

**Design, Synthese und biologische
Evaluierung nichtsteroidaler, potenter und
selektiver Inhibitoren der
17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1
(17 β -HSD1)**

Dissertation zur Erlangung des Grades des Doktors der
Naturwissenschaften der Naturwissenschaftlich-Technischen
Fakultät III
Chemie, Pharmazie, Bio- und Werkstoffwissenschaften der
Universität des Saarlandes

von

Erika Ziegler

Saarbrücken
2006

Tag des Kolloquiums: 28.03.2007

Dekan: Prof. Dr. K. Hegetschweiler

Berichterstatter: Prof. Dr. R.W. Hartmann

Prof. Dr. U. Kazmaier

Diese Arbeit entstand unter Anleitung von Prof. Dr. R. W. Hartmann in der Fachrichtung 8.2 Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III der Universität des Saarlandes von März 2003 bis Dezember 2006.

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT	7
1 EINLEITUNG.....	9
1.1 STEROIDHORMONE.....	9
1.1.1 Allgemein.....	9
1.1.2 Estrogene.....	10
1.1.3 Estrogenabhängige Erkrankungen und Therapieansätze	12
1.1.3.1 Endometriose	12
Therapie	13
1.1.3.2 Brustkrebs	15
Therapie	15
1.2 HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASEN	19
1.2.1 Allgemein.....	19
1.2.2 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 (17 β -HSD1).....	21
1.2.2.1 Struktur	21
1.2.2.2 Inhibitoren	25
Steroidale Inhibitoren.....	25
Natürliche Inhibitoren	27
Nichtsteroidale Inhibitoren.....	27
2 AUFGABENSTELLUNG	29
3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION	32
3.1 EINFÜHRUNG	32
3.2 SYNTHESE.....	33
3.2.1 Corefindung.....	33
3.2.2 Substitution.....	36
3.2.2.1 Substitution am Phenylrest	36
3.2.2.2 Substitution am Naphthalinrest	38
3.2.2.3 Substitution am Phenyl- und am Naphthalinrest	42
3.3 EINZELSYNTHESEN UND DISKUSSION.....	43
3.3.1 Amidbildung	43
3.3.2 Boronsäuresynthese	45
3.3.3 Bromierung.....	47

3.3.4	<i>Cyanierung</i>	50
3.3.5	<i>Deaminierung</i>	51
3.3.6	<i>Etherspaltung</i>	54
3.3.7	<i>Heck-Reaktion</i>	59
3.3.8	<i>Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion</i>	61
3.3.9	<i>Katalytische Hydrierung</i>	62
3.3.10	<i>Oxidation</i>	63
3.3.11	<i>Phenolverkochung</i>	65
3.3.12	<i>Sandmeyer</i>	66
3.3.13	<i>Suzuki-Reaktion</i>	66
3.3.14	<i>Tetrazolringbildung</i>	75
3.4	BIOLOGISCHE EVALUIERUNG UND DISKUSSION.....	76
3.4.1	<i>Corefindung</i>	77
3.4.1.1	Ergebnisse.....	77
3.4.1.2	Diskussion.....	79
	Naphthalinderivate.....	79
	Verbindungen mit einer Hydroxygruppe.....	80
	Verbindungen mit zwei Hydroxygruppen.....	80
	Chinolinderivate.....	81
3.4.2	<i>Substitution</i>	84
3.4.2.1	Substitution am Phenylrest.....	86
	Ergebnisse.....	86
	Diskussion.....	87
3.4.2.2	Substitution am Naphthalinrest.....	88
	Ergebnisse.....	88
	Diskussion.....	96
3.4.2.3	Substitution am Phenyl- und Naphthalinrest.....	100
	Ergebnisse.....	100
	Diskussion.....	102
3.4.3	<i>Estrogen-Rezeptor-Bindungsassay</i>	102
3.4.3.1	Ergebnisse.....	102
3.4.3.2	Diskussion.....	103
3.4.4	<i>In vitro Zellassay und Permeabilität im Caco-2 Assay</i>	104
3.4.4.1	Ergebnisse <i>in vitro</i> Zellassay.....	104
3.4.4.2	Ergebnisse Permeabilität der Testsubstanzen im Caco-2 Assay.....	106
3.4.4.3	Diskussion <i>in vitro</i> und Caco-2 Assay.....	107

