und Isolierung der Produkte fand nicht statt, da die Ansatzgrößen sehr klein gewählt waren und lediglich ein Beweis der Machbarkeit geführt werden sollte.

Zusammengefasst heißt das, dass das Substitutionsmuster 3,4-disubstituierter Indole ein sehr hohes bisher unerforschtes synthetisches Potential besitzt und es sich lohnt, dieses weiter für die Medizinal-Chemie auszuschöpfen. Insbesondere sollten Indolderivate genauer betrachtet werden, welche an der 3-Position ein Carbonsäure-Derivat besitzen, welches über einem Methylen-Linker mit dem Indol-ringsystem verbunden ist. Dieses bisher nur wenig beschriebene Substitutionsmuster führt höchstwahrscheinlich zu biologisch hochaktiven Verbindungen mit breiten Anwendungsgebieten und nun konnte die synthetische Machbarkeit unter Beweis gestellt werden.

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

Der Bedarf an kurativen Behandlungsstrategien für kardiovaskuläre Erkrankungen und deren Folgen ist insbesondere in den hoch industrialisierten Ländern enorm. Ungefähr jeder dritte Todesfall kann auf diesen Krankheitskomplex zurückgeführt werden,<sup>[1,2]</sup> wobei in Zukunft dieser Anteil höchstwahrscheinlich durch den aktuellen demographischen Wandel noch weiter steigen wird.<sup>[326]</sup> Attraktive Ansatzpunkte stellen Stammzell-basierte regenerative Therapieformen dar, bei welchen entweder das erkrankte Gewebe exogen oder endogen ersetzt werden soll, um die vollständige Funktion des Organs zu erhalten.<sup>[8]</sup> Allerdings mangelt es noch an tiefen und vollständigen Einblicken in die verantwortlichen zellulären Prozesse und dementsprechend intensive Forschungsarbeiten zur Aufdeckung der biologischen Schlüsselspieler werden aktuell weltweit angestellt.

Ein Ansatzpunkt stellt die Inhibierung des entwicklungsbiologisch wichtigen TGF $\beta$ -Signalwegs dar. Es ist schon länger bekannt, dass dieser unter anderem die Weichen für kardiale Fibrosierungsprozesse (z.B. nach einem Myokardinfarkt) stellt und somit einen großen Beitrag bei der kardialen Umstrukturierung und Hypertrophie nach ischämischer Schädigung leistet.<sup>[5]</sup> Daneben konnte vor einigen Jahren ein direkter Zusammenhang zwischen der Inhibition des Signalwegs und der Differenzierung von murinen embryonalen Stammzellen zu Kardiomyozyten hergestellt werden. Insbesondere eine im pharmazeutischen Kontext altbekannte Substanzklasse, die 1,4-Dihydropyridine, hat einige Aufmerksamkeit auf sich gelenkt, da diese die TGF $\beta$ -Signalweiterleitung auf eine ungewöhnliche und einzigartige Weise unterbricht. So bewirken die Verbindungen eine Internalisierung und den proteasomalen Abbau des Typ-II-Rezeptors. Erste SAR-Studien konnten bereits Hinweise darauf liefern, dass dieser Effekt in den zellulären Testsystemen nicht auf rein physikochemischen Eigenschaften (z.B. Lipophilie) beruht, sondern vielmehr einzelne biologische Zielstrukturen selektiv adressiert werden, wodurch der Signalweg inhibiert wird.<sup>[79,80]</sup>

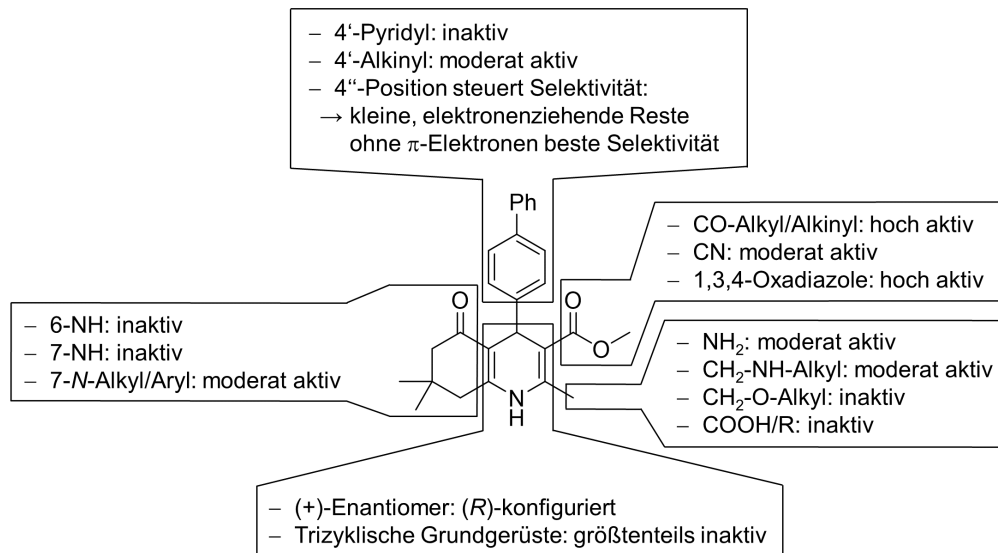
Motiviert durch diese Ergebnisse wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst damit begonnen, die SAR der Substanzklasse zu erweitern, um anschließend gezielte Optimierungskampagnen angehen zu können, welche die Anwendbarkeit der Verbindungsklasse in einem *in vivo*-Kontext untersuchen, aber auch chemische Sonden bereitstellen sollen. Dementsprechend wurde bei dieser erweiterten Struktur-Aktivitäts-Studie besonderes Augenmerk auf die Einführung von polaren Gruppen, Bioisosterie-Strategien und auf die Aufklärung der absoluten Konfiguration gelegt. Eine graphische Zusammenfassung ist in **Abbildung 4.1** gezeigt. Diese Arbeiten wurden im Jahr 2015 in der Fachzeitschrift *European Journal of Medicinal Chemistry* veröffentlicht.<sup>[130]</sup>

Zusammengefasst konnte herausgearbeitet werden, dass sich insbesondere die 2- und die 7-Positionen empfänglich für die Einführung von polaren Gruppen, im Speziellen stickstoffhaltige Reste, erwiesen. Auch scheint an diesen Positionen ein gewisser Freiraum bezüglich der Substituentengröße zu bestehen und während der Bindung am *Target* diese Regionen wahrscheinlich entweder Lösungsmittel-exponiert vorliegen oder in Richtung relativ weiträumiger Proteintaschen orientiert sind.<sup>[130]</sup>

Die SAR der 3-Position ergab, dass hier komplexere, sterisch anspruchsvolle Ester eingeführt werden können. Allerdings ist dies nicht unbeschränkt möglich, sondern ab einer bestimmten Größe des

Restes wird die biologische Aktivität kompromittiert.<sup>[130]</sup>

Außerdem konnte ein Zusammenhang zwischen der 4"-Position des 4-Biphenyl-Restes und der Selektivität der 1,4-Dihydropyridine gegenüber dem Activin A-Signalweg hergestellt werden. So hat sich gezeigt, dass insbesondere kleine, elektronenziehende Reste ohne  $\pi$ -Bindungen die beste Selektivität bei hoher Hemmpotenz ergeben.<sup>[130]</sup>



**Abb. 4.1:** Erweiterte Struktur-Aktivitätsbeziehungen der kardiogenen 1,4-Dihydropyridine (**Ziel 1**).<sup>[130,135,233]</sup>

Zuletzt konnte in diesem Teil der Arbeit die absolute Konfiguration des Eutomers ((+)-Enantiomer) über die Synthese eines Diastereomerenpaars, dessen Trennung mittels präparativer HPLC und anschließender Röntgenkristallstrukturanalyse als das (R)-Enantiomer identifiziert werden.<sup>[130]</sup> Somit konnte das erste Ziel dieser Arbeit erfolgreich abgeschlossen werden.

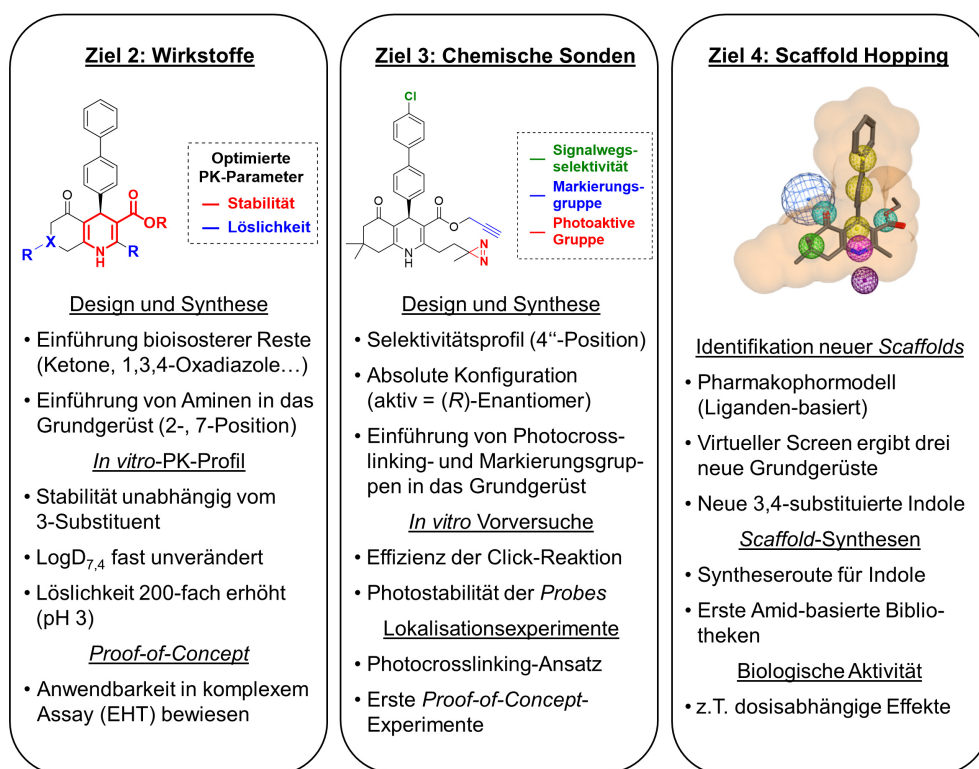
Basierend auf diesen Ergebnissen wurde die erste gezielte, rationale Optimierung der Verbindungs-kategorie für eine *in vivo*-Anwendung durchgeführt. Dabei wurde insbesondere auf die pharmakokinetischen Eigenschaften geachtet, wie die chemische bzw. metabolische Stabilität, die Lipophilie und die wässrige Löslichkeit. Diese Parameter wurden dann im Anschluss an die Synthese der entsprechenden Derivate mithilfe von HPLC- bzw. HPLC-MS-basierten *in vitro*-Assays ermittelt. Die Ergebnisse dieses Teils der Arbeit konnten kürzlich in der Fachzeitschrift *ChemMedChem* veröffentlicht werden.<sup>[135]</sup>

Es ist bereits weitestgehend bekannt, dass 1,4-Dihydropyridine je nach Substitutionsmuster mehr oder weniger leicht zum Pyridin oxidiert werden können, was in dem in dieser Arbeit untersuchten biologischen Kontext zu inaktiven Verbindungen führt. Dieses Strukturelement ist jedoch essentiell für die Hemmpotenz und kann daher nicht ersetzt werden.<sup>[79]</sup> Somit konnte nur der Einfluss der chemischen Natur der 3-Position auf die Substanzstabilität untersucht werden. Beim Vergleich eines Ethylester-, eines Propylketon- und eines 1,3,4-Oxadiazol-Derivats konnte festgestellt werden, dass diese Position keinerlei Einfluss auf die Widerstandsfähigkeit der Substanzen gegenüber *in vivo*-auftretende Bedin-

gungen, wie den Enzymen im Blutplasma oder in der Leber, ausübt und andere, bislang ungeklärte Degradierungsmechanismen überwiegen. Nichtsdestotrotz zeigen die ermittelten Halbwertszeiten und die *intrinsischen Clearances* der untersuchten 1,4-Dihydropyridine eine ausreichende Stabilität, sodass die Verbindungsklasse in komplexeren, *in vivo*-ähnlichen Assay-Formaten untersucht werden kann.<sup>[135]</sup>

Als nächstes wurden die Lipophilie und die wässrige Löslichkeit der Verbindungsklasse näher beleuchtet. Hier konnte herausgearbeitet werden, dass die Einführung von sekundären oder tertiären Amin-Gruppen in das Grundgerüst lediglich eine marginale Veränderung des  $\log D_{7,4}$ -Werts zur Folge hatte, aber die Löslichkeit, insbesondere bei niedrigen pH-Werten, bis zu einem Faktor von 200 verbessert werden konnte. Somit zeigen diese Untersuchungen, dass das Konzept löslichkeitsvermittelnde Gruppen in das Grundgerüst einzuführen, erfolgreich war.<sup>[135]</sup>

Zuletzt wurden die Verbindungen in einem komplexeren Assayformat untersucht. So konnten die Derivate in einem *Engineered Heart Tissue*-Assay, einem biologisch komplexen dreidimensionalen und TGF $\beta$ -abhängigen Fibrosierungs- und Hypertrophiemodell, unter Beweis stellen, dass durch Zugabe von 1,4-Dihydropyridinen ein krankhafter Phänotyp verhindert werden konnte.<sup>[135]</sup>



**Abb. 4.2:** Stichwortartige Zusammenfassung der Highlights aus den drei übrigen bearbeiteten Hauptprojekten dieser Arbeit (**Ziel 2, 3 und 4**).

Die nächste große Entwicklungslinie war der genaueren Untersuchung des neuartigen Hemmmechanismus auf den TGF $\beta$ -Signalweg gewidmet. Dieses Ziel soll mithilfe des Photocrosslinking-Ansatzes erreicht werden. Dazu konnten mit einer geschickten Schutzgruppenstrategie sowohl eine Diazirin-

Gruppe (als photoaktive Gruppe), als auch ein Alkin-Rest (als Markierungsgruppe) einzeln und in Kombination an verschiedene Stellen des 1,4-DHP-Grundgerüsts eingeführt werden ohne einen Verlust der Hemmwirkung gegenüber dem TGF $\beta$ -Signalweg zu bewirken.<sup>[233]</sup> Auch konnten bereits erste Lokalisierungsexperimente durchgeführt werden, welche darauf hindeuten, dass der Wirkmechanismus der Substanzklasse im Kontext des Rezeptor-*Trafficking* bzw. -*Recycling* zu finden sein könnte (Längle *et al. Chemical Communications*, 2019).<sup>[233]</sup> Während die vorliegende Arbeit angefertigt wurde, ist eine weitere Substanz (Pentabromophenol (**PBP**)<sup>[78]</sup>) publiziert worden, welche einen ähnlichen Effekt auf den TGF $\beta$ -Signalweg ausübt. Diese recht lipophile Verbindung scheint ihre Wirkung durch unspezifische Veränderung in der molekularen Zusammensetzung von intrazellulären Vesikeln zu erreichen, was schlussendlich zum proteasomalen Abbau des TGF $\beta$ -Rezeptor-II führt.<sup>[78]</sup> Die hier betrachteten 1,4-DHPs scheinen im Gegensatz dazu einen konkreten Bindungspartner anzusprechen, wie die gesammelten SAR-Informationen und Computermodelle<sup>[130]</sup> untermauern. Inwiefern sich die beiden Wirkmechanismen nun konkret unterscheiden, muss in zukünftigen Arbeiten untersucht werden.

Als abschließende Fragestellung wurde im Rahmen dieser Arbeit nach neuen TGF $\beta$ -Inhibitoren mit analogem Wirkmechanismus wie die 1,4-DHPs, jedoch komplett neuen Grundstrukturen gesucht. Die Identifikation sollte mittels eines Computer-gestützten *Scaffold Hopping*-Ansatzes in Kooperation mit der Arbeitsgruppe KOCH der TU Dortmund erreicht werden. Nach Aufstellen mehrerer Pharmakophormodellen auf Basis aller bislang gesammelten SAR-Informationen konnten nach virtuellem Screening großer Substanzbibliotheken drei neue Grundgerüste identifiziert werden. Besondere Aufmerksamkeit erregte ein 3,4-disubstituiertes Indol, da dieses spezielle Substitutionsmuster trotz der hohen Bekanntheit der Indole als Grundgerüst bislang noch nicht in der Literatur beschrieben wurde. Die Synthese erwies sich dementsprechend komplex, konnte aber mit geeigneten Schutzgruppen und diversen Reaktionsoptimierungen erfolgreich durchgeführt werden.

Nach Aufbau von kleinen Bibliotheken auf Basis der neu identifizierten *Scaffolds* und deren Testungen bzgl. der TGF $\beta$ -Inhibition konnten einige Vertreter entdeckt werden, welche eine klare Dosis-Wirkungsbeziehung an den Tag legten, was für die Hemmung einer spezifischen biologischen Zielstruktur spricht.



## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Organische Synthese

#### 5.1.1 Geräte und Materialien

##### Reagenzien

Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Acros Organics, Alfa Aesar, Carl Roth, Fisher Scientific, Fluka, Maybridge, Merck, und VWR bezogen und wurden – sofern nicht anders vermerkt – ohne zusätzliche Reinigung verwendet.

Bei der Verwendung oder Synthese von feuchtigkeitsempfindlichen Verbindungen wurden die Reaktionsgefäße ausgeheizt und mit Argon gespült.

##### Plasma- und Mikrosomenquellen

Für die Bestimmung der metabolischen Stabilität wurde entweder gepooltes Rattenplasma (Sprague-Dawley) (Sera Laboratories, PSHSD-909-J) oder gepooltes humanes Plasma (SH-123-J, Sera Laboratories) verwendet. Die mikrosomale Stabilität wurde mithilfe von gepoolten Ratten-Lebermikrosomen (Sprague-Dawley, 0,5 mg/mL (098R1000, Tebu-Bio)) oder gepoolten humanen Lebermikrosomen (0,5 mg/mL (098H0610, Tebu-Bio)) bestimmt.

##### Dünnschicht-Chromatographie

Dünnschichtchromatographie wurde auf DC-Platten der Firma Merck durchgeführt (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Träger: Aluminium). Die Detektion erfolgte entweder bei 254 nm (Fluoreszenzlöschung des beschichteten Farbstoffs) oder 365 nm (Eigenfluoreszenz der Analyten).

##### Flash-Chromatographie

Flash-Chromatographie wurde mithilfe einer CombiFlash Rf200 (Teledyne ISCO, Lincoln) und Säulen der Firmen Grace, Interchim oder Axel Semrau durchgeführt.

##### Präparative HPLC

Aufreinigungen mittels präparativer HPLC wurden auf einem Shimadzu-System (2x LC 20 AP (Pumpen), SPD-20 AC XR (PDA-Detektor)) und einer Säule von Macherey-Nagel VarioPrep, Nucleodur C18ec (5,0 µm, 250,0 × 21,0 mm) durchgeführt.

##### Mikrowellenreaktionen

Mikrowellenreaktionen wurden in einem CEM „Dicover Intelligent Explorer Automated Reactor“ durchgeführt.

### LC/MS-Analytik

HPLC/MS-Analytik wurde auf zwei unterschiedlichen Systemen durchgeführt. Entweder wurde ein Waters Acquity UPLC-System verwendet, welches mit einem Waters SQ Detector-2 (ESI+-Modus) gekoppelt ist und mit einer Waters Acquity UPLCS<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub>-Säule (1,7 µm, 50,0 × 2,1 mm) bestückt war. Der verwendete Gradient bestand aus AcN (0,01% TFA) und Wasser (0,01% TFA) mit einer Fließrate von 0,4 mL/min. Das zweite verwendete System ist eine Shimadzu-Anlage (2x LD-20 AD XR (Pumpen) mit einer Kinetex RP-18-Säule (2,6 µm, 50,0 × 2,1 mm) und einer Gradientenelution mit AcN (0,1% HCOOH) und Wasser (0,1% HCOOH) mit einer Fließrate von 0,25 mL/min. Dieses LC-System ist an eine Shimadzu LC-MS-8030 (ESI+-Modus) gekoppelt.

### HPLC-Analytik

Die Reinheitsüberprüfung der neu synthetisierten Verbindungen, sowie die logD<sub>7,4</sub>-, Löslichkeits- und Stabilitätsuntersuchungen wurden auf einem Shimadzu-System durchgeführt (2x LD-20 AD XR (Pumpen), SPD-20 AC CR (PDA-Detektor)). Dabei wurde eine Kinetex RP-18XB Säule (2,6 µm, 100,0 × 2,10 mm) mit einer Gradientenelution bestehend aus AcN (0,1% HCOOH) und Wasser (0,1% HCOOH) mit einer Fließrate von 0.25 mL/min über einen Zeitraum von 18 Minuten benutzt.

Weitere HPLC-basierte Untersuchungen (z.B.: logD<sub>7,4</sub>-Wert-Bestimmung) wurde auf einer Agilent Technologies 1100-System mit einer Säule von Phenomenex Kinetex C18 (2,6 µm, 50,0 x 2,1 mm) durchgeführt.

### Hochaufgelöste Massenspektrometrie

Hochaufgelöste Massenspektren wurden mit einem Bruker „compact QTOF (ESI)“ über eine Direktinjektion aufgenommen.

### NMR-Spektroskopie

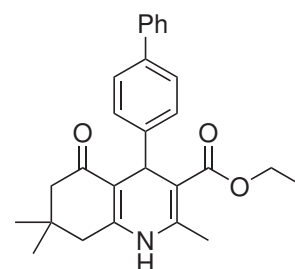
<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-, <sup>31</sup>P- und <sup>15</sup>N-NMR-Spektren wurden bei T = 298K entweder auf einem Bruker DRX-400 (Betriebsfrequenz: 400 MHz), Bruker DRX-500 (Betriebsfrequenz: 500 MHz), Bruker DRX-600 (Betriebsfrequenz: 600 MHz) oder auf einem Varian Mercury 400 (Betriebsfrequenz: 400 MHz) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen der Signale (δ) werden relativ zu der chemischen Verschiebung eines internen Standards (Tetramethylsilan, TMS) angegeben. Bei Fehlen eines internen Standards werden die chemischen Verschiebungen der Lösungsmittelsignale zur Referenzierung herangezogen (<sup>1</sup>H-NMR: CDCl<sub>3</sub>: 7.27 ppm; DMSO-d<sub>6</sub>: 2.50 ppm; <sup>13</sup>C-NMR: CDCl<sub>3</sub>: 77.1 ppm; DMSO-d<sub>6</sub>: 39.5 ppm, <sup>31</sup>P-NMR: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> als externer Standard: 0.0 ppm; <sup>15</sup>N-NMR: CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> als externer Standard: 0.0 ppm). Die Kopplungskonstanten werden in Hertz (Hz) angegeben.

In der Auswertung der NMR-Spektren werden folgende Abkürzungen verwendet: s: Singulett; d: Dublett; t: Triplett; q: Quartett; quin: Quintett; sext: Sextett; dd: Dublett von Dublett; dt: Dublett von Triplett; td: Triplett von Dublett; m: Multiplett.

Die Auswertung erfolgte mit dem Programm „ACD/NMR Processor Academic Edition“ Version 12.01 der Firma ACD/Labs.

### 5.1.2 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**3**)<sup>[130]</sup>

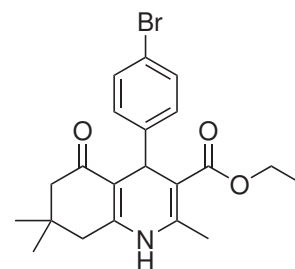
Eine Lösung aus Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (182.2 mg, 1.0 mmol), Ethylacetoacetat (**113**) (127.6  $\mu$ L, 130.1 mg, 1.0 mmol),  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) wurde in EtOH (2.5 mL) suspendiert und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in EtOAc (150 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit einer gesättigten  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (2x 75 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:1) wurde ein gelber Feststoff (157.9 mg, 0.38 mmol, 38%) erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[79,130]</sup> überein.



$R_f = 0.40$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.88$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 2.00 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 2.18 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 2.28 - 2.35 (m, 4H), 2.39 - 2.46 (m, 1H), 4.00 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.18 - 7.27 (m, 2H), 7.27 - 7.36 (m, 1H), 7.42 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.46 - 7.53 (m, 2H), 7.55 - 7.63 (m, 2H), 9.06 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 416  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.3 4-(4'-Bromphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**4**)<sup>[130]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Bromphenylcarbaldehyd (185.0 mg, 1.0 mmol), Ethylacetoacetat (**113**) (127.6  $\mu$ L, 130.1 mg, 1.0 mmol),  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (167.3 mg, 0.40 mmol, 40%) erhalten.

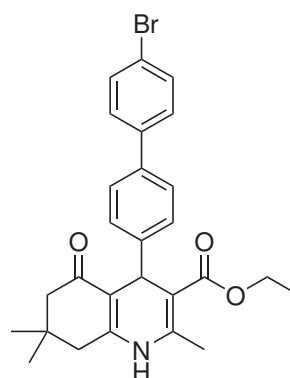


$R_f = 0.38$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.83$  (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.11 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.97 - 1.99 (m, 1H), 2.15 - 2.17 (m, 1H), 2.26 - 2.28 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.39 - 7.41 (m, 1H), 3.96 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.82 (s, 1H), 7.07 - 7.09 (m, 2H), 7.36 - 7.38 (m, 2H), 9.01 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 418  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.4 4-(4''-Brom-4'-biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (5)<sup>[130]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4'-Brom-4-biphenyl-carbaldehyd (261.1 mg, 1.0 mmol), Ethylacetoacetat (**113**) (127.6  $\mu$ L, 130.1 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (187.9 mg, 0.38 mmol, 38%) erhalten.

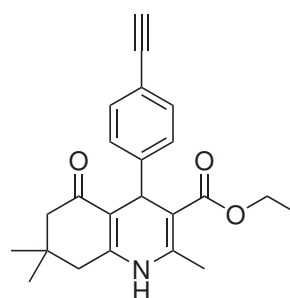
$R_f$  = 0.42 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.86 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.15 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 1.99 - 2.01 (m, 1H), 2.17 - 2.19 (m, 1H), 2.31 - 2.33 (m, 4H), 2.42 - 7.44 (m, 1H), 3.99 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 4.89 (s, 1H), 7.22 - 7.25 (m, 2H), 7.48 - 7.51 (m, 2H), 7.57 - 7.59 (m, 4H), 9.07 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 494 [M+H]<sup>+</sup>.



#### 5.1.5 4-(4'-Ethinylphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (6)<sup>[130]</sup>

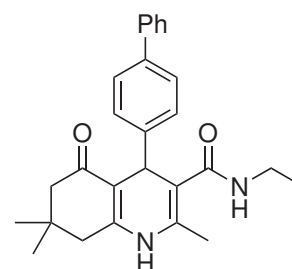
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Ethinylphenyl-carbaldehyd (130.1 mg, 1.0 mmol), Ethylacetoacetat (**113**) (127.6  $\mu$ L, 130.1 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (134.5 mg, 0.37 mmol, 37%) erhalten.

$R_f$  = 0.46 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.83 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.11 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H), 1.97 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.16 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.27 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.41 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 3.96 (q,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 4.03 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 7.14 - 7.16 (m, 2H), 7.28 - 7.31 (m, 2H), 9.08 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 346 [M+H]<sup>+</sup>.



### 5.1.6 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylamid (7)<sup>[130]</sup>

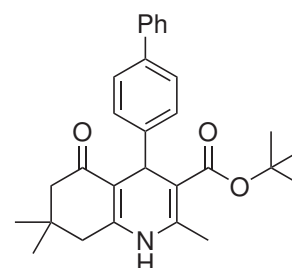
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Oxobutansäureethylamid (129.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (70.5 mg, 0.17 mmol, 17%) erhalten.



$R_f = 0.25$  (Cy/EtOAc 1:3); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.91$  (s, 3H), 0.93 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.98 - 2.01 (m, 1H), 2.03 (s, 3H), 2.13 - 2.15 (m, 1H), 2.29 - 2.31 (m, 1H), 2.37 - 2.39 (m, 1H), 3.02 - 3.04 (m, 2H), 4.85 (s, 1H), 7.22 - 7.24 (m, 2H), 7.29 - 7.31 (m, 1H), 7.40 - 7.43 (m, 2H), 7.46 - 7.48 (m, 2H), 7.58 - 7.60 (m, 2H), 8.56 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 415 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.7 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-*tert*-butylester (8)<sup>[130]</sup>

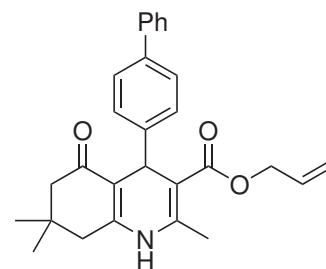
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Oxo-butansäure-*tert*-butylester (158.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (146.4 mg, 0.33 mmol, 33%) erhalten.



$R_f = 0.18$  (Cy/EtOAc 2:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.97 - 1.99 (m, 1H), 2.15 - 2.17 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.29 - 2.31 (m, 1H), 2.40 - 2.42 (m, 1H), 4.82 (s, 1H), 7.22 - 7.25 (m, 2H), 7.30 - 7.32 (m, 1H), 7.41 - 7.43 (m, 2H), 7.49 - 7.51 (m, 2H), 7.58 - 7.61 (m, 2H), 8.99 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 444 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.8 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureallyl-ester (9)<sup>[130]</sup>

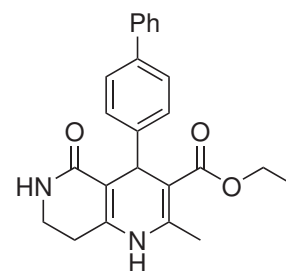
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Oxobutansäureallylester (142.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (98.3 mg, 0.23 mmol, 23%) erhalten.



$R_f = 0.19$  (Cy/EtOAc 2:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.97$  (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 2.18 - 2.20 (m, 1H), 2.23 - 2.25 (m, 1H), 2.24 - 2.46 (m, 1H), 2.35 - 7.37 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 4.57 (d,  $J = 5.3$  Hz, 2H), 5.16 - 5.19 (m, 3H), 5.87 - 5.89 (m, 1H), 6.19 (s, 1H), 7.30 - 7.33 (m, 1H), 7.40 - 7.47 (m, 6H), 7.55 - 7.57 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 428 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.9 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäure-ethylester (10)<sup>[130]</sup>

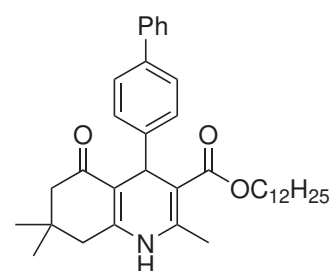
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.2** unter Verwendung von Piperidin-2,4-dion (113.1 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), Ethylacetoacetat (**113**) (127.6  $\mu$ L, NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt. Die Reaktion wurde außerdem für 72h durchgeführt und es wurde ein hellgelber Feststoff (139.8 mg, 0.36 mmol, 36%) erhalten.



$R_f = 0.57$  (CHCl<sub>3</sub>/Hexan/Aceton/MeOH 10:5:2:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.11$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.75 (s, 2H), 3.24 - 3.26 (m, 2H), 3.95 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 5.02 (s, 1H), 5.70 (s, 1H), 7.19 - 7.21 (m, 1H), 7.30 - 7.33 (m, 4H), 7.42 - 7.45 (m, 4H), 8.06 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 389 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.10 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäuredecylester (11)<sup>[130]</sup>

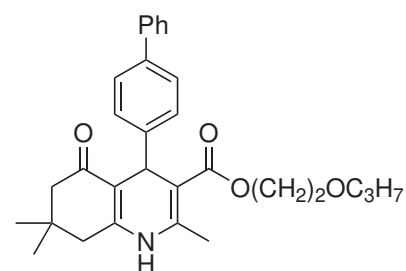
Eine Lösung aus Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Oxobutansäuredodecylester (270.4 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol), elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) und einigen Tropfen konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in trockenem EtOH (2.5 mL) wurde unter Argon auf 60 - 80 °C erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion (Reaktionskontrolle über DC) wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (150 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit einer gesättigten Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (2x 75 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Die Lösung wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flashchromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:1) wurde ein gelber Feststoff (394.6 mg, 0.71 mmol, 71%) erhalten.



$R_f = 0.69$  (Hexan/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.88$  (t,  $J = 8.0$  Hz, 3H), 0.93 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.18 - 1.22 (m, 18H), 1.56 - 1.58 (m, 2H), 2.23 - 2.25 (m, 4H), 2.39 (s, 3H), 4.00 - 4.02 (m, 2H), 5.10 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 7.27 - 7.29 (m, 1H), 7.36 - 7.39 (m, 4H), 7.42 - 7.44 (m, 2H), 7.52 - 7.55 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 556 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.11 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-propoxyethylester (12)<sup>[130]</sup>

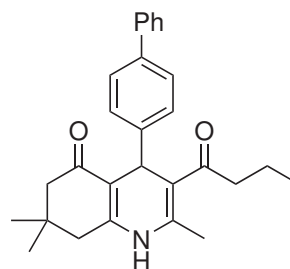
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Oxobutansäure-2-propoxyethylester (188.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (317.3 mg, 0.67 mmol, 67%) erhalten.



$R_f = 0.52$  (Hexan/EtOH 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.87$  (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.93 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.54 - 1.56 (m, 2H), 2.20 - 2.24 (m, 4H), 2.37 (s, 3H), 3.34 - 3.56 (m, 2H), 3.56 (t,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 4.14 - 4.16 (m, 2H), 5.11 (s, 1H), 6.12 (s, 1H), 7.26 - 7.28 (m, 1H), 7.33 - 7.37 (m, 4H), 7.40 - 7.42 (m, 2H), 7.50 - 7.52 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 474 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.12 4-(4'-Biphenyl)-3-buturyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin (13)<sup>[130]</sup>

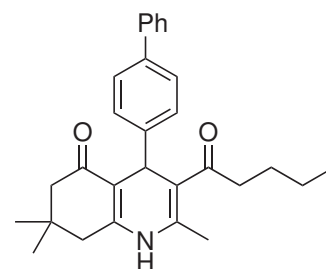
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), Heptan-2,4-dion (128.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (227.5 mg, 0.55 mmol, 55%) erhalten.



$R_f = 0.39$  (Hexan/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.82$  (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.88 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.52 - 1.54 (m, 2H), 2.19 - 2.22 (m, 2H), 2.29 - 2.32 (m, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.61 - 2.63 (m, 1H), 5.18 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 7.29 - 7.31 (m, 1H), 7.36 - 7.39 (m, 4H), 7.45 - 7.47 (m, 2H), 7.52 - 7.54 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 414 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.13 4-(4'-Biphenyl)-3-pentanoyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin (14)<sup>[130]</sup>

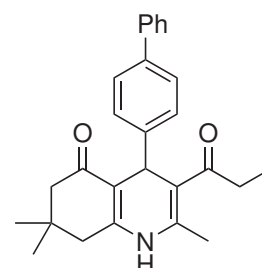
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), Octan-2,4-dion (142.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (89.8 mg, 0.21 mmol, 21%) erhalten.



$R_f = 0.50$  (Hexan/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.82$  (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 0.88 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.22 - 1.24 (m, 2H), 1.44 - 1.46 (m, 2H), 2.17 - 2.19 (m, 2H), 2.28 - 2.32 (m, 4H), 2.40 (s, 3H), 5.17 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 7.29 - 7.31 (m, 1H), 7.35 - 7.40 (m, 4H), 7.45 - 7.47 (m, 2H), 7.53 - 7.55 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 428 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.14 4-(4'-Biphenyl)-3-propionyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin (15)<sup>[130]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), Hexan-2,4-dion (114.1 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (123.8 mg, 0.31 mmol, 31%) erhalten.



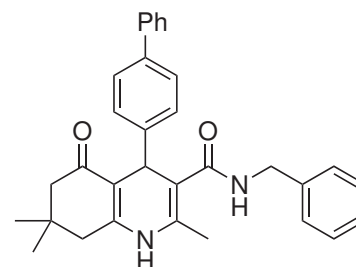
$R_f = 0.40$  (Hexan/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.86$  (s, 3H), 0.95 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.29 (q,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 2.26 - 2.30 (m, 5H), 2.66 - 2.68 (m,



2H), 2.85 - 2.87 (m, 1H), 5.17 (s, 1H), 5.74 (s, 1H), 7.32 - 7.36 (m, 5H), 7.47 - 7.52 ppm (m, 4H); MS (+ESI)  $m/z$ : 414  $[M+H]^+$ .

#### 5.1.15 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäurebenzylamid (16)<sup>[130]</sup>

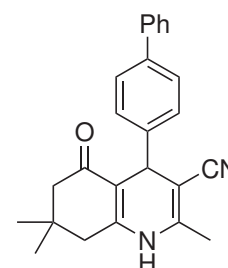
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Oxobutansäurebenzylamid (191.2 mg, 1.0 mmol),  $NH_4OAc$  (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (324.1 mg, 0.68 mmol, 68%) erhalten.



$R_f$  = 0.50 (PE/EtOAc 1:1);  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 0.91 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 2.22 - 2.26 (m, 4H), 2.40 (s, 3H), 4.37 - 4.41 (m, 4H), 4.88 (s, 1H), 5.71 (s, 1H), 5.85 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 6.99 - 7.02 (m, 2H), 7.18 - 7.21 (m, 3H), 7.32 - 7.34 (m, 1H), 7.38 - 7.42 (m, 4H), 7.45 - 7.47 (m, 2H), 7.53 - 7.55 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 477  $[M+H]^+$ .

#### 5.1.16 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonitril (17)<sup>[130]</sup>

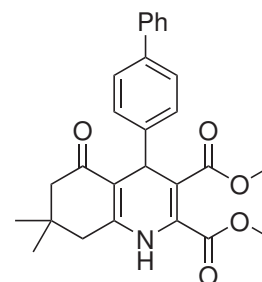
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), 3-Aminocrotononitril (82.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (121.6 mg, 0.33 mmol, 33%) erhalten.



$R_f$  = 0.25 (Hexan/EtOAc 1:1);  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 0.94 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 2.02 - 2.04 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.18 - 2.20 (m, 1H), 2.35 - 2.37 (m, 1H), 2.42 - 2.41 (m, 1H), 4.46 (s, 1H), 7.25 - 7.27 (m, 2H), 7.33 - 7.35 (m, 1H), 7.47 - 7.49 (m, 2H), 7.56 - 7.58 (m, 2H), 7.61 - 7.63 (m, 2H), 9.46 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 369  $[M+H]^+$ .

### 5.1.17 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäuredimethylester (18)<sup>[130]</sup>

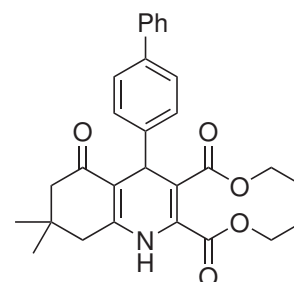
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), But-2-in-1,4-dimethylester (142.1 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (147.0 mg, 0.33 mmol, 33%) erhalten.



$R_f = 0.49$  (Hexan/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.98$  (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 2.21 - 2.23 (m, 2H), 2.34 - 2.36 (m, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 5.00 (s, 1H), 6.47 (s, 1H), 7.28 - 7.30 (m, 1H), 7.35 - 7.39 (m, 4H), 7.46 - 7.48 (m, 2H), 7.53 - 7.55 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 446 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.18 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäurediethylester (19)<sup>[130]</sup>

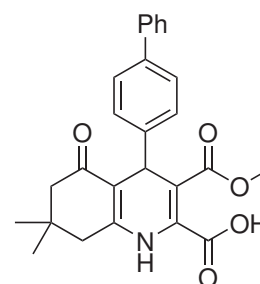
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.10** unter Verwendung von Dimedon (140.2 mg, 1.0 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (182.2 mg, 1.0 mmol), But-2-in-1,4-diethylester (174.2 mg, 1.0 mmol), NH<sub>4</sub>OAc (77.1 mg, 1.0 mmol) und elementarem Iod (76.1 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein gelber Feststoff (198.9 mg, 0.42 mmol, 42%) erhalten.



$R_f = 0.69$  (Hexan/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.99$  (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.31 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 2.20 - 2.22 (m, 2H), 2.34 - 2.36 (m, 2H), 4.10 - 4.12 (m, 2H), 4.28 - 4.31 (m, 2H), 4.99 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 7.28 - 7.30 (m, 1H), 7.35 - 7.38 (m, 4H), 7.47 - 7.49 (m, 2H), 7.53 - 7.55 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 474 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.19 4-(4'-Biphenyl)-3-methoxycarbonyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2-carbonsäure (32)<sup>[130]</sup>

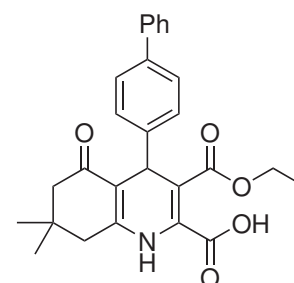
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäuredimethylester (**18**) (44.5 mg, 0.10 mmol) in MeOH (1 mL) wurde eine aus NaOH (12.0 mg, 0.3 mmol) in Wasser (35.0  $\mu$ L) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 5h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in destilliertem Wasser (1 mL) gelöst, filtriert und das Filtrat wurde auf 0°C gekühlt. Anschließend wurde der pH-Wert mit einer 1 M HCl-Lösung auf einen Wert von 1-2 gestellt. Der Niederschlag wurde filtriert, mit destilliertem Wasser gewaschen (3x 2 mL) und im Hochvakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus EtOAc wurde ein hellgelber Feststoff (29.3 mg, 0.068 mmol, 68%) erhalten.



$R_f$  = 0.44 (DCM/MeOH 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.87 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 2.00 - 2.02 (m, 1H), 2.21 - 2.23 (m, 1H), 2.40 - 2.42 (m, 2H), 3.55 (s, 3H), 4.86 (s, 1H), 7.25 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.31 - 7.33 (m, 1H), 7.43 (t,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.53 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.60 - 7.63 (m, 2H), 9.75 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 432  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.20 4-(4'-Biphenyl)-3-ethoxycarbonyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2-carbonsäure (33)<sup>[130]</sup>

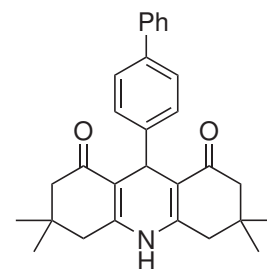
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäurediethylester (**19**) (47.4 mg, 0.10 mmol) in MeOH (1 mL) wurde eine aus NaOH (12.0 mg, 0.3 mmol) in Wasser (35.0  $\mu$ L) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 5h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in destilliertem Wasser (1 mL) gelöst, filtriert und das Filtrat wurde auf 0°C gekühlt. Anschließend wurde der pH-Wert mit einer 1 M HCl-Lösung auf einen Wert von 1-2 gestellt. Der Niederschlag wurde filtriert, mit destilliertem Wasser gewaschen (3x 2 mL) und im Hochvakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus EtOAc wurde ein hellgelber Feststoff (38.7 mg, 0.087 mmol, 87%) erhalten.



$R_f$  = 0.44 (DCM/MeOH 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.97 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.34 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 2.25 - 2.27 (m, 2H), 2.40 - 2.42 (m, 2H), 4.31 (q,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 5.30 (s, 1H), 7.31 - 7.34 (m, 3H), 7.40 - 7.42 (m, 2H), 7.46 - 7.48 (m, 2H), 7.53 - 7.55 (m, 2H), 9.77 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 446  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

5.1.21 9-(4'-Biphenyl)-3,3,6,6-tetramethyl-3,4,6,7,9,10-hexahydro-1,8(2*H*,5*H*)-dion (21)<sup>[130]</sup>

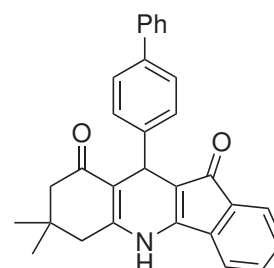
Zu einer Lösung aus Dimedon (420.6 mg, 3.0 mmol) und 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (182.2 mg, 1.0 mmol) in einer Mischung aus EtOH (4 mL) und Wasser (3 mL) wurde Piperidin (0.10 mL, 86.2 mg, 1.0 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 10 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt, der Niederschlag wurde filtriert und mit destilliertem Wasser (10 mL) und 50%-igem EtOH (in Wasser, 10 mL) gewaschen. Die so erhaltene Zwischenstufe wurde in Essigsäure (7 mL) gelöst und NH<sub>4</sub>OAc (2.1 g, 27.0 mmol) wurde zugegeben. Die Lösung wurde für 1h unter Rückfluss erhitzt und nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch mit destilliertem Wasser (40 mL) verdünnt. Der gebildete Niederschlag wurde filtriert und mit destilliertem Wasser (3x 10 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus EtOH wurde ein blassgelber Feststoff (246.8 mg, 0.58 mmol, 58%) erhalten.



$R_f = 0.50$  (DCM/EtOAc 2:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.89$  (s, 6H), 1.01 (s, 6H), 1.98 - 2.00 (m, 2H), 2.17 - 2.19 (m, 2H), 2.33 - 2.36 (m, 2H), 2.45 - 2.47 (m, 2H), 4.85 (s, 1H), 7.33 - 7.52 (m, 9H), 9.31 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 426 [M+H]<sup>+</sup>.

5.1.22 10-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-6,7,8,10-tetrahydro-5*H*-indeno[1,2-*b*]chinolin-9,11-dion (**24**)<sup>[130]</sup>

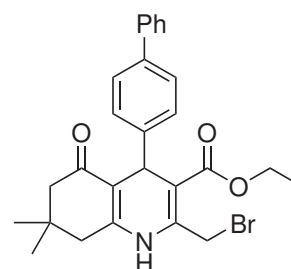
Zu einer Lösung aus Indandion (145.1 mg, 1.0 mmol) und 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (182.2 mg, 1.0 mmol) in heißer Essigsäure (2 mL) wurden 2 Tropfen konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gegeben und die Reaktionslösung wurde für 2 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt, der Niederschlag wurde filtriert und mit Essigsäure (5 mL), destilliertem Wasser (5 mL) und EtOH (5 mL) gewaschen. Die so erhaltene Zwischenstufe wurde in Essigsäure (10 mL) gelöst und 3-Amino-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-on (139.2 mg, 1.0 mmol) wurde zugegeben. Die Lösung wurde für 3 Minuten unter Rückfluss erhitzt und nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der gebildete Niederschlag filtriert und mit Essigsäure (5 mL), destilliertem Wasser (5 mL) und EtOH (5 mL) gewaschen. Nach Umkristallisation aus EtOH wurde ein roter Feststoff (146.7 mg, 0.34 mmol, 34%) erhalten.



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 1.02$  (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 2.11 - 2.13 (m, 1H), 2.25 - 2.27 (m, 1H), 2.63 (s, 2H), 4.77 (s, 1H), 7.24 - 7.26 (m, 1H), 7.30 - 7.36 (m, 4H), 7.41 - 7.44 (m, 3H), 7.48 - 7.50 (m, 2H), 7.55 - 7.59 (m, 3H), 10.44 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 432 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.23 4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**25**)<sup>[130]</sup>

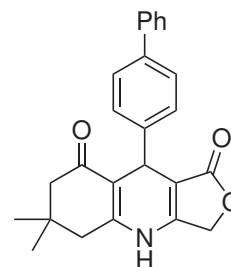
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**3**) (415.5 mg, 1.0 mmol) in MeOH (50 mL) wurde bei 0°C frisch umkristallisiertes NBS (186.9 mg, 1.1 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung wurde für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand mit destilliertem Wasser (5 mL) zermahlen und der Feststoff wurde abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (PE/EtOAc 1:1) wurde ein gelber Feststoff (252.2 mg, 0.51 mmol, 51%) erhalten.



$R_f = 0.63$  (Hexan/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.78$  (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 1.05 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 2.12 - 2.16 (m, 4H), 3.94 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.56 - 4.58 (m, 2H), 4.94 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 7.09 - 7.11 (m, 1H), 7.18 - 7.22 (m, 4H), 7.26 - 7.28 (m, 2H), 7.33 - 7.35 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 494  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.24 9-(4'-Biphenyl)-6,6-dimethyl-5,6,7,9-tetrahydrofuro[3,4-*b*]chinolin-1,8(3*H*,4*H*)-dion (**26**)<sup>[130]</sup>

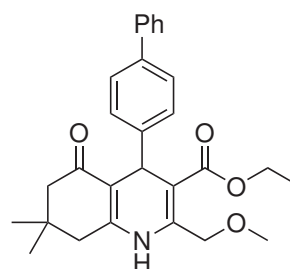
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**25**) (49.4 mg, 0.10 mmol) in  $\text{CHCl}_3$  (1 mL) wurde KOH (2.8 mg, 0.050 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung wurde für 3h unter Rückfluss gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand mit MeOH (1 mL) zermahlen und der Feststoff wurde abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus MeOH wurde ein gelber Feststoff (30.8 mg, 0.080 mmol, 80%) erhalten.



$R_f = 0.41$  ( $\text{CHCl}_3$ /Hexan/Aceton/MeOH 9:7:1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.99$  (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 2.15 - 2.17 (m, 2H), 2.47 (s, 2H), 4.68 (s, 1H), 4.85 - 4.87 (m, 1H), 4.94 - 4.96 (m, 1H), 7.26 - 7.28 (m, 2H), 7.32 - 7.34 (m, 1H), 7.43 - 7.45 (m, 2H), 7.51 - 7.53 (m, 2H), 7.60 - 7.62 (m, 2H), 10.06 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 386  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.25 4-(4'-Biphenyl)-2-methoxymethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (27)<sup>[130]</sup>

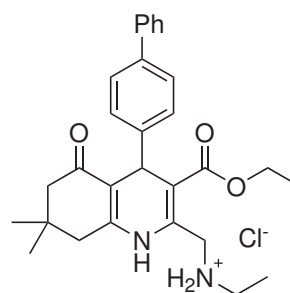
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**25**) (49.4 mg, 0.10 mmol) in MeOH (4 mL) wurde bei 0°C eine 1.25 M KOH-Lösung (160.0 µL) gegeben und die Reaktionsmischung wurde für 24h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser zugegeben (10 mL) und der pH-Wert wurde mit einer 1 M HCl-Lösung neutralisiert. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus MeOH wurde ein farbloser Feststoff (40.5 mg, 0.091 mmol, 91%) erhalten.



$R_f = 0.68$  (Hexan/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.98$  (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 1.20 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 2.22 - 2.24 (m, 2H), 2.34 - 2.37 (m, 2H), 3.50 (s, 3H), 4.06 - 4.08 (m, 2H), 4.69 - 4.71 (m, 1H), 4.74 - 4.76 (m, 1H), 5.10 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.28 - 7.30 (m, 2H), 7.36 - 7.39 (m, 3H), 7.42 - 7.44 (m, 2H), 7.53 - 7.55 ppm (m, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 446  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.26 4-(4'-Biphenyl)-2-ethylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid (28)<sup>[130]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**25**) (49.4 mg, 0.10 mmol) in einer Mischung aus DCM (1 mL) und DMF (0.05 mL) wurde bei 0°C und unter Argon eine 70-%ige Ethylamin-Lösung (in Wasser, 23.9 µL 13.5 mg, 0.30 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung wurde für 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde weitere 24h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde in DCM (10 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (2x 5 mL) gewaschen. Die Lösung wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in trockenem  $\text{Et}_2\text{O}$  (1 mL) aufgenommen, auf -10°C abgekühlt und einige Tropfen konzentrierter HCl-Lösung wurde zugegeben. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert, mit trockenem  $\text{Et}_2\text{O}$  (3x 0.5 mL) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus MeOH wurde ein hellgelber Feststoff (28.7 mg, 0.058 mmol, 58%) erhalten.



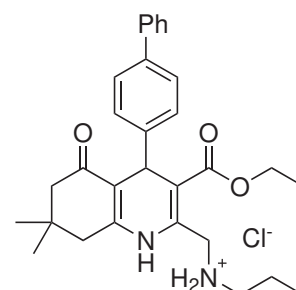
$R_f = 0.68$  (Hexan/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.95$  (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.47 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 2.20 - 2.22 (m, 2H), 2.53 - 2.55 (m, 1H), 2.59 - 2.61 (m, 1H), 3.22 - 3.24 (m, 2H), 4.35 - 4.37 (m, 1H), 4.60 - 4.61 (m, 1H), 5.09 (s, 1H), 7.29 - 7.31 (m, 1H), 7.37 - 7.41 (m, 4H), 7.47 - 7.49 (m, 2H), 7.52 - 7.54 (m, 2H), 9.24 (s, 1H), 9.55 ppm (s, 2H); MS (+ESI)

$m/z$ : 459  $[M+H]^+$ .

#### 5.1.27 4-(4'-Biphenyl)-2-propylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid (29)<sup>[130]</sup>

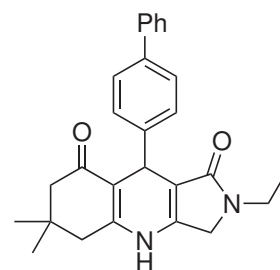
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.26** unter Verwendung von Propylamin (17.7 mg, 0.30 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (21.4 mg, 0.042 mmol, 42%) erhalten.

$R_f$  = 0.68 (Hexan/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.97 - 1.02 (m, 6H), 1.09 (s, 3H), 1.28 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H), 1.85 - 1.88 (m, 2H), 2.19 - 2.22 (m, 2H), 2.54 - 2.56 (m, 2H), 3.07 - 3.09 (m, 2H), 4.12 - 4.16 (m, 2H), 4.33 - 4.35 (m, 1H), 4.58 - 4.60 (m, 1H), 5.09 (s, 1H), 7.29 - 7.31 (m, 1H), 7.35 - 7.38 (m, 4H), 7.42 - 7.45 (m, 2H), 7.51 - 7.53 (m, 2H), 9.12 (s, 1H), 9.56 ppm (s, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 473  $[M+H]^+$ .



#### 5.1.28 9-(4'-Biphenyl)-2-ethyl-6,6-dimethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1H-pyrrolo[3,4-b]chinolin-1,8(4H)-dion (30)<sup>[130]</sup>

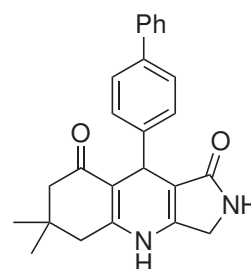
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-ethylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid (**28**) (49.5mg, 0.10 mmol) in EtOH (2 mL) wurde eine 3 M KOH-Lösung (20.0  $\mu\text{L}$ ) gegeben und die Lösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde mit destilliertem Wasser (1 mL) verrieben. Die Suspension wurde filtriert und das Rohprodukt wurde aus MeOH umkristallisiert. Abschließend wurde der Rückstand Flash-chromatographisch aufgereinigt ( $\text{CHCl}_3$ /Hexan/Aceton/MeOH 9:7:2:1) und es wurde ein gelber Feststoff (24.3 mg, 0.059 mmol, 59%) erhalten.



$R_f$  = 0.41 ( $\text{CHCl}_3$ /Hexan/Aceton/MeOH 9:7:2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.00 - 1.04 (m, 9H), 2.11 - 2.13 (m, 2H), 2.44 (s, 2H), 3.30 - 3.33 (m, 2H), 3.96 (d,  $J$  = 18.0 Hz, 1H), 4.06 (d,  $J$  = 18.0 Hz, 1H), 4.70 (s, 1H), 7.23 - 7.26 (m, 2H), 7.31 - 7.33 (m, 1H), 7.41 - 7.43 (m, 2H), 7.47 - 7.50 (m, 2H), 7.58 - 7.60 (m, 2H), 9.75 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 413  $[M+H]^+$ .

### 5.1.29 9-(4'-Biphenyl)-6,6-dimethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*b*]chinolin-1,8(4*H*)-dion (31)<sup>[130]</sup>

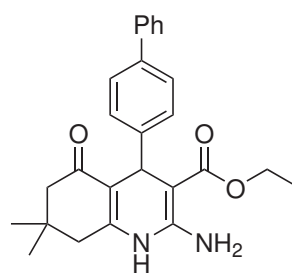
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**25**) (49.4 mg, 0.10 mmol) in DMF (1 mL mL) wurde bei 0°C und unter Argon Kaliumphthalimid (18.5 mg, 0.10 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung wurde für 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden weitere 24h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde Flash-chromatographisch aufgereinigt (CHCl<sub>3</sub>/Hexan/Aceton/MeOH 9:7:1:1). Das so erhaltene gelbe Öl wurde in MeOH (1 mL) gelöst und eine Methylamin-Lösung (in Wasser, 40 wt%, 173.1 µL, 62.1 mg, 2.0 mmol) wurde hinzugefügt. Nach 24h bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (CHCl<sub>3</sub>/Hexan/Aceton/MeOH 10:5:2:1) wurde ein farbloser Feststoff (8.5 mg, 0.022 mmol, 22%) erhalten.



$R_f = 0.15$  (CHCl<sub>3</sub>/Hexan/Aceton/MeOH 10:5:2:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 0.98$  (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 2.05 - 2.07 (m, 1H), 2.18 - 2.20 (m, 1H), 2.43 (d,  $J = 5.2$  Hz, 2H), 2.88 (d,  $J = 18.0$  Hz, 1H), 3.98 (d,  $J = 18.0$  Hz, 1H), 4.70 (s, 1H), 7.24 - 7.27 (m, 2H), 7.31 - 7.33 (m, 1H), 7.42 - 7.45 (m, 3H), 7.48 - 7.51 (m, 2H), 7.57 - 7.60 (m, 2H), 9.65 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 385 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.30 2-Amino-4-(4'-biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (37a)<sup>[130,157]</sup>

Zu einer Suspension aus Dimedon (**1**) (70.1 mg, 0.5 mmol), 4-Biphenylaldehyd (**20**) (91.1 mg, 0.5 mmol) und 3-Amino-3-iminopropionsäurehydrochlorid (**35**) (83.3 mg, 0.5 mmol) in trockenem EtOH (1.25 mL) wurde bei 75°C eine 0.5 M Natriumethanolat-Lösung (1.0 mL, 0.5 mmol) vorsichtig getropft. Nach 30 min wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt und der Reaktionsansatz wurde mit destilliertes Wasser (20 mL) verdünnt. Nach Extraktion mit DCM (5x 10 mL) wurden die vereinigten organischen Phasen zunächst mit einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen und anschließend über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus EtOH aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als ein gelber Feststoff (58.3 mg, 0.1 mmol, 28%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[130,157]</sup>



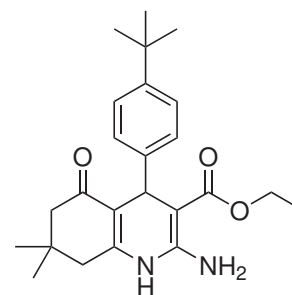
$R_f = 0.16$  (Cy/Ethylacetat 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 0.89$  (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.13 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.99 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 2.18 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 2.31 (d,  $J = 16.8$  Hz, 1H), 2.43 (d,  $J = 16.8$  Hz, 1H), 3.94 (q,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 4.77 (s, 1H), 6.77 (s, 2H), 7.20 - 7.25 (m, 2H),



7.27 - 7.30 (m, 1H), 7.39 - 7.43 (m, 2H), 7.45 - 7.47 (m, 2H), 7.57 - 7.60 (m, 2H), 8.8 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.3, 26.6, 28.9, 32.2, 34.1, 39.7, 50.0, 57.9, 78.1, 111.4, 125.7, 126.3, 126.7, 127.9, 128.7, 137.0, 140.2, 147.9, 149.3, 154.3, 168.1, 193.5 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 417  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.31 2-Amino-4-(4'-*tert*-butylphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (37b)<sup>[130,157]</sup>

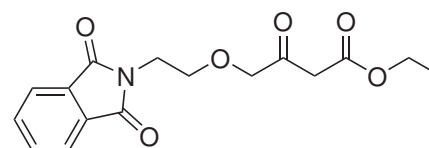
Zu einer Suspension aus Dimedon (**1**) (70.1 mg, 0.5 mmol), 4-Biphenylaldehyd (**36**) (81.1 mg, 0.5 mmol) und 3-Amino-3-iminopropionsäurehydrochlorid (**35**) (83.3 mg, 0.5 mmol) in trockenem EtOH (1.25 mL) wurde bei 75 °C eine 0.5 M Natriumethanolat-Lösung (1.0 mL, 0.5 mmol) vorsichtig getropft. Nach 30 min wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt und der Reaktionsansatz wurde mit destilliertem Wasser (20 mL) verdünnt. Nach Extraktion mit DCM (5x 10 mL) wurden die vereinigten organischen Phasen zunächst mit einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen und anschließend über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus EtOH aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als ein gelber Feststoff (43.6 mg, 0.1 mmol, 22%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[130,157]</sup>



$R_f$  = 0.59 (Cy/Ethylacetat 1:1);  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.90 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.13 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H), 1.21 (s, 9H), 1.98 (d,  $J$  = 16.0 Hz, 1H), 2.15 (d,  $J$  = 16.0 Hz, 1H), 2.31 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 2.40 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 3.94 (q,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 4.70 (s, 1H), 6.70 (s, 2H), 7.03 - 7.06 (m, 2H), 7.14 - 7.18 (m, 2H), 8.83 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.4, 26.7, 28.9, 31.2, 32.1, 33.7, 33.9, 50.2, 57.9, 78.8, 109.1, 111.6, 124.1, 126.8, 145.6, 147.3, 149.3, 151.3, 165.7, 168.4, 193.9 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 397  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.32 4-(2-(1,3-Dioxoisindolin-2-yl)ethoxy)-3-oxobuttersäureethylester (41)<sup>[159]</sup>

Eine Suspension aus Natriumhydrid (60 wt% in Mineralöl, 630.0 mg, 15.8 mmol) wurde auf 0 °C abgekühlt. Hierzu wurde langsam 2-(2-Hydroxyethyl)isindolin-1,3-dion (2.0 g, 10.5 mmol) gegeben und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 Stunden wurde der Reaktionsansatz erneut auf 0 °C abgekühlt und eine Lösung aus 4-Chloracetoacetat (**40**) (1.15g, 944.0  $\mu\text{L}$ , 7.0 mmol) in DMF (3 mL) wurde vorsichtig zugetropft und bei Raumtemperatur für 18h gerührt. Nach erneutem Abkühlen auf 0 °C wurde mit destilliertem Wasser (20 mL) verdünnt. Nach Extraktion mit EtOAc (3 x 40 mL) wurden die vereinigten organischen Phasen zunächst mit destilliertem Wasser (2 x 40 mL), dann mit einer gesättigten NaCl-Lösung (40 mL) gewaschen und anschließend über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wur-

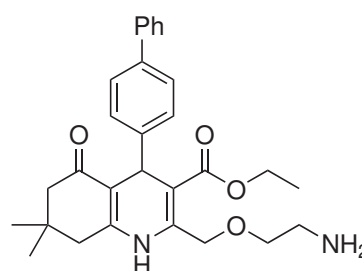


de im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 65:35) wurde die Zielverbindung als hellgelbes Öl (870.8 mg, 3.0 mmol, 43%) erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[159]</sup>

$R_f = 0.45$  (Cy/Ethylacetat 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.24$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 2.17 (s, 1H), 3.47 (s, 2H), 3.78 (t,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 3.94 (t,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 4.11 - 4.16 (m, 4H), 7.72 - 7.45 (m, 2H), 7.86 - 7.88 ppm (m, 2H).

### 5.1.33 2-(2-Aminoethoxy)ethyl-4-(4'-biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (38)<sup>[135]</sup>

Zu einer Suspension aus 4-(2-(1,3-Dioxisoindolin-2-yl)ethoxy)-3-oxobuttersäureethylester (**41**) (100.0 mg, 0.31 mmol), Dimedon (**1**) (52.7 mg, 0.38 mmol), 4-Biphenylaldehyd (**36**) (57.1 mg, 0.31 mmol) und Ammoniumacetat (36.2 mg, 0.47 mmol) in EtOH (2 mL) wurde elementares Iod (23.9 mg, 0.094 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit EtOAc (30 mL) verdünnt und die organische Phase wurde zunächst mit einer gesättigten  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (2x 10 mL),

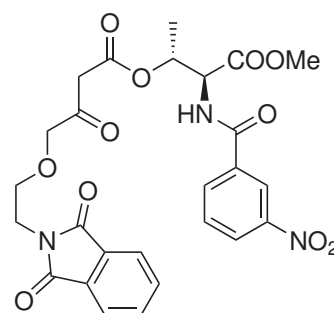


gefolgt von destilliertem Wasser (10 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über  $\text{MgSO}_4$  wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde Flash-chromatographisch (Cy/EtOAc 7:3) aufgereinigt. Der so erhaltene intensiv-gelbe Feststoff **42** (71.9 mg, 0.12 mmol, 38%) wurde direkt in EtOH (0.5 mL) gelöst und Hydrazin (80% in Wasser, 44.2  $\mu\text{L}$ , 36.1 mg, 0.72 mmol) wurde vorsichtig zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung für 1h zum Sieden erhitzt und der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und mit EtOH (3x 1 mL) geschwaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum bis zur Trockenen eingedampft und der Rückstand wurde in DCM (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde anschließend mit destilliertem Wasser (3x 10 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels RP-Flash-chromatographisch ( $\text{C}_{18}$ , Wasser/MeOH, 3:17) aufgereinigt und die Zielverbindung konnte als hellgelber Feststoff (35.9 mg, 0.077 mmol, 63%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[135]</sup>

$R_f = 0.80$  (Aceton);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.93$  (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.19 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 2.12 (q,  $J = 16.4$  Hz, 2H), 2.36 (q,  $J = 16.8$  Hz, 2H), 2.95 - 2.97 (m, 2H), 3.58 - 3.60 (m, 2H), 4.03 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.80 (q,  $J = 15.6$  Hz, 2H), 5.07 (s, 1H), 7.24 - 7.50 (m, 9H), 8.20 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.2, 27.1, 29.5, 30.9, 32.7, 36.2, 41.0, 41.1, 50.8, 59.8, 68.2, 73.0, 103.4, 112.1, 126.9, 128.6, 138.7, 141.2, 145.3, 146.3, 148.3, 167.3, 195.6$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 475  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS (+ESI)  $m/z$  des  $[\text{M}+\text{H}]^+$  berechnet für  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_4$ : 475.2591, gefunden: 475.2530.

### 5.1.34 4-(2-(1,3-Dioxoisindolin-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäure-(2*R*,3*S*)-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobut-2-ylester (54)

Zu einer Suspension aus 2-(2-Phthalimidoethoxy)essigsäure (**50**) (500.0 mg, 2.0 mmol) in einer Mischung aus trockenem Toluol (5 mL) und trockenem DMF (5  $\mu$ L) wurde vorsichtig Thionylchlorid (529.6  $\mu$ L, 868.5 mg, 7.3 mmol) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 3h auf 60 °C erhitzt, in Folge dessen sich der Niederschlag auflöste. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur und Trocknung im Hochvakuum wurde das so erhaltene Rohprodukt **51** in trockenem DCM (4.5 mL) aufgenommen und ohne weitere Aufreinigung in die nächste Reaktion eingesetzt.



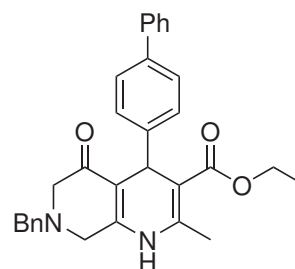
Dazu wurde zunächst Meldrumsäure (**52**) in trockenem DCM (4.5 mL) gelöst, auf -15 °C abgekühlt und trockenes Pyridin (322.2  $\mu$ L, 316.4 mg, 4.0 mmol) wurde langsam zugetropft. Nach 10 Minuten bei dieser Temperatur wurde das Säurechlorid **51** (2.0 mmol) in trockenem DCM (4.5 mL) zugegeben und es wurde für eine weitere Stunde bei -15 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und weiter gerührt. Nach 1h wurde eine 1 M Salzsäure-Lösung (2 mL) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch wurde stark gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 2 mL) gewaschen. Die gesammelten wässrigen Phasen wurden anschließend mit DCM (5x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden abschließend mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in einem Gemisch aus Aceton (0.9 mL) und Toluol (1.8 mL) gelöst und unter Argon-Atmosphäre auf 130 °C erhitzt. Nach 1h wurde das Lösungsmittel entfernt und der so erhaltene Rückstand konnte direkt in der nächsten Reaktion verwendet werden.

Dazu wurde das erhaltene Zwischenprodukt **53** in Xylen (15 mL) gelöst und 3-Nitrobenzoyl-*L*-Threoninmethylester (**47**)<sup>[79]</sup> (666.3 mg, 1.8 mmol) wurde zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 30 Minuten auf 150 °C erhitzt und nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde Flash-chromatographisch (DCM/EtOAc 85:15) aufgereinigt und die Zielverbindung wurde als gelbes Öl (486.3 mg, 0.88 mmol, 48% über 4 Stufen) erhalten.

$R_f$  = 0.21 (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.39 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H), 3.50 (d,  $J$  = 16.7 Hz, 1H), 3.59 (d,  $J$  = 16.7 Hz, 1H), 3.75-3.80 (m, 5H), 3.95 (t,  $J$  = 5.0 Hz, 2H), 4.13 (s, 2H), 5.02 (dd,  $J$  = 2.5 Hz, 8.8 Hz, 1H), 5.56 (qd,  $J$  = 2.5 Hz, 6.4 Hz, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 7.67 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.72 (dd,  $J$  = 3.0 Hz, 5.3 Hz, 2H), 7.84 (dd,  $J$  = 3.0 Hz, 5.3 Hz, 2H), 8.29 - 8.33 (m, 1H), 8.34 - 8.38 (m, 1H), 8.77 - 8.80 ppm (m, 1H).

### 5.1.35 4-(4'-Biphenyl)-7-benzyl-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**57**)<sup>[135,164,165]</sup>

Zu einer Suspension aus *N*-Benzylglycinethylester (**59**) (1030.0 mg, 5.3 mmol) und NaHCO<sub>3</sub> (462.0 mg, 5.5 mmol) in EtOH (17 mL) wurde eine Lösung aus Chloraceton (**60**) (852.8 µL, 980.7 mg, 10.6 mmol) in EtOH (6 mL) bei 60 °C getropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktion für weitere 16 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (30 mL) und EtOAc (50 mL) verdünnt. Nach der Phasentrennung wurde die Wasserphase mit EtOAc (3x 30 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 3:2) konnte das Produkt als farbloses Öl (1030.6, 4.1 mmol, 78%) erhalten werden.



Zu einer Suspension aus Kalium-*tert*-butanolat (1277.5 mg, 11.4 mmol) in einem Gemisch aus Et<sub>2</sub>O (50 mL) und *tert*-Butanol (50 mL) wurde bei -20 °C eine Lösung aus *N*-Benzyl-*N*-(2-oxopropyl)glycinethylester (**61**) (2578.9 mg, 10.4 mmol) in Et<sub>2</sub>O (50 mL) über einen Zeitraum von 1 h zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in wenig kaltem Et<sub>2</sub>O (2x 5 mL) gewaschen und das Produkt wurde als hellgelber Feststoff (2615.6 mg, 10.8 mmol, 95%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[161]</sup>

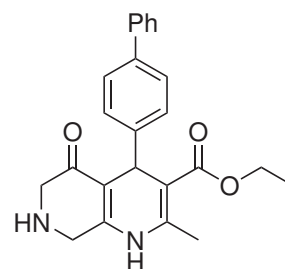
Zu einer Suspension aus Kalium-1-benzyl-5-oxo-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-olat (**62**) (372.0 mg, 1.5 mmol), 3-Aminobut-2-ensäureethylester (**63**) (168.5 mg, 1.3 mmol) und 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (233.2 mg, 1.3 mmol) in 2-PropOH (3.5 mL) wurde zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde konzentrierte Essigsäure (88.1 µL, 92.5 mg, 1.5 mmol) zugegeben und für 8 h wurde bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (30 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2x 10 mL) und destilliertem Wasser (2x 10 mL) gewaschen. Die vereinigten Waschphasen wurden mit EtOAc (2x 10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> und Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt Flash-chromatographisch (DCM/EtOAc 9:1) aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als gelber Feststoff (217.8 mg, 0.46 mmol, 35%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[135]</sup>

R<sub>f</sub> = 0.42 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.94 (dd, *J* = 2.3 Hz, 15.7 Hz, 1H), 3.14 (dd, *J* = 1.2 Hz, 15.7 Hz, 1H), 3.18 (dd, *J* = 2.3 Hz, 16.3 Hz, 2H), 3.44 (dd, *J* = 1.2 Hz, 16.3 Hz, 1H), 3.56 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 3.64 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 4.01 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.94 (s, 1H), 7.38 - 7.21 (m, 8H), 7.47 - 7.39 (m, 2H), 7.54 - 7.47 (m, 2H), 7.64 - 7.56 (m, 2H), 9.28 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.0, 18.2, 35.0, 39.6, 39.8, 39.9,

50.6, 59.1, 60.2, 60.7, 103.6, 109.2, 126.3, 126.5, 127.0, 127.3, 127.9, 128.3, 128.7, 137.0, 129.0, 137.8, 140.1, 144.8, 146.3, 149.9, 153.1, 166.7, 191.7 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 479 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.36 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (64) (über Hydrogenolyse)<sup>[164,165]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7-benzyl-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**57**) (100.0 mg, 0.21 mmol) und Cyclohexadien (78.3  $\mu$ L, 67.3 mg, 0.84 mmol) in EtOAc (10 mL) wurde unter einer Argon-Atmosphäre Pd/C (45.0 mg, 0.042 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde auf 50 °C erhitzt. Nach 5h bei dieser Temperatur wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die Lösung wurde über Celite<sup>®</sup> filtriert und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde Flash-chromatographisch (DCM/MeOH 95:5) aufgereinigt und das Produkt konnte als gelber Feststoff (23.7 mg, 0.061 mmol, 29%) isoliert werden.

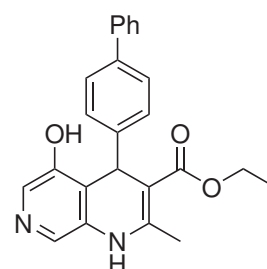


$R_f$  = 0.45 (DCM/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.13 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.15 (s, 2H), 3.54 (d,  $J$  = 17.6 Hz, 1H), 3.59 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 4.00 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 4.96 (s, 1H), 7.25 - 7.27 (m, 2H), 7.30 - 7.35 (m, 1H), 7.41 - 7.44 (m, 2H), 7.48 - 7.50 (m, 2H), 7.58 - 7.59 (m, 2H), 9.24 ppm (s, 2H); <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.2, 18.4, 34.8, 38.9, 39.1, 39.3, 39.5, 39.7, 39.8, 39.9, 40.2, 44.3, 53.6, 59.2, 103.6, 109.2, 126.3, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.8, 140.2, 145.0, 146.6, 151.6, 166.9, 194.1 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 389 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: 389.1860, gefunden: 389.1863.

### 5.1.37 4-(4'-Biphenyl)-5-hydroxy-2-methyl-1,4-dihydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (65)<sup>[135,165]</sup>

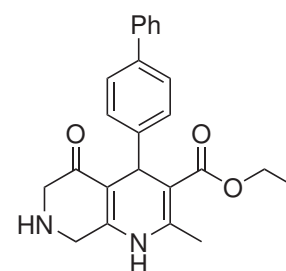
Die Titelverbindung konnte als Nebenprodukt der Synthese aus **Abschnitt 5.1.36** als gelber Feststoff (38.3 mg, 0.10 mmol, 48%) erhalten werden.

$R_f$  = 0.50 (DCM/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.17 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 2.41 (s, 3H), 4.00 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 5.27 (s, 1H), 7.26 - 7.35 (m, 3H), 7.39 - 7.44 (m, 2H), 7.45 - 7.51 (m, 2H), 7.54 - 7.61 (m, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 9.89 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 15.1, 20.3, 37.0, 59.6, 98.0, 119.7, 127.2, 127.4, 128.0, 128.7, 128.9, 129.7, 131.9, 135.5, 138.9, 141.0, 147.9, 149.4, 151.5, 167.6 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 385 [M+H]<sup>+</sup>.



### 5.1.38 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**64**) (über Transaminierung)<sup>[135]</sup>

Zu einer Lösung aus 3,5-Dichlorpyridin (**66**) (5.0 g, 33.8 mmol) in trockenem DMF (120 mL) wurde Natriummethanolat (14.6 g, 270.0 mmol) zugegeben und die Suspension wurde für 37h bei 90°C gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde die Reaktionslösung mit destilliertem Wasser (100 mL) verdünnt und das Gemisch wurde mit Et<sub>2</sub>O (4x 200 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 85:15) konnte das Zwischenprodukt als farblose Flüssigkeit (2.1 g, 45%) erhalten werden.



Zu einer Lösung aus 3,5-Dimethoxypyridin (**67**) (500.0 mg, 3.6 mmol) in trockenem AcN (30 mL) wurde bei -45°C NaBH<sub>4</sub> (246.2 mg, 6.5 mmol) portionsweise zugegeben, um eine unkontrollierbare Gasentwicklung zu vermeiden. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktion für weitere 10 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde Allylchloroformiat (**68**) (460 µL, 522.1 mg, 4.3 mmol) vorsichtig über einen Zeitraum von 20 Minuten zugetropft und die Reaktion wurde für weitere 45 Minuten bei -45°C gerührt. Dann wurde eine 1 M HCl-Lösung (12 mL) zugegeben und direkt im Anschluss eine gesättigte NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL). Nach Auftauen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (3x 20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittel wurde das semikristalline Öl in THF (12 mL) gelöst und erneut wurde eine 1 M HCl-Lösung (12 mL) zugegeben. Nach 1h bei Raumtemperatur wurde die Lösung mit fester NaOH neutralisiert und die Reaktionsmischung wurde mit EtOAc (10 mL) bei 0°C extrahiert. Die organische Phase wurde im Anschluss so lange mit kleinen Portionen einer 1 M NaOH-Lösung (insgesamt 250 mL) gewaschen bis keine gelbe Farbe mehr zu erkennen war. Die vereinigten basischen Wasserphasen wurden mit einer 6 M HCl-Lösung neutralisiert und anschließend erneut mit EtOAc (3x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. So konnte das Zwischenprodukt als rotes Öl (701.0 mg, 3.6 mmol, 99%) isoliert werden. Zur Lagerung bei -20°C wurde eine kleine Menge Essigsäure (75 µL) zugegeben.

Zu einer Lösung aus *N*-Allylpiperidin-3,5-dion (**69**) (701.0 mg, 3.6 mmol), 3-Aminobut-2-ensäureethylester (**63**) (382.3 mg, 3.0 mmol) und 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (539.4 mg, 3.0 mmol) in 2-PropOH (10 mL) wurde zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde konzentrierte Essigsäure (203.0 µL, 213.9 mg, 3.6 mmol) zugegeben und für 8h wurde bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (80 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2x 50 mL) und destilliertem Wasser (2x 50 mL) gewaschen. Die vereinigten Waschphasen wurden mit EtOAc (2x 10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> und Entfernung des Lösungsmittels wurde das Roh-

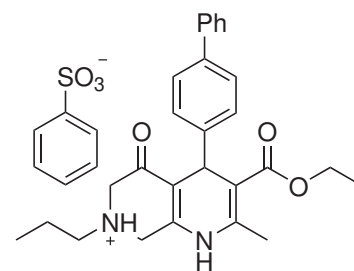
produkt Flash-chromatographisch (DCM/EtOAc 98:2) aufgereinigt. So konnte das Zwischenprodukt als gelber Feststoff (650.8 mg, 1.4 mmol, 47%) erhalten werden.

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7-allyloxycarbonyl-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**70**) (661.5 mg, 1.4 mmol) in einem Gemisch aus THF (2.5 mL) und Diethylamin (2.5 mL) wurde unter einer Argonatmosphäre Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (161.8 mg, 0.14 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung wurde für 2h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in EtOAc (100 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (50 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen. Die Lösung wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 9:1) konnte das Produkt als gelber Feststoff (222.8 mg, 1.3 mmol, 92%) isoliert werden.

$R_f = 0.45$  (DCM/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 1.13$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 2.31 (s, 3H), 3.15 (s, 2H), 3.54 (d,  $J = 17.6$  Hz, 1H), 3.59 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 4.00 (q,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.96 (s, 1H), 7.25 - 7.27 (m, 2H), 7.30 - 7.35 (m, 1H), 7.41 - 7.44 (m, 2H), 7.48 - 7.50 (m, 2H), 7.58 - 7.59 (m, 2H), 9.24 ppm (s, 2H); <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 14.2, 18.4, 34.8, 38.9, 39.1, 39.3, 39.5, 39.7, 39.8, 39.9, 40.2, 44.3, 53.6, 59.2, 103.6, 109.2, 126.3, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.8, 140.2, 145.0, 146.6, 151.6, 166.9, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 389 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: 389.1860, gefunden: 389.1863.

#### 5.1.39 4-(4'-Biphenyl)-3-(ethoxycarbonyl)-2-methyl-5-oxo-7-*n*-propyl-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-7-iumbesylat (**73a**)<sup>[135]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**64**) (100.0 mg, 0.26 mmol) in TFE (2 mL) wurde eine Spatelspitze MgSO<sub>4</sub>, sowie *n*-Propylaldehyd (**71**) (94.3  $\mu$ L, 75.5 mg, 1.3 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung wurde auf 65 °C erhitzt. Nach 10 Minuten wurde NaBH<sub>4</sub> (49.2 mg, 1.3 mmol) portionsweise zugegeben und die Reaktion wurde weitere 3h bei dieser Temperatur gerührt. Nun wurde ein erneutes Äquivalent *n*-Propylaldehyd (**71**) (94.3  $\mu$ L, 75.5 mg, 1.3 mmol), sowie



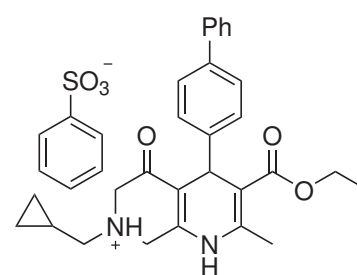
10 Minuten später erneut NaBH<sub>4</sub> (49.2 mg, 1.3 mmol) zugegeben. Nach einer weiteren Stunde Reaktionszeit wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und EtOAc (70 mL) wurde hinzugefügt. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (50 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 95:5) wurde das aufgereinigte Produkt in einer Mischung aus MeOH (1 mL) und destilliertem Wasser (1 mL) gelöst und Benzensulfonsäure (50.0 mg, 0.32 mmol) wurde hinzugefügt. Nach 18h bei 4 °C wurde der Niederschlag abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. So konnte das Produkt als gelber Feststoff (222.8 mg, 0.41 mmol, 32%) erhalten

werden.

$R_f = 0.25$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.89$  (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H), 1.12 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.63 (s, 2H), 2.34 (s, 3H), 3.16 (s, 2H), 3.89 (s, 2H), 4.00 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.23 (s, 2H), 4.99 (s, 1H), 7.25 - 7.36 (m, 6H), 7.40 - 7.46 (m, 2H), 7.53 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.56 - 7.64 (m, 4H), 9.76 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10.8, 14.1, 16.8, 18.2, 35.3, 48.0, 56.2, 57.4, 59.7, 104.9, 109.1, 125.5, 126.5, 126.6, 127.3, 127.7, 128.4, 128.5, 128.5, 129.0, 138.4, 140.1, 144.2, 145.2, 145.5, 148.3, 148.3, 166.4$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 431  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS (+ESI)  $m/z$  des  $[\text{M}+\text{H}]^+$  berechnet für  $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$ : 431.2329, gefunden: 431.2324.

#### 5.1.40 4-(4'-Biphenyl)-7-cyclopropyl-3-(ethoxycarbonyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-7-iumbesylat (73b)<sup>[164]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**64**) (100.0 mg, 0.26 mmol) in TFE (2 mL) wurde eine Spatelspitze  $\text{MgSO}_4$ , sowie Cyclopropancarbaldehyd (**72**) (96.2  $\mu\text{L}$ , 90.4 mg, 1.3 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung wurde auf  $65^\circ\text{C}$  erhitzt. Nach 10 Minuten wurde  $\text{NaBH}_4$  (49.2 mg, 1.3 mmol) portionsweise zugegeben und die Reaktion wurde weitere 3h bei dieser Temperatur gerührt. Nun wurde ein erneutes Äquivalent Cyclopropancarbaldehyd (**72**) (96.2  $\mu\text{L}$ , 90.4 mg, 1.3 mmol), sowie 10 Minuten später erneut  $\text{NaBH}_4$  (49.2 mg, 1.3 mmol) zugegeben. Nach einer weiteren Stunde Reaktionszeit wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und EtOAc (70 mL) wurde hinzugefügt. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (50 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 95:5) wurde das aufgereinigte Produkt in einer Mischung aus MeOH (1 mL) und destilliertem Wasser (1 mL) gelöst und Benzensulfonsäure (50.0 mg, 0.32 mmol) wurde hinzugefügt. Nach 18h bei  $4^\circ\text{C}$  wurde der Niederschlag abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. So konnte das Produkt als gelber Feststoff (209.2 mg, 0.35 mmol, 27%) erhalten werden.



Die analytischen Daten wurden mit dem freien Amin erhoben.<sup>[164]</sup>

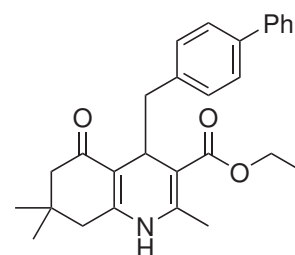
$R_f = 0.59$  (DCM/MeOH 9:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.35 - 0.41$  (m, 2H), 0.62 - 0.74 (m, 1H), 1.06 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.22 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.87 - 2.94 (m, 1H), 3.10 - 3.17 (m, 1H), 3.26 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 3.45 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 3.95 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 5.01 (s, 1H), 6.21 (s, 1H), 7.15 - 7.17 (m, 1H), 7.25 - 7.27 (m, 2H), 7.29 - 7.32 (m, 2H), 7.38 - 7.41 ppm (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 4.0, 4.1, 8.3, 14.3, 19.5, 35.9, 52.3, 60.1, 61.1, 62.0, 106.5, 111.7, 127.0, 127.0, 127.1, 128.6, 128.8, 139.1, 141.4, 143.3, 145.7, 148.7, 167.5, 193.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 443  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS (+ESI)  $m/z$  des  $[\text{M}+\text{H}]^+$  berechnet für  $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3$ : 443.2329, gefunden: 443.2326.



#### 5.1.41 4-(4'-Biphenyl-4-ylmethyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (78)<sup>[194]</sup>

Eine Lösung aus 2-(1,1'-Biphenyl-4-yl)acetaldehyd (**82**)<sup>[327]</sup> (448.2 mg, 3.2 mmol), Dimedon (**1**) (448.2 mg, 3.2 mmol) und Ethylacetotacetat (**113**) (404.0  $\mu$ L, 412.1 mg, 3.2 mmol) in einer 2 M  $\text{NH}_3$ -Lösung in MeOH (2.4 mL, 4.8 mmol) wurde für 3h unter Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde bei Raumtemperatur destilliertes Wasser (3 mL) zugegeben und die Reaktionslösung wurde mit EtOAc (250 mL) verdünnt. Anschließend wurde die organische Phase mit destilliertem Wasser (250 mL) gewaschen, woraufhin die Waschlösung erneut mit EtOAc (250 mL) extrahiert wurde.

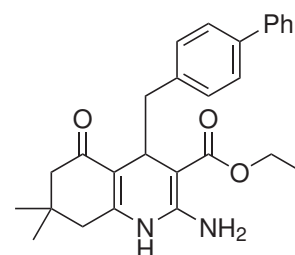
Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (500 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) konnte ein hellgelber Feststoff (689.2 mg, 1.6 mmol, 50%) erhalten werden.



$R_f = 0.62$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.06$  (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 1.18 - 1.21 (m, 3H), 2.08 (s, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.29 - 2.30 (m, 2H), 2.65 - 2.75 (m, 2H), 3.92 - 4.09 (m, 2H), 4.36 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 7.09 - 7.10 (m, 2H), 7.31 - 7.33 (m, 1 H), 7.41 - 7.44 (m, 4H), 7.57 - 7.58 ppm (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.5, 19.4, 28.5, 29.1, 32.6, 32.9, 41.3, 51.2, 59.9, 104.4, 110.5, 126.1, 127.1, 127.2, 129.0, 130.9, 138.7, 138.8, 138.9, 144.9, 150.0, 192.6, 221.6$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 430  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.42 2-Amino-4-(4'-biphenyl-4-ylmethyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (79)<sup>[194]</sup>

Zu einer Lösung aus 2-(1,1'-Biphenyl-4-yl)acetaldehyd (**82**)<sup>[327]</sup> (84.1 mg, 0.43 mmol), Dimedon (**1**) (176.7 mg, 1.3 mmol) und 2-Amidinoessigsäureethylesterhydrochlorid (**35**) (100.0 mg, 0.61 mmol) in EtOH (1.2 mL) wurde bei 85°C eine 0.5 M Natriumethanolat-Lösung in EtOH (0.61 mmol, 1.2 mL) zugetropft. Nach weiteren 1.5h bei dieser Temperatur wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in DCM (30 mL) aufgenommen und mit destilliertem Wasser (12 mL) gewaschen. Die Waschphase wurde im Anschluss mit weiterem DCM (2x 20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels und Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:1) konnte ein hellgelber Feststoff (18.1 mg, 0.20 mmol, 10%) erhalten werden.

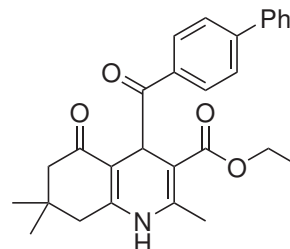


$R_f = 0.87$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.98$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.02 - 1.04 (m, 3H), 2.11 - 2.12 (m, 2H), 2.16 (s, 2H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 2.56 - 2.58 (m, 1H), 3.73 - 3.90 (m, 2H), 3.98 - 4.00 (m, 1H), 6.62 (s, 2H), 6.96 - 6.98 (m, 2H), 7.30 - 7.33 (m, 1H), 7.41 - 7.47 (m, 4H), 7.60 -

7.61 (m, 2H), 8.43 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 431  $[M+H]^+$ .

#### 5.1.43 4-(4'-Biphenyl-4-carbonyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (80)<sup>[194]</sup>

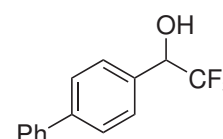
Eine Suspension aus 2-Oxo-2-(1,1'-Biphenyl-4-yl)acetaldehydmonohydrat (**83**)<sup>[328]</sup> (800.0 mg, 3.5 mmol), Dimedon (**1**) (485.4 mg, 3.5 mmol) und 3-Aminobut-2-ensäureethylester (**113**) (376.0  $\mu$ L, 452.1 mg, 3.5 mmol) in EtOH (4.5 mL) wurde für 1h unter Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (75 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (75 mL) gewaschen und die Waschphase wiederum mit EtOAc (75 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (150 mL) gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 3:2) und Umkristallisation aus MeOH konnte ein blassgelber Feststoff (332.3 mg, 0.77 mmol, 22%) erhalten werden.



$R_f$  = 0.27 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 1.16 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.26 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.29 - 2.56 (m, 4H), 4.17 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 5.93 (s, 1H), 7.09 - 7.11 (m, 2H), 7.22 - 7.24 (m, 2H), 7.29 - 7.33 (m, 3H), 7.36 - 7.38 (m, 2H), 10.03 ppm (s, 1H);  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 13.9, 14.6, 27.9, 29.6, 31.8, 41.4, 50.1, 59.1, 108.8, 111.5, 112.1, 125.9, 126.7, 127.1, 128.7, 129.7, 130.3, 138.9, 138.9, 140.4, 164.9, 170.0, 199.2 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 444  $[M+H]^+$ .

#### 5.1.44 1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluorethan-1-ol (85)

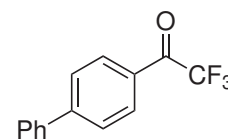
Zu einer Lösung aus 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (455.6 mg, 2.5 mmol) und Trimethyl(trifluormethyl)silan (441.3  $\mu$ L, 426.6 mg, 3.0 mmol) in trockenem DMF (7.5 mL) wurde  $K_2CO_3$  (3.5 mg, 0.0025 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung wurde für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung in eine gesättigte NaCl-Lösung (375 mL) gegossen und die wässrige Phase wurde mit  $Et_2O$  (3x 75 mL) extrahiert. Nach Trocknung über  $MgSO_4$  wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in einer Mischung aus MeOH (10 mL) und THF (15 mL) gelöst und eine 1 M HCl-Lösung (10 mL) wurde hinzugefügt. Nach 1h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel soweit möglich entfernt und DCM wurde zugegeben (50 mL). Die organische Phase wurde mit einer gesättigten  $NaHCO_3$ -Lösung (15 mL) gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) wurde ein farbloser Feststoff (601.5 mg, 2.4 mmol, 96%) erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[329]</sup> überein.



$R_f = 0.72$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.62$  (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 5.09 (qd,  $J = 4.4$  Hz, 6.8 Hz, 1H), 7.34 - 7.51 (m, 3H), 7.53 - 7.70 ppm (m, 6H).

#### 5.1.45 1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluorethan-1-on (86)

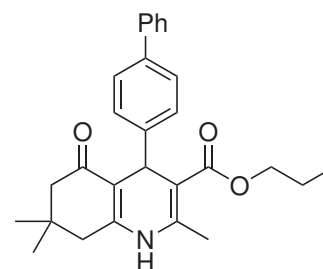
Zu einer Suspension aus Dess-Martin-Periodinan (2.1 g, 5.0 mmol) in DCM (30 mL) wurde 1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluorethan-1-ol (**85**) (340.5 mg, 1.4 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung wurde für 4h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (50 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer gesättigten  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, welche zusätzlich  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (5.5 g, 35.0 mmol) enthielt, gewaschen. Die etherische Phase wurde zusätzlich mit einer gesättigten  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (2x 40 mL) und destilliertem Wasser (40 mL) gewaschen und alle vereinigten Waschphasen wurden erneut mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (2x 80 mL) extrahiert. Die kombinierten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und nach Entfernung des Lösungsmittels wurde ein roter Feststoff (343,3 mg, 1.4 mmol, 98%) isoliert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[329]</sup> überein.



$R_f = 0.72$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.42 - 7.49$  (m, 1H), 7.49 - 7.54 (m, 2H), 7.63 - 7.69 (m, 2H), 7.75 - 7.81 (m, 2H), 8.17 ppm (dt,  $J = 1.0$  Hz, 7.8 Hz, 2H).

#### 5.1.46 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-*n*-propylester (94a)<sup>[130,202]</sup>

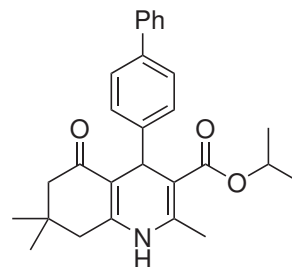
Zu einer Suspension aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92**) (387.5 mg, 1.0 mmol) und  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (160.3 mg, 1.2 mmol) in trockenem DMF (30 mL) wurde *n*-Propylbromid (**93a**) (105.7  $\mu\text{L}$ , 142.7 mg, 1.2 mmol) gegeben und die Lösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser (150 mL) zugegeben und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (100 mL) und einer gesättigten  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:1) wurde ein hellgelber Feststoff (158.9 mg, 0.37 mmol, 37%) isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[130]</sup> überein.



$R_f = 0.23$  (Cy/EtOAc 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.80$  (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.85 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.54 (sxt,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.99 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.30 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 3.89 - 3.91 (m, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.22 - 7.25 (m, 2H), 7.30 - 7.32 (m, 1H), 7.41 - 7.43 (m, 2H), 7.45 - 7.49 (m, 2H), 7.58 - 7.60 (m, 2H), 9.12 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 430  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.47 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-propylester (94b)<sup>[130,202]</sup>

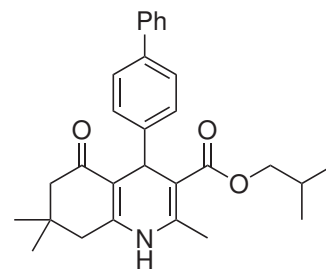
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift von **Abschnitt 5.1.46** unter Verwendung von 2-Propylbromid (**93b**) (108.9  $\mu\text{L}$ , 142.7 mg, 1.2 mmol) als gelber Feststoff (94.5 mg, 0.22 mmol, 22%) isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[130]</sup> überein.



$R_f = 0.26$  (Cy/EtOAc 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.06 (d,  $J = 6.3$  Hz, 3H), 1.18 (d,  $J = 6.3$  Hz, 3H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.30 - 2.32 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.41 - 2.44 (m, 1H), 4.80 (sept,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 7.22 - 7.24 (m, 2H), 7.30 - 7.32 (m, 1H), 7.40 - 7.42 (m, 2H), 7.46 - 7.47 (m, 2H), 7.58 - 7.60 (m, 2H), 9.08 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 430  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.48 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureisobutylester (94c)<sup>[130,202]</sup>

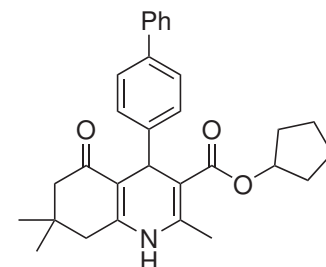
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift von **Abschnitt 5.1.46** unter Verwendung von Isobutylbromid (**93c**) (125.2  $\mu\text{L}$ , 158.9 mg, 1.2 mmol) als gelber Feststoff (97.6 mg, 0.22 mmol, 22%) isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[130]</sup> überein.



$R_f = 0.28$  (Cy/EtOAc 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.80$  - 0.84 (m, 9H), 0.84 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.81 - 1.83 (m, 1H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.16 - 2.19 (m, 1H), 2.28 - 2.30 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.41 - 2.43 (m, 1H), 3.72 - 3.74 (m, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.22 - 7.25 (m, 2H), 7.30 - 7.32 (m, 1H), 7.40 - 7.42 (m, 2H), 7.47 - 7.49 (m, 2H), 7.56 - 7.59 (m, 2H), 9.13 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 444  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.49 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäurecyclopentylester (94d)<sup>[130]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift von **Abschnitt 5.1.46** unter Verwendung von Cyclopentylbromid (**93d**) (124.4  $\mu\text{L}$ , 172.9 mg, 1.2 mmol) als gelber Feststoff (63.8 mg, 0.14 mmol, 14%) isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[130]</sup> überein.