3.4.5	<i>Metabolische Stabilität</i>	108
3.4.5.1	Ergebnisse.....	108
3.4.5.2	Diskussion	110
3.4.6	<i>Hemmung von P450 Enzymen</i>	110
3.4.6.1	Ergebnisse.....	110
3.4.6.2	Diskussion	111
3.4.7	<i>In vivo Aktivität der Verbindungen 71 und 80</i>	113
3.4.7.1	Ergebnisse.....	113
3.4.7.2	Diskussion	114
4	ZUSAMMENFASSUNG	115
5	SUMMARY	120
6	EXPERIMENTELLER TEIL	124
6.1	BIOCHEMISCHER TEIL	124
6.1.1	<i>17β-HSD1 Testassay</i>	124
6.1.2	<i>17β-HSD2 Testassay</i>	125
6.1.3	<i>In vitro Zellassay¹¹⁰</i>	125
6.1.4	<i>Estrogen-Rezeptor-Bindungsassay</i>	125
6.1.5	<i>Bestimmung der IC₅₀-Werte</i>	126
6.1.6	<i>Caco-2 Assay</i>	126
6.1.7	<i>Test auf metabolische Stabilität</i>	127
6.1.8	<i>Hemmung von P450 Enzymen</i>	128
6.1.9	<i>In vivo Studien</i>	130
6.2	CHEMIE	131
7	LITERATUR	217
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	238
9	DANKSAGUNG	241

Abstract

Das Enzym 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 (17 β -HSD1) katalysiert den letzten Schritt der Estrogenbiosynthese, die NADPH abhängige Reduktion des schwach wirksamen Estrons zu dem potentesten Estrogen, Estradiol. Estrogene, insbesondere Estradiol, sind an der Entstehung und Proliferation von estrogenabhängigen Erkrankungen wie z.B. Endometriose und Brustkrebs beteiligt. Daher eignet sich 17 β -HSD1 als neues Target in der Therapie solcher Krankheiten. 17 β -HSD Typ 2 katalysiert die Reaktion von Estradiol zu Estron und sollte daher durch Inhibitoren der 17 β -HSD1 möglichst nicht gehemmt werden. Ein Agonismus am Estrogenrezeptor sollte ebenfalls vermieden werden. Ausgehend von der für das humane Enzym vorliegenden Kristallstruktur und darauf basierenden Molecular Modelling Versuchen wurde ein Grundgerüst entwickelt, ein phenylsubstituierter Bicyclus, der in verschiedenen Positionen substituiert wurde. Die Substitution führte zur Identifizierung von zwei Positionen, die das Einführen von Resten ohne Verlust der Aktivität und Selektivität erlauben. In der Position 1 des 6-Phenyl-naphthalene Templates wurde schliesslich eine große Zahl an Substituenten eingeführt, die zu neuen, hoch aktiven und selektiven Inhibitoren der 17 β -HSD1 führte. Einige dieser Verbindungen wurden weiteren verschiedenen *in vitro* Tests unterzogen. Sie zeigten eine hohe metabolische Stabilität an Rattenlebermikrosomen und eine mittlere bis hohe Permeabilität im Caco-2 Assay. Zwei Inhibitoren wurden auch *in vivo* getestet und wiesen eine schnelle Absorption und eine gute Halbwertszeit von 1.5h auf.

Human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (17 β -HSD1) catalyzes the NADPH dependent reduction of the weak estrogen estrone into the more potent estradiol, the last step in the formation of estrogens. Estrogens, especially estradiol, have been shown to stimulate the proliferation of hormone dependent diseases. Thus, 17 β -HSD1 is an attractive drug target for estrogen dependent diseases such as breast cancer and endometriosis. The type 2 enzyme (17 β -HSD2) catalyzes the reverse reaction and should therefore not be affected. Further more estrogen receptor agonism must be avoided. Structure based drug design using the crystal structure of human 17 β -HSD1 led to the discovery of novel, selective and potent inhibitors. A scaffold consisting of a phenyl substituted bicyclic moiety was explored as a simplified version of the steroidal substrate, which was substituted at different positions. The substitution led to the identification of two positions which allow the introduction of substituents without loss in activity. Different substituents were introduced in position 1 of the 6-phenylnaphthalene template leading to a large number of active and selective compounds being stable against rat liver microsomes and medium to high permeable as shown in a Caco-2 assay. Two compounds were tested *in vivo*, too. They showed a fast absorption and a good half life of 1.5h.

1 Einleitung

1.1 Steroidhormone

1.1.1 Allgemein

Steroidhormone sind wichtige chemische Informationsträger, die zur langfristigen und globalen Steuerung von Zellfunktionen dienen. Sie steuern das Wachstum, sowie die Differenzierung und Funktion vieler Organe. Andererseits können sie aber auch negative Wirkungen haben und zur Entstehung und Proliferation von Krankheiten im Organismus wie z.B. Mamma- und Prostatakarzinom führen.^{1, 2} Steroidhormone können entsprechend ihrem Bildungsort in Hypothalamus-, Hypophysenvorderlappen-, Hypophysenhintelappen-, Schilddrüsen-, Nebennierenrinden- und Sexualhormone eingeteilt werden.