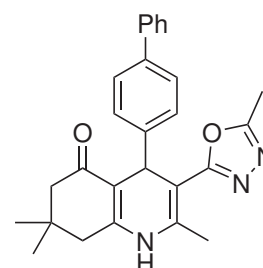


$R_f = 0.28$  (Cy/EtOAc 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.86$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.55 - 1.59 (m, 8H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.38 - 2.42 (m, 4H), 2.40 - 2.42 (m, 1H), 4.84 (s, 1H), 5.00 - 5.02 (m, 1H), 7.21 - 7.24 (m, 2H), 7.30 - 7.32 (m, 1H), 7.40 - 7.44 (m, 2H), 7.46 - 7.49 (m, 2H), 7.58 - 7.60 (m,

2H), 9.04 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 456 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 5.1.50 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1H)-on (100a)<sup>[135]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92**) (150.0 mg, 0.39 mmol) und Acetylhydrazid<sup>[330]</sup> (**95a**) (88.2 mg, 1.2 mmol) in trockenem DMF (7 mL) wurde DCC (247.6 mg, 1.2 mmol) und DMAP (9.7 mg, 0.078 mmol) bei 0 °C gegeben und die Reaktion wurde für 5 Minuten gerührt. Anschließend wurde das Rühren für 18h bei Raumtemperatur fortgesetzt. Dann wurde der Reaktionsansatz mit DCM (10 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (30 mL), einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (30 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (30 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde erneut in DCM (10 mL) gelöst und die entstandene Suspension wurde über Celite<sup>®</sup> filtriert und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/EtOAc 9:1) konnte das Zwischenprodukt **96a** als gelber Feststoff (141.9 mg, 0.32 mmol, 73%) erhalten werden.

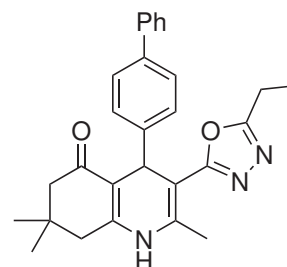


Dieses Zwischenprodukt wurde direkt im Anschluss zu einer Lösung aus TPO (**97**) (263.3 mg, 0.95 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (79.6 µL, 133.5 mg, 0.47 mmol) in DCM (3.2 mL) bei 0 °C gegeben und die Reaktionslösung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine gesättigte NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (60 mL) zugegeben und die Lösung wurde mit DCM (3x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde zunächst Flash-chromatographisch (DCM/EtOAc 8:2) aufgereinigt und final über eine RP-Flash-chromatographischen (C<sub>18</sub>, Wasser/MeOH 1:3) Methode als gelber Feststoff (61.3 mg, 0.14 mmol, 45%) isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.

R<sub>f</sub> = 0.22 (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.87 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 2.02 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 2.20 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.31 - 2.38 (m, 4H), 2.40 - 2.48 (m, 4H), 5.04 (s, 1H), 7.28 - 7.34 (m, 3H), 7.41 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.53 - 7.61 (m, 2H), 9.24 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 10.5, 17.9, 26.6, 29.1, 32.2, 36.4, 50.3, 97.4, 108.5, 126.3, 126.5, 127.2, 128.1, 128.9, 137.9, 139.1, 140.1, 146.0, 149.9, 161.7, 164.8, 194.1 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 426 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 426.2176, gefunden: 426.2169.

### 5.1.51 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-ethyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1H)-on (100b)<sup>[135]</sup>

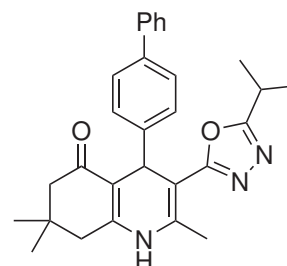
Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst Propionhydrazid (**95b**)<sup>[331]</sup> (104.9 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96b** (94.6 mg, 0.21 mmol, 53%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (175.3 mg, 0.63 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (53.0 µL, 88.9 mg, 0.32 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (38.8 mg, 0.088 mmol, 42%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.



$R_f = 0.24$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.88$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.21 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 2.02 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.20 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.31 - 2.40 (m, 4H), 2.46 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1H), 2.79 (q,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 5.03 (s, 1H), 7.26 - 7.35 (m, 3H), 7.41 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.48 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.54 - 7.60 (m, 2H), 9.25 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10.5, 18.0, 18.3, 26.6, 29.1, 32.2, 36.5, 50.3, 97.6, 108.5, 126.3, 126.5, 127.2, 128.1, 128.9, 137.9, 139.1, 140.0, 146.1, 149.9, 164.6, 165.5, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 440 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 440.2333, gefunden: 440.2330.

### 5.1.52 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-2'-propyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1H)-on (100c)<sup>[135]</sup>

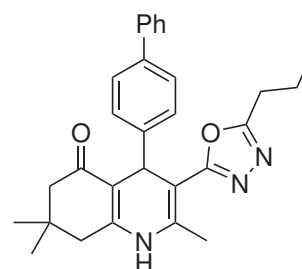
Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst Isobutyrohydrazid (**95c**)<sup>[332]</sup> (120.5 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96c** (161.9 mg, 0.34 mmol, 88%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (283.8 mg, 1.0 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (85.8 µL, 143.9 mg, 0.51 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (109.5 mg, 0.24 mmol, 71%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.



$R_f = 0.23$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.89$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.25 (d,  $J = 7.0$  Hz, 6H), 2.01 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.20 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H), 2.32 - 2.41 (m, 4H), 2.41 - 2.48 (m, 1H), 3.05 - 3.19 (m, 1H), 5.01 (s, 1H), 7.27 - 7.35 (m, 3H), 7.38 - 7.44 (m, 2H), 7.45 - 7.50 (m, 2H), 7.54 - 7.60 (m, 2H), 9.24 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 18.0, 19.6, 19.8, 25.5, 26.6, 29.1, 32.2, 36.7, 50.2, 97.7, 108.5, 126.2, 126.5, 127.2, 128.2, 128.8, 137.9, 139.1, 140.0, 146.2, 149.8, 164.6, 168.4, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 454 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 454.2489, gefunden: 454.2436.

### 5.1.53 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-*n*-propyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1*H*)-on (100d)<sup>[135]</sup>

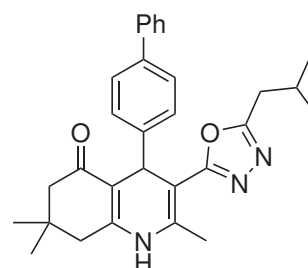
Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst Butyrohydrazid (**95d**)<sup>[330]</sup> (120.5 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96d** (117.7 mg, 0.25 mmol, 64%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (208.7 mg, 0.75 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (63.1 µL, 105.8 mg, 0.38 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (68.0 mg, 0.15 mmol, 60%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.



$R_f = 0.21$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.80 - 0.94$  (m, 6H), 1.03 (s, 3H), 1.67 (sxt,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.02 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.20 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.30 - 2.40 (m, 4H), 2.46 (d,  $J = 17.1$  Hz, 1H), 2.70 - 2.80 (m, 2H), 5.02 (s, 1H), 7.25 - 7.36 (m, 3H), 7.37 - 7.44 (m, 2H), 7.44 - 7.51 (m, 2H), 7.54 - 7.60 (m, 2H), 9.23 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 13.3, 18.0, 19.5, 26.3, 26.6, 29.1, 32.2, 36.6, 50.2, 97.5, 108.5, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.1, 128.8, 137.9, 139.1, 140.0, 146.1, 164.4, 164.6, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 454 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 454.2489, gefunden: 454.2485.

### 5.1.54 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-isobutyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1*H*)-on (100e)<sup>[135]</sup>

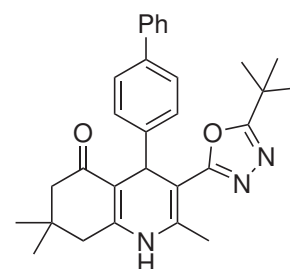
Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst 3-Methylbutanhydrazid (**95e**)<sup>[333]</sup> (138.2 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96e** (151.5 mg, 0.31 mmol, 80%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (258.8 mg, 0.93 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (78.2 µL, 131.2 mg, 0.47 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (82.6 mg, 0.18 mmol, 57%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.



$R_f = 0.25$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.83$  (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H), 0.86 - 0.92 (m, 6H), 1.02 (s, 3H), 1.96 - 2.05 (m, 2H), 2.20 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.32 - 2.39 (m, 4H), 2.42 - 2.49 (m, 1H), 2.61 - 2.73 (m, 2H), 5.02 (s, 1H), 7.28 - 7.35 (m, 3H), 7.37 - 7.43 (m, 2H), 7.45 - 7.50 (m, 2H), 7.52 - 7.60 (m, 2H), 9.25 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 18.0, 21.8, 22.0, 26.6, 29.1, 32.2, 33.1, 36.6, 50.2, 97.5, 108.5, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.9, 139.1, 140.1, 146.0, 149.9, 163.8, 164.7, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 468 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 468.2646, gefunden: 468.2587.

### 5.1.55 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-*tert*-butyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1*H*)-on (100f)<sup>[135]</sup>

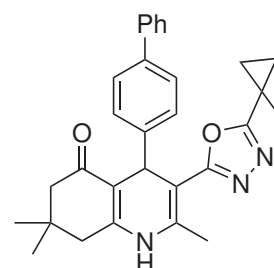
Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst Pivaloylhydrazid (**95f**)<sup>[205]</sup> (137.1 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96f** (172.4 mg, 0.35 mmol, 91%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (296.3 mg, 1.0 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (87.5 µL, 146.7 mg, 0.50 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (129.3 mg, 0.28 mmol, 79%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.



$R_f = 0.26$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 0.89$  (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.30 (s, 9H), 2.01 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 2.19 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 2.32 - 2.39 (m, 4H), 2.47 (d,  $J = 16.8$  Hz, 1H), 4.98 (s, 1H), 7.27 - 7.34 (m, 3H), 7.38 - 7.44 (m, 2H), 7.46 - 7.51 (m, 2H), 7.54 - 7.59 (m, 2H), 9.27 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 18.1, 26.7, 27.8, 29.1, 31.8, 32.3, 36.8, 50.3, 97.8, 108.5, 126.2, 126.6, 126.6, 127.2, 128.3, 128.9, 138.0, 139.1, 140.1, 146.3, 149.8, 164.7, 170.5, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 468 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 468.2646, gefunden: 468.2536.

### 5.1.56 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-(1-methylcyclopropyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1*H*)-on (100g)<sup>[135]</sup>

Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst 1-Methylcyclopropan-1-carbohydrazid (**95g**)<sup>[334]</sup> (134.7 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96g** (143.3 mg, 0.30 mmol, 76%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (250.5 mg, 0.90 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (75.7 µL, 127.0 mg, 0.45 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (102.0 mg, 0.22 mmol, 73%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.

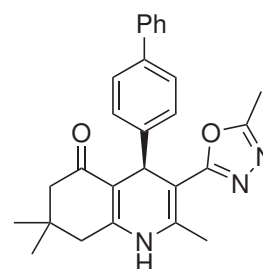


$R_f = 0.25$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 0.90 - 0.98 (m, 2H), 0.99 - 1.09 (m, 4H), 1.17 - 1.24 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 2.00 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 2.19 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 2.30 - 2.38 (m, 4H), 2.40 - 2.48 (m, 1H), 4.94 (s, 1H), 7.25 - 7.34 (m, 3H), 7.41 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.49 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.55 - 7.61 (m, 2H), 9.25 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 12.4, 15.5, 15.7, 18.1, 19.7, 26.6, 29.1, 32.3, 36.7, 50.2, 97.6, 108.5, 126.3, 126.6, 127.2, 128.2, 128.9, 138.0, 139.0, 140.1, 146.3, 149.7, 164.1, 167.9, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 466 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 466.2489, gefunden: 466.2485.



### 5.1.57 (S)-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1H)-on (100h)<sup>[135]</sup>

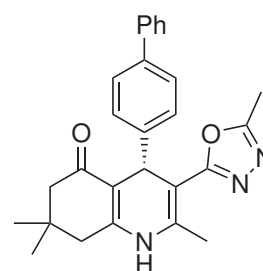
Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst das in **Abschnitt 5.1.78** auf **Seite 194** beschriebene, enantiomerenreine (*R*)-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92b**) (150.0 mg, 0.39 mmol) und Acetylhydrazid<sup>[330]</sup> (**95a**) (88.2 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96h** (138.5 mg, 0.31 mmol, 79%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (258.8 mg, 0.93 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (78.2 μL, 131.2 mg, 0.47 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (72.1 mg, 0.17 mmol, 55%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.



$R_f = 0.22$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 2.02 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H), 2.20 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.31 - 2.38 (m, 4H), 2.40 - 2.48 (m, 4H), 5.04 (s, 1H), 7.28 - 7.34 (m, 3H), 7.41 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.48 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.53 - 7.61 (m, 2H), 9.24 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10.5, 17.9, 26.6, 29.1, 32.2, 36.4, 50.3, 97.4, 108.5, 126.3, 126.5, 127.2, 128.1, 128.9, 137.9, 139.1, 140.1, 146.0, 149.9, 161.7, 164.8, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 426 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 426.2176, gefunden: 426.2169.

### 5.1.58 (R)-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1H)-on (100i)<sup>[135]</sup>

Für die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.50** zunächst das in **Abschnitt 5.1.78** auf **Seite 194** beschriebene, enantiomerenreine (*S*)-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92a**) (150.0 mg, 0.39 mmol) und Acetylhydrazid<sup>[330]</sup> (**95a**) (88.2 mg, 1.2 mmol) zum Erhalt der Zwischenstufe **96i** (138.4 mg, 0.31 mmol, 80%) umgesetzt. In der zweiten Stufe wurden TPO (**97**) (258.8 mg, 0.93 mmol) und Tf<sub>2</sub>O (**98**) (78.2 μL, 131.2 mg, 0.47 mmol) verwendet und so wurde das Produkt als gelber Feststoff (68.6 mg, 0.16 mmol, 52%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[135]</sup> überein.

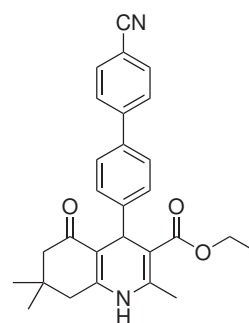


$R_f = 0.22$  (DCM/EtOAc 4:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 2.02 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H), 2.20 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.31 - 2.38 (m, 4H), 2.40 - 2.48 (m, 4H), 5.04 (s, 1H), 7.28 - 7.34 (m, 3H), 7.41 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.48 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.53 - 7.61 (m, 2H), 9.24 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10.5, 17.9, 26.6, 29.1, 32.2, 36.4, 50.3, 97.4, 108.5, 126.3, 126.5, 127.2, 128.1, 128.9, 137.9, 139.1, 140.1, 146.0, 149.9, 161.7, 164.8, 194.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 426 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS (+ESI)  $m/z$  des [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 426.2176, gefunden:

426.2169.

### 5.1.59 4-(4''-Cyano-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112a)<sup>[130,157]</sup>

Eine Lösung aus 4-(4'-Bromphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**4**) (41.8 mg, 0.10 mmol), 4-Cyanophenylboronsäure (**111a**) (22.0 mg, 0.15 mmol) und Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (11.6 mg, 0.010 mmol, 10 mol%) in einem Gemisch aus 2 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (0.15 mL) und 2-PropOH (3.5 mL) wurde für 10 Minuten in der Mikrowelle (110°C, 120 W) erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in EtOAc (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc: 2:3) wurde ein farbloser Feststoff (22.0 mg, 0.050 mmol, 50%) erhalten.

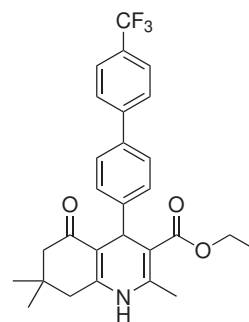


R<sub>f</sub> = 0.36 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.86 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.14 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.98 - 2.01 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.30 - 2.32 (m, 1H), 2.40 - 2.43 (m, 1H), 3.98 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.91 (s, 1H), 7.26 - 7.29 (m, 2H), 7.57 - 7.59 (m, 2H), 7.80 - 7.82 (m, 2H), 7.85 - 7.88 (m, 2H), 9.10 ppm (s, 1H); MS (+ESI) *m/z*: 441 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.60 4-(4''-Trifluormethyl-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112b)<sup>[130,157]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Trifluormethylphenylboronsäure (**111b**) (21.0 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (37.2 mg, 0.077 mmol, 77%) erhalten.

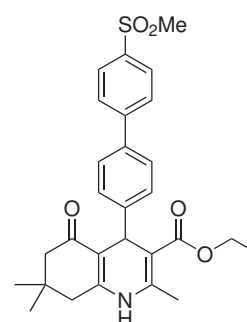
R<sub>f</sub> = 0.43 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.88 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t, *J* = 7.3, 3H), 1.98 - 2.01 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.32 - 2.34 (m, 1H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 4.00 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.26 - 7.29 (m, 2H), 7.56 - 7.58 (m, 2H), 7.75 - 7.77 (m, 2H), 7.81 - 7.83 (m, 2H), 9.09 ppm (s, 1H); MS (+ESI) *m/z*: 484 [M+H]<sup>+</sup>.



### 5.1.61 2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methylsulfonyl-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112c)<sup>[130]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Methylsulfonylphenylboronsäure (**111c**) (21.0 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (30.0 mg, 0.077 mmol, 77%) erhalten.

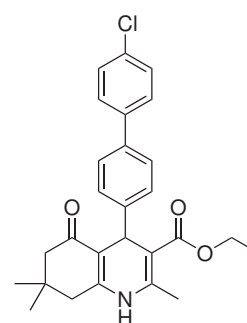
$R_f = 0.44$  (Cy/EtOAc 1:3);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.88$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.1$ , 3H), 1.99 - 2.01 (m, 1H), 2.17 - 2.19 (m, 1H), 2.31 - 2.33 (m, 4H), 2.42 - 2.45 (m, 1H), 3.23 (s, 3H), 4.00 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.58 - 7.60 (m, 2H), 7.86 - 7.88 (m, 2H), 7.93 - 7.96 (m, 2H), 9.10 ppm (br s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 494  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.62 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112d)<sup>[130,157]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Chlorphenylboronsäure (**111d**) (23.5 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (34.1 mg, 0.076 mmol, 76%) erhalten.

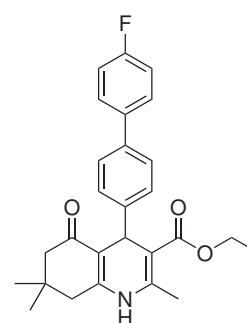
$R_f = 0.46$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.31 - 2.33 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 3.99 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.23 - 7.25 (m, 2H), 7.45 - 7.47 (m, 2H), 7.48 - 7.50 (m, 2H), 7.60 - 7.62 (m, 2H), 9.07 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 450  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.63 4-(4''-Fluor-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112e)<sup>[130,157]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Fluorphenylboronsäure (**111e**) (21.0 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (31.2 mg, 0.072 mmol, 72%) erhalten.

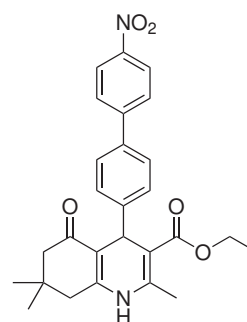
$R_f = 0.41$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.99 - 2.01 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.30 - 2.32 (m, 1H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 3.99 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.21 - 7.25 (m, 4H), 7.44 - 7.47 (m, 2H), 7.62 - 7.64 (m, 2H), 9.07 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 434.20  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.64 4-(4''-Nitro-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112f)<sup>[157]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Nitrophenylboronsäure (**111f**) (25.0 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (27.8 mg, 0.059 mmol, 59%) erhalten.

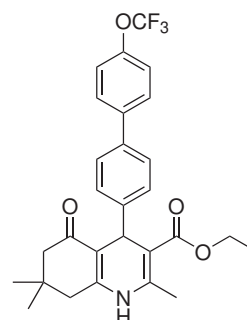
$R_f = 0.37$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.00 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.18 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.32 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H), 2.44 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1H), 3.99 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.30 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.63 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.90 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.26 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 9.11 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 14.1, 18.3, 26.6, 29.0, 32.1, 35.8, 50.2, 59.1, 64.8, 103.2, 104.6, 123.9, 126.7, 126.7, 127.4, 128.3, 135.2, 145.2, 146.3, 146.5, 148.6, 149.7, 166.7, 194.2$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 461  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.65 4-(4''-Trifluormethoxy-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112g)<sup>[130]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Trifluormethoxyphenylboronsäure (**111g**) (28.5 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (25.9 mg, 0.052 mmol, 52%) erhalten.

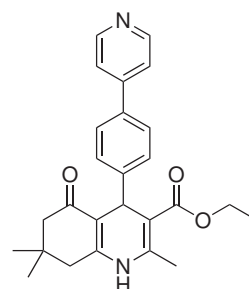
$R_f = 0.66$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.99 - 2.01 (m, 1H), 2.17 - 2.19 (m, 1H), 2.30 - 2.33 (m, 4H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 3.99 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.24 - 7.26 (m, 2H), 7.39 - 7.41 (m, 2H), 7.48 - 7.51 (m, 2H), 7.70 - 7.72 (m, 2H), 9.08 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 500  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.66 2,7,7-Trimethyl-5-oxo-4-(4'-(pyridin-4''-yl)phenyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112h)<sup>[130,157]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Pyridylboronsäure (**111h**) (18.4 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (19.1 mg, 0.046 mmol, 46%) erhalten.

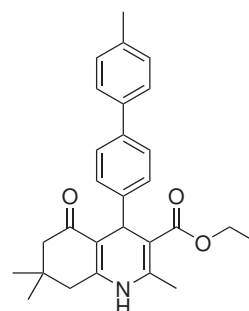
$R_f = 0.38$  (Cy/EtOAc 1:3);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.86$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.14 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.99 - 2.01 (m, 1H), 2.18 - 2.20 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.31 - 2.33 (m, 1H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 3.99 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.28 - 7.30 (m, 2H), 7.54 - 7.56 (m, 2H), 7.62 - 7.64 (m, 2H), 8.57 - 8.59 (m, 2H), 9.10 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 417  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.67 2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methyl-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112i)<sup>[130]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Methylphenylboronsäure (**111i**) (20.4 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (16.7 mg, 0.039 mmol, 39%) erhalten.

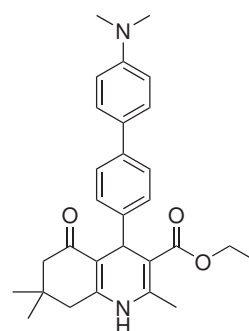
$R_f = 0.45$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.88$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.99 - 2.01 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.30 - 2.32 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.41 - 2.43 (m, 1H), 4.00 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.89 (s, 1H), 7.20 - 7.22 (m, 2H), 7.21 - 7.23 (m, 2H), 7.44 - 7.46 (m, 2H), 7.47 - 7.49 (m, 2H), 9.06 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 430  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.68 2,7,7-Trimethyl-4-(4''-dimethylamino-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112j)<sup>[130]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Dimethylaminophenylboronsäure (**111j**) (24.8 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (16.5 mg, 0.036 mmol, 36%) erhalten.

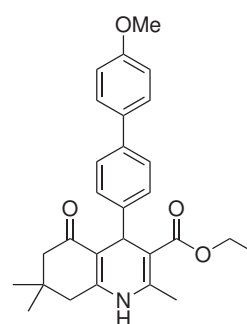
$R_f = 0.35$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.88$  (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.16 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.28 - 2.31 (m, 4H), 2.41 - 2.43 (m, 1H), 2.91 (s, 6H), 3.98 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.86 (s, 1H), 6.75 - 6.77 (m, 2H), 7.15 - 7.17 (m, 2H), 7.36 - 7.38 (m, 2H), 7.43 - 7.45 (m, 2H), 9.03 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 459  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.69 2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methoxy-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112k)<sup>[130,157]</sup>

Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-Methoxyphenylboronsäure (**111k**) (22.8 mg, 0.15 mmol) als farbloser Feststoff (11.1 mg, 0.025 mmol, 25%) erhalten.

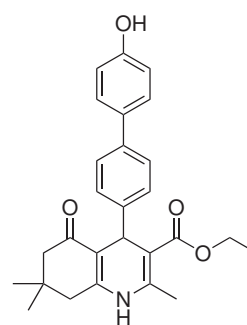
$R_f = 0.11$  (Cy/EtOAc 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.17 - 2.19 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.32 - 2.34 (m, 1H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.99 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 4.88 (s, 1H), 6.96 - 6.98 (m, 2H), 7.19 - 7.21 (m, 2H), 7.42 - 7.44 (m, 2H), 7.52 - 7.54 (m, 2H), 9.09 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 446  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.70 4-(4''-Hydroxy-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (112l)<sup>[130,157]</sup>

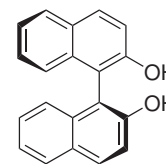
Das Produkt wurde gemäß der Synthesevorschrift in **Abschnitt 5.1.59** unter Verwendung von 4-*tert.*-Butyldimethylsilyloxyphenylboronsäure (**111l**) (37.8 mg, 0.15 mmol) in geschützter Form erhalten. Nach einer Flash-chromatographischen Aufreinigung wurde der Feststoff in trockenem THF (3 mL) suspendiert und zur Erhöhung der Löslichkeit wurde 1 Tropfen MeOH zugegeben. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf 0°C abgekühlt, eine 1 M TBAF-Lösung zugegeben (75.0  $\mu\text{L}$ , 0.75 mmol) und bei dieser Temperatur gerührt. Nach 90 Minuten wurde EtOAc (6 mL) zugegeben und die organische Phase mit einer 5%igen  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (10 mL), sowie einer gesättigten NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen. Das Reaktionsgemisch wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 1:1) als farbloser Feststoff (6.5 mg, 0.015 mmol, 15% (über 2 Schritte)) erhalten.

$R_f = 0.07$  (Cy/EtOAc 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.15 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.98 - 2.00 (m, 1H), 2.16 - 2.18 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.30 - 2.32 (m, 1H), 2.42 - 2.44 (m, 1H), 3.98 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 4.86 (s, 1H), 6.78 - 6.81 (m, 2H), 7.16 - 7.18 (m, 2H), 7.36 - 7.42 (m, 4H), 9.09 (br s, 1H), 9.49 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 431.97  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



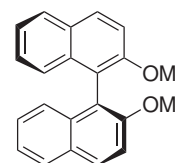
### 5.1.71 (S)-1,1'-Bi-2-naphthol (120)<sup>[247]</sup>

Zu einer Lösung aus racemischem 1,1'-Bi-2-naphthol (4.0 g, 14.0 mmol) in AcN (53 mL) wurde langsam (8*S*,9*R*)-(–)-*N*-Benzylcinchonidiniumchlorid (**121**) (3.2 g, 7.7 mmol) gegeben und das Reaktionsgemisch wurde für 4h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde für weitere 18h gerührt. Anschließend wurde die Suspension auf 0 °C abgekühlt und für weitere 2h bei dieser Temperatur gehalten. Das gebildete Präzipitat wurde mittels eines gekühlten Filters abgetrennt und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit. Zu dem so erhaltenen Rückstand wurde eine Mischung aus EtOAc (30 mL) und einer 1 M HCl-Lösung (12 mL) hinzugefügt und es wurde intensiv gerührt bis keine ungelösten Bestandteile mehr zu beobachten waren. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 15 mL), sowie einer gesättigten NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernen der Lösungsmittels im Vakuum konnte das enantiomerenreine (*S*)-Derivat als hell-brauner Feststoff (1.7 g, 6.0 mmol, 87%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[247]</sup> überein.



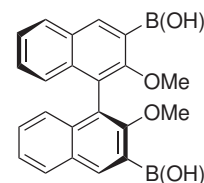
### 5.1.72 (S)-1,1'-Bi-2-naphthyldimethylether (115)<sup>[247]</sup>

Eine Suspension aus (*S*)-1,1'-Bi-2-naphthol (**120**) (1.7 g, 6.0 mmol) in Aceton (56 mL) wurde unter Rückfluss erhitzt bis eine vollständige Auflösung des Feststoffs erreicht war. Dann wurden sowohl K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.8 g, 20.3 mmol), als auch Methyljodid (1.5 mL, 3.4 g, 23.6 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für weitere 24h unter Rückfluss erhitzt. Nach erneuter Zugabe von Methyljodid (0.6 mL, 1.4 g, 10.1 mmol) wurde der Reaktionsansatz für weitere 24h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsvolumen mittels Destillation auf ungefähr 10 mL reduziert und destilliertes Wasser (55 mL) wurde hinzugefügt. Die Suspension wurde für 8h bei Raumtemperatur gerührt und der Feststoff wurde filtriert, mit destilliertem Wasser (2x 10 mL) gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. So konnte das Produkt als hellgelber Feststoff (1.9 g, 5.9 mmol, 99%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[247]</sup> überein.



### 5.1.73 (S)-(2,2'-Dimethoxy-(1,1'-binaphthyl))-3,3'-diboronsäure (122)<sup>[248]</sup>

In einem ausgeheizten, sowie mit Argon geflutetem Reaktionskolben wurde zu einem Gemisch aus trockenem Et<sub>2</sub>O (138 mL) und TMEDA (4.1 mL, 3.2 g, 27.4 mmol) vorsichtig eine 1.6 M *n*-Butyllithium-Lösung (in Hexan, 17.0 mL, 27.2 mmol) zugegeben. Nach 30 min wurde (*S*)-1,1'-Bi-2-naphthyldimethylether (**115**) (2.8 g, 9.0 mmol) hinzugefügt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4.5h wurde das Reaktionsgemisch auf -78 °C abgekühlt und innerhalb von 10 min wurde Triethylborat (10.7 mL, 9.2 g, 63.1 mmol) langsam zugetropft. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 18h gerührt. Anschließend wurde der Ansatz auf 0 °C gekühlt, es wurde vorsichtig eine

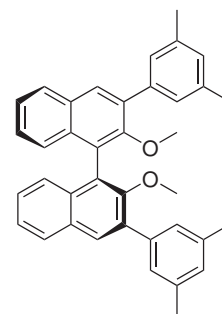


1 M HCl-Lösung (70 mL) hinzugefügt und für 5h bei Raumtemperatur gerührt. Darauffolgend wurde die organische Phase abgetrennt, mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 70 mL), sowie einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde in der Hitze in EtOAc gelöst und es wurde so lange Cy zugegeben bis eine Trübung bestehen blieb. Nach langsamen Abkühlen auf -20 °C wurde der entstandene Feststoff abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet. Dieser wurde in Et<sub>2</sub>O (100 mL) suspendiert und mit einer 1 M HCl-Lösung (70 mL) zur Hydrolyse der Boronsäureester versetzt. Nach 2h Rühren bei Raumtemperatur wurde die organische Phase abgetrennt, mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 70 mL), sowie einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. So konnte das Produkt als farbloser Schaum (2.8 g, 6.9 mmol, 76%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[248]</sup> überein.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 3.43 (s, 6H), 6.92 - 7.01 (m, 2H), 7.20 - 7.31 (m, 2H), 7.33 - 7.45 (m, 2H), 7.91 - 8.02 (m, 2H), 8.10 - 8.32 ppm (m, 6H).

#### 5.1.74 (S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-dimethoxy-1,1'-binaphthalen (118)<sup>[248]</sup>

In einem ausgeheizten, sowie mit Argon geflutetem Reaktionskolben wurden (S)-(2,2'-Dimethoxy-(1,1'-binaphthyl))-3,3'-diboronsäure (**122**) (2.8 g, 6.9 mmol), Ba(OH)<sub>2</sub> × 8 H<sub>2</sub>O (6.51 g, 20.58 mmol) und Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (316.8 mg, 0.27 mmol) in einem Gemisch aus entgastem Dioxan (38.3 mL), sowie entgastem Wasser (12.7 mL) gelöst. Nach der Zugabe von 3,5-Dimethylphenyliodid (**124**) (3.0 mL, 4.8 g, 20.6 mmol) wurde der Reaktionsansatz für 2h unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernung des Dioxans im Vakuum wurde mit DCM (150 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 50 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen. Anschließend wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (Cy/Toluen 1:1) aufgereinigt. So konnte das Produkt als farbloser Schaum (2.7 g, 5.3 mmol, 77%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[248]</sup> überein.

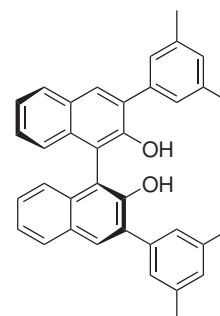


<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.41 (s, 12H), 3.22 (s, 6H), 7.05 (s, 2H), 7.23 - 7.32 (m, 4H), 7.35 - 7.45 (m, 6H), 7.92 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.97 ppm (s, 2H).



### 5.1.75 (S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-hydroxy-1,1'-binaphthalen (**119**)<sup>[246]</sup>

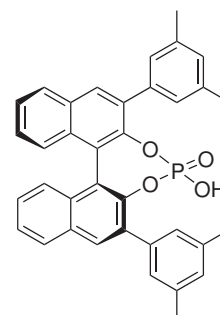
In einem ausgeheizten, sowie mit Argon geflutetem Reaktionskolben wurde (S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-dimethoxy-1,1'-binaphthalen (**118**) (522.7 mg, 1.0 mmol) in trockenem DCM (33 mL) gelöst und bei 0°C wurde eine 1 M BCl<sub>3</sub>-Lösung (2 mL, 2 mmol) langsam zugetropft. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für 18h gerührt. Nach erneutem Abkühlen auf 0°C wurde eiskaltes, destilliertes Wasser (20 mL) zugefügt und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde mit DCM (2x 20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (15 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt wurde mittels Flash-Chromatographie (Cy/DCM 2:3) aufgereinigt und wurde als farbloser Feststoff (355.0 mg, 0.68 mmol, 68%) erhalten.



<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.42 (s, 12H), 5.40 (s, 2H), 7.08 (s, 2H), 7.22 - 7.29 (m, 2H), 7.29 - 7.36 (m, 6H), 7.36 - 7.44 (m, 2H), 7.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 8.00 ppm (s, 2H).

### 5.1.76 (11b,S)-2,6-bis(3,5-Dimethylphenyl)-4-hydroxydinaphtho[2,1-d:1',2'-f]-1,3,2-dioxaphosphin-4-oxid (**114**)<sup>[246]</sup>

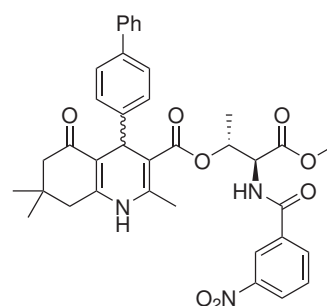
Zu einer Lösung aus (S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-hydroxy-1,1'-binaphthalen (**119**) (321.2 mg, 0.65 mmol) in Pyridin (15 mL) wurde langsam frisch destilliertes POCl<sub>3</sub> (0.55 mL, 0.9 g, 5.9 mmol) zugetropft und das Reaktionsgemisch wurde auf 60°C erwärmt. Nach 20h wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt, destilliertes Wasser (3 mL) wurde hinzugefügt und der Reaktionsansatz wurde erneut für 7h bei 60°C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde DCM (100 mL) zugegeben und die organische Phase wurde mit einer 6 M HCl-Lösung (2x 50 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt wurde über Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 95:5) aufgereinigt. So konnte der finale Katalysator als ein farbloser Feststoff (310.9 mg, 0.56 mmol, 86%) isoliert werden.



$[\alpha]_D^{20}$ : 380.2° (c = 1.3 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.15 (s, 12H), 4.59 (br. s., 1H), 6.78 (s, 2H), 7.15 - 7.24 (m, 4H), 7.28 - 7.35 (m, 2H), 7.35 - 7.43 (m, 2H), 7.44 - 7.54 (m, 2H), 7.91 - 8.01 ppm (m, 4H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 21.1, 122.7, 125.6, 126.2, 127.0, 127.6, 128.3, 129.1, 131.1, 131.4, 132.0, 134.4, 137.0, 137.5, 145.1 ppm; <sup>31</sup>P-NMR (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.56 ppm.

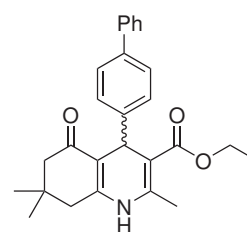
### 5.1.77 (S)/(R)-4-(4'-Biphenyl-4-yl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((2R,3S)-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobutan-2-yl)ester (**134a,b**)<sup>[130]</sup>

Eine Lösung aus *N*-(3-Nitrobenzoyl)-*O*-(3-oxobutanoyl)-*L*-threoninmethylester<sup>[79]</sup> (**133**) (284.2 mg, 0.92 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (168.6 mg, 0.92 mmol), Dimedon (**1**) (128.9 mg, 0.92 mmol), Ammoniumacetat (71.0 mg, 0.92 mmol) und Iod (70.1 mg, 0.28 mmol) in EtOH (1.0 mL) wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (50 mL) verdünnt und mit einer gesättigten Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (2x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Diastereomere wurden mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 1:1) aufgereinigt (238.7 mg, 0.37 mmol, 40%). Die Trennung der Diastereomere erfolgte über eine präparative HPLC-Methode (isokratische Elution, Wasser/AcN/MEtOH 30:27:43, Flußrate: 20 mL/min, Laufzeit: 45 min, maximale Beladung/Durchlauf: 40 mg Diastereomerenpaar, 6 Durchläufe). So konnte **134a** als hellgelber Feststoff (77.3 mg, 0.12 mmol, 13%) und **134b** als hellgelber Feststoff (154.8 mg, 0.24 mmol, 26%) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[79]</sup>



### 5.1.78 (S)/(R)-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**3a,b**)<sup>[79,130]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(Biphenyl-4-yl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((2R,3S)-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobutan-2-yl)-ester (**134a**: 77.3 mg, 0.12 mmol; **134b**: 154.8 mg) in MeOH (**134a**: 5 mL; **134b**: 10 mL) wurde DBU (**134a**: 54.6 µL, 55.7 mg, 0.37 mmol; **134b**: 109.3 µL, 111.4 mg, 0.73 mmol) vorsichtig getropft und für 5h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurden die Rückstände in destilliertem Wasser (**134a**: 12 mL; **134b**: 24 mL) gelöst und die Reaktionslösungen wurden mit einer 1 M HCl-Lösung auf pH 1-2 eingestellt. Danach wurden die Suspensionen mit EtOAc (**134a**: 3x 50 mL; **134b**: 3x 100 mL) extrahiert und nach Trocknung der organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> und der Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurden die Rohprodukte mittels einer Flash-Chromatographie (DCM/MeOH: 9:1) aufgereinigt. So konnten die Zwischenprodukte (**134a**: 52.0 mg, 0.12 mmol, 100%; **134b**: 105.4 mg, 0.24 mmol, 100%) als farblose Feststoffe erhalten werden.



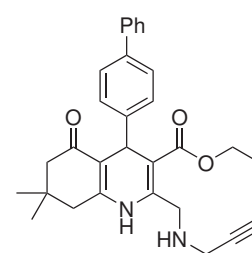
Diese wurden gemeinsam mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (**134a**: 19.3 mg, 0.14 mmol; **134b**: 38.6 mg, 0.28 mmol) in DMF (**134a**: 5 mL; **134b**: 10 mL) suspendiert und Ethylbromid (**134a**: 10.4 µL, 15.3 mg, 0.14 mmol; **134b**: 20.8 µL, 30.6 mg, 0.28 mmol) wurde den Ansätzen hinzugefügt. Nach 18h Rühren bei Raumtemperatur wurde destilliertes Wasser (**134a**: 17 mL; **134b**: 34 mL) zugegeben, mit EtOAc (**134a**: 3x 30 mL; **134b**: 3x 60 mL) extrahiert und die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach

Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc: 3:2) wurden die Produkte als hellgelbe Feststoffe (**134a**: 48.8 mg, 0.12 mmol, 98%; **134b**: 95.7 mg, 0.23 mmol, 96%) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[79]</sup>

Zur Züchtung der Einkristalle wurden 10 mg des jeweiligen Enantiomers in 2 mL EtOH gelöst und das Gefäß wurde mit perforierter Folie verschlossen. Nach 14 Tagen wurde die überstehende Lösung dekantiert, die zurückgebliebenen Kristalle wurden vorsichtig mit eiskaltem EtOH gewaschen und abschließend im Vakuum getrocknet.

### 5.1.79 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((prop-2-in-1-yl-amino)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**136**)<sup>[165,233]</sup>

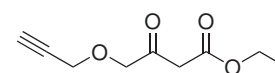
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**25**) (150.3 mg, 0.30 mmol) in einem Gemisch aus Dichlormethan und DMF (2 mL, 1:20) wurde bei 0 °C eine 70%-ige Propargylamin-Lösung (70 µL, 50 mg, 0.90 mmol) zugetropft und für 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 24h gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in DCM (20 mL) aufgenommen, mit destilliertem Wasser (2x 20 mL) gewaschen und die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt über Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 65:35) aufgereinigt und das Produkt wurde als hellgelber Feststoff (68.0 mg, 0.15 mmol, 48%) erhalten.



R<sub>f</sub>: 0.22 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.87 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.17 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 2.01 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.41 - 2.44 (m, 2H), 3.13 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.34 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H), 3.82 - 3.85 (m, 2H), 4.01 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.23 - 7.61 (m, 9H), 8.93 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.2, 26.6, 29.2, 32.2, 35.9, 37.3, 47.2, 50.3, 59.4, 74.1, 82.5, 103.7, 110.0, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.7, 140.1, 146.7, 146.8, 149.6, 166.6, 194.5 ppm; MS (+ESI) *m/z*: 470 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.80 3-Oxo-4-(prop-2-in-1-yloxy)butansäureethylester (**139**)<sup>[165,233]</sup>

Eine Lösung aus Chlorethylacetoacetat (**137**) (330.3 µL, 400.1 mg, 2.40 mmol) in THF (1.5 mL) wurde langsam bei 0 °C zu einer Suspension aus NaH (60 wt% in Mineralöl, 389.2 mg, 9.7 mmol) in THF (2.0 mL) getropft. Nach 15 min wurde eine Lösung aus Propargylalkohol (**138**) (562.0 µL, 545.2 mg,

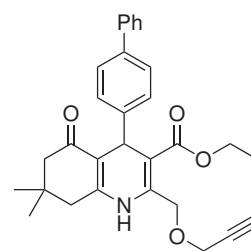


9.7 mmol) in THF (1.5 mL) hinzugegetropft und der Reaktionsansatz wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion mit einer 1 M HCl-Lösung (1 mL) gequench und mit EtOAc (10 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 20 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Va-

kuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 65:35) wurde das Produkt als orangenes Öl (330.3 mg, 1.8 mmol, 75%) isoliert. Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[265]</sup> überein.

#### 5.1.81 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((prop-2-in-1-yl-oxo)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (140)<sup>[165]</sup>

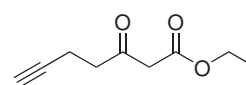
Eine Lösung aus 3-Oxo-4-(prop-2-in-1-yloxy)butansäureethylester (**139**) (330.3 mg, 1.78 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (326.3 mg, 1.8 mmol), Dimedon (**1**) (251.2 mg, 1.8 mmol) in 2 M Ammoniak-Lösung in MeOH (1.3 mL, 2.7 mmol) wurde für 8h unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel und der überschüssige Ammoniak im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (2x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde zunächst aus EtOH umkristallisiert und abschließend mittels Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 9:1) aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als blassgelber Feststoff (297.1 mg, 0.63 mmol, 35%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.68 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.85 - 0.89 (m, 3 H), 1.02 (s, 3H), 1.17 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 2.01 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.20 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.29 - 2.48 (m, 2H), 3.53 (t, J = 2.3 Hz, 1H), 4.03 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 4.24 (d, J = 2.3 Hz, 2H), 4.66 - 4.71 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 7.22 - 7.63 (m, 9H), 8.95 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 15.0, 27.4, 30.0, 33.0, 36.6, 51.1, 58.5, 60.5, 66.6, 78.7, 80.6, 105.4, 110.6, 127.1, 127.3, 128.0, 128.9, 129.7, 138.7, 140.9, 144.8, 147.2, 150.6, 167.2, 195.3 ppm; MS (+ESI) m/z: 470 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 5.1.82 3-Oxohept-6-insäureethylester (142)<sup>[165,233,266]</sup>

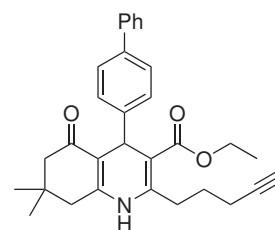
Zu einer Lösung aus Diisopropylamin (8.7 mL, 6.2 g, 61.5 mmol) in THF (40 mL) wurde bei 0°C langsam eine 1.6 M *n*-Butyllithium-Lösung (in Hexan, 38.5 mL, 61.5 mmol) getropft und für 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde bei 0°C eine Lösung aus Ethylacetoacetat (3.9 mL, 30.7 mmol) in THF (10 mL) zugegeben. Nach weiterem Rühren bei dieser Temperatur für 30 min wurde eine 80%-ige Propargylbromid-Lösung (in Toluol, 4.6 g, 30.7 mmol) zugetropft und es wurde für 1h gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde bei 0°C Essigsäure (1.8 mL) zugegeben und die Reaktionslösung wurde mit einem Gemisch aus destilliertem Wasser und Et<sub>2</sub>O (100 mL, 1:1 v/v) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit Et<sub>2</sub>O (6x 40 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (4x 50 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 55:45) aufgereinigt und die Zielverbindung wurde als gelbes Öl (3.4 g, 20.2 mmol, 66%) iso-



liert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[266]</sup> überein.

### 5.1.83 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (143)<sup>[165,233]</sup>

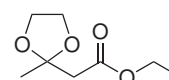
Eine Lösung aus 3-Oxohept-6-insäureethylester (**142**) (190.2 mg, 1.1 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (205.3 mg, 1.1 mmol), Dimedon (**1**) (160.4 mg, 1.1 mmol), Ammoniumacetat (88.2 mg, 1.1 mmol) und Iod (87.9 mg, 0.34 mmol) in EtOH (3.0 mL) wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (30 mL) verdünnt und mit einer gesättigten Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (2x 25 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (25 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 65:35) aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als hellgelber Feststoff (228.2 mg, 0.50 mmol, 45%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.69 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.87 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.17 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 2.01 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.19 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.33 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.44 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.46 - 2.49 (m, 2H), 2.85 - 3.02 (m, 2H), 2.89 (t, J = 2.3 Hz, 1H), 4.02 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 4.93 (s, 1H), 7.24 - 7.66 (m, 9H), 9.15 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.0, 17.4, 26.5, 29.0, 30.2, 32.1, 35.6, 50.3, 59.3, 71.9, 83.1, 103.7, 109.8, 126.1, 126.4, 127.0, 128.1, 128.8, 137.6, 140.1, 146.6, 147.4, 149.6, 166.4, 194.2 ppm; MS (+ESI) m/z: 454 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.84 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)essigsäureethylester (145)<sup>[165,233]</sup>

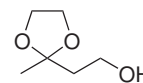
Zu einer Lösung aus Ethylacetoacetat (2.50 g, 19.2 mmol) in Toluol (25 mL) wurde Ethylenglycol (**144**) (1.6 g, 25.0 mmol) und *p*-Toluensulfonsäure (36.5 mg, 0.019 mmol) gegeben und in einer *Dean-Stark*-Apparatur zum Rückfluss erhitzt. Nach 5h konnte keine weitere Abscheidung von Wasser beobachtet werden und die Reaktion wurde auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (35 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit einer 5%-igen NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2x 35 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, um die Zielverbindung als hellgelbes Öl (1.8 g, 13.8 mmol, 54%) erhalten.



R<sub>f</sub>: 0.43 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.27 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 1.51 (s, 3H), 2.67 (s, 2H), 3.96 - 4.00 (m, 4H), 4.16 ppm (q, J = 7.3 Hz, 2H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 24.5, 44.3, 60.9, 64.8, 66.1, 107.6, 109.6, 169.6 ppm; MS (+ESI) m/z: 176 [M+H]<sup>+</sup>.

5.1.85 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethanol (**146**)<sup>[165]</sup>

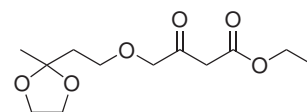
Zu einer Suspension aus LiAlH<sub>4</sub> (178.4 mg, 4.65 mmol) in Et<sub>2</sub>O (19.0 mL) wurde bei 0°C langsam eine Lösung aus 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)essigsäureethylester (**145**) (409.7 mg, 3.1 mmol) in Et<sub>2</sub>O (2.5 mL) gegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend 90 min unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und unter starkem Rühren wurde zunächst destilliertes Wasser (5 mL), gefolgt von einer 1 M KOH-Lösung (4 mL) zugegeben. Der Rückstand wurde über wenig Kieselgel filtriert und der Rückstand mit viel Diethylether (150 mL) gewaschen. Die Phasen des Filtrats wurden getrennt, die vereinigten organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 1:1) als leichtgelbes Öl (348.1 mg, 2.6 mmol, 84%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.26 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.37 (s, 3H), 1.96 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.77 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 4.00 ppm (s, 4H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 23.5, 40.1, 58.6, 64.2, 110.1 ppm.

5.1.86 4-(2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäureethylester (**147**)<sup>[165,233]</sup>

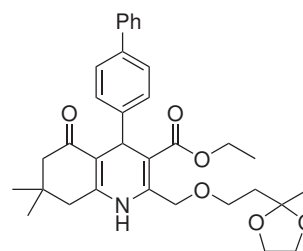
Eine Lösung aus 2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethanol (**146**) (307.9 mg, 2.3 mmol) in DMF (2 mL) wurde langsam bei 0°C zu einer Suspension aus NaH (60% w/w in Mineralöl, 242.1 mg, 10.1 mmol) in DMF (8.0 mL) getropft. Die Reaktion wurde für 2h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurde eine Lösung aus Chlorethylacetoacetat (**137**) (250.1 mg, 1.5 mmol) in DMF (1 mL) zugegeben. Nach 3h Rühren bei Raumtemperatur wurde eine 1 M HCl-Lösung (2 mL) hinzugefügt und die Reaktionslösung wurde mit DCM (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (3x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 3:2) wurde das Produkt (156.2 mg, 0.61 mmol, 42%) als orangenes Öl erhalten.



R<sub>f</sub>: 0.56 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.28 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.35 (s, 3H), 2.01 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.53 (s, 2H), 3.62 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.90 - 3.98 (m, 4H), 4.11 (s, 2H), 4.20 ppm (q, *J* = 7.3 Hz, 2H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 13.8, 24.0, 38.4, 45.7, 61.1, 64.3, 67.6, 75.6, 108.4, 108.5, 166.7, 201.8 ppm; MS (+ESI) *m/z*: 261 [M+H]<sup>+</sup>.

**5.1.87 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((2-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (148)**<sup>[165,233]</sup>

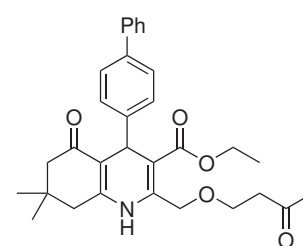
Eine Lösung aus 4-(2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäureethylester (**147**) (702.9 mg, 2.7 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (493.8 mg, 2.7 mmol), Dimedon (**1**) (379.9 mg, 2.8 mmol) in einer 2 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 2.1 mL, 4.1 mmol) wurde für 3h unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel und der überschüssige Ammoniak im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (2x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde zunächst aus EtOH umkristallisiert und abschließend mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 3:2) aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als farbloser Feststoff (709.4 mg, 1.3 mmol, 48%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.47 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.89 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.17 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 1.27 (s, 3H), 2.02 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.20 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.45 (d, J = 2.7 Hz, 2H), 3.55 (td, J = 6.7, 3.8 Hz, 2H), 3.83 - 3.89 (m, 4H), 3.91 - 3.95 (m, 2H), 4.02 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 4.58 - 4.61 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 7.22 - 7.61 (m, 9H), 8.84 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.0, 23.9, 26.6, 29.0, 32.2, 35.7, 38.0, 50.2, 59.5, 63.9, 66.4, 104.0, 108.2, 109.1, 109.8, 126.1, 126.4, 127.0, 128.0, 128.8, 137.7, 140.0, 144.7, 146.3, 149.6, 166.3, 194.3 ppm; MS (+ESI) m/z: 546 [M+H]<sup>+</sup>.

**5.1.88 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((3-oxobutoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (149)**<sup>[165,233]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((2-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**148**) (709.4 mg, 1.3 mmol) in Aceton/Wasser (20 mL, 5:1 v/v) wurde *p*-Toluensulfonsäure (62.8 mg, 0.33 mmol) gegeben und für 48h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in EtOAc (20 mL) gelöst und mit einer 10%-igen NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (15 mL), destilliertem Wasser (10 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) wurde das Produkt als hellgelber Feststoff (482.6 mg, 0.92 mmol, 74%) erhalten.

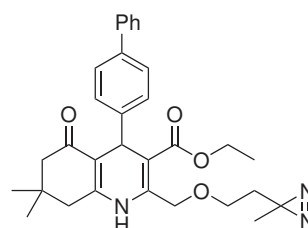


R<sub>f</sub>: 0.47 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.89 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.17 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 2.03 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.21 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 2.52 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 2.80 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.66 (td, J = 5.7, 1.0 Hz, 2H), 4.02 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 4.61 - 4.64 (m,

2H), 4.93 (s, 1H), 7.22 - 7.62 (m, 9H), 8.88 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.1, 26.6, 29.1, 32.2, 35.7, 36.2, 42.8, 50.2, 59.5, 65.4, 66.9, 103.7, 110.0, 126.2, 126.4, 127.1, 128.0, 128.8, 137.8, 140.0, 145.0, 146.4, 149.6, 166.3, 194.4, 207.8 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 502  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.89 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-((2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethoxy)methyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (150)**<sup>[165,233]</sup>

Eine Suspension aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((3-oxobut-oxymethyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**149**) (445.9 mg, 0.85 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 0.85 mL, 6.0 mmol) wurde für 4h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-O-sulfonsäure (96.1 mg, 0.85 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (10 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3x 10 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH gelöst (2 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (176.3  $\mu\text{L}$ , 129.0 mg, 1.3 mmol) zugetropft und so lange Iod (215.7 mg, 0.85 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhielt. Nach 5h bei 0°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in DCM (30 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) als hellgelber Feststoff (96.1 mg, 0.19 mmol, 22%) erhalten werden.



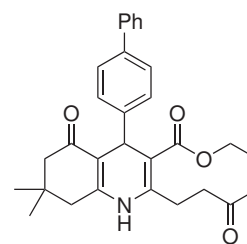
Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) als hellgelber Feststoff (96.1 mg, 0.19 mmol, 22%) erhalten werden.

$R_f$ : 0.77 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.89 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.17 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H), 1.65 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 2.03 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.21 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.47 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 4.03 (q,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 4.61 - 4.63 (m, 2H), 4.96 (s, 1H), 7.24 - 7.62 (m, 9H), 8.88 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.1, 19.6, 24.7, 26.6, 29.1, 32.2, 33.7, 35.8, 50.3, 59.6, 65.2, 66.3, 104.7, 109.7, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.9, 140.0, 146.4, 149.7, 166.4, 194.4 ppm;  $^{15}\text{N}$ -NMR (61 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 123.1, 466.3 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 514  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.90 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**152**)<sup>[165,233]</sup>

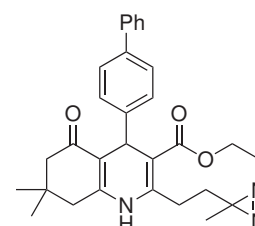
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**143**) (100.0 mg, 0.22 mmol) in einem Gemisch aus MeOH (10 mL) und destilliertem Wasser (1 mL) wurde [Bis(trifluormethansulfonyl)imidat]-(triphenylphosphin)-Gold(I) (2:1 Toluol-Addukt, 3.5 mg, 2.2  $\mu$ mol, 1 mol-%) gegeben und für 5h auf 70 °C erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (2x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 65:35) konnte das Produkt als gelber Feststoff (55.8 mg, 0.12 mmol, 54%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.41 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.86 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.14 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 2.00 (d,  $J$  = 16.4 Hz, 1H), 2.13 (s, 3H), 2.19 (d,  $J$  = 16.4 Hz, 1H), 2.30 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 2.43 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 2.67 - 2.76 (m, 2H), 2.81 - 2.89 (m, 2H), 3.99 (q,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.19 - 7.65 (m, 9H), 9.08 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 14.0, 25.9, 26.5, 29.1, 29.5, 32.1, 35.6, 41.7, 50.2, 59.2, 103.4, 109.8, 126.1, 126.4, 127.1, 128.0, 128.8, 137.6, 140.0, 146.8, 148.4, 149.7, 166.4, 194.3, 207.2 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 472 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.91 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**153**)<sup>[165,233]</sup>

Eine Suspension aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester (**152**) (46.5 mg, 0.10 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 0.10 mL, 0.70 mmol) wurde für 4h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-O-sulfonsäure (11.3 mg, 0.10 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (5 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3 x 5 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH gelöst (1 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0 °C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (20.7  $\mu$ L, 15.1 mg, 0.15 mmol) zugetropft und so lange Iod (25.4 mg, 0.10 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhält. Nach 5h bei 0 °C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in DCM (10 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (5 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:1) als hellgelber Feststoff (23.2 mg, 0.048 mmol,

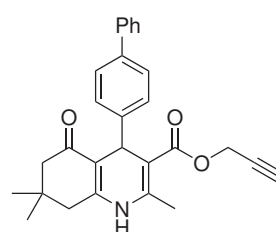


48%) erhalten werden.

$R_f$ : 0.61 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 0.87 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.17 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 3H), 1.55 - 1.64 (m, 2H), 2.00 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.19 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.31 (d,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 2.43 (d,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 2.60 - 2.64 (m, 2H), 4.01 (q,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.20 - 7.63 (m, 9H), 9.09 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz,  $\text{DSMO-d}_6$ ):  $\delta$  = 14.1, 19.1, 25.8, 26.0, 26.5, 29.0, 32.1, 33.2, 35.6, 50.2, 59.3, 103.5, 109.7, 126.1, 126.4, 127.0, 128.0, 128.8, 137.6, 140.0, 146.6, 147.7, 149.6, 166.3, 194.2 ppm;  $^{15}\text{N-NMR}$  (61 MHz,  $\text{DSMO-d}_6$ ):  $\delta$  = 128.69, 467.88 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 484  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.92 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-prop-2-in-1-ylester (154)<sup>[165,233]</sup>

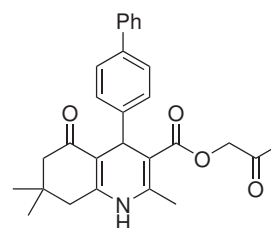
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92**) (387.5 mg, 1.0 mmol) in DMF (25 mL) wurde  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (165.8 mg, 1.2 mmol) und 80%-ige Propargylbromid-Lösung (in Toluol, 99.5  $\mu\text{L}$ , 119.0 mg, 1.0 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser (40 mL) hinzugefügt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (3x 20 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 65:35) als hellgelber Feststoff (310.6 mg, 0.73 mmol, 73%) erhalten werden.



$R_f$  = 0.42 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 0.89 (s, 3 H), 1.03 (s, 3 H), 2.03 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.21 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.34 (d,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.45 (d,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 3.48 (t,  $J$  = 2.5 Hz, 1H), 4.65 (ddd,  $J$  = 18.4, 16.1, 2.7 Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 7.21 - 7.64 (m, 9H), 9.22 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{DSMO-d}_6$ ):  $\delta$  = 18.5, 26.6, 29.1, 32.2, 35.3, 50.3, 51.0, 77.3, 79.0, 102.4, 110.1, 126.3, 126.5, 127.1, 128.0, 128.9, 137.8, 140.1, 146.6, 146.6, 149.6, 166.0, 194.5 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 426  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.93 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester (155)<sup>[165,233]</sup>

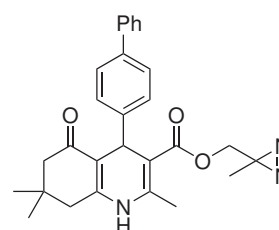
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92**) (387.5 mg, 1.0 mmol) in DMF (25 mL) wurde  $K_2CO_3$  (165.8 mg, 1.2 mmol) und Chloraceton (80.4  $\mu$ L, 92.5 mg, 1.0 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser (40 mL) hinzugefügt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (3x 20 mL) gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 1:1) als hellgelber Feststoff (346.0 mg, 0.78 mmol, 78%) erhalten werden.



$R_f$  = 0.25 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 0.87 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.02 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.20 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.33 (t,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.43 (d,  $J$  = 17.6 Hz, 1H), 4.65 - 4.69 (m, 2H), 4.97 (s, 1H), 7.21 - 7.62 (m, 9H), 9.20 ppm (s, 1H);  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 18.5, 25.8, 26.5, 29.0, 32.1, 35.2, 50.3, 67.8, 102.3, 110.1, 126.1, 126.4, 127.0, 127.9, 128.8, 137.6, 140.1, 146.5, 146.5, 149.5, 166.2, 194.4, 202.6 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 444  $[M+H]^+$ .

### 5.1.94 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((methyl-3H-diazirin-3-yl)methyl)ester (156)<sup>[165,233]</sup>

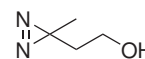
Eine Suspension aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester (**155**) (221.8 mg, 0.50 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 0.5 mL, 3.5 mmol) wurde für 4h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure (56.5 mg, 0.50 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (25 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3x 25 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH gelöst (5 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (103.5  $\mu$ L, 75.5 mg, 0.75 mmol) zugetropft und so lange Iod (127.0 mg, 0.50 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhält. Nach 5h bei 0°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in DCM (25 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/EtOAc 9:1) als hellgelber Feststoff (107.1 mg, 0.24 mmol, 47%) erhalten werden.



$R_f$ : 0.81 (DCM/EtOAc 4:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 0.86 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 2.01 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.19 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.31 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.43 (d,  $J$  = 16.8 Hz, 1H), 3.84 - 3.88 (m, 2H), 4.88 (s, 1H), 7.24 - 7.62 (m, 9H), 9.19 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 17.0, 18.5, 24.9, 26.5, 29.0, 32.1, 35.5, 50.2, 64.7, 102.4, 110.1, 126.1, 126.4, 127.0, 128.0, 128.8, 137.6, 140.1, 146.5, 146.6, 149.3, 166.1, 194.3 ppm;  $^{15}\text{N-NMR}$  (61 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 132.2, 458.1 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 456  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.95 2-(3-Methyl-3H-diazirin-3-yl)ethanol (**158**)<sup>[165,233]</sup>

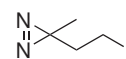
Eine Lösung aus 4-Hydroxybutan-2-on (**157**) (1.3 mL, 1.3 g, 15.0 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 15 mL, 45.0 mmol) wurde für 4h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure (17.0 g, 15.0 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (150 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3x 75 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH gelöst (100 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (2.1 mL, 1.5 g, 15.0 mmol) zugetropft und so lange Iod (1.9 g, 7.5 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhielt. Nach 5h bei 0°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in DCM (150 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (100 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 3:1) als hellgelbes Öl (420.5 mg, 4.2 mmol, 28%) erhalten werden.



$R_f$ : 0.51 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.10 (s, 3H), 1.49 (br s, 1H), 1.66 (t,  $J$  = 6.3 Hz, 2H), 3.56 ppm (t,  $J$  = 6.3 Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 20.0, 23.9, 36.7, 57.5 ppm;  $^{15}\text{N-NMR}$  (61 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 463.9 ppm.

### 5.1.96 3-(Iodmethyl)-3-methyl-3H-diazirin (**159**)<sup>[165,233]</sup>

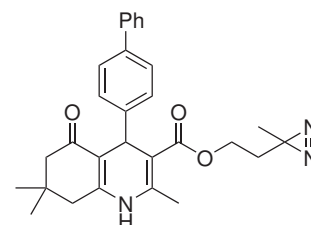
Zu einer Lösung aus Triphenylphosphin (865.6 mg, 3.3 mmol) und Imidazol (612.7 mg, 9.0 mmol) in DCM (16.5 mL) wurde bei 0°C Iod (913.7 mg, 3.6 mmol) gegeben. Nach 15 min wurde eine Lösung aus 2-(3-Methyl-3H-diazirin-3-yl)ethanol (**158**) (300.4 mL, 3.0 mmol) in DCM (3.6 mL) langsam hinzugegeben und für weitere 4h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde eine gesättigte  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (30 mL) hinzugegeben und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (2x 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (2x 25 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 92:8) als farbloses Öl (390.6 mg, 1.9 mmol, 62%) erhalten werden.



$R_f$ : 0.60 (Cy/EtOAc 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.08 (s, 3H), 2.03 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 2.95 ppm (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -3.4, 19.6, 39.2, 71.6 ppm.

#### 5.1.97 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-ylethyl)ester (160)<sup>[165,233]</sup>

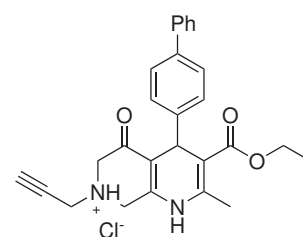
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**92**) (387.5 mg, 1.0 mmol) in DMF (25 mL) wurde  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (165.8 mg, 1.2 mmol) und 3-(Iodmethyl)-3-methyl-3H-diazirin (**159**) (205.6 mg, 1.00 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser (40 mL) hinzugefügt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (3x 20 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:1) als hellgelber Feststoff (281.8 mg, 0.60 mmol, 60%) erhalten werden.



$R_f$  = 0.45 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 0.87 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.61 (td,  $J$  = 5.9, 2.9 Hz, 2H), 2.01 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.20 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.32 (d,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.45 (d,  $J$  = 17.2 Hz, 1H), 3.86 - 3.89 (m, 2H), 4.98 (s, 1H), 7.22 - 7.65 (m, 9H), 9.17 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 18.6, 19.3, 24.4, 26.6, 29.1, 32.2, 33.1, 35.5, 50.3, 58.5, 103.0, 110.1, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.8, 137.6, 140.2, 145.8, 146.9, 149.5, 166.8, 194.4 ppm;  $^{15}\text{N-NMR}$  (61 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 131.7, 465.8 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 470  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.98 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-(prop-2-in-1-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid (161)<sup>[165]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**64**) (374.4 mg, 1.0 mmol) in DMF (25 mL) wurde  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (207.3 mg, 1.5 mmol) und eine 80%-ige Propargylbromid-Lösung (in Toluol, 149.3  $\mu\text{L}$ , 178.5 mg, 1.50 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (50 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (2x 20 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 2:1) aufgereinigt. Das so erhaltene tertiäre Amin wurde in  $\text{Et}_2\text{O}$  suspendiert (10 mL) und so lange DCM zugegeben bis eine vollständige Auflösung des Feststoffs erreicht wurde. Anschließend wurde eine 1 M HCl-Lösung (in  $\text{Et}_2\text{O}$ , 2 mL) zugegeben und das Lösungsmittel wurde im Hochvakuum entfernt. So konnte die Zielverbindung als gelber Feststoff (240.7 mg, 0.52 mmol, 52%) erhalten

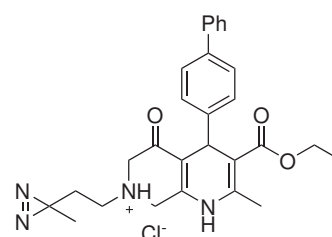


werden.

$R_f = 0.32$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.12$  (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.25 (t,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 3.14 (dd,  $J = 20.7, 17.2$  Hz, 2H), 3.30 (ddd,  $J = 22.2, 17.2, 2.3$  Hz, 2H), 3.35 (s, 2H), 4.00 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 5.06 (s, 1H), 7.17 - 7.48 ppm (m, 9H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.2, 19.2, 29.7, 35.8, 45.3, 50.4, 59.3, 60.0, 75.4, 106.3, 111.0, 126.8, 126.9, 126.9, 128.3, 128.6, 139.0, 141.1, 143.3, 145.5, 148.9, 167.3, 192.4$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 427  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.99 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid (**162**)<sup>[165]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (**64**) (37.4 mg, 0.10 mmol) in DMF (25 mL) wurde  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (20.7 mg, 0.15 mmol) und 3-(Iodmethyl)-3-methyl-3*H*-diazirin (**159**) (28.5 mg, 0.15 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (30 mL) aufgenom-

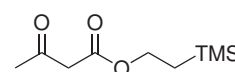


genommen und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 10 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (2x 10 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 95:5) aufgereinigt. Das so erhaltene tertiäre Amin wurde in  $\text{Et}_2\text{O}$  suspendiert (5 mL) und so lange DCM zugegeben bis eine vollständige Auflösung des Feststoffs erreicht wurde. Anschließend wurde eine 1 M HCl-Lösung (in  $\text{Et}_2\text{O}$ , 0.5 mL) zugegeben und das Lösungsmittel wurde im Hochvakuum entfernt. So konnte die Zielverbindung als gelber Feststoff (23.8 mg, 0.047 mmol, 47%) erhalten werden.

$R_f = 0.19$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.89$  (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 1.01 (s, 3H), 1.20 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.69 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.44 (s, 3H), 3.88 (d,  $J = 16.6$  Hz, 1H), 4.03 (d,  $J = 16.6$  Hz, 1H), 4.09 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 4.42 (d,  $J = 17.6$  Hz, 1H), 4.74 (d,  $J = 17.6$  Hz, 1H), 5.19 (s, 1H), 7.28 - 7.57 ppm (m, 9H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.6, 19.5, 23.1, 30.1, 32.3, 34.1, 36.2, 43.1, 53.8, 60.5, 61.8, 106.9, 127.3, 127.4, 127.4, 128.8, 129.1, 139.6, 140.3, 141.4, 143.5, 167.5, 189.7$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 471  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5.1.100 3-Oxobutansäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**164**)<sup>[233]</sup>

Zu einer Lösung aus 2,2,6-Trimethyl-4*H*-1,3-dioxin-4-on (**132**) (194.7  $\mu\text{L}$ , 284.3 mg, 2.0 mmol) in Xylen (5 mL) wurde 2-Trimethylsilylethanol (**163**) (286.6  $\mu\text{L}$ , 236.5 mg, 2.0 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde auf 150 °C erhitzt.



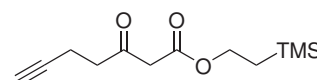
Nach 1h wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt mittel Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 85:15) aufgerei-

nigt, um die Zielverbindung als gelbes Öl (292.1 mg, 1.4 mmol 72%) zu erhalten.

$R_f = 0.41$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.05$  (s, 9H), 0.94 - 1.10 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 3.44 (s, 2H), 4.14 - 4.33 ppm (m, 2H).

### 5.1.101 3-Oxohept-6-insäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester<sup>[233]</sup> (165)

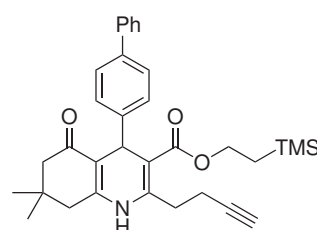
Zu einer Lösung aus Diisopropylamin (702.7  $\mu\text{L}$ , 506.0 mg, 5.0 mmol) in THF (5 mL) wurde bei 0°C langsam eine 1.6 M *n*-Butyllithium-Lösung (in Hexan, 3.2 mL, 5.0 mmol) getropft und für 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde bei 0°C eine Lösung aus 3-Oxobutansäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**164**) (404.6 mg, 2.0 mmol) in THF (2 mL) zugegeben. Nach erneutem Rühren für 30 min bei dieser Temperatur wurde eine 80%-ige Propargylbromid-Lösung (in Toluol, 334.1  $\mu\text{L}$ , 356.9 mg, 3.0 mmol) zugetropft und es wurde für 1h gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde bei 0°C Essigsäure (300  $\mu\text{L}$ ) zugegeben und die Reaktionslösung wurde mit einem Gemisch aus destilliertem Wasser und  $\text{Et}_2\text{O}$  (20 mL, 1:1 v/v) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (3x 20 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 9:1) aufgereinigt und die Zielverbindung wurde als gelbes Öl (358.2 mg, 1.49 mmol, 74%) isoliert.



$R_f = 0.52$  (Cy/EtOAc 3:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.05$  (s, 9H), 0.93 - 1.07 (m, 2H), 1.97 (t,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 2.48 (td,  $J = 7.3, 2.7$  Hz, 2H), 2.82 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.46 (s, 2H), 4.17 - 4.28 ppm (m, 2H).

### 5.1.102 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (166)<sup>[233]</sup>

Eine Lösung aus 3-Oxohept-6-insäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**165**) (360.6 mg, 1.5 mmol), 4-Biphenylcarbaldehyd (**20**) (273.3 mg, 1.5 mmol), Dimedon (**1**) (315.4 mg, 2.3 mmol), Ammoniumacetat (231.2 mg, 3.0 mmol) und Iod (114.2 mg, 0.45 mmol) in EtOH (1.0 mL) wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (100 mL) verdünnt und mit einer gesättigten  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (50 mL), destilliertem Wasser (2x 100 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Nach Trocknung über  $\text{MgSO}_4$  wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 7:3) aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als gelber Feststoff (343.7 mg, 0.65 mmol, 44%) erhalten werden.

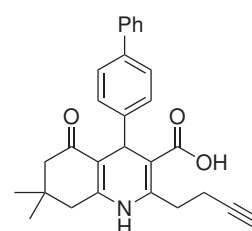


$R_f: 0.46$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = -0.02$  (s, 9H), 0.84 (s, 3H), 0.87 - 0.97

(m, 2H), 1.00 (s, 3H), 1.95 - 2.06 (m, 1H), 2.18 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 2.26 - 2.36 (m, 1H), 2.37 - 2.47 (m, 3H), 2.80 - 3.02 (m, 3H), 3.94 - 4.15 (m, 2H), 4.92 (s, 1H), 7.25 (m,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.28 - 7.36 (m, 1H), 7.42 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.45 - 7.53 (m, 2H), 7.53 - 7.65 (m, 2H), 9.16 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{DSMO-d}_6$ ):  $\delta = -1.5, 16.9, 17.4, 26.6, 29.2, 30.3, 32.2, 35.4, 50.3, 61.4, 72.1, 83.2, 103.8, 109.8, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.7, 140.1, 146.6, 147.5, 149.7, 166.6, 194.3$  ppm.

#### 5.1.103 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (167)<sup>[233]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-[2-(trimethylsilyl)ethyl]ester (343.7 mg, 0.64 mmol) in getrocknetem THF (15 mL) wurde eine 1 M  $\text{NBu}_4\text{F}$ -Lösung (in THF, 2.0 mL, 2.0 mmol) getropft und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden ein weiteres Äquivalent einer 1 M  $\text{NBu}_4\text{F}$ -Lösung (in THF, 2.0 mL, 2.0 mmol) hinzugefügt und für weitere 24h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (100 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 50 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (50 mL) aufgenommen und mit einer 1 M KOH-Lösung (3x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit einer 1 M HCl-Lösung neutralisiert und der entstandene Niederschlag wurde filtriert. Nach mehrmaligen Waschen mit kaltem destilliertem Wasser wurde die Zielverbindung als hellgelber Feststoff (241.4 mg, 0.56 mmol, 87%) erhalten.

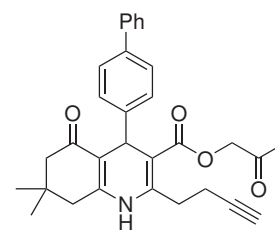


$R_f$ : 0.15 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.84$  (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.99 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.18 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.23 - 2.33 (m, 1H), 2.36 - 2.48 (m, 3H), 2.81 - 3.03 (m, 3H), 4.90 (s, 1H), 7.19 - 7.39 (m, 3H), 7.39 - 7.45 (m, 2H), 7.45 - 7.54 (m, 2H), 7.54 - 7.65 (m, 2H), 9.06 (s, 1H), 11.87 ppm (br s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 17.5, 26.6, 29.1, 30.2, 32.2, 35.7, 50.3, 72.0, 83.4, 104.3, 109.7, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.6, 140.2, 146.7, 147.1, 149.9, 168.3, 194.4$  ppm.



### 5.1.104 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester (**168**)<sup>[233]</sup>

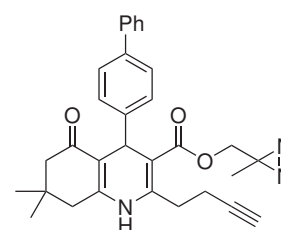
Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**167**) (260.0 mg, 0.61 mmol) in DMF (20 mL) wurde K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (126.7 mg, 0.92 mmol) und Chloraceton (73.8 µL, 84.8 mg, 0.92 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser (50 mL) hinzugefügt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung (3x 50 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 1:1) als gelber Feststoff (159.9 mg, 0.33 mmol, 54%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.29 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.85 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.02 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.20 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 2.26 - 2.36 (m, 1H), 2.40 - 2.49 (m, 3H), 2.86 - 2.99 (m, 3H), 4.66 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 4.73 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 4.98 (s, 1H), 7.21 - 7.34 (m, 3H), 7.37 - 7.45 (m, 2H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.55 - 7.62 (m, 2H), 9.27 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 17.3, 25.8, 26.5, 29.1, 30.4, 32.2, 35.2, 50.3, 68.0, 72.1, 83.2, 102.5, 110.1, 126.2, 126.5, 127.1, 128.0, 128.8, 137.7, 140.1, 146.3, 149.0, 149.6, 165.8, 194.4, 202.5 ppm.

### 5.1.105 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((methyl-3H-diazirin-3-yl)methyl)ester (**169**)<sup>[233]</sup>

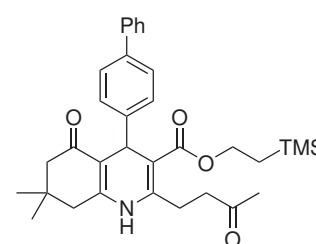
Eine Suspension aus 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester (**168**) (159.9 mg, 0.33 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 0.33 mL, 2.3 mmol) wurde für 4h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-O-sulfonsäure (37.5 mg, 0.33 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (10 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3x 10 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH gelöst (2 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (92.1 µL, 67.2 mg, 0.66 mmol) zugetropft und so lange Iod (84.3 mg, 0.33 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhält. Nach 5h bei 0°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in DCM (25 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 7:3) als gelber Feststoff (77.0 mg, 0.16 mmol, 47%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.68 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.84 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 2.01 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.19 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.28 - 2.36 (m, 1H), 2.36 - 2.49 (m, 3H), 2.76 - 3.00 (m, 3H), 3.81 - 3.87 (m, 1H), 3.87 - 3.94 (m, 1H), 4.89 (s, 1H), 7.20 - 7.35 (m, 3H), 7.38 - 7.45 (m, 2H), 7.46 - 7.54 (m, 2H), 7.55 - 7.67 (m, 2H), 9.25 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 17.0, 17.3, 24.8, 26.5, 29.0, 30.3, 32.2, 35.5, 50.2, 65.1, 72.1, 83.0, 102.6, 110.1, 126.1, 126.4, 127.1, 128.1, 128.8, 137.7, 140.0, 146.4, 148.9, 149.4, 165.7, 194.3 ppm.

#### 5.1.106 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (171)<sup>[233]</sup>

Zu einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (166) (500 mg, 0.95 mmol) in einem Gemisch aus MeOH (80 mL) und destilliertem Wasser (2 mL) wurde [bis(Trifluormethylsulfonyl)imidat]-2-(dicyclohexyl(2',6'-dimethoxybiphenyl))phosphin-Gold-(I) (2:1 Toluol-Addukt, 17.8 mg, 0.019 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck

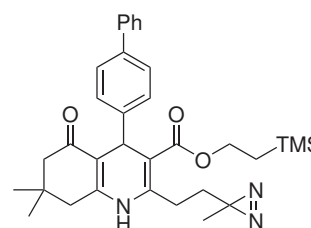


entfernt und der Rückstand in EtOAc (100 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 7:3) konnte das Produkt als gelber Feststoff (500.2 mg, 0.92 mmol, 97%) erhalten werden.

R<sub>f</sub>: 0.52 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -0.02 (s, 9H), 0.81 - 0.86 (m, 3H), 0.86 - 0.97 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 1.95 - 2.02 (m, 1H), 2.19 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.29 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 2.43 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 2.64 - 2.80 (m, 2H), 2.80 - 2.90 (m, 2H), 3.96 - 4.11 (m, 2H), 4.91 (s, 1H), 7.21 - 7.25 (m, 2H), 7.26 - 7.35 (m, 1H), 7.39 - 7.44 (m, 2H), 7.46 - 7.53 (m, 2H), 7.54 - 7.64 (m, 2H), 9.07 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -1.5, 16.8, 25.8, 26.4, 29.2, 29.5, 32.1, 35.4, 41.7, 50.2, 61.2, 103.5, 109.8, 126.1, 126.4, 127.1, 128.0, 128.8, 137.6, 140.1, 146.7, 148.4, 149.7, 166.6, 194.2, 207.2 ppm.

### 5.1.107 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (169)<sup>[233]</sup>

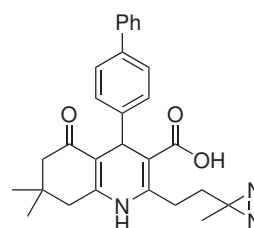
Eine Suspension bestehend aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**171**) (100.0 mg, 0.18 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 1.3 mL, 9.2 mmol) wurde für 4h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure (20.8 mg, 0.18 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (5 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3x 5 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in MeOH gelöst (2.8 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (37.2 µL, 37.2 mg, 0.37 mmol) zugetropft und so lange Iod (46.7 mg, 0.18 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhielt. Nach 5h bei 0°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (100 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (25 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (25 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 1:3) als gelber Feststoff (43.2 mg, 0.078 mmol, 42%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.72 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -0.01 (s, 9), 0.84 (s, 3H), 0.86 - 0.97 (m, 2H), 1.00 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 1.51 - 1.66 (m, 2H), 1.98 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.18 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.23 - 2.34 (m, 1H), 2.41 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 2.56 - 2.66 (m, 2H), 3.96 - 4.12 (m, 2H), 4.90 (s, 1H), 7.21 (m, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.28 - 7.35 (m, 1H), 7.38 - 7.45 (m, 2H), 7.45 - 7.50 (m, 2H), 7.59 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 9.07 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -1.5, 16.9, 19.1, 25.9, 26.0, 26.5, 29.1, 32.1, 33.3, 35.5, 50.2, 61.3, 103.6, 109.7, 126.1, 126.4, 127.1, 128.0, 128.8, 137.6, 140.1, 146.6, 147.7, 149.7, 166.6, 194.2 ppm.

### 5.1.108 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (173)<sup>[233]</sup>

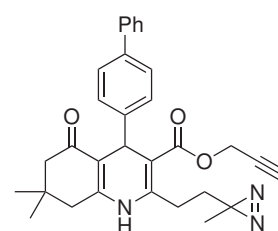
Einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**172**) (30.0 mg, 0.054 mmol) in getrocknetem THF (1.5 mL) wurde eine 1 M NBU<sub>4</sub>F-Lösung (in THF, 270.0 µL, 0.27 mmol) zugetropft und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (50 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (50 mL) aufgenommen und mit einer 1 M KOH-Lösung (4x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit einer 1 M HCl-Lösung neutralisiert und der entstandene Niederschlag wurde filtriert. Nach mehrmaligen Waschen mit kaltem destilliertem Wasser wurde die Zielverbindung als hellgelber Feststoff (10.9 mg, 0.024 mmol, 44%) erhalten.



R<sub>f</sub>: 0.11 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0.83 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.49 - 1.65 (m, 2H), 1.93 - 2.04 (m, 1H), 2.18 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 2.23 - 2.32 (m, 1H), 2.41 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 2.57 - 2.71 (m, 2H), 4.88 (s, 1H), 7.21 (m, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.27 - 7.35 (m, 1H), 7.38 - 7.44 (m, 2H), 7.48 (m, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.55 - 7.62 (m, 2H), 9.02 (s, 1H), 11.84 ppm (br s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 19.1, 26.0, 26.0, 26.5, 29.2, 32.2, 33.5, 35.7, 50.3, 104.1, 109.6, 126.2, 126.5, 127.1, 128.1, 128.9, 137.6, 140.2, 146.8, 147.3, 149.9, 168.3, 194.3 ppm.

### 5.1.109 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-prop-2-in-1-ylester (174)<sup>[233]</sup>

Einer Lösung aus 4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**173**) (10.9 mg, 0.024 mmol) in DMF (0.5 mL) wurde K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5.0 mg, 0.036 mmol) und eine 80%-ige Propargylbromid-Lösung (in Toluol, 4.0 µL, 4.3 mg, 0.036 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (50 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 3:2) aufgereinigt, um die Zielverbindung als gelber Feststoff (7.3 mg, 0.015 mmol, 62%) erhalten zu können.

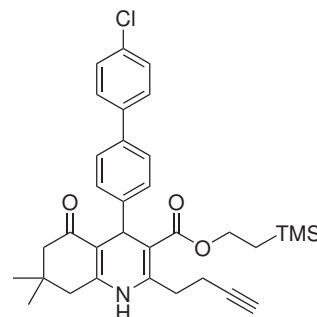


R<sub>f</sub>: 0.43 (Cy/EtOAc 1:1); Aufgrund der geringen Substanzmenge konnte lediglich eine massenspektrometrische Analyse durchgeführt werden: MS (+ESI) *m/z*: 494 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS-ESI *m/z* [M+H]<sup>+</sup> be-

rechnet für  $C_{31}H_{32}N_3O_3$ : 494.2438, found: 494.2433.

#### 5.1.110 2-(But-3-in-1-yl)-4-(4''-chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (175)<sup>[233]</sup>

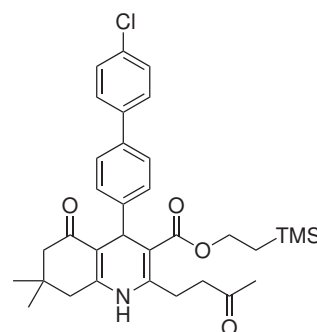
Eine Lösung aus 3-Oxohept-6-insäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**165**) (1.78 g, 7.4 mmol), 4'-Chlor-4-biphenylcarbaldehyd (**176**) (1.6 g, 7.4 mmol), Dimedon (**1**) (1.6 g, 11.1 mmol), Ammoniumacetat (1.1 g, 14.8 mmol) und Iod (562.8 mg, 2.2 mmol) in EtOH (4.8 mL) wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (300 mL) verdünnt und mit einer gesättigten  $Na_2S_2O_3$ -Lösung (150 mL), destilliertem Wasser (2x 200 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (200 mL) gewaschen. Nach Trocknung über  $MgSO_4$  wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde mittels Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 4:1) aufgereinigt. So konnte die Zielverbindung als gelber Feststoff (2.06 g, 3.67 mmol, 50%) erhalten werden.



$R_f$ : 0.22 (Cy/EtOAc 1:1);  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = -0.02 (s, 9H), 0.84 (s, 3H), 0.86 - 0.98 (m, 2H), 1.00 (s, 3H), 1.99 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.18 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.27 - 2.33 (m, 1H), 2.38 - 2.48 (m, 3H), 2.84 - 3.00 (m, 3H), 3.98 - 4.12 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 7.24 - 7.29 (m, 2H), 7.44 - 7.51 (m, 4H), 7.59 - 7.64 (m, 2H), 9.14 ppm (s, 1H);  $^{13}C$ -NMR (151 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = -1.5, 16.8, 17.4, 26.5, 29.1, 30.2, 32.2, 35.5, 50.2, 61.3, 72.0, 83.2, 103.7, 109.7, 126.1, 128.2, 128.8, 131.9, 136.2, 138.9, 147.0, 147.5, 149.7, 166.6, 194.3 ppm.

#### 5.1.111 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (177)<sup>[233]</sup>

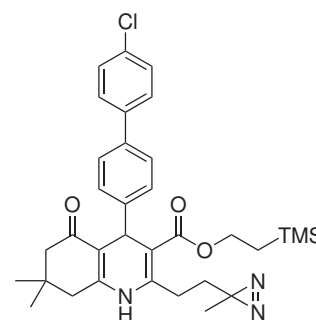
Einer Lösung aus 2-(But-3-in-1-yl)-4-(4''-chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**175**) (1.3 g, 2.4 mmol) in einem Gemisch aus MeOH (50 mL) und destilliertem Wasser (2 mL) wurde [bis(Trifluormethylsulfonyl)imidat]-2-(dicyclohexyl(2',6'-dimethoxybiphenyl))phosphin-Gold(I) (2:1 Toluol-Addukt, 44.4 mg, 0.05 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand in EtOAc (200 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 65:35) konnte das Produkt als gelber Feststoff (951.8 mg, 1.7 mmol, 69%) erhalten werden.



R<sub>f</sub>: 0.18 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -0.03 (s, 9H), 0.84 (s, 3H), 0.85 - 0.95 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 1.98 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.12 (s, 3H), 2.18 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.24 - 2.32 (m, 1H), 2.43 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 2.65 - 2.79 (m, 2H), 2.80 - 2.90 (m, 2H), 3.94 - 4.11 (m, 2H), 4.91 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.42 - 7.53 (m, 4H), 7.60 - 7.65 (m, 2H), 9.08 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -1.5, 16.8, 25.8, 26.4, 29.2, 29.5, 32.1, 35.5, 41.7, 50.2, 61.3, 103.4, 109.7, 126.1, 128.1, 128.2, 128.8, 131.9, 136.2, 138.9, 147.1, 148.4, 149.7, 166.6, 194.3, 207.2 ppm.

#### 5.1.112 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (178)<sup>[233]</sup>

Eine Suspension bestehend aus 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester (**177**) (930.0 mg, 1.6 mmol) in einer 7 M Ammoniak-Lösung (in MeOH, 11.5 mL, 80.4 mmol) wurde für 4h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure (181.9 mg, 1.6 mmol) zugegeben und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum einkonzentriert und der Rückstand in MeOH (30 mL) aufgenommen. Der ungelöste Feststoff wurde abfiltriert und mit weiterem MeOH gewaschen (3x 5 mL). Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde

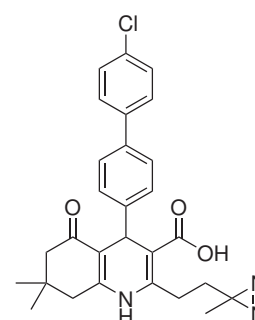


der Rückstand in MeOH gelöst (25 mL) und die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde Triethylamin (412.5 µL, 325.8 mg, 3.2 mmol) zugetropft und so lange lod (817.3 mg, 3.2 mmol) hinzugegeben bis eine Braunfärbung für mindestens 1 min anhielt. Nach 5h bei 0°C wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in EtOAc (300 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (150 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (150 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt konnte nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) als gelber Feststoff (431.3 mg, 0.73 mmol, 45%) erhalten werden.

R<sub>f</sub>: 0.88 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -0.02 (s, 9H), 0.83 (s, 3H), 0.86 - 0.96 (m, 2H), 1.00 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 1.47 - 1.63 (m, 2H), 1.92 - 2.03 (m, 1H), 2.17 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 2.24 - 2.31 (m, 1H), 2.41 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 2.56 - 2.67 (m, 2H), 3.92 - 4.15 (m, 2H), 4.89 (s, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.41 - 7.54 (m, 4H), 7.58 - 7.66 (m, 2H), 9.09 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = -1.5, 16.9, 19.2, 25.9, 26.1, 26.5, 29.2, 32.2, 33.3, 35.5, 50.2, 61.3, 103.5, 109.7, 126.1, 128.1, 128.2, 128.8, 132.0, 136.3, 138.9, 147.1, 147.8, 149.7, 166.5, 194.3 ppm.

### 5.1.113 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (179)<sup>[233]</sup>

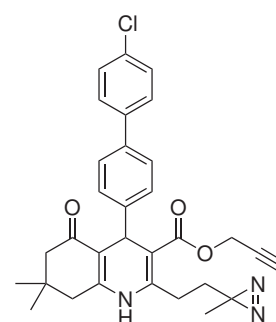
Zu einer Lösung aus 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-[2-(trimethylsilyl)ethyl]ester (**178**) (414.3 mg, 0.70 mmol) in getrocknetem THF (11.2 mL) wurde eine 1 M NBU<sub>4</sub>F-Lösung (in THF, 3.51  $\mu$ L, 3.51 mmol) zugetropft und für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (100 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (2x 100 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach einer Flash-chromatographischen Aufreinigung (DCM/EtOAc 3:1) wurde die Zielverbindung als hellgelber Feststoff (250.0 mg, 0.51 mmol, 73%) erhalten.



R<sub>f</sub>: 0.32 (DCM/EtOAc 3:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.82 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.47 - 1.66 (m, 2H), 1.97 (d,  $J$  = 16.2 Hz, 1H), 2.17 (d,  $J$  = 16.2 Hz, 1H), 2.22 - 2.32 (m, 1H), 2.40 (d,  $J$  = 17.1 Hz, 1H), 2.56 - 2.71 (m, 2H), 4.87 (s, 1H), 7.21 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 7.40 - 7.55 (m, 4H), 7.56 - 7.67 (m, 2H), 9.03 (s, 1H), 11.86 ppm (br s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 19.1, 26.0, 26.0, 26.5, 29.2, 32.2, 33.5, 35.8, 50.3, 104.0, 109.6, 126.2, 128.2, 128.3, 128.8, 132.0, 136.3, 139.0, 147.2, 147.5, 150.0, 168.2, 194.4 ppm.

### 5.1.114 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-prop-2-in-1-ylester (180)

Zu einer Lösung aus 4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3*H*-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure (**179**) (98.0 mg, 0.20 mmol) in DMF (5 mL) wurde K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (41.5 mg, 0.30 mmol) und eine 80%-ige Propargylbromid-Lösung (in Toluol, 33.4  $\mu$ L, 44.6 mg, 0.30 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (50 mL) aufgenommen und die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (3x 20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Cy/EtOAc 1:1) aufgereinigt, um die Zielverbindung als gelber Feststoff (99.8 mg, 0.19 mmol, 95%) erhalten zu können.

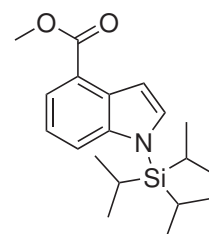


R<sub>f</sub>: 0.31 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.85 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.47 - 1.65 (m, 2H), 2.00 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.19 (d,  $J$  = 16.1 Hz, 1H), 2.30 (d,  $J$  = 17.1 Hz, 1H), 2.43 (d,  $J$  = 17.1 Hz, 1H), 2.55 - 2.69 (m, 2H), 3.49 (t,  $J$  = 2.7 Hz, 1H), 4.58 - 4.75 (m, 2H), 4.89 (s, 1H), 7.16 - 7.29 (m, 2H), 7.41 - 7.52 (m, 4H), 7.56 - 7.71 (m, 2H), 9.21 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR

(126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 19.1, 25.9, 26.1, 26.5, 29.1, 32.1, 33.3, 35.3, 50.2, 51.1, 77.4, 78.7, 102.3, 109.9, 126.2, 128.0, 128.2, 128.8, 132.0, 136.4, 138.8, 146.8, 149.2, 149.7, 165.5, 194.4 ppm.

#### 5.1.115 1-(Tri-(2-propyl)silyl)-1*H*-indol-4-methylester (**194**)

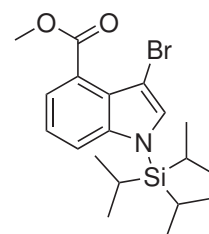
Zu einer Lösung aus 1*H*-Indol-4-methylester (**189**) (1.0 g, 5.7 mmol) in trockenem THF (15 mL) wurde bei  $-78^\circ\text{C}$  NaH (60 wt% in Mineralöl, 308.8 g, 7.7 mmol) zugegeben und die Reaktion wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 1h bei dieser Temperatur wurde die Reaktion erneut auf  $-60^\circ\text{C}$  gekühlt und Tri-(2-propyl)silylchlorid (1.6 mL, 1.4 g, 7.4 mmol) wurde unter starkem Rühren vorsichtig zugetropft. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf  $0^\circ\text{C}$  erwärmt und die Reaktion wurde für 15 Minuten gerührt. Nun wurde die Reaktion durch Gießen in destilliertes Wasser (15 mL) gequencht und die wässrige Phase wurde mit DCM (3x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/DCM 3:2) wurde ein gelbes Öl (1.9 g, 5.7 mmol, 100%) erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.<sup>[335]</sup>



$R_f$  = 0.77 (Cy/DCM 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.15 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 18H), 1.72 (spt,  $J$  = 7.6 Hz, 3H), 3.99 (s, 3H), 7.20 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.30 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 7.42 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.91 ppm (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H).

#### 5.1.116 3-Brom-1-(tri-(2-propyl)silyl)-1*H*-indol-4-methylester (**199**)

Zu einer Lösung aus 1-(Tri-(2-propyl)silyl)-1*H*-indol-4-methylester (**194**) (700.0 mg, 2.1 mmol) in trockenem THF (10 mL) wurde bei  $-78^\circ\text{C}$  NBS (486.5 mg, 2.7 mmol) zugegeben. Nach 4h bei dieser Temperatur wurde die Reaktion auf Raumtemperatur erwärmt und es wurde zunächst *n*-Heptan (7.5 mL), gefolgt von Pyridin (90  $\mu\text{L}$ ) zugegeben. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/DCM 3:2) ein hellgelbes Öl (580.0 g, 1.4 mmol, 67%) erhalten.

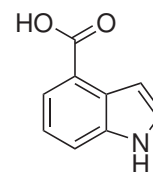


$R_f$  = 0.70 (Cy/DCM 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.15 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 18H), 1.60 - 1.79 (m, 3H), 4.01 (s, 3H), 7.16 - 7.25 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.49 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.62 ppm (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H).



**5.1.117 1H-Indol-4-carbonsäure (206)**<sup>[313]</sup>

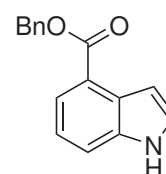
Zu einer Lösung aus 1H-Indol-4-methylester (**189**) (3.1 g, 17.5 mmol) in einer Mischung aus MeOH (7.5 mL) und Dioxan (7.5 mL) wurde eine 5 M NaOH-Lösung (7.7 mL, 38.6 mmol) zugegeben und die Lösung wurde auf 60 °C erwärmt. Nach 8.5 h wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und der pH-Wert der Reaktionslösung wurde mit einer 2.5 M HCl-Lösung auf 1-2 eingestellt. Die Lösung wurde mit EtOAc (3x 100 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde ein brauner Feststoff (2.8 g, 17.5 mmol, 100%) erhalten.