In den Nebennieren z.B. geht die Darstellung von Gluco- und Mineralocorticoiden von statten.³ Die Biosynthese der steroidalen Sexualhormone findet beim Mann in den Testes statt, wo hauptsächlich Androgene (C₁₉ Steroide) gebildet werden, und bei premenopausalen Frauen in den Eierstöcken, die für die Estrogenbildung (C₁₈ Steroide) verantwortlich sind. Zudem erfolgen einzelne Syntheseschritte auch außerhalb der Drüsen nämlich im Gehirn und in peripherem Gewebe, z.B. Fettgewebe.^{3, 4} Die Wirkstärke der Hormone wird mit Hilfe diverser Enzyme im Zielgewebe moduliert. In diesem Zusammenhang prägte Labrie 1988 den Begriff der Intrakrinologie⁵⁻⁷ in Abgrenzung zur Endokrinologie.

Die Informationsübertragung kann auf drei verschiedene Arten geschehen u.z. autokrin (das Hormon wirkt an der gleichen Zelle, in der es produziert wird), parakrin (das Hormon wirkt an einer benachbarten Zelle) und endokrin (das Hormon wird über den Blutkreislauf in die Peripherie transportiert und wirkt an entfernt gelegenen Zellen). Dieses Wissen um die Informationsübertragung mit Hilfe von Hormonen wurde um den Begriff der intrakrinen Sekretion erweitert. (siehe Abb. 1) Damit wurde die Aufmerksamkeit auf die Synthese von Steroiden gelenkt, die lokal im peripheren Gewebe aus inaktiveren Vorstufen gebildet werden und auch hier ihre Wirkung entfalten, ohne in den Blutkreislauf zu gelangen.