$R_f = 0.42$  (DCM/MeOH 9:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 6.95$  (t,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 7.17 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.49 (t,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 7.65 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.71 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 11.39 (s, 1H), 12.54 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 102.3, 116.3, 121.4, 122.4, 127.2, 127.4, 136.8, 168.5$  ppm.

**5.1.118 1H-Indol-4-carbonsäurebenzylester (208)**<sup>[313]</sup>

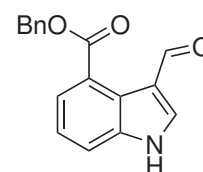
Zu einer Suspension aus 1H-Indol-4-carbonsäure (**206**) (7.0 g, 43.4 mmol) und NaHCO<sub>3</sub> (7.3 g, 86.9 mmol) in DMF (137 mL) wurde Benzylbromid (**207**) (10.3 mL, 14.8 g, 86.9 mmol) zugegeben und für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde der Reaktionsansatz mit destilliertem Wasser (300 mL) verdünnt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (100 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 9:1) wurde ein hellgelber Feststoff (8.6 g, 34.3 mmol, 79%) erhalten.



$R_f = 0.28$  (Cy/EtOAc 3:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 5.40$  (s, 2H), 7.13 (t,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.16 - 7.21 (m, 1H), 7.26 - 7.37 (m, 4H), 7.44 (s, 2H), 7.54 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.35 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 65.4, 66.4, 104.0, 116.0, 121.1, 121.4, 123.6, 126.3, 128.1, 128.6, 136.4, 136.5, 167.4$  ppm.

### 5.1.119 3-Formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**209**)<sup>[313]</sup>

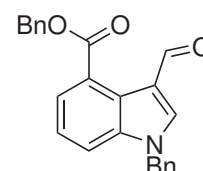
Zu einer Lösung aus 1*H*-Indol-4-carbonsäurebenzylester (**208**) (5.0 g, 20.0 mmol) in trockenem DMF (27 mL) wurde bei 0 °C vorsichtig Phosphorylchlorid (2.7 mL, 4.6 g, 30.0 mmol) zugetropft. Nach 1.5h wurde die Reaktionslösung in eine 0 °C-kalte Lösung bestehend aus NaHCO<sub>3</sub> (7.0 g, 83.3 mmol) in destilliertem Wasser (150 mL) gegossen. Anschließend wurde der pH-Wert der resultierten Lösung mit festem NaHCO<sub>3</sub> neutralisiert und das Gemisch wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension mit EtOAc (3x 150 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurde mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (150 mL), destilliertem Wasser (150 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (150 mL) gewaschen. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wurde das Lösungsmittel entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:3) wurde ein farbloser Feststoff (4.0 g, 14.2 mmol, 71%) erhalten.



$R_f = 0.28$  (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 5.47$  (s, 2H), 7.29 - 7.37 (m, 2H), 7.37 - 7.43 (m, 2H), 7.46 - 7.52 (m, 2H), 7.64 (dd,  $J = 8.1$  Hz, 10.7 Hz, 1H), 7.90 (dd,  $J = 0.9$  Hz, 7.3 Hz, 1H), 8.07 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H), 9.68 (s, 1H), 10.53 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 67.1$ , 116.6, 119.5, 122.7, 122.9, 124.3, 125.3, 128.3, 128.4, 128.6, 133.9, 135.8, 137.7, 168.2, 189.0 ppm.

### 5.1.120 1-Benzyl-3-formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**210**)

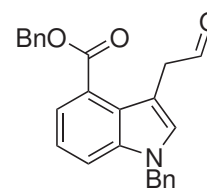
Zu einer Suspension aus Natriumhydrid (60 wt% in Mineralöl, 429.4 mg, 10.7 mmol) in trockenem DMF (80 mL) wurde bei 0 °C 3-Formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**209**) (2.0 g, 7.2 mmol) zugegeben und für 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde langsam Benzylbromid (**207**) (1.3 mL, 1.8 g, 10.7 mmol) zugetropft und für eine weitere Stunde bei 0 °C gerührt. Nach der vorsichtigen Zugabe von destilliertem Wasser (80 mL) wurde die Reaktionslösung mit EtOAc (3x 150 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (150 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (150 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:3) wurde ein farbloser Feststoff (2.3 g, 6.1 mmol, 85%) erhalten.



$R_f = 0.65$  (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 5.38$  (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 7.19 - 7.49 (m, 11H), 7.65 (dd,  $J = 0.8$  Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.79 - 7.93 (m, 1H), 8.55 (s, 1H), 10.22 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta = 49.9$ , 66.4, 115.4, 117.3, 122.1, 122.6, 123.6, 124.7, 127.3, 127.8, 128.0, 128.2, 128.4, 128.7, 135.9, 136.4, 137.5, 139.4, 167.8, 186.0 ppm.

### 5.1.121 1-Benzyl-3-(2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (212)

Zu einer Suspension aus (Methoxymethyl)triphenylphosphoniumchlorid (**211**) (6.9 g, 20.0 mmol) in trockenem Toluol (22 mL) wurde bei 0 °C eine 0.6 M NaHMDS-Lösung (in Toluol, 33.3 mL, 20.0 mmol) getropft und die Lösung wurde für 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus 1-Benzyl-3-formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**210**) (1.9 g, 5.0 mmol) in trockenem DCM (38 mL) zugetropft und die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 2h wurde eine gesättigte NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (100 mL) zugegeben und das Gemisch wurde mit EtOAc (3x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (100 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) wurde ein gelbes Öl erhalten.

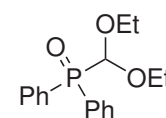


Dieses Öl wurde in Aceton (100 mL) gelöst und eine 1 M HCl-Lösung (33.3 mL) wurde hinzugefügt. Anschließend wurde die Reaktionslösung für 2h auf 55 °C erhitzt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde bei Raumtemperatur destilliertes Wasser (130 mL) zugegeben und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x 150 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (130 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (130 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 4:1) wurde ein braunes Öl (1.0 g, 2.7 mmol, 70%) erhalten.

$R_f = 0.47$  (Cy/EtOAc 2:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 3.97$  (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 5.46 (s, 2H), 7.17 - 7.27 (m, 4H), 7.27 - 7.38 (m, 3H), 7.38 - 7.44 (m, 2H), 7.44 - 7.50 (m, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.64 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.76 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 9.66 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 41.9, 49.0, 66.0, 106.3, 109.1, 115.1, 120.4, 122.5, 123.0, 125.3, 127.0, 127.4, 128.1, 128.5, 128.5, 132.2, 136.1, 137.5, 137.7, 167.0, 200.7$  ppm.

### 5.1.122 (Diethoxymethyl)diphenylphosphinoxid (**217**)<sup>[309]</sup>

Zu frisch destilliertem Triethylorthoformiat (**216**) (4.1 mL, 3.7 g, 25.0 mmol) wurde vorsichtig Chlordiphenylphosphan (**215**) (4.6 mL, 5.5 g, 25.0 mmol) zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für 3h auf 110 °C erhitzt. Anschließend wurde das resultierte Öl mit einem Gemisch aus Toluol (5 mL) und Pentan (5 mL) überschichtet und intensiv geschüttelt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde



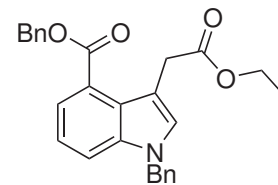
das Rohprodukt im Hochvakuum getrocknet. Anschließend wurde das semi-kristalline Öl mit reinem Pentan überschichtet und für 24h bei 4 °C gelagert. Der so auskristallisierte Feststoff wurde abgesaugt, mit wenig Pentan gewaschen und getrocknet. So konnte ein farbloser, kristalliner Feststoff (7.1 g, 23.4 mmol, 94%) erhalten werden. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[309]</sup> überein.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.19$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 6H), 3.62 - 3.74 (m, 2H), 3.80 - 3.92 (m, 2H),

5.07 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.41 - 7.49 (m, 5H), 7.49 - 7.56 (m, 2H), 7.87 - 7.96 ppm (m, 4H).

### 5.1.123 1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1H-indol-4-carbonsäurebenzylester (214)

Zu einer Lösung aus DIPA (190.3  $\mu$ L, 137.0 mg, 1.4 mmol) in THF trockenem (10 mL) wurde bei  $-110^{\circ}\text{C}$  eine 1.6 M *n*-Butyllithium-Lösung (in Hexan, 846.3  $\mu$ L, 1.4 mmol) zugetropft. Anschließend wurde zunächst eine KO-*tert*-butanolat-Lösung (151.9 mg, 1.4 mmol) in trockenem THF (1 mL) zugegeben, gefolgt von einer 30-minütigen Zugabe einer (Diethoxymethyl)-diphenylphosphinoxid-Lösung (**217**) (453.3 mg, 1.5 mmol) in trockenem THF



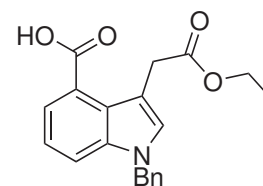
(1.5 mL). Nach einer Stunde bei dieser Temperatur wurde eine Lösung aus 1-Benzyl-3-formyl-1H-indol-4-carbonsäurebenzylester (**210**) (250.0 mg, 0.68 mmol) in trockenem THF (1.4 mL) zugetropft und das Rühren wurde weitere 15 Minuten bei dieser Temperatur aufrechterhalten. Anschließend wurde destilliertes Wasser (3 mL) zugegeben und die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde mit DCM (6x 10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels konnte ein gelber Feststoff erhalten werden, welcher direkt in der nächsten Reaktion verwendet wurde.

Dieser Rückstand wurde in trockenem THF (10 mL) gelöst und bei  $0^{\circ}\text{C}$  wurde eine KO-*tert*-butanolat-Lösung (91.2 mg, 0.81 mmol) in trockenem THF (1.4 mL) zugegeben. Nach 1h Stunde bei dieser Temperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und der Feststoff wurde in Aceton (14 mL) gelöst. Anschließend wurde eine 1 M HCl-Lösung (9 mL) zugegeben und die Reaktionsmischung wurde auf  $50^{\circ}\text{C}$  erhitzt. Nach 2h wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und destilliertes Wasser (20 mL) wurde zugegeben. Das Gemisch wurde mit EtOAc extrahiert (3x 20 mL) und die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (20 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen. Nach Trocknung über  $\text{MgSO}_4$  wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt wurde Flash-chromatographisch (Cy/EtOAc 4:1) aufgereinigt. So konnte das Produkt als gelbes Öl (68.5 mg, 0.16 mmol) erhalten werden.

$R_f = 0.31$  (Cy/EtOAc 4:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.23$  (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 4.02 (s, 2H), 4.10 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 5.32 (s, 2H), 5.38 (s, 2H), 7.07 - 7.12 (m, 2H), 7.14 - 7.20 (m, 2H), 7.27 - 7.36 (m, 4H), 7.36 - 7.42 (m, 2H), 7.44 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.46 - 7.52 (m, 2H), 7.77 ppm (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H).

**5.1.124 1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure (220)**

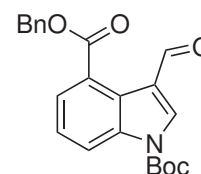
Zu einer Lösung aus 1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**214**) (68.5 mg, 0.16 mmol) in trockenem EtOH (3 mL) wurde unter einer Argonatmosphäre  $\text{NH}_4\text{HCOO}$  (155.1 mg, 2.5 mmol) und Pd/C (10 wt%, 51.1 mg, 4.8  $\mu\text{mol}$ ) zugegeben und die Reaktionslösung wurde für 8h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung über Celite<sup>®</sup> filtriert und der Rückstand wurde mit EtOAc (20 mL) gewaschen. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt Flash-chromatographisch (DCM/MeOH 95:5) aufgereinigt und es konnte ein gelber Feststoff (20.0 mg, 0.059 mmol, 36%) isoliert werden.



$R_f = 0.4$  (Dichlormethan/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 1.15$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 4H), 3.93 (s, 2H), 4.00 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 5.43 (s, 2H), 7.11 - 7.21 (m, 3H), 7.21 - 7.27 (m, 1H), 7.28 - 7.33 (m, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.55 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 12.48 ppm (s, 1H).

**5.1.125 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**221**)<sup>[313]</sup>**

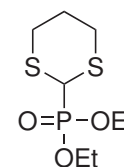
Zu einer Lösung aus 3-Formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**209**) (1.1 g, 4.1 mmol) in AcN (35 mL) wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (1.3 g, 6.1 mmol) und DMAP (25.1 mg, 0.21 mmol) zugegeben. Nach 2 Tagen bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 7:3) wurde ein farbloser Feststoff (1.5 g, 3.9 mmol, 95%) erhalten.



$R_f = 0.85$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.70$  (s, 9H), 5.45 (s, 2H), 7.32 - 7.51 (m, 6H), 7.93 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.50 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 10.47 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 28.0, 67.2, 86.0, 119.6, 121.6, 124.6, 124.6, 124.8, 126.3, 128.4, 128.5, 128.6, 134.0, 135.7, 136.9, 148.5, 167.6, 188.5$  ppm.

**5.1.126 (1,3-Dithian-2-yl)phosphonsäurediethylester (**224**)<sup>[313]</sup>**

Zu einer Suspension aus 1,3-Dithian (**223**) (1.5 g, 12.5 mmol) in Benzen (38 mL) wurde NCS (1.7 g, 12.5 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 24h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Triethylphosphit (2.6 mL, 14.9 mmol) zugegeben und die Reaktion wurde für 6h auf 60 °C erhitzt. Der präzipitierte Feststoff wurde filtriert und mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (100 mL) gewaschen. Das Filtrat wurde vom Lösungsmittel befreit und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 3:2) wurde ein farbloses Öl (2.6 g, 10.2 mmol, 82%) erhalten.

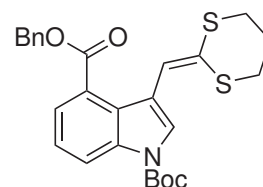


$R_f = 0.55$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.31 - 1.42$  (m, 6H), 1.92 - 2.06 (m, 1H),

2.07 - 2.17 (m, 1H), 2.53 - 2.56 (m, 2H), 3.44 - 3.62 (m, 4H), 4.24 - 4.27 ppm (m, 4H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 16.8, 16.8, 25.3, 26.5, 26.5, 33.7, 35.2, 64.1 ppm.

#### 5.1.127 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-((1,3-dithian-2-yliden)methyl)-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**225**)<sup>[313]</sup>

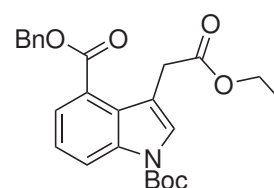
Zu einer Lösung aus (1,3-Dithian-2-yl)phosphonsäurediethylester (**224**) (256.3 mg, 1.0 mmol) in trockenem THF (15 mL) wurde bei  $-78^\circ\text{C}$  eine 1.6 M *n*-Butyllithium-Lösung (in Hexan, 625.0  $\mu\text{L}$ , 1.0 mmol) über einen Zeitraum von 15 Minuten zugegeben und die Reaktionslösung wurde für 1h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-formyl-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**221**) (379.4 mg 1.0 mmol) zugegeben und es wurde für weitere 15 Minuten bei  $-78^\circ\text{C}$  gerührt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion für eine weitere Stunde gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde destilliertes Wasser (3 mL) hinzugefügt und das Gemisch wurde mit EtOAc (3x 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 85:15) konnte ein gelbes Öl (403.6 mg, 0.84 mmol, 84%) erhalten werden, welches nach kurzer Zeit auskristallisierte.



$R_f$  = 0.50 (Cy/EtOAc 5:1);  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.67 (s, 9H), 2.16 - 2.22 (m, 2H), 2.87 - 2.93 (m, 3H), 5.46 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.31 - 7.41 (m, 5H), 7.49 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 7.91 (s, 1H), 8.41 ppm (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 24.6, 28.1, 29.9, 66.9, 84.3, 115.7, 118.7, 122.4, 123.8, 125.0, 125.0, 127.0, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.5, 135.9, 149.1, 167.9, 171.2 ppm.

#### 5.1.128 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**222**)<sup>[313]</sup>

Zu einer Suspension aus 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-((1,3-dithian-2-ylidene)methyl)-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**225**) (210.0 mg, 0.44 mmol) in EtOH (16 mL) wurde bei Raumtemperatur  $\text{AgNO}_3$  (162.3 mg, 0.97 mmol) zugegeben und die Reaktion wurde für 4h auf  $60^\circ\text{C}$  erhitzt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und über Celite<sup>®</sup> filtriert. Das Filtrat wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand wurde in EtOAc (40 mL) aufgenommen. Anschließend wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung (3x 20 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 9:1) wurde ein gelbes Öl (105.9 mg, 0.24 mmol, 55%) erhalten.

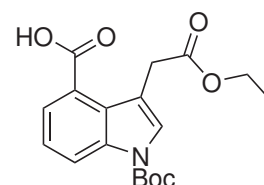


$R_f$  = 0.57 (Cy/EtOAc 3:1);  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.22 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 1.66 (s, 9H),

3.98 (s, 2H), 4.09 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 5.35 (s, 2H), 7.30 - 7.43 (m, 4H), 7.45 - 7.51 (m, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.79 - 7.86 (m, 1H), 8.46 ppm (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.4, 28.4, 34.2, 60.9, 67.0, 84.3, 114.1, 117.8, 119.6, 123.8, 124.8, 125.8, 127.9, 128.4, 128.5, 128.6, 128.8, 128.9, 167.5, 171.6, 172.2$  ppm.

### 5.1.129 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure (**222**)<sup>[313]</sup>

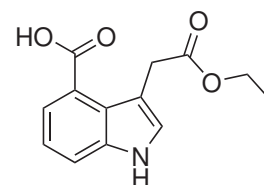
Zu einer Lösung aus 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäurebenzylester (**222**) (2.4 g, 5.4 mmol) und  $\text{NH}_4\text{HCOO}$  (6.8 g, 108.3 mmol) in EtOH (100 mL) wurde Pd/C (10 wt%, 173.3 mg, 0.16 mmol) zugegeben und die Lösung wurde für 11h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die Suspension wurde über Celite<sup>®</sup> filtriert. Das Filtrat wurde vom Lösungsmittel befreit und in EtOAc (200 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit destilliertem Wasser (150 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (2x 150 mL) gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 7:3) wurde ein farbloser Feststoff (1.5 g, 4.2 mmol, 78%) erhalten.



$R_f = 0.25$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 1.15$  (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.63 (s, 9H), 3.96 (s, 2H), 4.01 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 7.40 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.70 (dd,  $J = 1.2$  Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 8.32 - 8.38 (m, 1H), 12.94 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 14.0, 27.6, 32.9, 59.9, 84.2, 93.5, 114.0, 118.2, 123.6, 124.9, 127.8, 128.0, 136.1, 148.6, 168.5, 171.2$  ppm.

### 5.1.130 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure (**188**)<sup>[313]</sup>

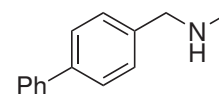
Eine Lösung aus 1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure (**229**) (416.8 mg, 1.2 mmol) in einem Gemisch aus DCM (12 mL) und TFA (5 mL) wurde für 4h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Lösung in eine gesättigte  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (30 mL) gegossen und das zweiphasige Gemisch wurde mit EtOAc (3x 150 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser (100 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 3:2) wurde ein beiger Feststoff (225.5 mg, 0.91 mmol, 76%) erhalten.



$R_f = 0.44$  (Cyclohexan/EtOAc 1:1);  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 1.15$  (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 3.92 (s, 2H), 3.99 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.13 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.37 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.55 - 7.59 (m, 2H), 11.29 (s, 1H), 12.53 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 14.2, 33.4, 59.7, 108.2, 115.9, 120.0, 122.1, 124.2, 124.8, 127.9, 137.9, 169.2, 172.3$  ppm.

**5.1.131 4'-Biphenyl-*N*-methylethanamin (233a)**

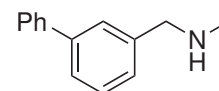
Zu einer Lösung aus 4-Biphenylcarboxaldehyd (**20**) (182.2 mg, 1.0 mmol) in TFE (1.5 mL) wurde etwas MgSO<sub>4</sub> gegeben und die Reaktion wurde auf 100 °C erhitzt. Anschließend wurde eine *N*-Methylamin-Lösung (**232**) (33 wt% in EtOH, 124.5 µL, 31.1 mg, 1.0 mmol) gegeben und die Reaktion wurde für 10 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde NaBH<sub>4</sub> (45.4 mg, 1.2 mmol) zugegeben und für eine weitere Stunde auf 100 °C erhitzt. Anschließend wurde ein erneutes Äquivalent an *N*-Methylamin-Lösung und NaBH<sub>4</sub> zugegeben und die Reaktion wurde für 1 weitere Stunde fortgesetzt. Anschließend wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 97.5:2.5) wurde ein farbloser Feststoff (126.3 mg, 0.64 mmol, 64%) erhalten.



R<sub>f</sub> = 0.56 (DCM/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.55 (s, 1H), 2.51 (s, 3H), 3.82 (s, 2H), 7.31 - 7.38 (m, 1H), 7.38 - 7.48 (m, 4H), 7.54 - 7.64 ppm (m, 4H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 36.1, 55.7, 127.0, 127.1, 127.1, 128.6, 128.7, 139.2, 139.9, 141.0 ppm.

**5.1.132 3'-Biphenyl-*N*-methylethanamin (233b)**

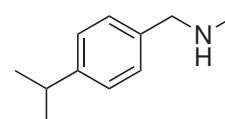
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.131** unter Verwendung von 3-Biphenylcarboxaldehyd (**231a**) (182.2 mg, 1.0 mmol) als farbloser Feststoff (112.5 mg, 0.57 mmol, 57%) erhalten.



R<sub>f</sub> = 0.51 (DCM/MeOH 95:5); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.72 (s, 1H), 2.51 (s, 3H), 3.84 (s, 2H), 7.30 - 7.39 (m, 2H), 7.39 - 7.48 (m, 3H), 7.49 - 7.52 (m, 1H), 7.56 - 7.58 (m, 1H), 7.60 - 7.64 ppm (m, 2H).

**5.1.133 4-(2'-Propyl)phenyl-*N*-methylethanamin (233c)**

In einem Mikrowellenvial wurde 4-(2'-Propyl)phenylcarbaldehyd (**231b**) (148.2 mg, 1.0 mmol), eine *N*-Methylamin-Lösung (**232**) (33 wt% in EtOH, 124.5 µL, 31.1 mg, 1.0 mmol) und NaCNBH<sub>3</sub> in EtOH (5 mL) suspendiert und die Reaktion wurde für 2 Minuten unter Mikrowellenstrahlung auf 130 °C erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 97.5:2.5) wurde ein farbloser Feststoff (52.3 mg, 0.32 mmol, 32%) erhalten.

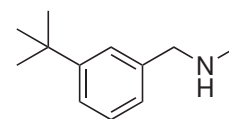


R<sub>f</sub> = 0.55 (DCM/MeOH 95:5); MS (+ESI) *m/z*: 164 [M+H]<sup>+</sup>.



**5.1.134 3-*tert.*-Butylphenyl-*N*-methylmethanamin (233d)**

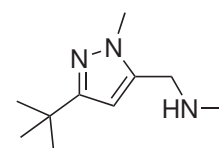
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.133** unter Verwendung von 3-*tert.*-Butylphenylcarbaldehyd (**231c**) (162.2 mg, 1.0 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (81.6 mg, 0.46 mmol, 46%) erhalten.



$R_f = 0.57$  (DCM/MeOH 95:5); MS (+ESI)  $m/z$ : 178  $[M+H]^+$ .

**5.1.135 3-(*tert.*-Butyl)-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl-*N*-methylmethanamin (233e)<sup>[313]</sup>**

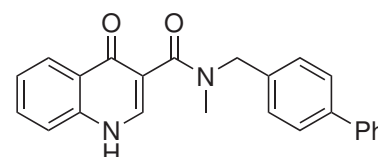
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.133** unter Verwendung von 3-(*tert.*-Butyl)-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-carboxaldehyd (**231d**) (166.2 mg, 1.0 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (18.1 mg, 0.10 mmol, 10%) erhalten.



$R_f = 0.49$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.29$  (s, 9 H), 2.55 (s, 3H), 3.43 (s, 1H), 3.70 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 6.11 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 30.5, 30.6, 31.8, 31.9, 36.0, 36.5, 41.2, 42.4, 50.7, 51.8, 103.4, 103.6, 139.1, 161.5$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 182  $[M+H]^+$ .

**5.1.136 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-((4'-biphenyl)methyl)amid (234a)<sup>[194]</sup>**

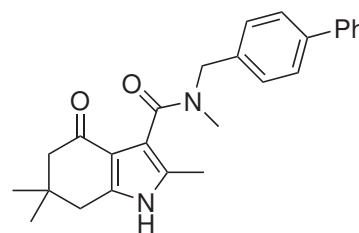
Zu einer Lösung aus 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**184**) (200.0 mg, 1.1 mmol) in trockenem DMF (5 mL) wurde HATU (804.0 mg, 2.1 mmol), HOBt (250.3 mg, 1.3 mmol), 4'-Biphenyl-*N*-methylmethanamin (**233a**) (260.4 mg, 1.3 mmol) und DIPEA (276.0  $\mu\text{L}$ , 232.7 mg, 1.8 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 45h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion in destilliertes Wasser (30 mL) gegossen und die wässrige Phase wurde mit DCM (3x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 95:5) wurde ein farbloser Feststoff (332.6 mg, 0.94 mmol, 85%) erhalten.



$R_f = 0.39$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.99$  (s, 3H), 4.60 (s, 1H), 4.60 - 4.78 (m, 2H), 7.20 - 7.56 (m, 12H), 8.12 (s, 1H), 8.33 - 8.35 (m, 1H), 12.37 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 36.6, 60.4, 117.4, 118.9, 124.6, 125.6, 125.6, 126.1, 126.9, 127.2, 127.3, 127.3, 127.8, 128.7, 132.4, 135.3, 139.6, 140.3, 169.1, 174.4$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 369  $[M+H]^+$ .

### 5.1.137 2,6,6-Trimethyl-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-1*H*-indol-3-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-((4'-biphenyl)methyl)amid (**235a**)<sup>[319]</sup>

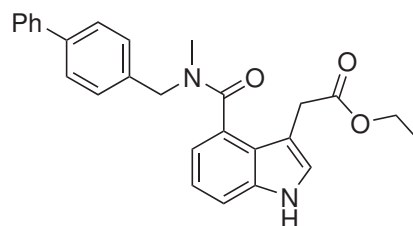
Zu einer Lösung aus 2,6,6-Trimethyl-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-1*H*-indol-3-carbonsäure (**185**) (11.1 mg, 0.050 mmol) in trockenem DMF (1 mL) wurde HATU (38.0 mg, 0.10 mmol), HOBT (6.8 mg, 0.05 mmol), 4'-Biphenyl-*N*-methylmethanamin (**233a**) (11.8 mg, 0.060 mmol) und DIPEA (14.8  $\mu$ L, 9.7 mg, 0.075 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 52h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion in destilliertes Wasser (20 mL) gegossen und die wässrige Phase wurde mit DCM (3x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 95:5) wurde ein farbloser Feststoff (14.1 mg, 0.035 mmol, 70%) erhalten.



R<sub>f</sub> = 0.27 (DCM/MeOH 95:5); MS (+ESI) *m/z*: 401 [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.1.138 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-((4'-biphenyl)methyl)amid (**236a**)<sup>[313]</sup>

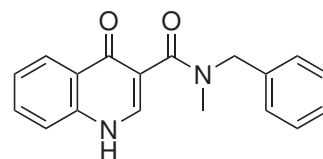
Zu einer Lösung aus 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure (**188**) (20.0 mg, 0.081 mmol) in trockenem DMF (4 mL) wurde HATU (61.6 mg, 0.16 mmol), HOBT (10.9 mg, 0.081 mmol), 4'-Biphenyl-*N*-methylmethanamin (**233a**) (19.2 mg, 0.097 mmol) und DIPEA (42.3  $\mu$ L, 31.4 mg, 0.24 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion in EtOAc (25 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (75 mL), destilliertem Wasser (75 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (75 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 2:3) wurde ein farbloser Feststoff (14.9 mg, 0.035 mmol, 43%) erhalten.



R<sub>f</sub> = 0.10 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.22 - 1.28 (m, 2H), 1.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 2.84 (s, 2H), 3.12 (s, 2H), 3.76 - 3.98 (m, 2H), 4.06 - 4.27 (m, 3H), 7.07 - 7.13 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.30 - 7.34 (m, 1H), 7.34 - 7.40 (m, 1H), 7.43 - 7.49 (m, 3H), 7.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.55 - 7.65 (m, 5H), 8.47 ppm (d, *J* = 9.5 Hz, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 14.3, 14.3, 31.4, 31.5, 32.7, 36.9, 50.2, 55.0, 60.5, 60.6, 108.2, 108.3, 112.2, 112.4, 117.6, 118.1, 121.4, 121.5, 123.3, 123.4, 124.7, 125.0, 127.0, 127.0, 127.3, 127.4, 127.4, 127.4, 127.8, 128.1, 128.8, 128.8, 129.0, 135.9, 136.2, 137.0, 140.3, 140.4, 140.6, 172.1, 172.6 ppm; MS (+ESI) *m/z*: 427 [M+H]<sup>+</sup>.

**5.1.139 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-benzyl-*N*-methyamid (234b)**<sup>[194]</sup>

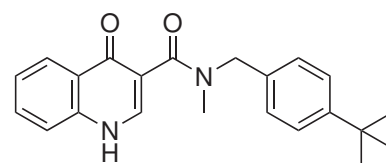
Zu einer Lösung aus 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure (**184**) (37.8 mg, 0.20 mmol) in trockenem DMF (5 mL) wurde HATU (152.0 mg, 0.40 mmol), HOBt (27.0 mg, 0.20 mmol), Phenyl-*N*-methyldimethanamin (**233f**) (24.2 mg, 0.24 mmol) und DIPEA (69.7  $\mu$ L, 51.0 mg, 0.40 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 45h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion in EtOAc (30 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (15 mL), destilliertem Wasser (15 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach RP-Flash-chromatographischer Aufreinigung (C<sub>18</sub>, Wasser/MeOH 1:1) wurde ein farbloser Feststoff (15.2 mg, 0.052 mmol, 26%) erhalten.



$R_f = 0.49$  (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 3.03$  (s, 3H), 4.71 (br. s., 2H), 5.31 (s, 1H), 7.38 - 7.53 (m, 5H), 7.60 - 7.83 (m, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 12.49 ppm (br. s., 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 293 [M+H]<sup>+</sup>.

**5.1.140 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(4'-*tert*-butylbenzyl)-*N*-methyamid (234d)**

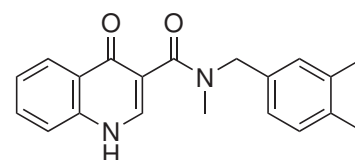
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (4'-*tert*-Butylphenyl)-*N*-methyldimethanamin (**233g**) (42.6 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (34.8 mg, 0.10 mmol, 100%) erhalten.



$R_f = 0.51$  (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.27$  (s, 9H), 2.90 (s, 3H), 4.58 (s, 2H), 7.16 - 7.25 (m, 1H), 7.33 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.36 - 7.41 (m, 1H), 7.55 - 7.65 (m, 2H), 8.05 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 11.21 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 349 [M+H]<sup>+</sup>.

**5.1.141 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-(3',4'-dimethylbenzyl)amid (234f)**

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von *N*-Methyl-(3',4'-dimethylphenyl)methanamin (**233h**) (35.8 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (17.9 mg, 0.056 mmol, 56%) erhalten.

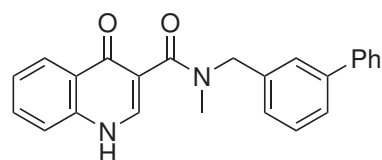


$R_f = 0.34$  (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 2.21$  (s, 6H), 3.01 (s, 3H), 4.67 (s, 2H), 7.06 (d,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 7.29 - 7.33 (m, 2H), 7.46 - 7.52 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 8.30 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 12.27 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 19.4, 19.8,$

36.6, 50.8, 117.0, 118.8, 124.7, 125.8, 126.0, 126.2, 128.9, 130.0, 132.4, 133.6, 135.9, 136.9, 139.4, 140.5, 169.3, 174.2 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 321 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 5.1.142 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(3'-biphenylmethyl)-*N*-methyramid (234g)

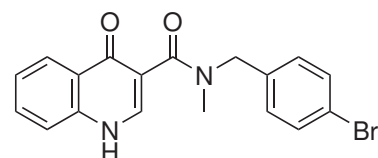
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (3'-Biphenyl)-*N*-methylmethanamin (**233b**) (47.3 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (20.3 mg, 0.055 mmol, 55%) erhalten.



$R_f$  = 0.54 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.05 (s, 3H), 4.65 - 4.85 (m, 2H), 7.28 - 7.60 (m, 12H), 8.11 (s, 1H), 8.30 - 8.32 (m, 1H), 12.17 ppm (s, 1H); <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 53.8, 60.8, 117.7, 119.2, 125.1, 126.2, 126.6, 127.5, 127.8, 129.1, 129.7, 132.8, 137.4, 139.9, 168.1, 176.3 ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 369 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 5.1.143 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(4'-brombenzyl)-*N*-methyramid (234h)

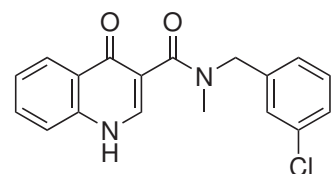
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (4'-Bromphenyl)-*N*-methylmethanamin (**233i**) (48.0 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (21.3 mg, 0.057 mmol, 57%) erhalten.



$R_f$  = 0.46 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 2.99 (s, 3H), 4.71 (s, 2H), 7.29 - 7.33 (m, 4H), 7.41 - 7.49 (m, 2H), 7.95 (s, 1H), 8.33 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 11.80 - 12.59 ppm (m, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 371 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 5.1.144 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(3'-chlorbenzyl)-*N*-methyramid (234i)

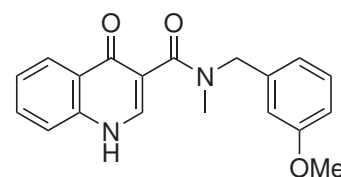
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (3'-Chlorphenyl)-*N*-methylmethanamin (**233j**) (37.4 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (7.8 mg, 0.024 mmol, 24%) erhalten.



$R_f$  = 0.51 (Cy/EtOAc 1:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.00 (s, 3H), 4.73 (br. s., 2H), 7.14 - 7.25 (m, 3H), 7.28 - 7.41 (m, 2H), 7.46 (s, 2H), 7.99 (s, 1H), 8.32 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 12.16 ppm (s, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 327 [M+H]<sup>+</sup>.

**5.1.145 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-(3'-methoxybenzyl)amid (234j)**

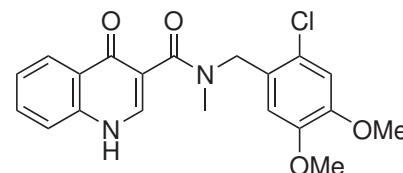
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von *N*-Methyl-(3'-methoxyphenyl)methanamin (**233k**) (36.3 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (20.0 mg, 0.062 mmol, 62%) erhalten.



$R_f = 0.39$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 3.03$  (s, 3H), 3.71 - 3.80 (m, 3H), 4.69 - 4.83 (m, 2H), 6.96 (s, 1H), 7.36 - 7.44 (m, 2H), 7.46 - 7.54 (m, 2H), 7.67 - 7.73 (m, 1H), 7.75 - 7.81 (m, 1H), 8.15 - 8.22 (m, 1H), 8.25 - 8.33 (m, 1H), 11.78 - 12.71 ppm (m, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 323  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.146 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(2'-chlor-4',5'-dimethoxybenzyl)-*N*-methylamid (234k)**

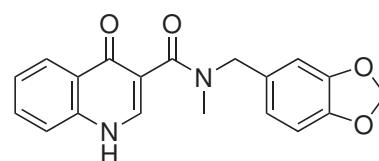
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (2-Chlor-4',5'-dimethoxyphenyl)-*N*-methylmethanamin (**233l**) (51.8 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (31.7 mg, 0.082 mmol, 82%) erhalten.



$R_f = 0.35$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.99 - 3.08$  (m, 3H), 3.85 - 3.86 (m, 3H), 3.93 (s, 3H), 4.79 (s, 2H), 6.83 (s, 1H), 7.29 - 7.34 (m, 1H), 7.38 - 7.41 (m, 1H), 7.44 - 7.49 (m, 1H), 7.49 - 7.54 (m, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.28 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 11.72 - 12.41 ppm (m, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 387  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.147 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5'-ylmethyl)-*N*-methylamid (234l)**

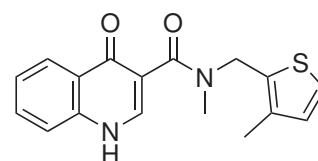
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (Benzo[*d*][1,3]dioxol-5'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233m**) (39.6 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (18.5 mg, 0.055 mmol, 55%) erhalten.



$R_f = 0.52$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 337  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.148 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)amid (234q)**

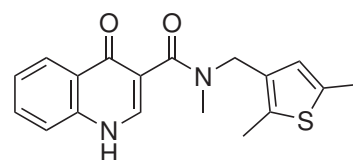
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von *N*-Methyl-(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)-methanamin (**233q**) (33.9 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (23.1 mg, 0.074 mmol, 74%) erhalten.



$R_f = 0.55$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.14 - 2.26$  (m, 3H), 3.04 (s, 3H), 4.81 (s, 2H), 6.77 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 7.05 - 7.12 (m, 1H), 7.30 - 7.37 (m, 1H), 7.38 - 7.47 (m, 1H), 7.52 - 7.61 (m, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.30 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 11.94 - 13.08 ppm (m, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 313  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.149 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)amid (234r)**

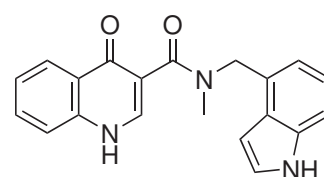
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von *N*-Methyl-(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)methanamin (**233q**) (37.3 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (20.2 mg, 0.062 mmol, 62%) erhalten.



$R_f = 0.55$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 327  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.150 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(1'*H*-indol-4'-ylmethyl)-*N*-methylamid (234v)**

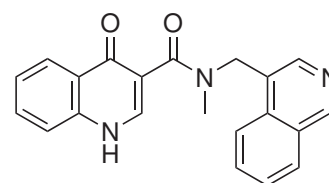
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (1'*H*-Indol-4'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233v**) (38.5 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (4.6 mg, 0.014 mmol, 14%) erhalten.



$R_f = 0.29$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 332  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.151 4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure-*N*-(isochinolin-4'-yl-methyl)-*N*-methylanid (234z)

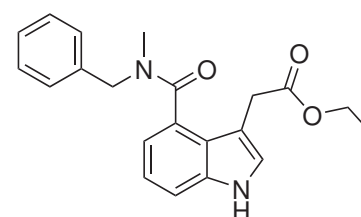
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.139** unter Verwendung von (Isochinolin-4'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233z**) (41.3 mg, 0.24 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (12.4 mg, 0.036 mmol, 36%) erhalten.



$R_f = 0.29$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 344  $[M+H]^+$ .

### 5.1.152 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-methyl-*N*-(benzyl)amid (236b)<sup>[313]</sup>

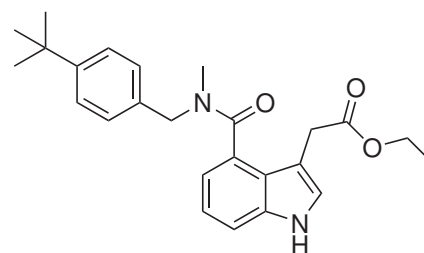
Zu einer Lösung aus 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure (**188**) (25.0 mg, 0.090 mmol) in trockenem DMF (3 mL) wurde HATU (76.8 mg, 0.18 mmol), HOBT (13.7 mg, 0.090 mmol), 4-Phenyl-*N*-methylmethanamin (**233f**) (14.5 mg, 0.12 mmol) und DIPEA (88.0  $\mu$ L, 65.3 mg, 0.049 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 18h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion in EtOAc (25 mL) verdünnt und die organische Phase wurde mit einer 1 M HCl-Lösung (50 mL), destilliertem Wasser (50 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach RP-Flash-chromatographischer Aufreinigung ( $C_{18}$ , Wasser/MeOH 1:1) wurde das MeOH unter reduziertem Druck entfernt und die resultierende Wasserphase wurde mit EtOAc (3x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. So wurde ein farbloser Feststoff (28.2 mg, 0.081 mmol, 91%) erhalten.



$R_f = 0.45$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.25 - 1.28$  (m, 6H), 2.79 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.79 (s, 4H), 4.13 (dq,  $J = 4.88$  Hz, 7.1 Hz, 4H), 4.19 (s, 4H), 7.06 - 7.08 (m, 2H), 7.17 (d,  $J = 2.4$  Hz, 2H), 7.20 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.29 - 7.41 (m, 8H), 7.43 - 7.46 (m, 2H), 8.49 ppm (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H);  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 14.2, 14.3, 14.3, 21.1, 31.4, 31.5, 32.7, 36.8, 50.5, 55.2, 60.4, 60.5, 60.6, 108.1, 108.3, 112.2, 112.4, 117.5, 118.0, 121.4, 121.5, 123.3, 124.7, 125.0, 127.0, 127.4, 127.4, 127.8, 128.1, 128.5, 128.6, 128.7, 136.8, 137.0, 137.1, 171.4, 172.1, 172.5$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 351  $[M+H]^+$ .

**5.1.153 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(4-*tert*-butylbenzyl)-*N*-(methyl)-amid (236d)**<sup>[313]</sup>

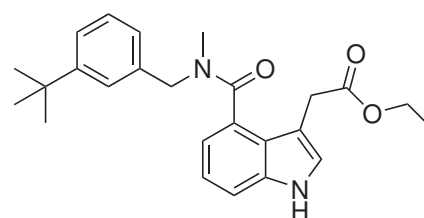
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abchnitt 5.1.152** unter Verwendung von 4-*tert*-Butylphenyl-*N*-methylmethanamin (**233g**) (21.5 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (30.0 mg, 0.074 mmol, 83%) erhalten.



$R_f = 0.60$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.25$  - 1.28 (m, 6H), 1.32 (s, 9H), 1.34 (s, 9H), 2.78 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.80 (s, 4H), 4.15 (s, 4H), 4.16 - 4.27 (m, 4H), 7.02 - 7.04 (m, 1H), 7.08 - 7.10 (m, 2H), 7.12 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.16 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.18 - 7.20 (m, 2H), 7.31 - 7.34 (m, 1H), 7.34 - 7.37 (m, 5H), 7.39 - 7.42 (m, 2H), 8.42 ppm (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.2, 14.3, 21.0, 31.3, 31.4, 31.4, 31.5, 32.6, 34.5, 34.5, 36.8, 50.1, 54.9, 60.4, 60.5, 60.6, 108.2, 108.4, 112.2, 112.3, 117.7, 118.1, 121.4, 121.6, 123.3, 123.3, 124.6, 124.9, 125.5, 125.6, 126.8, 127.9, 128.3, 128.3, 133.7, 134.1, 136.9, 137.0, 150.3, 171.2, 171.3, 172.0, 172.4, 172.5$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 407  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.154 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(3-*tert*-butylbenzyl)-*N*-(methyl)-amid (236e)**<sup>[313]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abchnitt 5.1.152** unter Verwendung von 3-*tert*-Butylphenyl-*N*-methylmethanamin (**233d**) (21.5 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (13.7 mg, 0.039 mmol, 39%) erhalten.

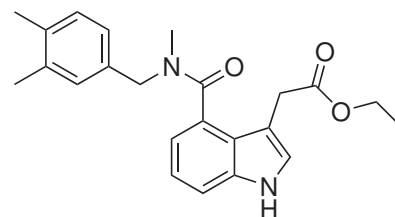


$R_f = 0.38$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 407  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .



### 5.1.155 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(methyl)-*N*-(3,4-dimethylbenzyl)-amid (236f)<sup>[313]</sup>

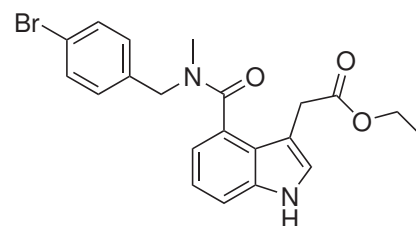
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von 3,4-Dimethylphenyl-*N*-methylmethanamin (**233h**) (18.1 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (18.9 mg, 0.050 mmol, 56%) erhalten.



$R_f = 0.43$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.24 - 1.33$  (m, 6H), 2.25 (s, 6H), 2.29 (d,  $J = 8.5$  Hz, 6H), 2.76 (s, 3H), 3.06 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 3.84 - 3.93 (m, 2H), 4.13 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.16 - 4.25 (m, 2H), 4.50 - 4.67 (m, 4H), 6.93 - 6.96 (m, 2H), 7.07 - 7.12 (m, 3H), 7.13 - 7.19 (m, 3H), 7.22 (s, 3H), 7.31 - 7.38 (m, 2H), 8.37 ppm (s, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 379  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.156 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(4'-brombenzyl)-*N*-(methyl)amid (236h)<sup>[313]</sup>

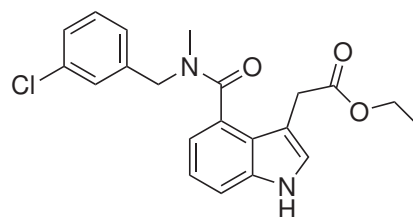
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von 4-Bromphenyl-*N*-methylmethanamin (**233i**) (24.2 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (34.3 mg, 0.080 mmol, 80%) erhalten.



$R_f = 0.48$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.29 - 1.33$  (m, 6H), 2.82 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.76 (s, 4H), 4.06 - 4.14 (m, 4H), 4.14 - 4.26 (m, 4H), 6.99 - 7.03 (m, 2H), 7.06 - 7.10 (m, 4H), 7.18 - 7.22 (m, 2H), 7.33 - 7.40 (m, 4H), 7.46 - 7.49 (m, 2H), 7.49 - 7.54 (m, 2H), 8.39 - 8.41 ppm (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.3, 22.7, 29.7, 31.4, 32.7, 36.9, 50.0, 54.7, 60.6, 108.2, 108.3, 112.3, 112.5, 117.4, 118.1, 121.4, 121.4, 121.5, 124.7, 125.0, 127.9, 128.6, 130.3, 131.8, 131.8, 136.0, 136.2, 137.0, 171.5, 172.1, 172.3, 172.6$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 429  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.157 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(3'-chlorbenzyl)-*N*-(methyl)amid (236i)<sup>[313]</sup>

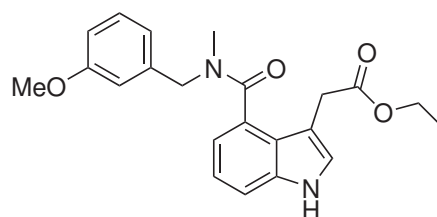
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von 3-Chlorphenyl-*N*-methylmethanamin (**233j**) (18.3 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (29.1 mg, 0.076 mmol, 84%) erhalten.



$R_f = 0.45$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.25 - 1.28$  (m, 3H),  $1.29 - 1.33$  (m, 3H),  $2.82$  (s, 3H),  $3.08$  (s, 3H),  $3.78$  (s, 4H),  $4.12$  (q,  $J = 7.1$  Hz, 4H),  $4.18$  (s, 4H),  $7.03$  (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H),  $7.06 - 7.11$  (m, 2H),  $7.18 - 7.23$  (m, 4H),  $7.28 - 7.40$  (m, 6H),  $7.44$  (s, 2H),  $8.38$  ppm (d,  $J = 6.4$  Hz, 2H); MS (+ESI)  $m/z$ : 385  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.158 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(3'-methoxybenzyl)-*N*-(methyl)amid (236j)<sup>[313]</sup>

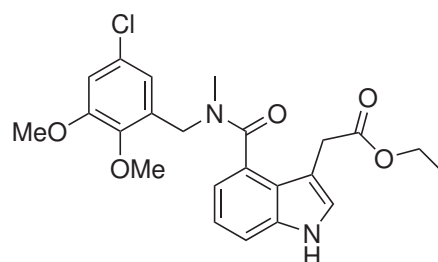
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von 3-Methoxyphenyl-*N*-methylmethanamin (**233k**) (18.3 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (25.4 mg, 0.067 mmol, 75%) erhalten.



$R_f = 0.38$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.25 - 1.28$  (m, 3H),  $1.31$  (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H),  $2.80$  (s, 3H),  $3.09$  (s, 3H),  $3.80$  (s, 3H),  $3.83 - 3.86$  (m, 3H),  $4.12$  (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H),  $4.16 - 4.26$  (m, 2H),  $4.57 - 4.70$  (m, 2H),  $6.73$  (s, 1H),  $6.78 - 6.84$  (m, 2H),  $6.85 - 6.87$  (m, 1H),  $6.99 - 7.04$  (m, 3H),  $7.06 - 7.09$  (m, 2H),  $7.15$  (s, 1H),  $7.18$  (s, 2H),  $7.28 - 7.37$  (m, 4H),  $8.45$  ppm (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.3, 14.3, 31.4, 31.5, 32.8, 36.9, 50.5, 55.2, 55.2, 55.2, 60.5, 60.6, 108.2, 108.3, 112.3, 112.4, 112.6, 112.7, 113.1, 113.9, 117.6, 118.1, 119.2, 120.8, 121.4, 121.5, 123.3, 123.3, 124.7, 124.9, 127.7, 128.1, 129.6, 129.7, 136.9, 137.0, 138.5, 138.7, 159.9, 159.9, 171.4, 172.1, 172.4, 172.5$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 381  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.159 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(2'-chlor-4',5'-dimethoxybenzyl)-*N*-(methyl)amid (236k)<sup>[313]</sup>

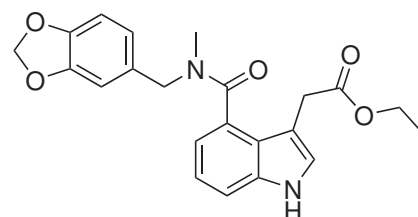
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von 2-Chlor-4,5-dimethoxyphenyl-*N*-methylmethanamin (**233i**) (26.1 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (32.4 mg, 0.073 mmol, 82%) erhalten.



$R_f = 0.40$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.24 - 1.33$  (m, 6H), 2.83 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.90 - 3.93 (m, 6H), 4.09 - 4.16 (m, 4H), 4.19 (s, 2H), 4.28 - 4.56 (m, 2H), 6.81 (d,  $J = 9.8$  Hz, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.98 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.00 - 7.03 (m, 1H), 7.05 - 7.10 (m, 1H), 7.13 - 7.21 (m, 4H), 7.33 - 7.39 (m, 2H), 8.42 - 8.51 ppm (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 13.1, 13.2, 13.2, 13.3, 20.1, 21.7, 28.7, 30.5, 30.9, 31.8, 36.1, 46.1, 51.2, 55.1, 55.1, 55.3, 59.4, 59.6, 59.7, 107.2, 107.3, 109.7, 111.1, 111.3, 111.6, 111.8, 116.4, 117.0, 120.4, 120.4, 122.3, 123.1, 123.8, 124.1, 124.1, 125.0, 125.6, 126.6, 126.9, 136.0, 136.0, 147.2, 147.2, 147.7, 147.9, 170.6, 171.2, 171.4$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 445  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.160 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5'-ylmethyl)-*N*-(methyl)amid (236l)<sup>[313]</sup>

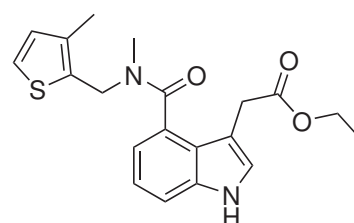
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von (Benzo[*d*][1,3]dioxol-5'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233m**) (20.0 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (27.9 mg, 0.071 mmol, 100%) erhalten.



$R_f = 0.40$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.28 - 1.32$  (m, 6H), 2.78 (s, 3H), 3.05 (s, 3H), 3.78 (br. s., 3H), 4.11 - 4.15 (m, 4H), 4.44 - 4.60 (m, 2H), 5.95 - 5.99 (m, 4H), 6.63 - 6.70 (m, 2H), 6.74 - 6.84 (m, 2H), 6.97 - 7.02 (m, 2H), 7.05 - 7.19 (m, 4H), 7.20 - 7.22 (m, 2H), 7.34 - 7.38 (m, 2H), 8.37 ppm (d,  $J = 11.9$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14.3, 14.3, 29.5, 29.7, 31.4, 31.4, 31.9, 32.4, 36.7, 50.2, 55.0, 60.6, 60.6, 101.0, 101.1, 107.5, 108.2, 108.2, 108.3, 108.4, 108.4, 109.1, 112.2, 112.4, 117.6, 118.1, 120.4, 121.5, 121.6, 122.0, 123.3, 123.4, 124.6, 124.9, 130.6, 131.0, 136.9, 146.9, 147.0, 147.9, 148.0, 171.3, 171.9, 172.4, 172.5$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 445  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.161 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(methyl)-*N*-(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)amid (236q)<sup>[313]</sup>

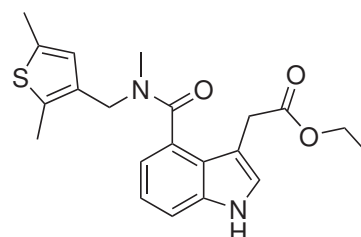
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von (3'-Methylthiophen-2'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233q**) (17.1 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (19.6 mg, 0.053 mmol, 52%) erhalten.



$R_f = 0.70$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.29 - 1.33$  (m, 6H), 2.34 (s, 3H), 2.83 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.80 (s, 4H), 4.11 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 4.15 - 4.24 (m, 2H), 6.76 (,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 6.86 (,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 7.00 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.15 - 7.22 (m, 7H), 7.35 - 7.38 (m, 2H), 8.33 - 8.42 ppm (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 13.5, 13.8, 14.1, 14.3, 22.7, 29.5, 29.7, 31.4, 31.5, 32.4, 36.7, 42.9, 48.6, 60.5, 60.6, 108.5, 112.3, 112.4, 118.2, 121.4, 121.7, 123.0, 123.3, 123.4, 123.7, 124.7, 124.9, 127.9, 129.9, 132.6, 134.8, 135.7, 137.0, 179.0$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 371  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.162 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(methyl)-*N*-(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)amid (236r)<sup>[313]</sup>

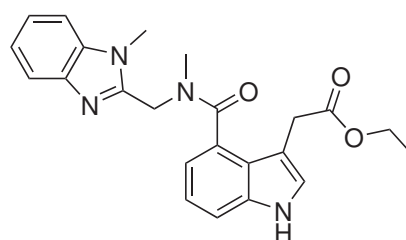
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von (2',5'-Dimethylthiophen-3'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233r**) (18.8 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (14.9 mg, 0.039 mmol, 39%) erhalten.



$R_f = 0.38$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 385  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.163 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(methyl)-*N*-(1-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-ylmethyl)amid (236t)<sup>[313]</sup>

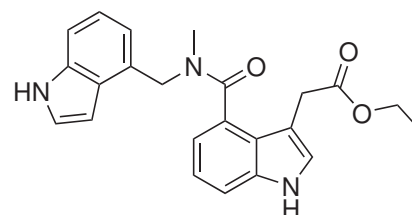
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von (1-Methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-*N*-methylmethanamin (**233t**) (21.2 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (14.7 mg, 0.036 mmol, 36%) erhalten.



$R_f = 0.19$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 405  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**5.1.164 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(1'*H*-indol-4'-ylmethyl)-*N*-(methyl)amid (236v)<sup>[313]</sup>**

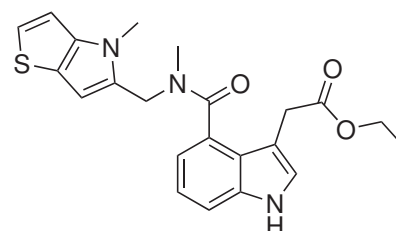
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von (1'*H*-Indol-4'-yl)-*N*-methylmethanamin (**233v**) (19.4 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (11.8 mg, 0.030 mmol, 30%) erhalten.



$R_f = 0.21$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 390  $[M+H]^+$ .

**5.1.165 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(methyl)-*N*-(4'-methyl-4'*H*-thieno[3',2'-*b*]pyrrol-5'-ylmethyl)amid (236w)<sup>[313]</sup>**

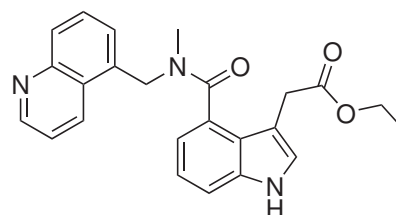
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von *N*-Methyl-(4'-methyl-4'*H*-thieno[3',2'-*b*]pyrrol-5'-yl)methanamin (**233w**) (21.8 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (19.4 mg, 0.047 mmol, 46%) erhalten.



$R_f = 0.33$  (Cy/EtOAc 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.29$  - 1.34 (m, 3H), 2.81 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 4.11 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 6.44 (s, 1H), 6.95 (dd,  $J = 6.0, 14.5$  Hz, 1H), 7.10 - 7.17 (m, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.37 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 8.36 - 8.43 ppm (m, 1H); MS (+ESI)  $m/z$ : 410  $[M+H]^+$ .

**5.1.166 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(chinolin-5'-ylmethyl)-*N*-(methyl)amid (236y)<sup>[313]</sup>**

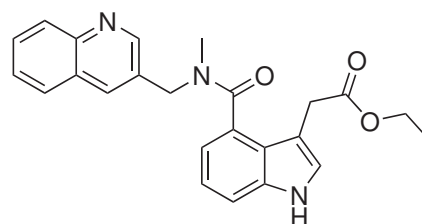
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von *N*-Methyl-(chinolin-5'-yl)methanamin (**233y**) (20.8 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (4.5 mg, 0.011 mmol, 11%) erhalten.



$R_f = 0.67$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 402  $[M+H]^+$ .

**5.1.167 3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1*H*-indol-4-carbonsäure-*N*-(chinolin-3'-ylmethyl)-*N*-(methyl)-amid (236z)**<sup>[313]</sup>

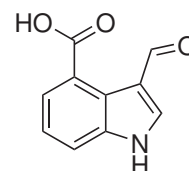
Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.152** unter Verwendung von *N*-Methyl-(chinolin-3'-yl)methanamin (**233z**) (20.8 mg, 0.12 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (6.9 mg, 0.017 mmol, 17%) erhalten.



$R_f = 0.17$  (Cy/EtOAc 1:1); MS (+ESI)  $m/z$ : 402  $[M+H]^+$ .

**5.1.168 3-Formyl-1*H*-indol-4-carbonsäure (240)**<sup>[313]</sup>

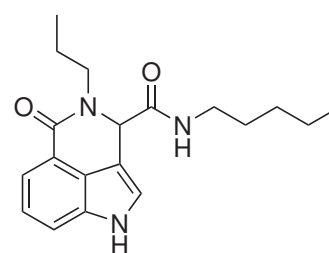
Zu einer Lösung aus 1*H*-Indol-4-carbonsäure (**206**) (91.9 mg, 0.57 mmol) in trockenem DMF (1.5 mL, 19.2 mmol) wurde bei 0°C Phosphorylchlorid (317.9  $\mu$ L, 521.3 mg, 3.4 mmol) getropft. Die Reaktionslösung wurde für 3h bei Raumtemperatur gerührt, wonach diese in eine 0°C-kalte, gesättigte  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (20 mL) gegossen wurde. Die entstandene Lösung wurde mit weiterer gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung neutralisiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der pH-Wert der Reaktionslösung mit einer 1 M HCl-Lösung auf einen Wert von 1-2 eingestellt und die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (Cy/EtOAc 85:15) wurde ein beiger Feststoff (56.8 mg, 0.30 mmol, 53%) erhalten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur<sup>[336]</sup> überein.



$R_f = 0.72$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 7.31$  (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.73 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 8.26 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 12.45 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 116.8, 118.2, 122.0, 122.4, 124.2, 124.7, 134.4, 137.9, 169.6, 188.1$  ppm.

### 5.1.169 5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo[4,3,2-de]isochinolin-3-carbonsäurepentylamid (241a)<sup>[313]</sup>

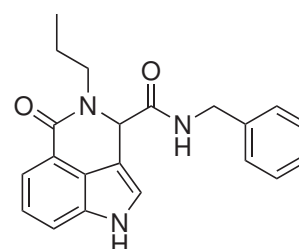
Zu einer Suspension aus 3-Formyl-1*H*-indol-4-carbonsäure (**240**) (50.0 mg, 0.26 mmol) in MeOH (0.79 mL) wurde *n*-Propylamin (21.7  $\mu$ L, 15.6 mg, 0.26 mmol) und 1-Pentylisocyanat (25.7 mg, 0.26 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 14h bei 40°C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und nach Flash-chromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH 95:5) wurde ein hellgelber Feststoff (14.9 mg, 0.046 mmol, 17%) erhalten.



$R_f = 0.33$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.80$  (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.95 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.11 - 1.19 (m, 2H), 1.19 - 1.27 (m, 2H), 1.37 - 1.45 (m, 2H), 1.66 - 1.78 (m, 2H), 2.73 (ddd,  $J = 5.7, 9.5, 13.7$  Hz, 1H), 3.03 - 3.11 (m, 1H), 3.30 (qd,  $J = 6.9, 13.7$  Hz, 1H), 4.36 (ddd,  $J = 6.1, 9.5, 13.7$  Hz, 1H), 5.59 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 6.25 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 7.27 - 7.29 (m, 2H), 7.47 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.67 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 11.3, 13.9, 20.2, 22.1, 28.8, 39.7, 49.0, 63.6, 105.9, 114.7, 117.8, 119.5, 120.4, 123.5, 127.1, 132.9, 163.9, 171.1$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 328  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 5.1.170 5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo[4,3,2-de]isochinolin-3-carbonsäurebenzylamid (241b)<sup>[313]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.169** unter Verwendung von Benzylisocyanat (35.2 mg, 0.26 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (16.4 mg, 0.047 mmol, 18%) erhalten.

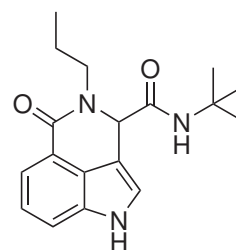


$R_f = 0.35$  (DCM/MeOH 95:5);  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 0.85$  (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.49 - 1.59 (m, 1H), 1.59 - 1.69 (m, 1H), 2.64 (ddd,  $J = 5.5, 8.9, 13.8$  Hz, 1H), 4.04 (ddd,  $J = 6.6, 9.0, 13.8$  Hz, 1H), 4.28 (t,  $J = 5.1$  Hz, 2H), 5.64 (s, 1H), 7.18 - 7.25 (m, 5H), 7.29 - 7.33 (m, 2H), 7.39 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 7.48 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 8.87 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 11.24 ppm (s, 1H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 11.4, 20.1, 42.4, 47.6, 61.7, 105.6, 114.5, 115.9, 120.3, 122.5, 126.9, 127.2, 127.3, 128.3, 132.9, 139.2, 163.1, 170.2$  ppm; MS (+ESI)  $m/z$ : 348  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

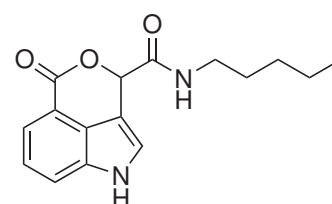
**5.1.171 5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo[4,3,2-*de*]isochinolin-3-carbonsäure-*tert.*-butylamid (241c)**<sup>[313]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.169** unter Verwendung von *tert.*-Butylisocyanat (21.9 mg, 0.26 mmol) durchgeführt und es wurde ein farbloser Feststoff (34.0 mg, 0.11 mmol, 41%) erhalten.

$R_f = 0.38$  (DCM/MeOH 95:5); MS (+ESI)  $m/z$ : 314  $[M+H]^+$ .

**5.1.172 5-Oxo-1,5-dihydro-3*H*-pyrano[3,4,5-*cd*]indol-3-carbonsäurepentylamid (242a)**<sup>[313]</sup>

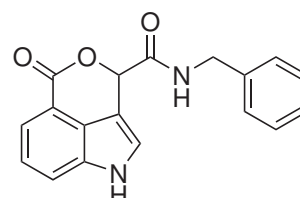
Zu einer Suspension aus 3-Formyl-1*H*-indol-4-carbonsäure (**240**) (50.0 mg, 0.26 mmol) in MeOH (1.0 mL) wurde 1-Pentylisocyanat (25.7 mg, 0.26 mmol) gegeben und die Reaktionslösung wurde für 15h bei 40°C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt wurde mittels LC/MS analysiert.



MS (+ESI)  $m/z$ : 287  $[M+H]^+$ .

**5.1.173 5-Oxo-1,5-dihydro-3*H*-pyrano[3,4,5-*cd*]indol-3-carbonsäurebenzylamid (242b)**<sup>[313]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.172** unter Verwendung von Benzylisocyanat (35.2 mg, 0.26 mmol) durchgeführt.

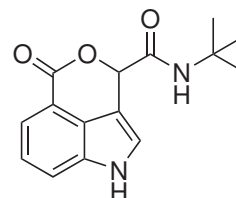


MS (+ESI)  $m/z$ : 307  $[M+H]^+$ .

**5.1.174 5-Oxo-1,5-dihydro-3*H*-pyrano[3,4,5-*cd*]indol-3-carbonsäure-*tert.*-butylamid (242c)**<sup>[313]</sup>

Die Zielverbindung wurde entsprechend der Vorschrift in **Abschnitt 5.1.172** unter Verwendung von *tert.*-Butylisocyanat (21.9 mg, 0.26 mmol) durchgeführt.

MS (+ESI)  $m/z$ : 273  $[M+H]^+$ .





## 5.2 HPLC-Analytik

### 5.2.1 Bestimmung des $\log D_{7,4}$ -Werts

Die Bestimmung des  $\log D_{7,4}$ -Werts wurde entsprechend der EPA-Richtlinie „OPPTS 830.7570“<sup>[214]</sup> durchgeführt.

Dazu wurden folgende Referenzverbindungen verwendet: Acetophenon ( $\log P = 1,7$ ), Benzoesäuremethylester ( $\log P = 2,1$ ), Benzoesäureethylester ( $\log P = 2,6$ ), Benzophenon ( $\log P = 3,2$ ), Benzoesäurephenylester ( $\log P = 3,6$ ), Diphenylether ( $\log P = 4,2$ ), Dibenzyl ( $\log P = 4,8$ ) und Triphenylamin ( $\log P = 5,7$ ).

Für die  $\log D_{7,4}$ -Wertbestimmung wurden die Referenzverbindungen und Analyten einzeln in MeOH oder 2-PropOH ( $c = 1 \text{ mg}/0,5 \text{ mL}$ ) gelöst. Anschließend wurde zu jeder Lösung eine 1 mM Uracil-Lösung (in MeOH, 1:1 v/v) gegeben und es wurde mit weiterem MeOH fünfmal verdünnt. Abschließend wurde jede Lösung sowohl einzeln, als auch in Kombination (mit und ohne zu untersuchende Verbindung) vermessen. Jede Messung wurde 3x wiederholt.

HPLC-System:	Agilent Technologies 1100
Säule:	Phenomenex Kinetex C18 (2,6 $\mu\text{m}$ , 100,0 $\times$ 2,1 mm)
Säulentemperatur:	nicht thermostatisiert
Mobile Phase:	A: 95% $\text{NH}_4\text{HCOO}$ -Puffer, 21,05 mM, pH 7,4, 5% MeOH B: 5% $\text{NH}_4\text{HCOO}$ -Puffer, 360 mM, pH 7,4, 95% MeOH
Flussrate:	0,25 mL/min
Gradient:	50 min linear (100% A zu 100% B), 2 min linear zu 100% A, 8 min 100% A
Detektion:	Absorptionsmessungen bei 210 nm, 230 nm, 250 nm, 254 nm (Referenzwellenlänge je bei 360 nm)
Proben:	1 mL
Injektionsvolumen:	5 $\mu\text{L}$
Messwiederholungen:	3

### 5.2.2 Bestimmung der kinetischen Löslichkeit

Für die Bestimmung der kinetischen Löslichkeit wurden von den Analyten zunächst Kalibriergeraden ausgehend von einer 10 mM DMSO-Stock-Lösung in MeOH aufgestellt. Dabei wurden die folgenden Konzentrationen verwendet: 100  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 12,5  $\mu\text{M}$ , 6,25  $\mu\text{M}$ , 3,125  $\mu\text{M}$ , 1,5625  $\mu\text{M}$ , 0,78125  $\mu\text{M}$ . Dann wurde die Stocklösung 20-fach in Phosphat-Puffern ( $c = 50 \text{ mM}$ ) mit verschiedenen pH-Werten (3,0, 7,4, 9,0) verdünnt, für 30 Minuten bei  $T = 25^\circ\text{C}$  inkubiert und anschließend über einen HPLC-Spritzenfilter (Porengröße 0,45  $\mu\text{m}$ ) filtriert. Vor der Vermessung über ein HPLC-MS/SIM-System wurde zu jeder Probe eine 5 mM Trazodon-Lösung als interner Standard gegeben (1:1). Jede Probe wird mindestens einmal repliziert.

HPLC-System:	2 x Shimadzu: LC-20 AD XR (Pumpen)
Säule:	Phenomenex Kinetex XB-C18, (2,6 $\mu\text{m}$ , 50,0 $\times$ 2,1 mm)
Säulentemperatur:	25 $^\circ\text{C}$
Mobile Phase:	A: 95% $\text{NH}_4\text{HCOO}$ -Puffer, 10,53 mM, pH 2,7, 5% MeOH B: 5% $\text{NH}_4\text{HCOO}$ -Puffer, 200 mM, pH 2,7, 95% MeOH
Flussrate:	0,25 mL/min
Gradient:	10% B für 1,5 Minuten, innerhalb von 4 Minuten auf 60% B, innerhalb von 7,5 Minuten auf 100% B, 2 Minuten auf 100% B, innerhalb von 2 Minuten auf 10% B, 3 Minuten auf 10% B
Detektion:	MS-8030; MS(ESI <sup>+</sup> )-SIM
Proben:	100 $\mu\text{L}$
Injektionsvolumen:	5 $\mu\text{L}$
Messwiederholungen:	2

### 5.2.3 Bestimmung der chemischen und metabolischen Stabilität

Für die Bestimmung der chemischen Stabilität wurde eine 1 mM DMSO-Lösung des Analyten in einem Phosphat-Puffer ( $c = 10 \text{ mM}$ ,  $\text{pH} = 7.4$ ) verdünnt (99:1 v/v) und über eine HPLC/MS-SIM-Methode die relative Substratkonzentration zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt.

Für die Plasmastabilität wurde eine 1 mM-DMSO-Lösung des Analyten in gepooltem Ratten- oder humanem Plasma verdünnt (99:1 v/v) und bei  $37^\circ\text{C}$  inkubiert. Zu verschiedenen Zeitpunkten (0, 10, 20, 40, 60 Minuten) wurden Aliquots entnommen, welche sofort mit einer methanolischen  $10 \mu\text{M}$  Trazodon-Lösung verdünnt (1:1 v/v) und intensiv vermischt wurden. Der Niederschlag wurde mittels zweifacher Zentrifugation entfernt und der Überstand wurde über eine HPLC/MS-SIM-Methode vermessen.

Die mikrosomale Stabilität wurde bestimmt, indem  $5 \mu\text{L}$  einer 1mM DMSO-Lösung des Analyten mit  $472,5 \mu\text{L}$  eines Phosphatpuffers ( $c = 100 \text{ mM} + 1 \text{ mM MgCl}_2$ ,  $\text{pH} = 7,4$ ) und mit  $12,5 \mu\text{L}$  gepoolten Ratten- oder humanen Lebermikrosomen vermischt werden. Diese Lösung wurde bei  $37^\circ\text{C}$  vorinkubiert und zum Starten des mikrosomalen Abbaus wurde  $10 \mu\text{L}$  einer NADPH-Lösung ( $c = 50 \text{ mM}$  in Wasser) zugegeben und nach definierten Zeitpunkten (0, 10, 20, 40, 60 Minuten) wurden Aliquots genommen, welche sofort mit einer methanolischen  $10 \mu\text{M}$  Trazodon-Lösung verdünnt (1:1 v/v) und intensiv vermischt wurden. Der Niederschlag wurde mittels zweifacher Zentrifugation entfernt und der Überstand wurde über eine HPLC/MS-SIM-Methode vermessen.

Jede Probe wurde mindestens zweimal angesetzt und auch zweimal vermessen.

Die *intrinsische Clearance* wurde über nachfolgende Formel bestimmt:

$$CL_{\text{int}} = \frac{\text{Inkubationsvolumen}[\text{mL}] \times \ln(2)}{\text{Proteinmenge}[\text{mg}] \times t_{1/2}} \quad (1)$$

HPLC-System:	2 x Shimadzu: LC-20 AD XR (Pumpen)
Säule:	Phenomenex Kinetex XB-C18, ( $2,6 \mu\text{m}$ , $50,0 \times 2,1 \text{ mm}$ )
Säulentemperatur:	$25^\circ\text{C}$
Mobile Phase:	A: 95% $\text{NH}_4\text{HCOO}$ -Puffer, $10,53 \text{ mM}$ , $\text{pH} 2,7$ , 5% MeOH B: 5% $\text{NH}_4\text{HCOO}$ -Puffer, $200 \text{ mM}$ , $\text{pH} 2,7$ , 95% MeOH
Flussrate:	$0,25 \text{ mL/min}$
Gradient:	10% B für 1,5 Minuten, innerhalb von 4 Minuten auf 60% B, innerhalb von 7,5 Minuten auf 100% B, 2 Minuten auf 100% B, innerhalb von 2 Minuten auf 10% B, 3 Minuten auf 10% B
Detektion:	MS-8030; MS(ESI+)-SIM
Proben:	$100 \mu\text{L}$
Injektionsvolumen:	$5 \mu\text{L}$
Messwiederholungen:	2

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] M. Naghavi u. a., „Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016“, *The Lancet* **2017**, *390*, 1151–1210.
- [2] Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, Anzahl der Gestorbenen nach ausgewählten Todesursachen, **2015**, <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/eckdaten-tu.html?nn=210776> (besucht am 27. 05. 2019).
- [3] World Health Organization, WHO, *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*, World Health Organisation, **2012**, 161 Seiten.
- [4] E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting, *Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, **2008**.
- [5] A. J. Edgley, H. Krum, D. J. Kelly, „Targeting Fibrosis for the Treatment of Heart Failure: A Role for Transforming Growth Factor- $\beta$ “, *Cardiovascular Therapeutics* **2010**, *30*, e30–e40.
- [6] V. F. M. Segers, R. T. Lee, „Stem-cell therapy for cardiac disease“, *Nature* **2008**, *451*, 937–942.
- [7] A. Lothar, L. Hein, „Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz“, *Pharmakon* **2017**, 182–187.
- [8] D. Schade, A. T. Plowright, „Medicinal Chemistry Approaches to Heart Regeneration“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58*, 9451–9479.
- [9] C. Mason, P. Dunnill, „A brief definition of regenerative medicine“, *Regenerative Medicine* **2008**, *3*, 1–5.
- [10] W. Li, K. Li, W. Wei, S. Ding, „Chemical Approaches to Stem Cell Biology and Therapeutics“, *Cell Stem Cell* **2013**, *13*, 270–283.
- [11] E. M. Green, R. T. Lee, „Proteins and Small Molecules for Cellular Regenerative Medicine“, *Physiological Reviews* **2013**, *93*, 311–325.
- [12] D. Längle, J. Halver, B. Rathmer, E. Willems, D. Schade, „Small Molecules Targeting in Vivo Tissue Regeneration“, *ACS Chemical Biology* **2014**, *9*, 57–71.
- [13] R. J. Akhurst, A. Hata, „Targeting the TGF $\beta$  signalling pathway in disease“, *Nature Reviews Drug Discovery* **2012**, *11*, 790–811.
- [14] B. Schmierer, C. S. Hill, „TGF $\beta$ -SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility“, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2007**, *8*, 970–982.
- [15] F. A. Millan, F. Denhez, P. Kondaiah, R. J. Akhurst, „Embryonic gene expression patterns of TGF beta 1, beta 2 and beta 3 suggest different developmental functions in vivo“, *Development* **1991**, *111*, 131–143.

- [16] S. Schultz-Cherry, S. Ribeiro, L. Gentry, J. E. Murphy-Ullrich, „Thrombospondin binds and activates the small and large forms of latent transforming growth factor-beta in a chemically defined system.“, *The Journal of biological chemistry* **1994**, *269*, 26775–26782.
- [17] J. S. Munger, X. Huang, H. Kawakatsu, M. J. Griffiths, S. L. Dalton, J. Wu, J. F. Pittet, N. Kaminski, C. Garat, M. A. Matthay, D. B. Rifkin, D. Sheppard, „The integrin alpha v beta 6 binds and activates latent TGF beta 1: a mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis.“, *Cell* **1999**, *96*, 319–328.
- [18] M. Shi, J. Zhu, R. Wang, X. Chen, L. Mi, T. Walz, T. A. Springer, „Latent TGF- $\beta$  structure and activation“, *Nature* **2011**, *474*, 343–349.
- [19] C. Neuzillet, A. Tijeras-Raballand, R. Cohen, J. Cros, S. Faivre, E. Raymond, A. de Gramont, „Targeting the TGF $\beta$  pathway for cancer therapy“, *Pharmacology & Therapeutics* **2015**, *147*, 22–31.
- [20] J. Massagué, „TGF $\beta$  signalling in context“, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2012**, *13*, 616–630.
- [21] Y. Y. Sheen, M.-J. Kim, S.-A. Park, S.-Y. Park, J.-S. Nam, „Targeting the Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling in Cancer Therapy“, *Biomolecules and Therapeutics* **2013**, *21*, 323–331.
- [22] G. Sahay, D. Y. Alakhova, A. V. Kabanov, „Endocytosis of nanomedicines“, *Journal of Controlled Release* **2010**, *145*, 182–195.
- [23] Y.-G. Chen, „Endocytic regulation of TGF- $\beta$  signaling“, *Cell Research* **2008**, *19*, 58–70.
- [24] Y. Shi, J. Massagué, „Mechanisms of TGF- $\beta$  Signaling from Cell Membrane to the Nucleus“, *Cell* **2003**, *113*, 685–700.
- [25] C. L. Chen, C. Y. Chen, Y. P. Chen, Y. B. Huang, M. W. Lin, D. C. Wu, H. T. Huang, M. Y. Liu, H. W. Chang, Y. C. Kao, P. H. Yang, „Betulinic acid enhances TGF- $\beta$  signaling by altering TGF- $\beta$  receptors partitioning between lipid-raft/caveolae and non-caveolae membrane microdomains in mink lung epithelial cells“, *Journal of Biomedical Science* **2016**, *23*, DOI 10.1186/s12929-016-0229-4.
- [26] Y. E. Zhang, „Non-Smad pathways in TGF- $\beta$  signaling“, *Cell Research* **2008**, *19*, 128–139.
- [27] R. Derynck, K. Miyazono, *The TGF- $\beta$  Family, TGF- $\beta$  and the TGF- $\beta$  Family*, Cold Spring Harbor Laboratory, **2007**, Kapitel 2, Seiten 29–43.
- [28] R. Derynck, R. J. Akhurst, A. Balmain, „TGF- $\beta$  signaling in tumor suppression and cancer progression“, *Nature Genetics* **2001**, *29*, 117–129.
- [29] R. J. Coffey, N. J. Sipes, C. C. Bascom, R. Graves-Deal, C. Y. Pennington, B. E. Weissman, H. L. Moses, „Growth modulation of mouse keratinocytes by transforming growth factors.“, *Cancer Research* **1988**, *48*, 1596–1602.

- [30] R. R. Gomis, C. Alarcon, W. He, Q. Wang, J. Seoane, A. Lash, J. Massague, „A FoxO-Smad synexpression group in human keratinocytes“, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, *103*, 12747–12752.
- [31] P. M. Siegel, W. Shu, J. Massagué, „Mad Upregulation and *Id2* Repression Accompany Transforming Growth Factor (TGF)- $\beta$ -mediated Epithelial Cell Growth Suppression“, *Journal of Biological Chemistry* **2003**, *278*, 35444–35450.
- [32] R. Kalluri, R. A. Weinberg, „The basics of epithelial-mesenchymal transition“, *Journal of Clinical Investigation* **2009**, *119*, 1420–1428.
- [33] D. Padua, J. Massagué, „Roles of TGF $\beta$  in metastasis“, *Cell Research* **2008**, *19*, 89–102.
- [34] E. R. Neptune, P. A. Frischmeyer, D. E. Arking, L. Myers, T. E. Bunton, B. Gayraud, F. Ramirez, L. Y. Sakai, H. C. Dietz, „Dysregulation of TGF- $\beta$  activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome“, *Nature Genetics* **2003**, *33*, 407–411.
- [35] J. P. Habashi, „Losartan, an AT1 Antagonist, Prevents Aortic Aneurysm in a Mouse Model of Marfan Syndrome“, *Science* **2006**, *312*, 117–121.
- [36] Y. P. Rubtsov, A. Y. Rudensky, „TGF $\beta$  signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity“, *Nature Reviews Immunology* **2007**, *7*, 443–453.
- [37] S. Ramesh, G. M. Wildey, P. H. Howe, „Transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ )-induced apoptosis: The rise and fall of Bim“, *Cell Cycle* **2009**, *8*, 11–17.
- [38] T. Maruyama, J. Li, J. P. Vaque, J. E. Konkel, W. Wang, B. Zhang, P. Zhang, B. F. Zamarron, D. Yu, Y. Wu, Y. Zhuang, J. S. Gutkind, W. Chen, „Control of the differentiation of regulatory T cells and TH17 cells by the DNA-binding inhibitor *Id3*“, *Nature Immunology* **2010**, *12*, 86–95.
- [39] M. Tian, J. R. Neil, W. P. Schiemann, „Transforming growth factor- $\beta$  and the hallmarks of cancer“, *Cellular Signalling* **2011**, *23*, 951–962.
- [40] Y. Drabsch, P. ten Dijke, „TGF- $\beta$  signalling and its role in cancer progression and metastasis“, *Cancer and Metastasis Reviews* **2012**, *31*, 553–568.
- [41] S. B. Jakowlew, „Transforming growth factor- $\beta$  in cancer and metastasis“, *Cancer and Metastasis Reviews* **2006**, *25*, 435.
- [42] C. Neuzillet, A. de Gramont, A. Tijeras-Raballand, L. de Mestier, J. Cros, S. Faivre, E. Raymond, „Perspectives of TGF- $\beta$  inhibition in pancreatic and hepatocellular carcinomas“, *Oncotarget* **2013**, *5*, 78–94.
- [43] A. Singh, J. Settleman, „EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer“, *Oncogene* **2010**, *29*, 4741–4751.
- [44] K. T. Weber, Y. Sun, S. C. Tyagi, J. P. M. Cleutjens, „Collagen Network of the Myocardium: Function, Structural Remodeling and Regulatory Mechanisms“, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **1994**, *26*, 279–292.

- [45] M. Kawaguchi, M. Techigawara, T. Ishihata, T. Asakura, F. Saito, K. Maehara, Y. Maruyama, „A comparison of ultrastructural changes on endomyocardial biopsy specimens obtained from patients with diabetes mellitus with and without hypertension“, *Heart and Vessels* **1997**, *12*, 267–274.
- [46] D. Mukherjee, S. Sen, „Alteration of Cardiac Collagen Phenotypes in Hypertensive Hypertrophy: Role of Blood Pressure“, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **1993**, *25*, 185–196.
- [47] D. Mukherjee, S. Sen, „Alteration of collagen phenotypes in ischemic cardiomyopathy.“, *Journal of Clinical Investigation* **1991**, *88*, 1141–1146.
- [48] P. Mays, J. Bishop, G. Laurent, „Age-related changes in the proportion of types I and III collagen“, *Mechanisms of Ageing and Development* **1988**, *45*, 203–212.
- [49] S.-I. Nunoda, A. Genda, N. Sugihara, A. Nakayama, S. Mizuno, R. Takeda, „Quantitative approach to the histopathology of the biopsied right ventricular myocardium in patients with diabetes mellitus“, *Heart and Vessels* **1985**, *1*, 43–47.
- [50] T. J. Regan, M. M. Lyons, S. S. Ahmed, G. E. Levinson, H. A. Oldewurtel, M. R. Ahmad, B. Haider, „Evidence for Cardiomyopathy in Familial Diabetes Mellitus“, *Journal of Clinical Investigation* **1977**, *60*, 885–899.
- [51] M. Pauschinger, D. Knopf, S. Petschauer, A. Doerner, W. Poller, P. L. Schwimmbeck, U. Kühl, H.-P. Schultheiss, „Dilated Cardiomyopathy Is Associated With Significant Changes in Collagen Type I/III ratio“, *Circulation* **1999**, *99*, 2750–2756.
- [52] S. Vasan, P. Foiles, H. Founds, „Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product–protein crosslinks“, *Archives of Biochemistry and Biophysics* **2003**, *419*, 89–96.
- [53] G. F. Avendano, R. K. Agarwal, R. I. Bashey, M. M. Lyons, B. J. Soni, G. N. Jyothirmayi, T. J. Regan, „Effects of glucose intolerance on myocardial function and collagen-linked glycation“, *Diabetes* **1999**, *48*, 1443–1447.
- [54] B. Swynghedauw, „Molecular Mechanisms of Myocardial Remodeling“, *Physiological Reviews* **1999**, *79*, 215–262.
- [55] R. Wolk, „Functional, structural, and dynamic basis of electrical heterogeneity in healthy and diseased cardiac muscle implications for arrhythmogenesis and anti-arrhythmic drug therapy“, *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, *84*, 207–231.
- [56] S. Frantz, K. Hu, A. Adamek, J. Wolf, A. Sallam, S. K. G. Maier, S. Lanning, H. Ling, G. Ertl, J. Bauersachs, „Transforming growth factor beta inhibition increases mortality and left ventricular dilatation after myocardial infarction“, *Basic Research in Cardiology* **2008**, *103*, 485–492.
- [57] M. Ikeuchi, H. Tsutsui, T. Shiomi, H. Matsusaka, S. Matsushima, J. Wen, T. Kubota, A. Takeshita, „Inhibition of TGF- $\beta$  signaling exacerbates early cardiac dysfunction but prevents late remodeling after infarction“, *Cardiovascular Research* **2004**, *64*, 526–535.

- [58] L. J. Ellmers, N. J. A. Scott, S. Medicherla, A. P. Pilbrow, P. G. Bridgman, T. G. Yandle, A. M. Richards, A. A. Protter, V. A. Cameron, „Transforming Growth Factor- $\beta$  Blockade Down-Regulates the Renin-Angiotensin System and Modifies Cardiac Remodeling after Myocardial Infarction“, *Endocrinology* **2008**, *149*, 5828–5834.
- [59] H. Okada, G. Takemura, K.-i. Kosai, Y. Li, T. Takahashi, M. Esaki, K. Yuge, S. Miyata, R. Maruyama, A. Mikami, S. Minatoguchi, T. Fujiwara, H. Fujiwara, „Postinfarction Gene Therapy Against Transforming Growth Factor- $\beta$  Signal Modulates Infarct Tissue Dynamics and Attenuates Left Ventricular Remodeling and Heart Failure“, *Circulation* **2005**, *111*, 2430–2437.
- [60] Y. Sun, „Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors“, *Cardiovascular Research* **2008**, *81*, 482–490.
- [61] M. K. Wendt, M. Tian, W. P. Schiemann, „Deconstructing the mechanisms and consequences of TGF- $\beta$ -induced EMT during cancer progression“, *Cell and Tissue Research* **2011**, *347*, 85–101.
- [62] R. Schlingensiepen, M. Goldbrunner, M. N. I. Szyrach, G. Stauder, P. Jachimczak, U. Bogdahn, F. Schulmeyer, P. Hau, K.-H. Schlingensiepen, „Intracerebral and Intrathecal Infusion of the TGF- $\beta$ 2-Specific Antisense Phosphorothioate Oligonucleotide AP 12009 in Rabbits and Primates: Toxicology and Safety“, *Oligonucleotides* **2005**, *15*, 94–104.
- [63] K. H. Schlingensiepen, B. Fischer-Blass, S. Schmaus, S. Ludwig, „Antisense therapeutics for tumor treatment: the TGF-beta2 inhibitor AP 12009 in clinical development against malignant tumors.“, *Recent results in cancer research. Fortschritte der Krebsforschung. Progres dans les recherches sur le cancer* **2008**, *177*, 137–150.
- [64] K.-H. Schlingensiepen, F. Jaschinski, S. A. Lang, C. Moser, E. K. Geissler, H. J. Schlitt, M. Kielmanowicz, A. Schneider, „Transforming growth factor-beta 2 gene silencing with trabedersen (AP 12009) in pancreatic cancer“, *Cancer Science* **2011**, *102*, 1193–1200.
- [65] U. Bogdahn, P. Hau, G. Stockhammer, N. K. Venkataramana, A. K. Mahapatra, A. Suri, A. Balasubramaniam, S. Nair, V. Oliushine, V. Parfenov, I. Poverenova, M. Zaaroor, P. Jachimczak, S. Ludwig, S. Schmaus, H. Heinrichs, K.-H. Schlingensiepen, „Targeted therapy for high-grade glioma with the TGF- $\beta$ 2 inhibitor trabedersen: results of a randomized and controlled phase IIb study“, *Neuro-Oncology* **2010**, *13*, 132–142.
- [66] H. Oettle, T. Seufferlein, T. Luger, R. M. Schmid, von Goetz Wichert, E. Endlicher, C. Garbe, K. K. Kaehler, A. Enk, A. Schneider, T. Rothhammer-Hampl, S. Grosser, P. Kiessling, „Final results of a phase I/II study in patients with pancreatic cancer, malignant melanoma, and colorectal carcinoma with trabedersen.“, *Journal of Clinical Oncology* **2012**, *30*, 4034–4034.
- [67] L. Bazhenova, E. Carrier, D. Shawler, H. Fakhrai, „Abstract 5367: Long-term survival in a phase II study of belagenpumatucel-L (TGF- $\beta$  antisense modified tumor cell vaccine) in non-small cell lung cancer (NSCLC).“, *Cancer Research* **2012**, *72*, 5367–5367.



- [68] J. Nemunaitis, M. Nemunaitis, N. Senzer, P. Snitz, C. Bedell, P. Kumar, B. Pappen, P. B. Maples, D. Shawler, H. Fakhrai, „Phase II trial of Belagenpumatucel-L, a TGF- $\beta$ 2 antisense gene modified allogeneic tumor vaccine in advanced non small cell lung cancer (NSCLC) patients“, *Cancer Gene Therapy* **2009**, *16*, 620–624.
- [69] J. Nemunaitis, R. O. Dillman, P. O. Schwarzenberger, N. Senzer, C. Cunningham, J. Cutler, A. Tong, P. Kumar, B. Pappen, C. Hamilton, E. DeVol, P. B. Maples, L. Liu, T. Chamberlin, D. L. Shawler, H. Fakhrai, „Phase II Study of Belagenpumatucel-L, a Transforming Growth Factor Beta-2 Antisense Gene-Modified Allogeneic Tumor Cell Vaccine in Non-Small-Cell Lung Cancer“, *Journal of Clinical Oncology* **2006**, *24*, 4721–4730.
- [70] A. L. Mead, T. T. L. Wong, M. F. Cordeiro, I. K. Anderson, P. T. Khaw, „Evaluation of Anti-TGF- $\beta$ 2 Antibody as a New Postoperative Anti-scarring Agent in Glaucoma Surgery“, *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **2003**, *44*, 3394.
- [71] C. P. Denton, P. A. Merkel, D. E. Furst, D. Khanna, P. Emery, V. M. Hsu, N. Silliman, J. Streisand, J. Powell, A. Åkesson, J. Coppock, F. van den Hoogen, A. Herrick, M. D. Mayes, D. Veale, J. Haas, S. Ledbetter, J. H. Korn, C. M. Black, J. R. Seibold, „Recombinant human anti-transforming growth factor  $\beta$ 1 antibody therapy in systemic sclerosis: A multicenter, randomized, placebo-controlled phase I/II trial of CAT-192“, *Arthritis & Rheumatism* **2006**, *56*, 323–333.
- [72] H. Trachtman, F. C. Fervenza, D. S. Gipson, P. Heering, D. R. W. Jayne, H. Peters, S. Rota, G. Remuzzi, L. C. Rump, L. K. Sellin, J. P. W. Heaton, J. B. Streisand, M. L. Hard, S. R. Ledbetter, F. Vincenti, „A phase 1, single-dose study of fresolimumab, an anti-TGF- $\beta$  antibody, in treatment-resistant primary focal segmental glomerulosclerosis“, *Kidney International* **2011**, *79*, 1236–1243.
- [73] CAT-152 0201 Trabeculectomy Study Group, „CAT-152 Trabeculectomy Study“, *Ophthalmology* **2007**, *114*, 1950.
- [74] J. C. Morris, G. I. Shapiro, A. R. Tan, D. P. Lawrence, T. E. Olencki, B. J. Dezube, F. J. Hsu, M. Reiss, J. A. Berzofsky, „Phase I/II study of GC1008: A human anti-transforming growth factor-beta (TGF $\beta$ ) monoclonal antibody (MAb) in patients with advanced malignant melanoma (MM) or renal cell carcinoma (RCC)“, *Journal of Clinical Oncology* **2008**, *26*, 9028–9028.
- [75] J. R. Ahnert, J. Baselga, E. Calvo, J. Seoane, I. Brana, E. Sicart, I. Gueorguieva, A. Cleverly, M. M. F. Lahn, S. Pillay, M. Holdhoff, J. O. Blakeley, M. A. Carducci, „First human dose (FHD) study of the oral transforming growth factor-beta receptor I kinase inhibitor LY2157299 in patients with treatment-refractory malignant glioma.“, *Journal of Clinical Oncology* **2011**, *29*, 3011–3011.
- [76] G. B. R. Ugoiti, A. D. Singh, J. C. Easaw, „Extended adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed glioblastoma multiforme“, *Journal of Neuro-Oncology* **2012**, *108*, 173–177.

- [77] G. J. Inman, „SB-431542 Is a Potent and Specific Inhibitor of Transforming Growth Factor- $\beta$  Superfamily Type I Activin Receptor-Like Kinase (ALK) Receptors ALK4, ALK5, and ALK7“, *Molecular Pharmacology* **2002**, *62*, 65–74.
- [78] C.-L. Chen, P.-H. Yang, Y.-C. Kao, P.-Y. Chen, C.-L. Chung, S.-W. Wang, „Pentabromophenol suppresses TGF- $\beta$  signaling by accelerating degradation of type II TGF- $\beta$  receptors via caveolae-mediated endocytosis“, *Scientific Reports* **2017**, *7*, 43206.
- [79] D. Schade, M. Lanier, E. Willems, K. Okolotowicz, P. Bushway, C. Wahlquist, C. Gilley, M. Mercola, J. R. Cashman, „Synthesis and SAR of *b*-Annulated 1,4-Dihydropyridines Define Cardiomyogenic Compounds as Novel Inhibitors of TGF $\beta$  Signaling“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 9946–9957.
- [80] E. Willems, J. Cabral-Teixeira, D. Schade, W. Cai, P. Reeves, P. J. Bushway, M. Lanier, C. Walsh, T. Kirchhausen, J. C. I. Belmonte, J. Cashman, M. Mercola, „Small Molecule-Mediated TGF- $\beta$  Type II Receptor Degradation Promotes Cardiomyogenesis in Embryonic Stem Cells“, *Cell Stem Cell* **2012**, *11*, 242–252.
- [81] A. Hantzsch, „Condensationsprodukte aus Aldehydammoniak und ketonartigen Verbindungen“, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1881**, *14*, 1637–1638.
- [82] J. A. Bull, J. J. Mousseau, G. Pelletier, A. B. Charette, „Synthesis of Pyridine and Dihydropyridine Derivatives by Regio- and Stereoselective Addition to N-Activated Pyridines“, *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 2642–2713.
- [83] J.-P. Wan, Y. Liu, „Recent advances in new multicomponent synthesis of structurally diversified 1,4-dihydropyridines“, *RSC Advances* **2012**, *2*, 9763.
- [84] S. Ko, M. N. V. Sastry, C. Lin, C.-F. Yao, „Molecular iodine-catalyzed one-pot synthesis of 4-substituted-1,4-dihydropyridine derivatives via Hantzsch reaction“, *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 5771–5774.
- [85] V. Sridharan, P. T. Perumal, C. Avendaño, J. C. Menéndez, „A new three-component domino synthesis of 1,4-dihydropyridines“, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 4407–4413.
- [86] S. Sueki, R. Takei, J. Abe, I. Shimizu, „Ytterbium-catalyzed synthesis of dihydropyridines“, *Tetrahedron Letters* **2011**, *52*, 4473–4477.
- [87] A. Debache, W. Ghalem, R. Boulcina, A. Belfaitah, S. Rhouati, B. Carboni, „An efficient one-step synthesis of 1,4-dihydropyridines via a triphenylphosphine-catalyzed three-component Hantzsch reaction under mild conditions“, *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 5248–5250.
- [88] T. Sirijindalert, K. Hansuthirakul, P. Rashatasakhon, M. Sukwattanasinitt, A. Ajavakom, „Novel synthetic route to 1,4-dihydropyridines from  $\beta$ -amino acrylates by using titanium(IV) chloride under facile conditions“, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5161–5167.