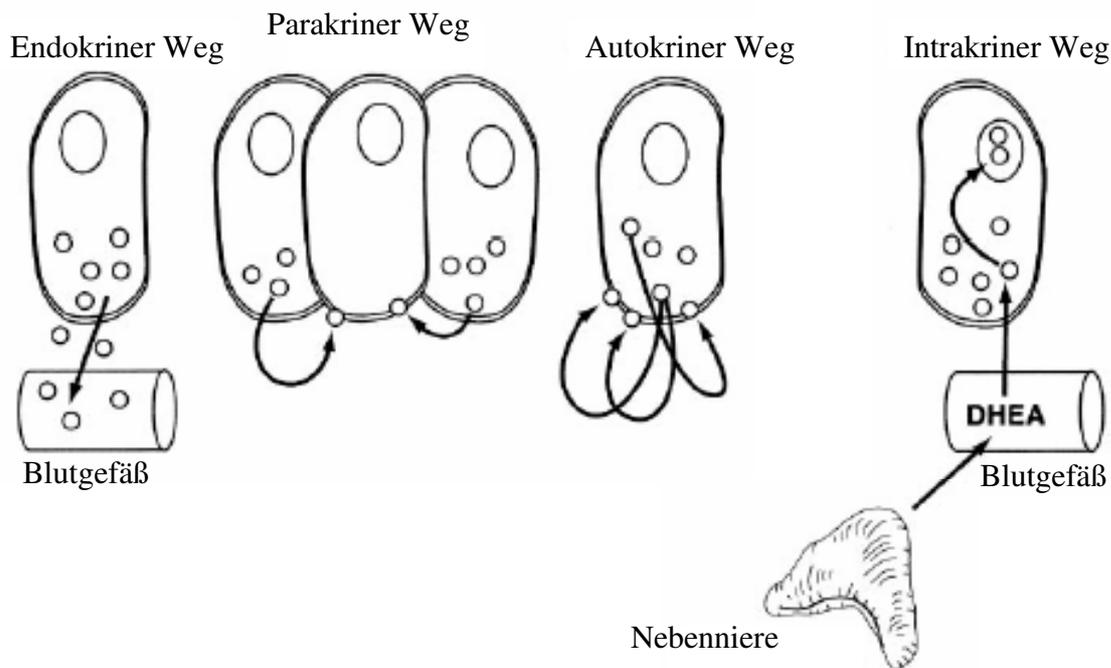


Abbildung 1: Sekretionswege der Hormone

1.1.2 Estrogene

Eine Hauptklasse der Steroidhormone wird von den Estrogenen gebildet, den weiblichen Sexualhormonen, deren Biosynthese v.a. in den Eierstöcken abläuft und unmittelbar vor dem Eisprung ihr Maximum erreicht. Estrogene kommen aber auch im Fettgewebe, Muskeln und einigen Tumoren vor. Die Vertreter dieser Klasse an Steroidhormonen sind Estron, Estradiol und Estriol. Zu ihren Hauptaufgaben gehört eine genitale Wirkung, d.h. die Ausbildung und Erhaltung der weiblichen Geschlechtsmerkmale sowie eine extragenitale lipid- anabole Wirkung, die zur Entwicklung von subkutanem Fettgewebe führt. Außerdem sind sie an der Entstehung und Proliferation von estrogenabhängigen Krankheiten beteiligt wie z.B. Endometriose, Endometriumkarzinom, Adenomyosis und Brustkrebs.^{4, 8-12}

Das potenteste Estrogen ist Estradiol (E_2) (Abb. 2), welches in premenopausalen Frauen hauptsächlich in den Ovarien gebildet wird. Es wird entweder aus Testosteron mittels des Enzyms Aromatase oder aus Estron in einer von den Isoenzymen Typ 1, 7 und 12 der 17β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (HSD) katalysierten Reaktion gebildet. E_2 gelangt anschließend auf endokrinen Wege in die Zielgewebe, wo es seine Wirkung mittels Interaktion mit dem Estrogen Rezeptor (ER) α und β entfaltet. Nach der Menopause sinkt der Plasma E_2 Spiegel auf 1/10 des Estradiolspiegels in premenopausalen Frauen¹³, E_2 wird nun

hauptsächlich im peripheren Gewebe z.B. Brustgewebe, Endometrium, Fettgewebe und der Haut aus inaktiveren Vorstufen wie z.B. Estron (E_1), Estronsulfat (E_1 -S), Dehydroepiandrosteron (DHEA) und DHEA-S gebildet. Dieses wie bereits oben erwähnt als Intrakrinologie bezeichnete Konzept, ermöglicht die Bildung von aktiven Estrogenen aus inaktiven Vorstufen unter Beteiligung von verschiedenen steroidogenen Enzymen (Hydroxysteroid Dehydrogenasen (HSD), Aromatase), die z.T. verstärkt im peripheren Gewebe gebildet werden, wo diese aktiven Estrogene auch ihre Wirkung entfalten. Als Konsequenz dieses intrakrinen Mechanismus zur Bildung von E_2 , ist dessen Konzentration im peripheren Gewebe insbesondere in estrogenabhängigen Erkrankungen höher als im gesunden Gewebe. Vor allem das Wachstum vieler Brustkrebszelllinien wird durch eine lokal erhöhte Estradiolkonzentration stimuliert. Des Weiteren ist das Auftreten und Fortschreiten von Erkrankungen wie Endometriose, Leiomyosis, Adenomyosis, Menorrhagie, Metrorrhagie und Dysmenorrhoe abhängig von einem signifikant erhöhten Estradiollevel in dem entsprechend erkrankten Gewebe.