- [89] R. K. Vohra, C. Bruneau, J.-L. Renaud, „Lewis Acid-Catalyzed Sequential Transformations: Straightforward Preparation of Functional Dihydropyridines“, *Advanced Synthesis & Catalysis* **2006**, *348*, 2571–2574.
- [90] J. Moreau, A. Duboc, C. Hubert, J.-P. Hurvois, J.-L. Renaud, „Metal-free Brønsted acids catalyzed synthesis of functional 1,4-dihydropyridines“, *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 8647–8650.
- [91] J. Yang, C. Wang, X. Xie, H. Li, Y. Li, „Acid-Catalyzed Cascade Reactions of Enaminones with Aldehydes: C-H Functionalization To Afford 1,4-Dihydropyridines“, *European Journal of Organic Chemistry* **2010**, *2010*, 4189–4193.
- [92] E. Rafiee, S. Eavani, S. Rashidzadeh, M. Joshaghani, „Silica supported 12-tungstophosphoric acid catalysts for synthesis of 1,4-dihydropyridines under solvent-free conditions“, *Inorganica Chimica Acta* **2009**, *362*, 3555–3562.
- [93] M. Maheswara, V. Siddaiah, Y. K. Rao, Y.-M. Tzeng, C. Sridhar, „A simple and efficient one-pot synthesis of 1,4-dihydropyridines using heterogeneous catalyst under solvent-free conditions“, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2006**, *260*, 179–180.
- [94] J. H. Lee, „Synthesis of Hantzsch 1,4-dihydropyridines by fermenting bakers' yeast“, *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 7329–7330.
- [95] J. J. V. Eynde, A. Mayence, „Synthesis and Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines under Microwave Irradiation. An Overview“, *Molecules* **2003**, *8*, 381–391.
- [96] J.-C. Legeay, J. J. V. Eynde, J. P. Bazureau, „Ionic liquid phase technology supported the three component synthesis of Hantzsch 1,4-dihydropyridines and Biginelli 3,4-dihydropyrimidin-2-(1*H*)-ones under microwave dielectric heating“, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 12386–12397.
- [97] S.-X. Wang, Z.-Y. Li, J.-C. Zhang, J.-T. Li, „The solvent-free synthesis of 1,4-dihydropyridines under ultrasound irradiation without catalyst“, *Ultrasonics Sonochemistry* **2008**, *15*, 677–680.
- [98] V. K. Sharma, S. K. Singh, „Synthesis, utility and medicinal importance of 1,2- & 1,4-dihydropyridines“, *RSC Advances* **2017**, *7*, 2682–2732.
- [99] J. Bosch, M.-L. Bennasar, R. Lavilla, M. Alvarez, „Addition of Stabilized Carbon Nucleophiles to N-Alkylpyridinium Salts. Applications to Alkaloids Synthesis“, *HETEROCYCLES* **1988**, *27*, 789.
- [100] F. Kröhnke, „Synthesen mit Hilfe von Pyridiniumsalzen“, *Angewandte Chemie* **1953**, *65*, 605–606.
- [101] H. Ahlbrecht, F. Kröhnke, „Über N-Vinyl-pyridiniumsalze, X. Die Einwirkung von Methylketonen auf substituierte N-Vinylpyridiniumsalze“, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1967**, *704*, 133–139.
- [102] F. Kröhnke, K. Ellegast, E. Bertram, „Anlagerungen von Methyl- und Methylen-Ketonen an Pyridiniumbasen. Über Pseudobasen I“, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1956**, *600*, 176–197.

- [103] D. L. Comins, A. H. Abdullah, „Regioselective addition of Grignard reagents to 1-acylpyridinium salts. A convenient method for the synthesis of 4-alkyl(aryl)pyridines“, *The Journal of Organic Chemistry* **1982**, *47*, 4315–4319.
- [104] D. L. Comins, „ $\alpha$ -metalation of 1-(tert-butoxycarbonyl)-1,4-dihydropyridines“, *Tetrahedron Letters* **1983**, *24*, 2807–2810.
- [105] D. L. Comins, N. B. Mantlo, „Regioselective arylation of 3-bromopyridine“, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1983**, *20*, 1239–1243.
- [106] M.-L. Bannasar, T. Roca, M. Monerris, C. Juan, J. Bosch, „Synthesis of 4-functionalized aryl-3,5-diacyl-1,4-dihydropyridines“, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8099–8106.
- [107] J. Bräckow, K. T. Wanner, „Direct synthesis of 4,4-disubstituted N-silyl-1,4-dihydropyridines“, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2395–2404.
- [108] C. A. Sperger, K. T. Wanner, „Regioselective addition of organomagnesium reagents to N-silyl activated nicotinic acid esters - a convenient method for the synthesis of 4,4-disubstituted 1,4-dihydropyridines“, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 5824–5833.
- [109] B. E. Evans, K. E. Rittle, M. G. Bock, R. M. DiPardo, R. M. Freidinger, W. L. Whitter, G. F. Lundell, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. S. L. Chang, V. J. Lotti, D. J. Cerino, T. B. Chen, P. J. Kling, K. A. Kunkel, J. P. Springer, J. Hirshfield, „Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1988**, *31*, 2235–2246.
- [110] M. E. Welsch, S. A. Snyder, B. R. Stockwell, „Privileged scaffolds for library design and drug discovery“, *Current Opinion in Chemical Biology* **2010**, *14*, 347–361.
- [111] E. J. Barreiro in *RSC Drug Discovery*, Royal Society of Chemistry (RSC), **2015**, Seiten 1–15.
- [112] M. R. Marzabadi, X. Hong, D. Nagarathnam, S. Miao, G. Chiu, W. C. Wong, J. M. Wetzell, J. Fang, C. Forray, T. B. Chen, S. S. O'Malley, R. S. L. Chang, C. Gluchowski, „Design and synthesis of novel dihydropyridine  $\alpha$ -1A antagonists“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 2843–2848.
- [113] J.-I. Jiang, A. M. van Rhee, N. Melman, X.-d. Ji, K. A. Jacobson, „6-Phenyl-1,4-dihydropyridine Derivatives as Potent and Selective  $A_3$  Adenosine Receptor Antagonists“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1996**, *39*, 4667–4675.
- [114] B. Voigt, C. Coburger, J. Monár, A. Hilgeroth, „Structure-activity relationships of novel N-acyloxy-1,4-dihydropyridines as P-glycoprotein inhibitors“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 5110–5113.
- [115] P. Das, C. L. Bell-Horner, R. Q. Huang, A. Raut, E. B. Gonzales, Z. L. Chen, D. F. Covey, G. H. Dillon, „Inhibition of type a GABA receptors by L-type calcium channel blockers“, *Neuroscience* **2004**, *124*, 195–206.

- [116] M. I. Al-Dahan, R. H. Thalmann, „Effects of Dihydropyridine Calcium Channel Ligands on Rat Brain  $\gamma$ -Aminobutyric Acid<sub>B</sub> Receptors“, *Journal of Neurochemistry* **1989**, *53*, 982–985.
- [117] M. Gopalakrishnan, „(-)-(9S)-9-(3-Bromo-4-fluorophenyl)-2,3,5,6,7,9-hexahydrothieno[3,2-b]-quinolin-8(4H)-one 1,1-Dioxide (A-278637): A Novel ATP-Sensitive Potassium Channel Opener Efficacious in Suppressing Urinary Bladder Contractions. I. In Vitro Characterization“, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2002**, *303*, 379–386.
- [118] R. J. Altenbach, M. E. Brune, S. A. Buckner, M. J. Coghlan, A. V. Daza, A. Fabiyi, M. Gopalakrishnan, R. F. Henry, A. Khilevich, M. E. Kort, I. Milicic, V. E. Scott, J. C. Smith, K. L. Whiteaker, W. A. Carroll, „Effects of Substitution on 9-(3-Bromo-4-fluorophenyl)-5,9-dihydro-3H,4H-2,6-dioxo-4-azacyclopenta[b]naphthalene-1,8-dione, a Dihydropyridine ATP-Sensitive Potassium Channel Opener“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 6869–6887.
- [119] P. Ioan, E. Carosati, M. Micucci, G. Cruciani, F. Broccatelli, B. S. Zhorov, A. Chiarini, R. Budriesi, „1,4-Dihydropyridine Scaffold in Medicinal Chemistry, The Story so Far And Perspectives (Part 1): Action in Ion Channels and GPCRs“, *Current Medicinal Chemistry* **2011**, *18*, 4901–4922.
- [120] E. Carosati, P. Ioan, M. Micucci, F. Broccatelli, G. Cruciani, B. S. Zhorov, A. Chiarini, R. Budriesi, „1,4-Dihydropyridine Scaffold in Medicinal Chemistry, The Story So Far And Perspectives (Part 2): Action in Other Targets and Antitargets“, *Current Medicinal Chemistry* **2012**, *19*, 4306–4323.
- [121] S. Goldmann, „Entdeckung der Calcium-Antagonisten: Ein kurzer historischer Rückblick“, *Pharmazie in unserer Zeit* **2005**, *34*, 366–373.
- [122] F. Bossert, W. Vater, „1,4-Dihydropyridines - a basis for developing new drugs“, *Medicinal Research Reviews* **1989**, *9*, 291–324.
- [123] F. Bossert, W. Vater, „Dihydropyridine, eine neue Gruppe stark wirksamer Coronatherapeutika“, *Die Naturwissenschaften* **1971**, *58*, 578–578.
- [124] M. Schubert-Zsilavec, H. Stark, „Medizinische Chemie der L-Typ-Calcium-Kanalblocker: Dihydropyridine und Nicht-Dihydropyridine“, *Pharmazie in unserer Zeit* **2005**, *34*, 374–379.
- [125] K. V. Sashidhara, M. Kumar, V. Khedgikar, P. Kushwaha, R. K. Modukuri, A. Kumar, J. Gautam, D. Singh, B. Sridhar, R. Trivedi, „Discovery of Coumarin-Dihydropyridine Hybrids as Bone Anabolic Agents“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *56*, 109–122.
- [126] W. Wang, J. R. Walker, X. Wang, M. S. Tremblay, J. W. Lee, X. Wu, P. G. Schultz, „Identification of small-molecule inducers of pancreatic  $\beta$ -cell expansion“, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**, *106*, 1427–1432.
- [127] A. Krämer, T. Mentrup, B. Kleizen, E. Rivera-Milla, D. Reichenbach, C. Enzensperger, R. Nohl, E. Täuscher, H. Gärls, A. Ploubidou, C. Englert, O. Werz, H.-D. Arndt, C. Kaether, „Small molecules intercept Notch signaling and the early secretory pathway“, *Nature Chemical Biology* **2013**, *9*, 731–738.

- [128] J. M. Hyman, A. J. Firestone, V. M. Heine, Y. Zhao, C. A. Ocasio, K. Han, M. Sun, P. G. Rack, S. Sinha, J. J. Wu, D. E. Solow-Cordero, J. Jiang, D. H. Rowitch, J. K. Chen, „Small-molecule inhibitors reveal multiple strategies for Hedgehog pathway blockade“, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**, *106*, 14132–14137.
- [129] C. H. Arrowsmith, J. E. Audia, C. Austin, J. Baell, J. Bennett, J. Blagg, C. Bountra, P. E. Brennan, P. J. Brown, M. E. Bunnage, C. Buser-Doepner, R. M. Campbell, A. J. Carter, P. Cohen, R. A. Copeland, B. Cravatt, J. L. Dahlin, D. Dhanak, A. M. Edwards, M. Frederiksen, S. V. Frye, N. Gray, C. E. Grimshaw, D. Hepworth, T. Howe, K. V. M. Huber, J. Jin, S. Knapp, J. D. Kotz, R. G. Kruger, D. Lowe, M. M. Mader, B. Marsden, A. Mueller-Fahrnow, S. Müller, R. C. O’Hagan, J. P. Overington, D. R. Owen, S. H. Rosenberg, R. Ross, B. Roth, M. Schapira, S. L. Schreiber, B. Shoichet, M. Sundström, G. Superti-Furga, J. Taunton, L. Toledo-Sherman, C. Walpole, M. A. Walters, T. M. Willson, P. Workman, R. N. Young, W. J. Zuercher, „The promise and peril of chemical probes“, *Nature Chemical Biology* **2015**, *11*, 536–541.
- [130] D. Längle, V. Marquardt, E. Heider, B. Vigante, G. Duburs, I. Luntena, D. Flötgen, C. Golz, C. Strohmann, O. Koch, D. Schade, „Design, synthesis and 3D-QSAR studies of novel 1,4-dihydropyridines as TGF $\beta$ /Smad inhibitors“, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *95*, 249–266.
- [131] G. S. Sittampalam, N. P. Coussens, K. Brimacombe, A. Grossman, M. Arkin, D. Auld, C. Austin, J. Baell, B. Bejcek, T. D. Y. Chung, J. L. Dahlin, V. Devanaryan, T. L. Foley, M. Glicksman, M. D. Hall, J. V. Hass, J. Inglese, P. W. Iversen, S. D. Kahl, S. C. Kales, M. Lal-Nag, Z. Li, J. McGee, O. McManus, T. Riss, O. J. Trask, J. R. Weidner, M. Xia, X. Xu, Assay Guidance Manual, Early Drug Discovery and Development Guidelines: For Academic Researchers, Collaborators, and Start-up Companies, (Herausgeber: E. Company, the National Center for Advancing Translational Sciences), Bethesda (MD), **2004**.
- [132] I. Kola, J. Landis, „Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?“, *Nature Reviews Drug Discovery* **2004**, *3*, 711–716.
- [133] C. J. Manly, S. Louise-May, J. D. Hammer, „The impact of informatics and computational chemistry on synthesis and screening“, *Drug Discovery Today* **2001**, *6*, 1101–1110.
- [134] Cyprotex<sup>®</sup>, Everything you need to know about ADME, Version 2, **2015**.
- [135] D. Längle, T. R. Werner, F. Wesseler, E. Reckzeh, N. Schaumann, L. Drowley, M. Polla, A. T. Plowright, M. N. Hirt, T. Eschenhagen, D. Schade, „Toward Second-Generation Cardiomyogenic and Anti-cardiofibrotic 1,4-Dihydropyridine-Class TGF $\beta$  Inhibitors“, *ChemMedChem* **2019**, *14*, 810–822.
- [136] T. Takagi, C. Ramachandran, M. Bermejo, S. Yamashita, L. X. Yu, G. L. Amidon, „A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan“, *Molecular Pharmaceutics* **2006**, *3*, 631–643.

- [137] L. Di, E. Kerns, G. Carter, „Drug-Like Property Concepts in Pharmaceutical Design“, *Current Pharmaceutical Design* **2009**, *15*, 2184–2194.
- [138] L. Di, P. V. Fish, T. Mano, „Bridging solubility between drug discovery and development“, *Drug Discovery Today* **2012**, *17*, 486–495.
- [139] J. A. Wells, C. L. McClendon, „Reaching for high-hanging fruit in drug discovery at protein-protein interfaces“, *Nature* **2007**, *450*, 1001–1009.
- [140] G. M. Keserű, G. M. Makara, „Hit discovery and hit-to-lead approaches“, *Drug Discovery Today* **2006**, *11*, 741–748.
- [141] M. J. Waring, „Lipophilicity in drug discovery“, *Expert Opinion on Drug Discovery* **2010**, *5*, 235–248.
- [142] H. D. Williams, N. L. Trevaskis, S. A. Charman, R. M. Shanker, W. N. Charman, C. W. Pouton, C. J. H. Porter, „Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development“, *Pharmacological Reviews* **2013**, *65*, 315–499.
- [143] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, „Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings“, *Advanced Drug Delivery Reviews* **1997**, *23*, 3–25.
- [144] S. Venkatesh, R. A. Lipper, „Role of the Development Scientist in Compound Lead Selection and Optimization“, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2000**, *89*, 145–154.
- [145] S. R. Johnson, X.-Q. Chen, D. Murphy, O. Gudmundsson, „A Computational Model for the Prediction of Aqueous Solubility That Includes Crystal Packing, Intrinsic Solubility, and Ionization Effects“, *Molecular Pharmaceutics* **2007**, *4*, 513–523.
- [146] W. L. Jorgensen, E. M. Duffy, „Prediction of drug solubility from structure“, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54*, 355–366.
- [147] B. Faller, P. Ertl, „Computational approaches to determine drug solubility“, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, *59*, 533–545.
- [148] H.-S. Gwak, J.-S. Choi, H.-K. Choi, „Enhanced bioavailability of piroxicam via salt formation with ethanalamines“, *International Journal of Pharmaceutics* **2005**, DOI 10.1016/j.ijpharm.2005.03.016.
- [149] G. S. Paulekuhn, J. B. Dressman, C. Saal, „Trends in Active Pharmaceutical Ingredient Salt Selection based on Analysis of the Orange Book Database“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, *50*, 6665–6672.
- [150] M. Ishikawa, Y. Hashimoto, „Improvement in Aqueous Solubility in Small Molecule Drug Discovery Programs by Disruption of Molecular Planarity and Symmetry“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 1539–1554.

- [151] D. J. Richard, J. C. Verheijen, K. Curran, J. Kaplan, L. Toral-Barza, I. Hollander, J. Lucas, K. Yu, A. Zask, „Incorporation of water-solubilizing groups in pyrazolopyrimidine mTOR inhibitors: Discovery of highly potent and selective analogs with improved human microsomal stability“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19*, 6830–6835.
- [152] C. Bissantz, B. Kuhn, M. Stahl, „A Medicinal Chemist’s Guide to Molecular Interactions“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 5061–5084.
- [153] J. Rautio, H. Kumpulainen, T. Heimbach, R. Oliyai, D. Oh, T. Järvinen, J. Savolainen, „Prodrugs: design and clinical applications“, *Nature Reviews Drug Discovery* **2008**, *7*, 255–270.
- [154] V. J. Stella, K. W. Nti-Addae, „Prodrug strategies to overcome poor water solubility“, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, *59*, 677–694.
- [155] P. Ettmayer, G. L. Amidon, B. Clement, B. Testa, „Lessons Learned from Marketed and Investigational Prodrugs“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, *47*, 2393–2404.
- [156] H. Meyer, F. Bossert, H. Horstmann, „Dihydropyridine, III. Synthese von 2-Aminodihydropyridinen durch Michael-Addition“, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1977**, *1977*, 1895–1908.
- [157] D. Flötgen, „Design und Synthese von kardiogenen *b*-annelierten 1,4-Dihydropyridinen als Inhibitoren des TGF $\beta$ -Signalwegs“, Bachelorarbeit, Technische Universität Dortmund, **2013**.
- [158] R. Burges, D. Moisey, „Unique pharmacologic properties of amlodipine“, *The American Journal of Cardiology* **1994**, *73*, A2–A9.
- [159] J. E. Arrowsmith, S. F. Campbell, P. E. Cross, J. K. Stubbs, R. A. Burges, D. G. Gardiner, K. J. Blackburn, „Long-acting dihydropyridine calcium antagonists. 1. 2-Alkoxyethyl derivatives incorporating basic substituents“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1986**, *29*, 1696–1702.
- [160] R. N. Kankan, P. L. Srinivas, *Patent*, WO Patent App. PCT/GB2004/003,756, **2005**.
- [161] W. A. Carroll, K. A. Agrios, R. J. Altenbach, S. A. Buckner, Y. Chen, M. J. Coghlan, A. V. Daza, I. Drizin, M. Gopalakrishnan, R. F. Henry, M. E. Kort, P. R. Kym, I. Milicic, J. C. Smith, R. Tang, S. C. Turner, K. L. Whiteaker, H. Zhang, J. P. Sullivan, „Synthesis and Structure-Activity Relationships of a Novel Series of Tricyclic Dihydropyridine-Based K<sub>ATP</sub> Openers That Potently Inhibit Bladder Contractions in Vitro“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, *47*, 3180–3192.
- [162] O. Mitsunobu, „The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products“, *Synthesis* **1981**, *1981*, 1–28.
- [163] T. Tsunoda, M. Nagaku, C. Nagino, Y. Kawamura, F. Ozaki, H. Hioki, S. Itô, „Carbon-carbon bond formation with new Mitsunobu reagents“, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 2531–2534.
- [164] N. Schaumann, „Leitstruktur-Optimierung *b*-annelierter 1,4-Dihydropyridine zur Regeneration von Herzmuskelgewebe“, Magisterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2014**.
- [165] D. Flötgen, „Target-Identifizierung von neuartigen Inhibitoren des Transforming Growth Factor  $\beta$ -Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2015**.



- [166] T. H. V. Huynh, I. Shim, H. Bohr, B. Abrahamsen, B. Nielsen, A. A. Jensen, L. Bunch, „Structure-Activity Relationship Study of Selective Excitatory Amino Acid Transporter Subtype 1 (EAAT1) Inhibitor 2-Amino-4-(4-methoxyphenyl)-7-(naphthalen-1-yl)-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromene-3-carbonitrile (UCPH-101) and Absolute Configurational Assignment Using Infrared and Vibrational Circular Dichroism Spectroscopy in Combination with ab Initio Hartree-Fock Calculations“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 5403–5412.
- [167] F. Zymalkowski, P. Messinger, „Einige Synthesen mit *N*-Benzylglycinester“, *Archiv der Pharmazie* **1967**, *300*, 91–94.
- [168] B. Olofsson, K. Bogár, A.-B. L. Fransson, J.-E. Bäckvall, „Divergent Asymmetric Synthesis of 3,5-Disubstituted Piperidines“, *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 8256–8260.
- [169] F. E. Ziegler, G. B. Bennett, „Claisen rearrangement in indole alkaloid synthesis. Total synthesis of (+)-tabersonine“, *Journal of the American Chemical Society* **1973**, *95*, 7458–7464.
- [170] J. Kihlberg, F. Almqvist, A. Larsson, S. Spjut, „An Improved Procedure for the Synthesis of Enaminones - Dimer Building Blocks in  $\beta$ -Strand Mimetics“, *Synthesis* **2005**, *2005*, 2590–2596.
- [171] M. Tajbakhsh, R. Hosseinzadeh, H. Alinezhad, S. Ghahari, A. Heydari, S. Khaksar, „Catalyst-Free One-Pot Reductive Alkylation of Primary and Secondary Amines and *N,N*-Dimethylation of Amino Acids Using Sodium Borohydride in 2,2,2-Trifluoroethanol“, *Synthesis* **2010**, *2011*, 490–496.
- [172] L. Di, E. H. Kerns, H. Chen, S. L. Petusky, „Development and Application of an Automated Solution Stability Assay for Drug Discovery“, *Journal of Biomolecular Screening* **2006**, *11*, 40–47.
- [173] E. Kerns, „Pharmaceutical profiling in drug discovery“, *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 316–323.
- [174] C. E. Kibbey, S. K. Poole, B. Robinson, J. D. Jackson, D. Durham, „An integrated process for measuring the physicochemical properties of drug candidates in a preclinical discovery environment“, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2001**, *90*, 1164–1175.
- [175] L. Di, E. H. Kerns, *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization*, Academic Press, **2008**.
- [176] T. N. Thompson, „Optimization of metabolic stability as a goal of modern drug design“, *Medicinal Research Reviews* **2001**, *21*, 412–449.
- [177] C. B. Breitenlechner, T. Wegge, L. Berillon, K. Graul, K. Marzenell, W.-G. Friebe, U. Thomas, R. Schumacher, R. Huber, R. A. Engh, B. Masjost, „Structure-Based Optimization of Novel Azepane Derivatives as PKB Inhibitors“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, *47*, 1375–1390.

- [178] A. D. Borthwick, D. E. Davies, P. F. Ertl, A. M. Exall, T. M. Haley, G. J. Hart, D. L. Jackson, N. R. Parry, A. Patikis, N. Trivedi, G. G. Weingarten, J. M. Woolven, „Design and Synthesis of Pyrrolidine-5,5'-trans-Lactams (5-Oxo-hexahydropyrrolo[3,2-*b*]pyrroles) as Novel Mechanism-Based Inhibitors of Human Cytomegalovirus Protease. 4. Antiviral Activity and Plasma Stability“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46*, 4428–4449.
- [179] M. Tandon, M.-M. O'Donnell, A. Porte, D. Vensel, D. Yang, R. Palma, A. Beresford, M. A. Ashwell, „The design and preparation of metabolically protected new arylpiperazine 5-HT<sub>1A</sub> ligands“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 1709–1712.
- [180] J. B. Hester, J. K. Gibson, L. V. Buchanan, M. G. Cimini, M. A. Clark, D. E. Emmert, M. A. Glavanovich, R. J. Imbordino, R. J. LeMay, M. W. McMillan, S. C. Perricone, D. M. Squires, R. R. Walters, „Progress toward the Development of a Safe and Effective Agent for Treating Reentrant Cardiac Arrhythmias: Synthesis and Evaluation of Ibutilide Analogues with Enhanced Metabolic Stability and Diminished Proarrhythmic Potential“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44*, 1099–1115.
- [181] M.-S. Chua, D.-F. Shi, S. Wrigley, T. D. Bradshaw, I. Hutchinson, P. N. Shaw, D. A. Barrett, L. A. Stanley, M. F. G. Stevens, „Antitumor Benzothiazoles. 7. Synthesis of 2-(4-Acylaminophenyl)-benzothiazoles and Investigations into the Role of Acetylation in the Antitumor Activities of the Parent Amines“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, *42*, 381–392.
- [182] A. Palani, S. Shapiro, H. Josien, T. Bara, J. W. Clader, W. J. Greenlee, K. Cox, J. M. Strizki, B. M. Baroudy, „Synthesis, SAR, and Biological Evaluation of Oximino-Piperidino-Piperidine Amides. 1. Orally Bioavailable CCR5 Receptor Antagonists with Potent Anti-HIV Activity“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, *45*, 3143–3160.
- [183] P. M. Manoury, J. L. Binet, J. Rousseau, F. M. Lefevre-Borg, I. G. Cavero, „Synthesis of a series of compounds related to betaxolol, a new .beta.1-adrenoceptor antagonist with a pharmacological and pharmacokinetic profile optimized for the treatment of chronic cardiovascular diseases“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1987**, *30*, 1003–1011.
- [184] A. R. MacKenzie, A. P. Marchington, D. S. Middleton, S. D. Newman, B. C. Jones, „Structure-Activity Relationships of 1-Alkyl-5-(3,4-dichlorophenyl)-5-2-[(3-substituted)-1-azetidiny]ethyl-2-piperidones. 1. Selective Antagonists of the Neurokinin-2 Receptor“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, *45*, 5365–5377.
- [185] P. D. Leeson, B. Springthorpe, „The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry“, *Nature Reviews Drug Discovery* **2007**, *6*, 881–890.
- [186] J. D. Hughes, J. Blagg, D. A. Price, S. Bailey, G. A. DeCrescenzo, R. V. Devraj, E. Ellsworth, Y. M. Fobian, M. E. Gibbs, R. W. Gilles, N. Greene, E. Huang, T. Krieger-Burke, J. Loesel, T. Wager, L. Whiteley, Y. Zhang, „Physicochemical drug properties associated with in vivo toxicological outcomes“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 4872–4875.

- [187] L. Lima, E. Barreiro, „Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design“, *Current Medicinal Chemistry* **2005**, *12*, 23–49.
- [188] G. Brooks, „Pleuromutilins. Part 1 The identification of novel mutilin 14-carbamates“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2001**, *9*, 1221–1231.
- [189] P. K. F. Yeung, S. J. Mosher, P. T. Pollak, „Liquid chromatography assay for amlodipine: Chemical stability and pharmacokinetics in rabbits“, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **1991**, *9*, 565–571.
- [190] V. Marinkovic, D. Agbaba, K. Karljikovic-Rajic, J. Comor, D. Zivanov-Stakic, „UV derivative spectrophotometric study of the photochemical degradation of nisoldipine“, *Il Farmaco* **2000**, *55*, 128–133.
- [191] G. Ragno, E. Cione, A. Garofalo, G. Genchi, G. Ioele, A. Risoli, A. Spagnoletta, „Design and monitoring of photostability systems for amlodipine dosage forms“, *International Journal of Pharmaceutics* **2003**, *265*, 125–132.
- [192] Y. Zhu, F. Wang, Q. Li, M. Zhu, A. Du, W. Tang, W. Chen, „Amlodipine Metabolism in Human Liver Microsomes and Roles of CYP3A4/5 in the Dihydropyridine Dehydrogenation“, *Drug Metabolism and Disposition* **2013**, *42*, 245–249.
- [193] Z. Xia, M. Wang, S. Zou, R. Chen, „Different effects of dihydropyridine calcium channel antagonists on CYP3A4 enzyme of human liver microsomes“, *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* **2011**, *37*, 211–216.
- [194] E. S. Heider, „Computergestütztes Design, Synthese und Testung neuer Inhibitoren des *Transforming Growth Factor*  $\beta$ -Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2014**.
- [195] M. Filipan-Litivić, M. Litivić, I. Capanec, V. Vinković, „Antimony(V) chloride-promoted room temperature aromatization of 1,4-dihydropyridines in non-acidic solvent“, *Arkivoc* **2008**, *2008*, 96–103.
- [196] N. N. Karade, S. V. Gampawar, J. M. Kondre, S. V. Shinde, „An efficient combination of Dess-Martin periodinane with molecular iodine and KBr for the facile oxidative aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines“, *Arkivoc* **2008**, *2008*, 9–16.
- [197] H. Cheng, Y. Pei, F. Leng, J. Li, A. Liang, D. Zou, Y. Wu, Y. Wu, „Highly efficient synthesis of aryl and heteroaryl trifluoromethyl ketones via *o*-iodobenzoic acid (IBX)“, *Tetrahedron Letters* **2013**, *54*, 4483–4486.
- [198] R. J. Linderman, D. M. Graves, „Oxidation of fluoroalkyl-substituted carbinols by the Dess-Martin reagent“, *The Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54*, 661–668.
- [199] S. Goldmann, L. Born, S. Kazda, B. Pittel, M. Schramm, „Synthesis, pharmacological effects, and conformation of 4,4-disubstituted 1,4-dihydropyridines“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1990**, *33*, 1413–1418.

- [200] B. S. Chekavichus, A. É. Sausin', G. Y. Duburs, „Effect of substituents in the dihydropyridine ring on the reactivity of the ester group of 3,5-dialkoxycarbonyl-1,4-dihydropyridines“, *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **1982**, *18*, 818–823.
- [201] B. Vigante, M. Rucins, A. Plotniece, K. Pajuste, I. Luntena, B. Cekavicus, E. Bisenieks, R. Smits, G. Duburs, A. Sobolev, „Direct Aminolysis of Ethoxycarbonylmethyl 1,4-Dihydropyridine-3-carboxylates“, *Molecules* **2015**, *20*, 20341–20354.
- [202] V. Marquardt, „Design, Synthese und biologische Charakterisierung von kardiogenen *b*-annehierten 1,4-Dihydropyridinen als Inhibitoren des TGF $\beta$ -Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2013**.
- [203] A. Pace, P. Pierro, „The new era of 1,2,4-oxadiazoles“, *Organic & Biomolecular Chemistry* **2009**, *7*, 4337.
- [204] J. Boström, A. Hogner, A. Llinàs, E. Wellner, A. T. Plowright, „Oxadiazoles in Medicinal Chemistry“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 1817–1830.
- [205] K. Ohmoto, T. Yamamoto, T. Horiuchi, H. Imanishi, Y. Odagaki, K. Kawabata, T. Sekioka, Y. Hirota, S. Matsuoka, H. Nakai, M. Toda, J. C. Cheronis, L. W. Spruce, A. Gyorkos, M. Wiczorek, „Design and Synthesis of New Orally Active Nonpeptidic Inhibitors of Human Neutrophil Elastase“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, *43*, 4927–4929.
- [206] M. Ono, M. Haratake, H. Saji, M. Nakayama, „Development of novel  $\beta$ -amyloid probes based on 3,5-diphenyl-1,2,4-oxadiazole“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, *16*, 6867–6872.
- [207] B. S. Orlek, F. E. Blaney, F. Brown, M. S. G. Clark, M. S. Hadley, J. Hatcher, G. J. Riley, H. E. Rosenberg, H. J. Wadsworth, P. Wyman, „Comparison of azabicyclic esters and oxadiazoles as ligands for the muscarinic receptor“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1991**, *34*, 2726–2735.
- [208] G. A. Patani, E. J. LaVoie, „Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design“, *Chemical Reviews* **1996**, *96*, 3147–3176.
- [209] J. S. Warmus, C. Flamme, L. Y. Zhang, S. Barrett, A. Bridges, H. Chen, R. Gowan, M. Kaufman, J. Sebolt-Leopold, W. Leopold, R. Merriman, J. Ohren, A. Pavlovsky, S. Przybranowski, H. Teclé, H. Valik, C. Whitehead, E. Zhang, „2-Alkylamino- and alkoxy-substituted 2-amino-1,3,4-oxadiazoles-*O*-Alkyl benzohydroxamate esters replacements retain the desired inhibition and selectivity against MEK (MAP ERK kinase)“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 6171–6174.
- [210] M. D. McBriar, J. W. Clader, I. Chu, R. A. D. Vecchio, L. Favreau, W. J. Greenlee, L. A. Hyde, A. A. Nomeir, E. M. Parker, D. A. Pissarnitski, L. Song, L. Zhang, Z. Zhao, „Discovery of amide and heteroaryl isosteres as carbamate replacements in a series of orally active  $\gamma$ -secretase inhibitors“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 215–219.
- [211] Z. Jakopin, M. Dolenc, „Recent Advances in the Synthesis of 1,2,4- and 1,3,4-Oxadiazoles“, *Current Organic Chemistry* **2008**, *12*, 850–898.

- [212] R. R. Somani, P. Y. Shirodkar, „Oxadiazole: A biologically important heterocycle“, *Der Pharma Chemica* **2009**, *1*, 130–140.
- [213] E. Saiz, J. P. Hummel, P. J. Flory, M. Plavsic, „Direction of the dipole moment in the ester group“, *The Journal of Physical Chemistry* **1981**, *85*, 3211–3215.
- [214] P. U.S. Environmental Protection Agency, Prevention, T. Substances, Product properties test guidelines: OPPTS 830.7570: Partition coefficient (n-octanol/water), estimation by liquid chromatography, **1996**.
- [215] J. Alsenz, M. Kansy, „High throughput solubility measurement in drug discovery and development“, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, *59*, 546–567.
- [216] J. Alsenz, E. Meister, E. Haenel, „Development of a partially automated solubility screening (PASS) assay for early drug development“, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, *96*, 1748–1762.
- [217] A. Avdeef, „Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State)“, *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2001**, *1*, 277–351.
- [218] B. Bard, S. Martel, P.-A. Carrupt, „High throughput UV method for the estimation of thermodynamic solubility and the determination of the solubility in biorelevant media“, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2008**, *33*, 230–240.
- [219] B. Hoelke, S. Gieringer, M. Arlt, C. Saal, „Comparison of Nephelometric, UV-Spectroscopic, and HPLC Methods for High-Throughput Determination of Aqueous Drug Solubility in Microtiter Plates“, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 3165–3172.
- [220] C. Saal, A. C. Petereit, „Optimizing solubility: Kinetic versus thermodynamic solubility temptations and risks“, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2012**, *47*, 589–595.
- [221] S. H. Yalkowsky, Y. He, P. Jain, *Handbook of Aqueous Solubility Data, Second Edition*, CRC Press, **2016**.
- [222] K. M. Boje, M. Sak, H.-L. Fung, „Complexation of Nifedipine with Substituted Phenolic Ligands“, *Pharmaceutical Research* **1988**, *05*, 655–659.
- [223] M. Mosharraf, C. Nyström, „Solubility characterization of practically insoluble drugs using the Coulter counter principle“, *International Journal of Pharmaceutics* **1995**, *122*, 57–67.
- [224] D. S. Wishart, Y. D. Feunang, A. C. Guo, E. J. Lo, A. Marcu, J. R. Grant, T. Sajed, D. Johnson, C. Li, Z. Sayeeda, N. Assempour, I. Iynkkaran, Y. Liu, A. Maciejewski, N. Gale, A. Wilson, L. Chin, R. Cummings, D. Le, A. Pon, C. Knox, M. Wilson, „DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018“, *Nucleic Acids Research* **2017**, *46*, D1074–D1082.
- [225] M. Y. Moridani, *Prodrugs and Targeted Delivery: Towards Better ADME Properties*, (Herausgeber: J. Rautio), Wiley-VCH, **2011**, Seiten 79–109.

- [226] M. Walles, T. Thum, K. Levsen, J. Borlak, „Metabolism of verapamil: 24 new phase I and phase II metabolites identified in cell cultures of rat hepatocytes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry“, *Journal of Chromatography B* **2003**, 798, 265–274.
- [227] A. J. Atkinson, W. Kushner, „Clinical Pharmacokinetics“, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1979**, 19, 105–127.
- [228] A. B. Baranda, R. M. Alonso, R. M. Jiménez, W. Weinmann, „Instability of calcium channel antagonists during sample preparation for LC-MS-MS analysis of serum samples“, *Forensic Science International* **2006**, 156, 23–34.
- [229] C. A. Mueller, A. B. B. González, W. Weinmann, „Screening for dihydropyridine calcium channel blockers in plasma by automated solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry“, *Journal of Mass Spectrometry* **2004**, 39, 639–646.
- [230] W.-H. Zimmermann, „Tissue Engineering of a Differentiated Cardiac Muscle Construct“, *Circulation Research* **2002**, 90, 223–230.
- [231] A. Hansen, A. Eder, M. Bönstrup, M. Flato, M. Mewe, S. Schaaf, B. Aksehirlioglu, A. Schwörer, J. Uebeler, T. Eschenhagen, „Development of a Drug Screening Platform Based on Engineered Heart Tissue“, *Circulation Research* **2010**, 107, 35–44.
- [232] M. N. Hirt, N. A. Sörensen, L. M. Bartholdt, J. Boeddinghaus, S. Schaaf, A. Eder, I. Vollert, A. Stöhr, T. Schulze, A. Witten, M. Stoll, A. Hansen, T. Eschenhagen, „Increased afterload induces pathological cardiac hypertrophy: a new in vitro model“, *Basic Research in Cardiology* **2012**, 107, DOI 10.1007/s00395-012-0307-z.
- [233] D. Längle, F. Wesseler, D. Flötgen, H. Leek, A. T. Plowright, D. Schade, „Unique photoaffinity probes to study TGF $\beta$  signaling and receptor fates“, *Chemical Communications* **2019**, 55, 4323–4326.
- [234] S. Kotha, K. Lahiri, D. Kashinath, „Recent applications of the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction in organic synthesis“, *Tetrahedron* **2002**, 58, 9633–9695.
- [235] B. U. W. Maes, G. L. F. Lemièrre, R. Dommissie, K. Augustyns, A. Haemers, „A New Approach Towards the Synthesis of 3-Amino-6-(hetero)arylpyridazines Based on Palladium Catalyzed Cross-coupling Reactions“, *Tetrahedron* **2000**, 56, 1777–1781.
- [236] A. Stella, S. D. Jonghe, K. Segers, P. Herdewijn, „A short and straightforward approach towards 6-amino and 6-aminoalkyl thiazolo[4,5-*c*]pyridazines“, *Tetrahedron Letters* **2013**, 54, 830–833.
- [237] J. Wiesner, K. Kettler, J. Sakowski, R. Ortmann, H. Jomaa, M. Schlitzer, „Structure–Activity relationships of novel anti-Malarial agents: Part 5. *N*-(4-acylamino-3-benzoylphenyl)-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylic acid amides“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, 13, 361–363.
- [238] C. Hansch, A. Leo, R. W. Taft, „A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters“, *Chemical Reviews* **1991**, 91, 165–195.

- [239] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. M. Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Daniels, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian 03, Revision E.01, Gaussian, Inc. Wallingford CT, **2004**.
- [240] T. Shibanuma, M. Iwanani, K. Okuda, T. Takenaka, M. Murakami, „Synthesis of optically active 2-(*N*-benzyl-*N*-methylamino)ethyl methyl 2,6-dimethyl-4-(*m*-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (nicardipine).“, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1980**, *28*, 2809–2812.
- [241] S. Goldmann, J. Stoltefuss, „1,4-Dihydropyridines: Effects of Chirality and Conformation on the Calcium Antagonist and Calcium Agonist Activities“, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1991**, *30*, 1559–1578.
- [242] A. M. Stalcup, S.-C. Chang, D. W. Armstrong, J. Pitha, „(*S*)-2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, a new chiral stationary phase for reversed-phase liquid chromatography“, *Journal of Chromatography A* **1990**, *513*, 181–194.
- [243] Y. Tokuma, T. Fujiwara, H. Noguchi, „Determination of (+)- and (-)-Nilvadipine in Human Plasma Using Chiral Stationary-Phase Liquid Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry, and a Preliminary Pharmacokinetic Study in Humans“, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1987**, *76*, 310–313.
- [244] Y. Okamoto, K. Hatano, R. Aburatani, K. Hatada, „Tris(4-*t*-butylphenylcarbamate)s of Cellulose and Amylose as Useful Chiral Stationary Phases for Chromatographic Optical Resolution“, *Chemistry Letters* **1989**, *18*, 715–718.
- [245] P. A. Soons, M. C. M. Roosemalen, D. D. Breimer, „Enantioselective determination of felodipine and other chiral dihydropyridine calcium entry blockers in human plasma“, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **1990**, *528*, 343–356.
- [246] C. G. Evans, J. E. Gestwicki, „Enantioselective Organocatalytic Hantzsch Synthesis of Polyhydroquinolines“, *Organic Letters* **2009**, *11*, 2957–2959.
- [247] P. Wipf, J.-K. Jung, „Formal Total Synthesis of (+)-Diepoxin  $\sigma$ “, *The Journal of Organic Chemistry* **2000**, *65*, 6319–6337.

- [248] K. B. Simonsen, K. V. Gothelf, K. A. Jørgensen, „A Simple Synthetic Approach to 3,3'-Diaryl BINOLs“, *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 7536–7538.
- [249] M. Hatano, T. Ikeno, T. Matsumura, S. Torii, K. Ishihara, „Chiral Lithium Salts of Phosphoric Acids as Lewis Acid-Base Conjugate Catalysts for the Enantioselective Cyanosilylation of Ketones“, *Advanced Synthesis & Catalysis* **2008**, *350*, 1776–1780.
- [250] J. Jiang, J. Yu, X.-X. Sun, Q.-Q. Rao, L.-Z. Gong, „Organocatalytic Asymmetric Three-Component Cyclization of Cinnamaldehydes and Primary Amines with 1,3-Dicarbonyl Compounds: Straightforward Access to Enantiomerically Enriched Dihydropyridines“, *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 2458–2462.
- [251] C. G. Evans, J. E. Gestwicki, „Correction to Enantioselective Organocatalytic Hantzsch Synthesis of Polyhydroquinolines“, *Organic Letters* **2014**, *16*, 6040–6040.
- [252] S. A. Steiger, A. J. Monacelli, C. Li, J. L. Hunting, N. R. Natale, „Diethyl 4-(biphenyl-4-yl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate“, *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* **2014**, *70*, o791–o792.
- [253] M. M. Kurbanova, E. Z. Huseynov, A. V. Gurbanov, A. M. Maharramov, S. W. Ng, „Ethyl 2,7,7-trimethyl-5-oxo-4-phenyl-1,4,5,6,7,8-hexahydroquinoline-3-carboxylate“, *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* **2012**, *68*, o2233–o2233.
- [254] J. Verma, V. Khedkar, E. Coutinho, „3D-QSAR in Drug Design - A Review“, *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2010**, *10*, 95–115.
- [255] A. Radadiya, V. Khedkar, A. Bavishi, H. Vala, S. Thakrar, D. Bhavsar, A. Shah, E. Coutinho, „Synthesis and 3D-QSAR study of 1,4-dihydropyridine derivatives as MDR cancer reverters“, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *74*, 375–387.
- [256] V. S. Mathura, N. Patel, C. Bachmeier, M. Mullan, D. Paris, „A 3D-QSAR model based screen for dihydropyridine-like compound library to identify inhibitors of amyloid beta (A $\beta$ ) production“, *Bioinformation* **2010**, *5*, 122–127.
- [257] P. S. Kharkar, B. Desai, H. Gaveria, B. Varu, R. Loriya, Y. Naliapara, A. Shah, V. M. Kulkarni, „Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship of 1,4-Dihydropyridines As Antitubercular Agents“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, *45*, 4858–4867.
- [258] R. Miri, K. Javidnia, B. Hemmateenejad, M. Tabarзад, M. Jafarpour, „Synthesis, Evaluation of Pharmacological Activities and Quantitative Structure-Activity Relationship Studies of a Novel Group of bis(4-Nitroaryl-1,4-dihydropyridine)“, *Chemical Biology & Drug Design* **2009**, *73*, 225–235.
- [259] A. Tropsha, P. Gramatica, V. K. Gombar, „The Importance of Being Earnest: Validation is the Absolute Essential for Successful Application and Interpretation of QSPR Models“, *QSAR & Combinatorial Science* **2003**, *22*, 69–77.



- [260] G. C. Terstappen, C. Schlüpen, R. Raggiaschi, G. Gaviraghi, „Target deconvolution strategies in drug discovery“, *Nature Reviews Drug Discovery* **2007**, *6*, 891–903.
- [261] S. Ziegler, V. Pries, C. Hedberg, H. Waldmann, „Target Identification for Small Bioactive Molecules: Finding the Needle in the Haystack“, *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52*, 2744–2792.
- [262] M. Clamp, B. Fry, M. Kamal, X. Xie, J. Cuff, M. F. Lin, M. Kellis, K. Lindblad-Toh, E. S. Lander, „Distinguishing protein-coding and noncoding genes in the human genome“, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104*, 19428–19433.
- [263] E. Baslé, N. Joubert, M. Pucheault, „Protein Chemical Modification on Endogenous Amino Acids“, *Chemistry & Biology* **2010**, *17*, 213–227.
- [264] L. Dubinsky, B. P. Krom, M. M. Meijler, „Diazirine based photoaffinity labeling“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2012**, *20*, 554–570.
- [265] D. Alker, S. F. Campbell, P. E. Cross, R. A. Burges, A. J. Carter, D. G. Gardiner, „Long-acting dihydropyridine calcium antagonists. 3. Synthesis and structure-activity relationships for a series of 2-[(heterocyclyl-methoxy)methyl] derivatives“, *Journal of Medicinal Chemistry* **1989**, *32*, 2381–2388.
- [266] Z. Li, P. Hao, L. Li, C. Y. J. Tan, X. Cheng, G. Y. J. Chen, S. K. Sze, H.-M. Shen, S. Q. Yao, „Design and Synthesis of Minimalist Terminal Alkyne-Containing Diazirine Photo-Crosslinkers and Their Incorporation into Kinase Inhibitors for Cell- and Tissue-Based Proteome Profiling“, *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52*, 8551–8556.
- [267] P. Langer, I. Freifeld, „Regio- and Diastereoselective Synthesis of Lissoclinolide Analogues by Lewis Acid Catalyzed Cyclization of the First 1,5-Bis(trimethylsilyloxy)-1,3,5-hexatrienes with Oxalyl Chloride“, *Synlett* **2001**, *4*, 0523–0525.
- [268] L. Duhamel, J.-E. Ancel, „Polyvinylolation reagents : 1-lithio-4-trimethylsilyloxy-penta-1,3-diene and 1-lithio-4-ethoxy-2-methyl-buta-1,3-diene“, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 9237–9250.
- [269] A. Leyva, A. Corma, „Isolable Gold(I) Complexes Having One Low-Coordinating Ligand as Catalysts for the Selective Hydration of Substituted Alkynes at Room Temperature without Acidic Promoters“, *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 2067–2074.
- [270] T. Durek, J. Zhang, C. He, Kent, „Synthesis of Photoactive Analogues of a Cystine Knot Trypsin Inhibitor Protein“, *Organic Letters* **2007**, *9*, 5497–5500.
- [271] F. Weßeler, „Biochemische Charakterisierung neuer Inhibitoren des TGF $\beta$ /Smad-Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2016**.
- [272] A. J. Jimenez, M. Fagnoni, M. Mella, A. Albini, „Photoinduced Electron and Energy Transfer in Aryldihydropyridines“, *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 6615–6622.

- [273] Y. Kawabe, H. Nakamura, E. Hino, S. Suzuki, „Photochemical stabilities of some dihydropyridine calcium-channel blockers in powdered pharmaceutical tablets“, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2008**, *47*, 618–624.
- [274] G. Ioele, M. G. Gündüz, M. D. Luca, R. Şimşek, C. Şafak, R. Muzzalupo, G. Ragno, „Photodegradation studies of 1,4-dihydropyridine compounds by MCR analysis on UV spectral data“, *Future Medicinal Chemistry* **2016**, *8*, 107–115.
- [275] E. Fasani, A. Albini, S. Gemme, „Mechanism of the photochemical degradation of amlodipine“, *International Journal of Pharmaceutics* **2008**, *352*, 197–201.
- [276] T. A. Gschneidner, K. Moth-Poulsen, „A photolabile protection strategy for terminal alkynes“, *Tetrahedron Letters* **2013**, *54*, 5426–5429.
- [277] M. Suchanek, A. Radzikowska, C. Thiele, „Photo-leucine and photo-methionine allow identification of protein-protein interactions in living cells“, *Nature Methods* **2005**, *2*, 261–268.
- [278] A. L. MacKinnon, J. L. Garrison, R. S. Hegde, J. Taunton, „Photo-Leucine Incorporation Reveals the Target of a Cyclodepsipeptide Inhibitor of Cotranslational Translocation“, *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 14560–14561.
- [279] Y. Hatanaka, Y. Sadakane, „Photoaffinity Labeling in Drug Discovery and Developments: Chemical Gateway for Entering Proteomic Frontier“, *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2002**, *2*, 271–288.
- [280] H.-J. Böhm, A. Flohr, M. Stahl, „Scaffold hopping“, *Drug Discovery Today: Technologies* **2004**, *1*, 217–224.
- [281] H. Sun, G. Tawa, A. Wallqvist, „Classification of scaffold-hopping approaches“, *Drug Discovery Today* **2012**, *17*, 310–324.
- [282] G. Schneider, W. Neidhart, T. Giller, G. Schmid, „'Scaffold-Hopping' by Topological Pharmacophore Search: A Contribution to Virtual Screening“, *Angewandte Chemie International Edition* **1999**, *38*, 2894–2896.
- [283] N. Brown, E. Jacoby, „On Scaffolds and Hopping in Medicinal Chemistry“, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2006**, *6*, 1217–1229.
- [284] H. Mauser, W. Guba, „Recent developments in de novo design and scaffold hopping.“, *Current opinion in drug discovery & development* **2008**, *11*, 365–374.
- [285] N. T. Southall, Ajay, „Kinase Patent Space Visualization Using Chemical Replacements“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 2103–2109.
- [286] D. Lednicer, „Tracing the Origins of COX-2 Inhibitors' Structures“, *Current Medicinal Chemistry* **2002**, *9*, 1457–1461.
- [287] G. Klebe, *Wirkstoffdesign*, 2. Auflage, Spektrum-Akademischer Vlg, **2009**.

- [288] C. G. Wermuth, C. R. Ganellin, P. Lindberg, L. A. Mitscher, „Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998)“, *Pure and Applied Chemistry* **1998**, *70*, 1129–1143.
- [289] J. J. Irwin, B. K. Shoichet, „ZINC - A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening“, *Journal of Chemical Information and Modeling* **2005**, *45*, 177–182.
- [290] J. A. Ragan, T. W. Makowski, D. J. Am Ende, P. J. Clifford, G. R. Young, A. K. Conrad, S. A. Eisenbeis, G. J. Quallich, D. J. M. Allen, *Patent*, WO 9925684 (A1), **1999**.
- [291] P. Albaugh, A. Hutchison, *Patent*, US 005750702 A, **1998**.
- [292] P. Albaugh, K. Shaw, A. Hutchison, *Patent*, US 20050014939 A1, **2005**.
- [293] D. A. Horton, G. T. Bourne, M. L. Smythe, „The Combinatorial Synthesis of Bicyclic Privileged Structures or Privileged Substructures“, *Chemical Reviews* **2003**, *103*, 893–930.
- [294] R. Plummer, C. Jones, M. Middleton, R. Wilson, J. Evans, A. Olsen, N. Curtin, A. Boddy, P. McHugh, D. Newell, A. Harris, P. Johnson, H. Steinfeldt, R. Dewji, D. Wang, L. Robson, H. Calvert, „Phase I Study of the Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitor, AG014699, in Combination with Temozolomide in Patients with Advanced Solid Tumors“, *Clinical Cancer Research* **2008**, *14*, 7917–7923.
- [295] J. Haynes-Smith, I. Diaz, K. L. Billingsley, „Modular Total Synthesis of Protein Kinase C Activator (-)-Indolactam V“, *Organic Letters* **2016**, *18*, 2008–2011.
- [296] G. Gong, K.-M. V. Lai, D. M. Valenzuela, WO 2016/100857 A1, **2016**.
- [297] D. Kumar, R. C. Agarwal, A. Kumar, „Synthesis of new indole congeners as promising anti-inflammatory agents“, *Oriental Journal of Chemistry* **2010**, *26*, 455–466.
- [298] N. Zhang, X. Zhang, J. Zhu, A. Turpoff, G. Chen, C. Morrill, S. Huang, W. Lennox, R. Kakarla, R. Liu, C. Li, H. Ren, N. Almstead, S. Venkatraman, F. G. Njoroge, Z. Gu, V. Clausen, J. Graci, S. P. Jung, Y. Zheng, J. M. Colacino, F. Lahser, J. Sheedy, A. Mollin, M. Weetall, A. Nomeir, G. M. Karp, „Structure-Activity Relationship (SAR) Optimization of 6-(Indol-2-yl)pyridine-3-sulfonamides: Identification of Potent, Selective, and Orally Bioavailable Small Molecules Targeting Hepatitis C (HCV) NS4B“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *57*, 2121–2135.
- [299] M. Amat, F. Seffar, N. Llor, J. Bosch, „Preparation and Reactions of 4-, 5-, and 6-Methoxy Substituted 3-Lithioindoles and 3-Indolylzinc Derivatives“, *Synthesis* **2001**, *2001*, 0267–0275.
- [300] K. Meguellati, G. Koripelly, S. Ladame, „DNA-Templated Synthesis of Trimethine Cyanine Dyes: A Versatile Fluorogenic Reaction for Sensing G-Quadruplex Formation“, *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*, 2738–2742.
- [301] S. Petit, Y. Duroc, V. Larue, C. Giglione, C. Léon, C. Soulama, A. Denis, F. Dardel, T. Meinel, I. Artaud, „Structure-Activity Relationship Analysis of the Peptide Deformylase Inhibitor 5-Bromo-1*H*-indole-3-acetohydroxamic Acid“, *ChemMedChem* **2009**, *4*, 261–275.

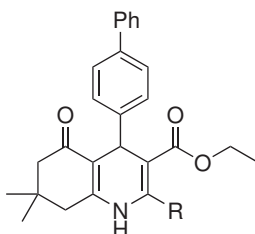
- [302] X. Guan, R. T. Borchardt, „A convenient method for the synthesis of indole-3-acetic acids“, *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 3013–3016.
- [303] R. M. Vidal, F. X. C. Frontera, A. T. R. Garraido, J. S. Solana, *Patent*, WO 2013/037960 A1, **2013**.
- [304] K. Nemoto, S. Tanaka, M. Konno, S. Onozawa, M. Chiba, Y. Tanaka, Y. Sasaki, R. Okubo, T. Hattori, „Me<sub>2</sub>AlCl-mediated carboxylation, ethoxycarbonylation, and carbamoylation of indoles“, *Tetrahedron* **2016**, *72*, 734–745.
- [305] M. Hunsen, „Carboxylic Acids from Primary Alcohols and Aldehydes by a Pyridinium Chlorochromate Catalyzed Oxidation“, *Synthesis* **2005**, *15*, 2487–2490.
- [306] S. Yamada, D. Morizono, K. Yamamoto, „Mild oxidation of aldehydes to the corresponding carboxylic acids and esters: alkaline iodine oxidation revisited“, *Tetrahedron Letters* **1992**, *33*, 4329–4332.
- [307] N. Mori, H. Togo, „Facile oxidative conversion of alcohols to esters using molecular iodine“, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5915–5925.
- [308] H. Rhee, J. Y. Kim, „A simple one-pot procedure for the conversion of aldehydes to methyl esters“, *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 1365–1368.
- [309] H. Monenschein, G. Dräger, A. Jung, A. Kirschning, „Asymmetric Nucleophilic Acylation of Aldehydes via 1,1-Heterodisubstituted Alkenes“, *Chemistry - A European Journal* **1999**, *5*, 2270–2280.
- [310] P. J. Kocienski, *Protecting Groups*, Thieme Chemistry, **2005**.
- [311] V. K. Aggarwal, S. J. Roseblade, J. K. Barrell, R. Alexander, „Highly Diastereoselective Nitrone Cycloaddition onto a Chiral Ketene Equivalent: Asymmetric Synthesis of Cispentacin“, *Organic Letters* **2002**, *4*, 1227–1229.
- [312] S. Hanessian, D. K. Maji, S. Govindan, R. Matera, M. Tintelnot-Blomley, „Substrate-Controlled and Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Carbocyclic Amino Acid Dipeptide Mimetics“, *The Journal of Organic Chemistry* **2010**, *75*, 2861–2876.
- [313] M. Flaßhoff, „Synthese 3,4-substituierter Indole als neue Grundkörper für die TGFβ-Inhibition“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2016**.
- [314] J. Aebi, A. Binggeli, A. A. Konkar, H. Kuehne, B. Kuhn, H. P. Maerki, H. Wang, *Patent*, WO 2012/101011, **2012**.
- [315] K. Suenaga, K. Araki, T. Sengoku, D. Uemura, „Enantioselective Synthesis of Attenols A and B“, *Organic Letters* **2001**, *3*, 527–529.
- [316] M. Hatanaka, „A stereoselective approach to 1β-methylcarbapenem antibiotic starting from (R)-(–)-3-hydroxybutyric acid ester“, *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 83–86.

- [317] H. Chikashita, E. Kittaka, Y. Kimura, K. Itoh, „Facile Construction of Optically Active 1,3-Diols. Synthesis of (2*S*,4*R*)-7-Octene-2,4-diol and endo-(1*S*,3*S*,5*R*)- and exo-(1*R*,3*S*,5*S*)-1,3-Dimethyl-2,9-dioxabicyclo[3.3.1]nonane“, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1989**, *62*, 833–837.
- [318] S. K. Bhattacharya, K. O. Cameron, D. P. Fernando, K. F. McClure, D. W. Kung, A. T. Londregan, S. T. M. Simila (P. Inc), *Patent*, US 2011/0230461 A1, **2011**.
- [319] N. Jakobs, „Die Entwicklung festphasengestützter Amid-Synthesen für Screening Hits als neue TGFβ-Inhibitoren“, Bachelorarbeit, Technische Universität Dortmund, **2016**.
- [320] J. Baell, M. A. Walters, „Chemistry: Chemical con artists foil drug discovery“, *Nature* **2014**, *513*, 481–483.
- [321] M. Pouliot, S. Jeanmart, „Pan Assay Interference Compounds (PAINS) and Other Promiscuous Compounds in Antifungal Research“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *59*, 497–503.
- [322] F. C. Uhle, C. M. McEwen, H. Schröter, C. Yuan, B. W. Baker, „The Cyclization of β-(4-Carboxy-3-indole)-propionic Acids“, *Journal of the American Chemical Society* **1960**, *82*, 1200–1207.
- [323] S. Mao, „3-Carboxymethyl-1*H*-indole-4-carboxylic acid“, *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* **2011**, *68*, o146–o146.
- [324] E. Ruijter, R. Scheffelaar, R. V. A. Orru, „Multicomponent Reaction Design in the Quest for Molecular Complexity and Diversity“, *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50*, 6234–6246.
- [325] M. Ghandi, N. Zarezadeh, A. Taheri, „A three-component, intramolecular Ugi reaction toward unique indoloketopiperazines“, *Tetrahedron Letters* **2012**, *53*, 3353–3356.
- [326] C. D. Mathers, D. Loncar, „Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030“, *PLoS Medicine* **2006**, *3*, (Herausgeber: J. Samet), e442.
- [327] A. A. Grolla, V. Podestà, M. G. Chini, S. D. Micco, A. Vallario, A. A. Genazzani, P. L. Canonico, G. Bifulco, G. C. Tron, G. Sorba, T. Pirali, „Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking of Ugi Products Containing a Zinc-Chelating Moiety as Novel Inhibitors of Histone Deacetylases“, *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 2776–2785.
- [328] P. Wang, W.-J. Tao, X.-L. Sun, S. Liao, Y. Tang, „A Highly Efficient and Enantioselective Intramolecular Cannizzaro Reaction under TOX/Cu(II) Catalysis“, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 16849–16852.
- [329] X. Xu, Q.-Q. Min, N. Li, F. Liu, „Visible light-promoted umpolung coupling of aryl tri-/difluoroethanones with 2-alkenylpyridines“, *Chemical Communications* **2018**, *54*, 11017–11020.
- [330] K. M. Khan, M. Rasheed, Z. Ullah, S. Hayat, F. Kaukab, M. I. Choudhary, A. ur-Rahman, S. Perveen, „Synthesis and in vitro leishmanicidal activity of some hydrazides and their analogues“, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2003**, *11*, 1381–1387.

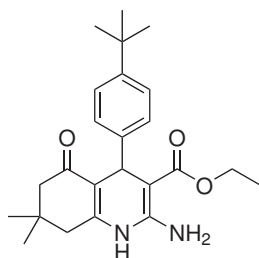
- [331] T. Chanda, S. Chowdhury, N. Anand, S. Koley, A. Gupta, M. S. Singh, „Synthesis of 3-hydroxyindanones via potassium salt of amino acid catalyzed regioselective intramolecular aldolization of ortho-diacylbenzenes“, *Tetrahedron Letters* **2015**, *56*, 981–985.
- [332] Z. Li, Y. Cao, P. Zhan, C. Pannecouque, J. Balzarini, E. Clercq, Y. Shen, X. Liu, „Arylazolythioacetanilide. Part 11: Design, Synthesis and Biological Evaluation of 1,2,4-triazole Thioacetanilide Derivatives as Novel Non-nucleoside HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors“, *Medicinal Chemistry* **2013**, *9*, 968–973.
- [333] S. S. Woodard, K. D. Jerome, „Combinatorial Synthesis of 3,5-Dimethylene Substituted 1,2,4-Triazoles“, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* **2011**, *14*, 132–137.
- [334] K. Ohno, O. Odai, Y. Tominaga, K. Furukawa, M. O. (P. C. Ltd.), *Patent*, CA19932104267 19930817, **1993**.
- [335] L. Pérez-Serrano, L. Casarrubios, G. Domínguez, G. Freire, J. Pérez-Castells, „Preparation of 3,4-enynoindoles via directed lithiation and application to the synthesis of 3,4-carbocycloindoles“, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5407–5415.
- [336] H. Setoi, T. Ohkawa, T. Zenkoh, H. Sawada, Y. Sawada, T. O. (Fujisawa Pharmaceutical Co. Ltd.), *Patent*, US6207693B1, **2001**.

## Strukturformelverzeichnis

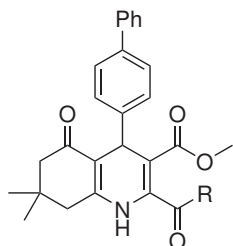
## 1,4-Dihydropyridine mit unterschiedlichen Substituenten in 2-Position:



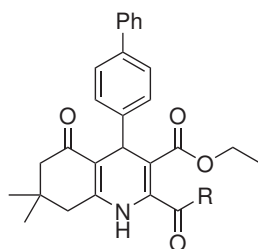
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
25		4-(4'-Biphenyl)-2-brommethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 165
27		4-(4'-Biphenyl)-2-methoxymethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 166
28		4-(4'-Biphenyl)-2-ethylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid	S. 166
29		4-(4'-Biphenyl)-2-propylaminomethyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid	S. 167
37b	R-NH <sub>2</sub>	2-Amino-4-(4'-biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 168
38		2-(2-Aminoethoxy)ethyl-4-(4'-biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 170
136		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((prop-2-in-1-yl-amino)-methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 195
140		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((prop-2-in-1-yl-oxo)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 196
143		4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 197
148		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((2-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 199
149		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-((3-oxobutoxy)methyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 199
150		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-((2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethoxy)methyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 200
152		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 201
153		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 201



Verbindung	Name	Synthesevorschrift
37b	2-Amino-4-(4'- <i>tert</i> -butylphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 169



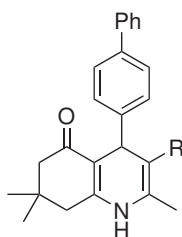
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
18	R-OMe	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäuredimethylester	S. 162
32	R-OH	4-(4'-Biphenyl)-3-methoxycarbonyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2-carbonsäure	S. 163



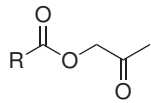
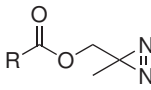
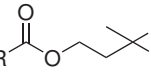
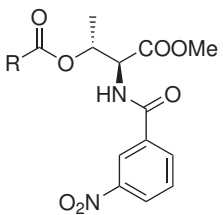
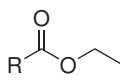

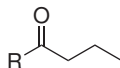
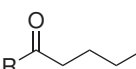
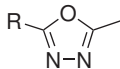
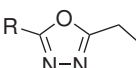
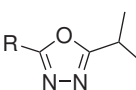
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
19	R-OEt	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2,3-dicarbonsäurediethylester	S. 162
33	R-OH	4-(4'-Biphenyl)-3-ethoxycarbonyl-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-2-carbonsäure	S. 163



## 1,4-Dihydropyridine mit unterschiedlichen Substituenten in 3-Position:

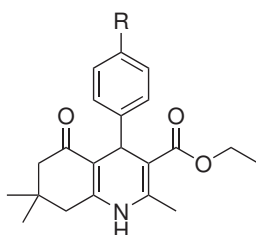


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
7		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylamid	S. 157
16		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäurebenzylamid	S. 161
8		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure- <i>tert.</i> -butylester	S. 157
9		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureallylester	S. 158
11		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäuredodecylester	S. 159
12		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-propoxyethylester	S. 159
94a		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure- <i>n</i> -propylester	S. 179
94b		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-propylester	S. 180
94c		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureisobutylester	S. 180
94d		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäurecyclopentylester	S. 180
154		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureprop-2-in-1-ylester	S. 202

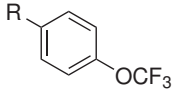
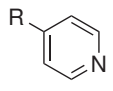
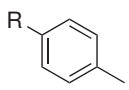
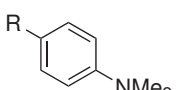
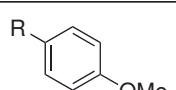
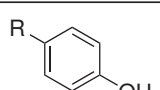
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
155		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester	S. 203
156		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)methyl)ester	S. 203
160		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-(3-methyl-3 <i>H</i> -diazirin-3-yl)ethylester	S. 205
134a,b		( <i>S</i> )/( <i>R</i> )-4-(4'-Biphenyl-4-yl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobutan-2-yl)ester	S. 194
3a,b		( <i>S</i> )/( <i>R</i> )-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 194
15		4-(4'-Biphenyl)-3-propionyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin	S. 160
13		4-(4'-Biphenyl)-3-buturyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin	S. 160
14		4-(4'-Biphenyl)-3-pentanoyl-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin	S. 160
17	R-CN	4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonitril	S. 161
100a		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 181
100b		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-ethyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 182
100c		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-2'-propyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 182

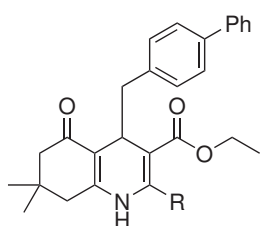
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
100d		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-propyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 183
100e		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-isobutyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 183
100f		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-tert.-butyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 184
100g		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-(5-(1-methylcyclopropyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 184
100h		( <i>R</i> )-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 185
100i		( <i>S</i> )-4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-3-5-methyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4,6,7,8-tetrahydrochinolin-5(1 <i>H</i> )-on	S. 185

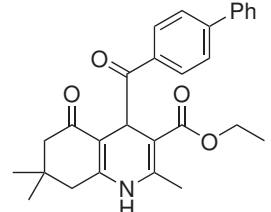
## 1,4-Dihydropyridine mit unterschiedlichen Substituenten in 4-Position:



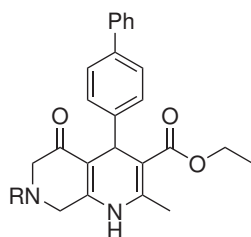
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
3		4-(4'-Biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 155
4	R-Br	4-(4'-Bromphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 155
5		4-(4''-Brom-4'-biphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 156
6		4-(4'-Ethinylphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 156
112a		4-(4''-Cyano-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 186
112b		4-(4''-Trifluormethyl-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 186
112c		2,7,7-Trimethyl-4-(4''-methylsulfonyl-(4'-bi-phenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 187
112d		4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 187
112e		4-(4''-Fluor-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 187
112f		4-(4''-Nitro-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 188

Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
112g		4-(4"-Trifluormethoxy-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 188
112h		2,7,7-Trimethyl-5-oxo-4-(4'-(pyridin-4"-yl)phenyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 189
112i		2,7,7-Trimethyl-4-(4"-methyl-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 189
112j		2,7,7-Trimethyl-4-(4"-dimethylamino-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 189
112k		2,7,7-Trimethyl-4-(4"-methoxy-(4'-biphenyl))-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 190
112l		4-(4"-Hydroxy-(4'-biphenyl))-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 190

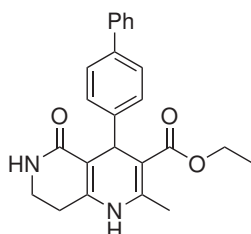
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
	R-CH <sub>3</sub>	4-(4'-Biphenyl-4-ylmethyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 177
	R-NH <sub>2</sub>	2-Amino-4-(4'-biphenyl-4-ylmethyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 177

Verbindung	Name	Synthesevorschrift
	4-(4'-Biphenyl-4-carbonyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureethylester	S. 178

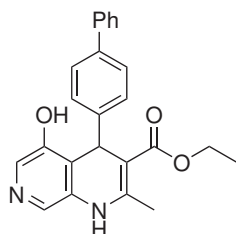
## 1,4-Dihydropyridine mit zusätzlichen Stickstoffatomen im Grundgerüst:



Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
57		4-(4'-Biphenyl)-7-benzyl-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester	S. 172
64	R-H	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester	S. 173 & 174
73a		4-(4'-Biphenyl)-3-(ethoxycarbonyl)-2-methyl-5-oxo-7-propyl-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-7-iumbesylat	S. 175
73b		4-(4'-Biphenyl)-7-cyclopropyl-3-(ethoxycarbonyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-7-iumbesylat	S. 176
161		4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-(prop-2-in-1-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid	S. 205
162		4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylesterhydrochlorid	S. 206

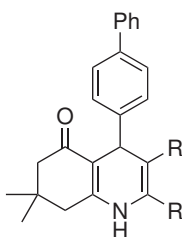


Verbindung	Name	Synthesevorschrift
10	4-(4'-Biphenyl)-2-methyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäureethylester	S. 158



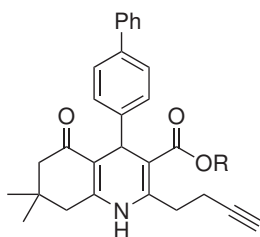
Verbindung	Name	Synthesevorschrift
65	4-(4'-Biphenyl)-5-hydroxy-2-methyl-1,4-dihydro-1,7-naphthyridin-3-carbonsäureethylester	S. 173

## 1,4-Dihydropyridine mit einem trizyklischen Grundgerüst:

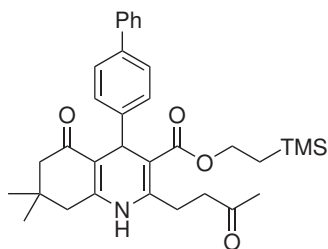


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
21		9-(4'-Biphenyl)-3,3,6,6-tetramethyl-3,4,6,7,9,10-hexahydro-1,8(2 <i>H</i> ,5 <i>H</i> )-dion	S. 164
24		10-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-6,7,8,10-tetrahydro-5 <i>H</i> -indeno[1,2- <i>b</i> ]chinolin-9,11-dion	S. 164
26		9-(4'-Biphenyl)-6,6-dimethyl-5,6,7,9-tetrahydrofuro[3,4- <i>b</i> ]chinolin-1,8(3 <i>H</i> ,4 <i>H</i> )-dion	S. 165
30		9-(4'-Biphenyl)-2-ethyl-6,6-dimethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1 <i>H</i> -pyrrolo-[3,4- <i>b</i> ]chinolin-1,8(4 <i>H</i> )-dion	S. 167
31		9-(4'-Biphenyl)-6,6-dimethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1 <i>H</i> -pyrrolo-[3,4- <i>b</i> ]chinolin-1,8(4 <i>H</i> )-dion	S. 168

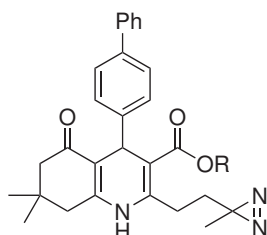
## 1,4-Dihydropyridine mit unterschiedlichen Substituenten in 2- und 3-Position:



Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
166		4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 207
167	R-H	4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure	S. 208
168		4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-2-oxopropylester	S. 209
169		4-(4'-Biphenyl)-2-(but-3-in-1-yl)-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-((methyl-3H-diazirin-3-yl)methyl)-ester	S. 209

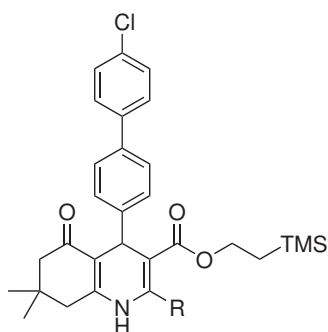


Verbindung	Name	Synthesevorschrift
171	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobut-1-yl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 210

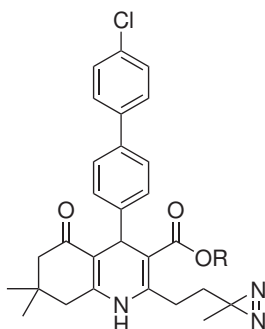


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
172		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 211
173	R-H	4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure	S. 212
174		4-(4'-Biphenyl)-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureprop-2-in-1-ylester	S. 212



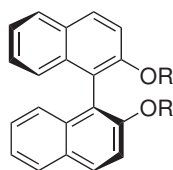


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
175		2-(But-3-in-1-yl)-4-(4''-chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 213
177		4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-5-oxo-2-(3-oxobutyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 213
178		4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 214

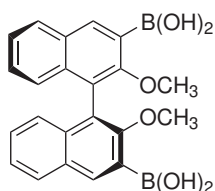


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
179	R-H	4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)-ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäure	S. 215
180		4-(4''-Chlor-(4'-biphenyl))-7,7-dimethyl-2-(3-methyl-3H-diazirin-3-yl)-ethyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin-3-carbonsäureprop-2-in-1-ylester	S. 215

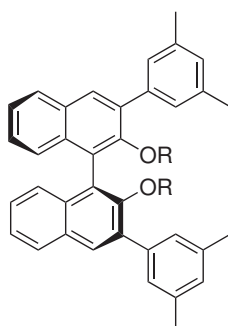
## 1,1'-Binaphthol-Derivate:



Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
120	R-H	(S)-1,1'-Bi-2-naphthol	S. 191
115	R-CH <sub>3</sub>	(S)-1,1'-Bi-2-naphthyldimethylether	S. 191

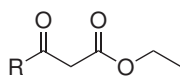


Verbindung	Name	Synthesevorschrift
122	(S)-(2,2'-Dimethoxy-(1,1'-binaphthyl))-3,3'-diboronsäure	S. 191

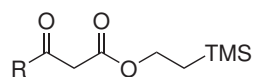


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
118	R-CH <sub>3</sub>	(S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-dimethoxy-1,1'-binaphthalen	S. 192
119	R-H	(S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-2,2'-dihydroxy-1,1'-binaphthalen	S. 193
114	$\begin{array}{c} \text{R} \\   \\ \text{R}-\text{P}=\text{O} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	(S)-3,3'-bis(2,6-Dimethylphenyl)-1,1'-binaphthalen-2,2'-diylhydrogenphosphat	S. 193

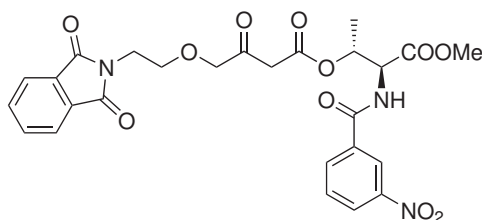
## Acetoacetat-Derivate:



Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
41		4-(2-(1,3-Dioxisoindolin-2-yl)-ethoxy)-3-oxobuttersäureethylester	S. 169
139		3-Oxo-4-(prop-2-in-1-yl-oxy)-butansäureethylester	S. 195
142		3-Oxohept-6-insäureethylester	S. 196
147		4-(2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäureethylester	S. 198

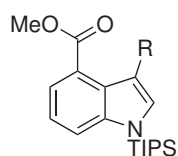


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
164	R-CH <sub>3</sub>	3-Oxobutansäure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 206
165		3-Oxohept-6-in-säure-(2-(trimethylsilyl)ethyl)ester	S. 207

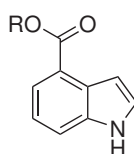


Verbindung	Name	Synthesevorschrift
54	4-(2-(1,3-Dioxisoindolin-2-yl)ethoxy)-3-oxobutansäure-(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )-4-methoxy-3-(3-nitrobenzamido)-4-oxobut-2-ylester	S. 171

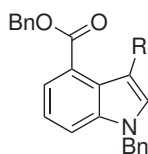
## 3,4-Disubstituierte Indol-Derivate:



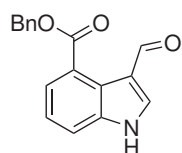
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
194	R-H	1-(Tri-(2-propyl)silyl)-1 <i>H</i> -indol-4-methylester	S. 216
199	R-Br	3-Brom-1-(tri-(2-propyl)silyl)-1 <i>H</i> -indol-4-methylester	S. 216



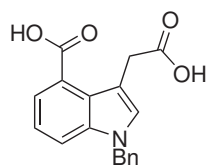
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
206	R-H	1 <i>H</i> -Indol-4-carbonsäure	S. 217
208	R-Bn	1 <i>H</i> -Indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 217



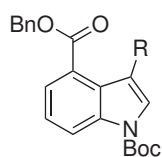
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
210		1-Benzyl-3-formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 218
212		1-Benzyl-3-(2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 219
214		1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 220



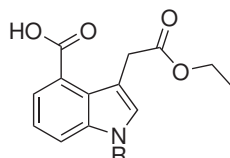
Verbindung	Name	Synthesevorschrift
209	3-Formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 218



Verbindung	Name	Synthesevorschrift
220	1-Benzyl-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure	S. 221

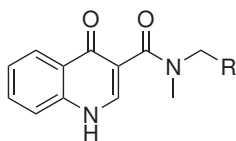


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
221		1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 221
225		1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-((1,3-dithian-2-yliden)methyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 222
222		1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäurebenzylester	S. 222


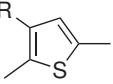
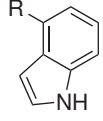
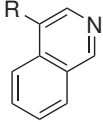


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
229	R-Boc	1-( <i>tert.</i> -Butoxycarbonyl)-3-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure	S. 223
188	R-H	3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure	S. 223

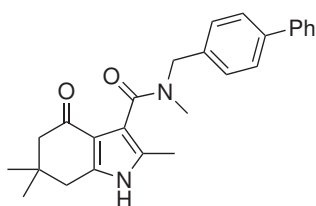
## Amidbibliothek auf Basis des 4-Oxochinolin-Grundgerüsts:



Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
234a		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -((4'-biphenyl)methyl)amid	S. 225
234b		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -benzyl- <i>N</i> -methylamid	S. 227
234d		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(4'- <i>tert.</i> -butylbenzyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 227
234f		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(3',4'-dimethylbenzyl)amid	S. 227
234g		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-biphenylmethyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 228
234h		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(4'-brombenzyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 228
234i		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-chlorbenzyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 228
234j		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(3'-methoxybenzyl)amid	S. 229
234k		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(2'-chlor-4',5'-dimethoxybenzyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 229
234l		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5'-ylmethyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 229

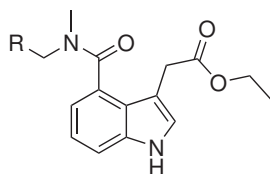
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
234q		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)amid	S. 230
234r		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)amid	S. 230
234v		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(1' <i>H</i> -indol-4'-ylmethyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 230
234z		4-Oxo-1,4-dihydrochinolin-3-carbonsäure- <i>N</i> -(isochinolin-4'-yl-methyl)- <i>N</i> -methylamid	S. 231

### Amid auf Basis des 4-Oxotetrahydroindol-Grundgerüsts:




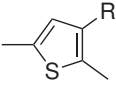
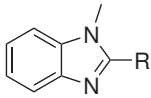
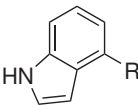
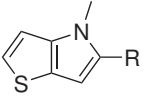
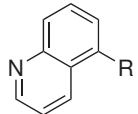
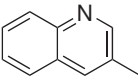
Verbindung	Name	Synthesevorschrift
235a	2,6,6-Trimethyl-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydro-1 <i>H</i> -indol-3-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -((4'-biphenyl)methyl)amid	S. 226

## Amidbibliothek auf Basis des 3,4-disubstituierten Indol-Grundgerüsts:

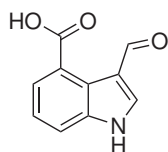


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
236a		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -((4'-biphenyl)methyl)amid	S. 226
236b		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -methyl- <i>N</i> -(benzyl)amid	S. 231
236d		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(4- <i>tert.</i> -butylbenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 232
236e		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(3- <i>tert.</i> -butylbenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 232
236f		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(3,4-dimethylbenzyl)amid	S. 233
236h		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(4'-brombenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 233
236i		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-chlorbenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 234
236j		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(3'-methoxybenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 234
236k		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(2'-chlor-4',5'-dimethoxybenzyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 235
236l		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(benzo[ <i>d</i> ][1,3]dioxol-5'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 235

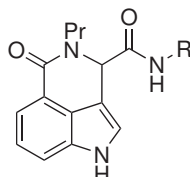


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
236q		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(3'-methylthiophen-2'-ylmethyl)amid	S. 236
236r		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(2',5'-dimethylthiophen-3'-ylmethyl)amid	S. 236
236t		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(1-methyl-1 <i>H</i> -benzo[ <i>d</i> ]imidazol-2-ylmethyl)amid	S. 236
236v		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(1' <i>H</i> -indol-4'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 237
236w		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(methyl)- <i>N</i> -(4'-methyl-4' <i>H</i> -thieno[3',2'- <i>b</i> ]pyrrol-5'-ylmethyl)amid	S. 237
236y		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(chinolin-5'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 237
236z		3-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure- <i>N</i> -(chinolin-3'-ylmethyl)- <i>N</i> -(methyl)amid	S. 238

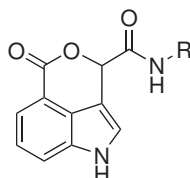
## MCR-Produkte auf Basis des 3,4-disubstituierten Indol-Grundgerüsts:



Verbindung	Name	Synthesevorschrift
240	3-Formyl-1 <i>H</i> -indol-4-carbonsäure	S. 238

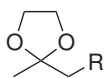


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
241a		5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo-[4,3,2- <i>de</i> ]isochinolin-3-carbonsäurepentylamid	S. 239
241b		5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo-[4,3,2- <i>de</i> ]isochinolin-3-carbonsäurebenzylamid	S. 239
241c		5-Oxo-4-propyl-1,3,4,5-tetrahydropyrrolo-[4,3,2- <i>de</i> ]isochinolin-3-carbonsäure- <i>tert.</i> -butylamid	S. 240

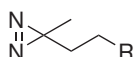


Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
242a		5-Oxo-1,5-dihydro-3 <i>H</i> -pyrano[3,4,5- <i>cd</i> ]-indol-3-carbonsäurepentylamid	S. 240
242b		5-Oxo-1,5-dihydro-3 <i>H</i> -pyrano[3,4,5- <i>cd</i> ]-indol-3-carbonsäurebenzylamid	S. 240
242c		5-Oxo-1,5-dihydro-3 <i>H</i> -pyrano[3,4,5- <i>cd</i> ]-indol-3-carbonsäure- <i>tert.</i> -butylamid	S. 240

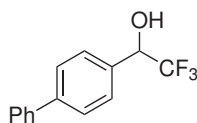
## Sonstige Zwischenprodukte und Ausgangsverbindungen:



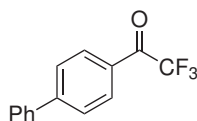
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
145		2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)essigsäureethylester	S. 197
146		2-(2-Methyl-1,3-dioxolan-2-yl)ethanol	S. 198



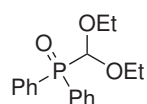
Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
158	R-OH	2-(3-Methyl-3H-diazirin-3-yl)ethanol	S. 204
159	R-I	3-(Iodmethyl)-3-methyl-3H-diazirin	S. 204



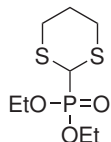
Verbindung	Name	Synthesevorschrift
85	1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluorethan-1-ol	S. 178



Verbindung	Name	Synthesevorschrift
86	1-(4'-Biphenyl)-2,2,2-trifluorethan-1-on	S. 179



Verbindung	Name	Synthesevorschrift
217	(Diethoxymethyl)diphenylphosphinoxid	S. 219



Verbindung	Name	Synthesevorschrift
224	(1,3-Dithian-2-yl)phosphonsäurediethylester	S. 221



Verbindung	R	Name	Synthesevorschrift
233a		4'-Biphenyl- <i>N</i> -methylmethanamin	S. 224
233b		3'-Biphenyl- <i>N</i> -methylmethanamin	S. 224
233c		4-(2'-Propyl)phenyl- <i>N</i> -methylmethanamin	S. 224
233d		3- <i>tert.</i> -Butylphenyl- <i>N</i> -methylmethanamin	S. 225
233e		3-( <i>tert.</i> -Butyl)-1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl- <i>N</i> -methylmethanamin	S. 225

## Erklärung gemäß §8 und §9 der Promotionsordnung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit – abgesehen von der Beratung durch den Betreuer – nach Inhalt und Form eigenständig von mir erarbeitet wurde und nur die aufgeführten Hilfsmittel verwendet wurden.

Daneben haben keine Teile dieser Arbeit im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen oder wurden veröffentlicht, abgesehen von den im Nachfolgenden aufgeführten Stellen. Die entsprechenden Abschnitte und Ergebnisse wurden innerhalb dieser Dissertation mit Literaturangaben gekennzeichnet.

Ich versichere außerdem, dass die vorliegende Arbeit unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden ist.

Es wurde mir noch kein akademischer Grad entzogen.

Daniel Längle

Teile dieser Arbeit wurden an folgenden Stellen bereits veröffentlicht:

### Fachzeitschriften

1. D. Längle, V. Marquardt, E. Heider, B. Vigante, G. Duburs, I. Luntena, D. Flötgen, C. Golz, C. Strohmann, O. Koch, D. Schade, „Design, synthesis and 3D-QSAR studies of novel 1,4-dihydropyridines as TGF $\beta$ /Smad inhibitors“, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *95*, 249–266.  
(Eigener Anteil: (1) Planung, Durchführung oder Überwachung der meisten Synthesen, (2) Verfassen des Synthese- und Experimentalteils.)
2. D. Längle, T. R. Werner, F. Wesseler, E. Reckzeh, N. Schaumann, L. Drowley, M. Polla, A. T. Plowright, M. N. Hirt, T. Eschenhagen, D. Schade, „Toward Second-Generation Cardiomyogenic and Anti-cardiofibrotic 1,4-Dihydropyridine-Class TGF $\beta$  Inhibitors“, *ChemMedChem* **2019**, *14*, 810–822.  
(Eigener Anteil: (1) Planung, Durchführung oder Überwachung der Synthesen und analytischen Experimente, (2) Verfassen des Synthese- und Experimentalteils.)
3. D. Längle, F. Wesseler, D. Flötgen, H. Leek, A. T. Plowright, D. Schade, „Unique photoaffinity probes to study TGF $\beta$  signaling and receptor fates“, *Chemical Communications* **2019**, *55*, 4323–4326.  
(Eigener Anteil: (1) Planung, Durchführung oder Überwachung der Synthesen und analytischen Experimente, (2) Verfassen des Experimentalteils.)

### Vorträge

1. „Design, Synthesis and Characterization of 2nd-Generation 1,4-Dihydropyridines for *in vivo* Cardiac Regeneration“, Annual Symposium of the *Chemical Genomics Center*, **2014**, Dortmund, Deutschland.
2. „From Stem Cell Screening Towards Small Molecule Tools for TGF $\beta$ -Signalling and Heart Regeneration“, Tag der Chemie der Technischen Universität Dortmund, **2016**, Dortmund, Deutschland.

### Posterbeiträge

1. D. Längle, V. Marquardt, D. Flötgen, J. Halver, D. Schade; „Small Molecule Modulation of Stem Cells: Development of novel annelated 1,4-Dihydropyridines as TGF $\beta$ Inhibitors for Cardiomyocyte Differentiation“, DPhG Jahrestagung, **2013**, Freiburg, Deutschland.
2. D. Längle, D. Flötgen, G. Duburs, C. Strohmam, O. Koch, T. Werner, M. Hirt, D. Schade; „From Stem Cell Screening Towards *In Vivo* Small Molecule Tools for Heart Regeneration“, 8. Internationales Meeting des Stammzellnetzwerks NRW, **2015**, Bonn, Deutschland.
3. D. Längle, D. Flötgen, G. Duburs, C. Strohmam, O. Koch, T. Werner, M. Hirt, D. Schade; „From Stem Cell Screening Towards *In Vivo* Small Molecule Tools for Heart Regeneration“, DPhG Jahrestagung, **2015**, Düsseldorf, Deutschland.
4. D. Längle, D. Flötgen, E. Heider, V. Marquardt, G. Duburs, C. Strohmam, O. Koch, T. Werner, M. Hirt, D. Schade; „From Stem Cell Screening Towards Small Molecule Tools for TGF $\beta$ -Signalling and Heart Regeneration“, 24<sup>th</sup> EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry, **2016**, Manchester, Großbritannien.

Teile dieser Arbeit waren Bestandteil von folgenden studentischen Abschlussarbeiten. Die entsprechenden Stellen wurden mit Literaturangaben markiert:

1. Dirk Flötgen; „Design und Synthese von kardiogenen *b*-annelierten 1,4-Dihydropyridinen als Inhibitoren des TGF $\beta$ -Signalwegs“, Bachelorarbeit, Technische Universität Dortmund, **2013**.
2. Viktoria Marquardt; „Design, Synthese und biologische Charakterisierung von kardiogenen *b*-annelierten 1,4-Dihydropyridinen als Inhibitoren des TGF $\beta$ -Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2013**.
3. Niklas Schaumann; „Leitstruktur-Optimierung *b*-annelierter 1,4-Dihydropyridine zur Regeneration von Herzmuskelgewebe“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2014**.
4. Elena Heider; „Computergestütztes Design, Synthese und Testung neuer Inhibitoren des *Transforming Growth Factor*  $\beta$ -Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2014**.
5. Dirk Flötgen; „Target-Identifizierung von neuartigen Inhibitoren des Transforming Growth Factor  $\beta$ -Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2015**.
6. Natalie Jakobs; „Die Entwicklung festphasengestützter Amid-Synthesen für Screening Hits als neue TGF $\beta$ -Inhibitoren“, Bachelorarbeit, Technische Universität Dortmund, **2016**.
7. Maren Flaßhoff; „Synthese 3,4-substituierter Indole als neue Grundkörper für die TGF $\beta$ -Inhibition“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2016**.
8. Fabian Weßeler; „Biochemische Charakterisierung neuer Inhibitoren des TGF $\beta$ /Smad-Signalwegs“, Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, **2016**.





## Kurzfassung

Der Bedarf an neuartigen Behandlungsmöglichkeiten für kardiovaskuläre Krankheiten steigt stetig, was insbesondere bei Betrachtung der deutlich zunehmenden Inzidenz und Mortalität klar wird. Nach wie vor sind die heutigen Therapiemöglichkeiten stark begrenzt, da sie hauptsächlich symptomatisch und nicht kurativ ausgerichtet sind. Ein vielversprechender neuer Behandlungszweig stellt die Regenerative Medizin dar, wobei im kardialen Bereich gerade der TGF $\beta$ -Signalweg ein attraktives Behandlungsziel sein könnte, da dieser nicht nur während der Ausbildung von kardialer Fibrose einen prominenten Einfluss besitzt, sondern auch im Bereich der Stammzell- bzw. Vorläuferzellproliferation und -Differenzierung beteiligt ist. Bislang war diese zelluläre Signalkaskade trotz intensiver Entwicklungsbemühen ein anspruchsvolles *Target*, da bei allen bis dato entwickelten niedermolekularen Inhibitoren ein ausgeprägtes Selektivitätsproblem bezüglich eng verwandter Signalwege beobachtet wurde.

Vor ein paar Jahren jedoch wurden 1,4-Dihydropyridine (DHPs) mit einem völlig neuartigen Hemmmechanismus in einem phänotypischen *Screening*-Ansatz entdeckt. Der in diesem Zusammenhang neu gefundene Wirkmechanismus einer selektiven proteasomalen Degradation des TGF $\beta$  Typ II-Rezeptors weckte die Hoffnung auf neue und selektive TGF $\beta$ -Inhibitoren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden intensive Weiterentwicklungen vorgenommen, um für verschiedene Anwendungen speziell designte Verbindungen auf Basis der 1,4-DHPs zu entwickeln. Für die Durchführung von rational-getriebenen Optimierungskampagnen musste zunächst die bereits bestehende SAR der Verbindungsklasse mit neuen Substitutionsmustern unterfüttert werden. Anschließend sollten 1,4-DHP-Derivate für eine *in vivo*-Anwendung entwickelt werden. Dabei mussten hierfür typische Probleme, wie eine geringe Wasserlöslichkeit oder unzureichende metabolische Stabilität adressiert werden, ohne dabei die TGF $\beta$ -Signalwegs-inhibition zu kompromittieren. So konnten kleine Substanzserien mit verbesserten pharmakokinetischem Profil erhalten werden. Abschließend konnten die Verbindungen in komplexeren Assayformaten, wie einem dreidimensionalen kardialen Fibrosierungsmodell auf Basis von neonatalen Rattenkardiomyozyten (EHT-Modell), ihre Wirksamkeit in *in vivo*-ähnlichen Situationen unter Beweis stellen.

In einem weiteren Projekt wurde die Herstellung von *Photo-Affinity Probes* als Basis der DHPs angestrebt, um den speziellen Wirkmechanismus der 1,4-DHPs zu untersuchen und mögliche zelluläre Bindepartner zu identifizieren. Dazu mussten komplexe Syntheserouten entwickelt werden, mit welchen sowohl eine photoreaktive Gruppe (Diazirin), als auch eine Markierungsgruppe (Alkin) in das Grundgerüst eingebaut werden konnten. Dies führte zu einer Handvoll hochaktiver und sehr selektiver *Tool*-Verbindungen, mit denen in ersten zellulären *Imaging*-Experimenten *Proof-of-concept*-Studien durchgeführt wurden, welche die Anwendbarkeit der Substanzklasse *in cellulo* zeigten.

Zuletzt konnten mittels eines *Scaffold-Hopping*-Ansatzes drei neue, grundsätzlich von 1,4-DHPs unterschiedliche Grundgerüste mit ähnlichen Wirkmechanismus identifiziert werden. Für eines davon, den 3,4-disubstituierten Indol-Derivaten, musste zunächst eine komplexe Syntheseroute entwickelt und optimiert werden. Anschließend wurden mit zwei der *Scaffolds* kleine Amid-basierte Bibliotheken aufgebaut, welche dann auf ihre Inhibition gegenüber dem TGF $\beta$ -Signalweg untersucht wurden.



## Abstract

There is a pressing need for new therapeutic means for cardiovascular diseases considering the increasing incidence and mortality in the aging society combined with the still limited therapeutic options of these medical conditions which are mostly aimed at relieving symptoms without tackling the underlying causes. A new branch in modern pharmaceutical development relies on regenerative medicine approaches. In the context of heart-related pathologies, TGF $\beta$ -signalling is an attractive therapeutic target, since it contributes to cardiac scarring and is a key player in proliferation and differentiation of stem and progenitor cells, respectively. So far, targeting this signalling complex with small molecules proved to be challenging mostly due to selectivity issues against closely related developmental pathways.

A few years back, 1,4-dihydropyridines (DHPs) emerged from a phenotypic differentiation screen based on murine embryonic stem cells as inhibitors of TGF $\beta$ -signalling with an unique mode of action. Initial mechanistic studies revealed that the DHPs induce the internalization of the TGF $\beta$ -receptor II and its proteasomal degradation, which holds promise to inhibitors with an improved selectivity profile. In this work, further advancements in the development of putative regenerative agents based on the 1,4-DHP scaffold were taken by expanding the up to then limited SAR of the compounds, for purpose-driven optimizations and the identification of incorporation sites for more complex and chemically diverse substituents.

Next, key obstacles that typically limit *in vivo* applicability, such as poor aqueous solubility and stability, were systematically addressed. It was possible to introduce polar and metabolically-stable moieties to the scaffold while preserving TGF $\beta$  inhibition potency. Thus, it was possible to produce molecules with improved solubilities (at pH 3: 200-fold) and new insights into the degradation processes were gained. Moreover, the pronounced efficacies of the examined DHPs in an engineered heart tissue assay (EHT, from neonatal rat cardiomyocytes) as a 3D-tissue model for hypertrophy and fibrosis emphasized their therapeutical potential.

The second optimization campaign was devoted to the design of photo-affinity probes to study the remarkable mechanism of action of the 1,4-DHPs. To do this, a quite handy synthetic strategy was devised that enabled a versatile installation of a photo-sensitive group (diazirine) as well as a clickable moiety (alkyne) at different positions of the molecules. Thus, a small and diverse collection of probe molecules could be developed. Preliminary characterizations of these probes for imaging-based localization validated their utility in cellulo. This data provided a solid basis for further studies on the mechanistic aspects of TGF $\beta$  receptor fates and dynamics.

Finally, a ligand-based scaffold-hopping approach was used to identify new and structurally distinct scaffolds with a similar TGF $\beta$  inhibiting activity as the original 1,4-DHPs. Thus, three different substance classes were identified. For one of these, a 3,4-disubstituted indole, a novel synthetic strategy could be successfully developed. This sequence eventually built the basis for the successful generation of a small library of carboxamides that was tested for TGF $\beta$  inhibition.