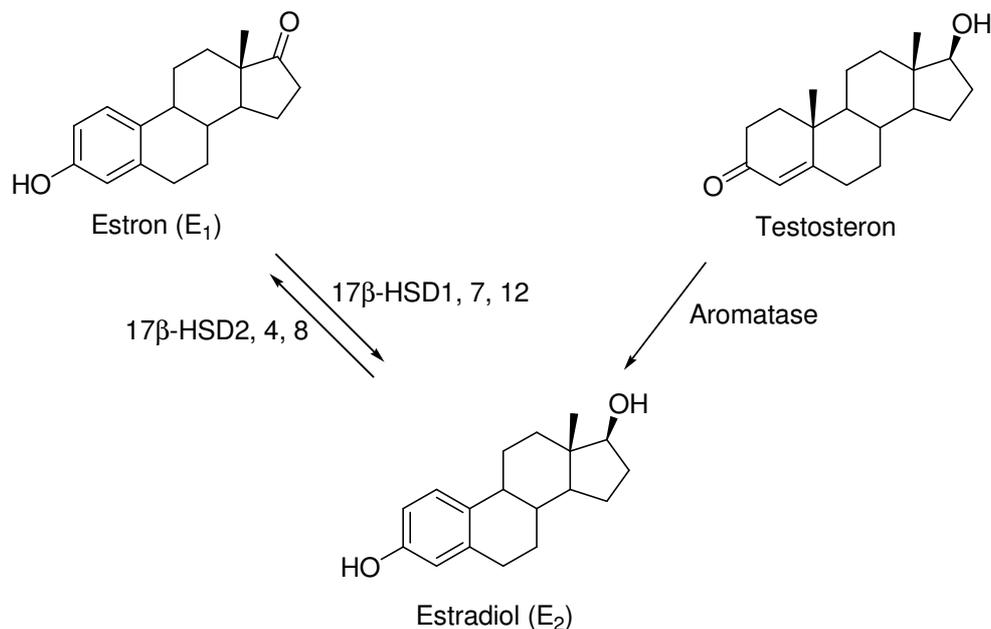


Abbildung 2: Bildung von 17β -Estradiol

1.1.3 Estrogenabhängige Erkrankungen und Therapieansätze

1.1.3.1 Endometriose

Endometriose ist eine gut erforschte estrogenabhängige Erkrankung, die etwa 5-10% aller Frauen im gebärfähigen Lebensalter betrifft.¹⁰ 35-50% der Frauen mit Unterleibschmerzen u./o. Sterilität weisen Zeichen einer Endometriose auf.¹⁴ Diese Erkrankung ist definiert als histologisch nachgewiesenes ektopes endometriales Drüsen- und Stromagewebe. Diese zu Rezidiven neigende, chronische Erkrankung führt bei entsprechender Ausprägung zu Schmerzen unterschiedlicher Intensität und variierenden Charakters sowie potentiell zu Sterilität. Es werden drei makroskopische Krankheitsbilder unterschieden, die peritoneale Endometriose, retroperitoneale, tief infiltrierende Endometriose, einschließlich Adenomyosis uteri und die zystische Ovarialendometriose. Bislang sind viele Erklärungstheorien für die Pathogenese der Endometriose bemüht worden u.z. die Metaplasietheorie, die Transplantationstheorie und die Theorie der Autotraumatisierung des Uterus.

Entsprechend der Metaplasietheorie^{15, 16} soll pleuripotentes Zölomepithel aus dem Bereich der Urogenitalfalte unter bestimmten Bedingungen auch beim Erwachsenen die Fähigkeit besitzen, sich in Müllersches Gängepithel auszudifferenzieren und Endometrioseherde zu bilden. Diese Theorie wird unterstützt durch die Beobachtung, dass bei Frauen mit fehlendem Uterus und Gynatresie zum Teil schwere Endometriosen auftreten können. Auch bei Männern, die aufgrund eines Prostatakarzinoms mit hohen Estrogendosen behandelt wurden, konnte in Einzelfällen eine Endometriose nachgewiesen werden. Allerdings wurde diese Theorie nie experimentell belegt.

Nach der von Sampson¹⁷⁻¹⁹ postulierten Theorie kommt es durch retrograde Menstruation zum Austritt von normalen Endometriumzellen oder von Fragmenten des eutopen Endometriums in die Bauchhöhle mit potentieller Implantation dieser Zellen im Peritonealraum und Weiterentwicklung zu Endometrioseherden. Die retrograde Menstruation konnte als physiologisches Ereignis nachgewiesen werden. Allerdings erkranken nicht alle Frauen mit retrograder Menstruation an Endometriose, hierbei spielen verschiedene Faktoren wie z.B. Zytokine, Enzyme und Wachstumsfaktoren (z.B. Matrixmetalloproteinasen) eine entscheidende Rolle.

Die von Leyendecker²⁰ aufgestellte Theorie der Autotraumatisierung des Uterus beruht auf der anatomischen Zuteilung der unterschiedlichen Schichten des Uterus zu einer Archimetra und einer äußeren Neometra. Archimetra und Neometra unterscheiden sich in ihrem embryonalen Ursprung und in der zeitlichen Entwicklung. Aus noch nicht bekannten Gründen entwickeln einige junge Frauen eine uterine Hyperperistaltik/Dysperistaltik mit Erhöhung des intrauterinen Drucks. Die resultierende Autotraumatisierung führt zu einer Abschilferung basaler Endometriumfragmente und zu einer verstärkten Aussaat implantationsfähiger Basalisanteile durch vermehrte retrograde Menstruation in die Peritonealhöhle. Durch Reaktivierung der Organogenese kommt es zur Implantation, Proliferation und zur metaplastischen Entwicklung peristromaler glatter Muskelfasern.

Die gesteigerte, autonome, zyklusunabhängige Estrogenproduktion und –aktivität wie auch die verminderte Estrogeninaktivierung stellen eine typische Besonderheit des endometriotischen Gewebes dar. Diese gesteigerte lokale Estrogenproduktion und –aktivität wird durch eine, im Vergleich zum normalen Endometrium, deutliche Überexpression von Aromatase, Expression von 17 β -HSD1 und eine verminderte Inaktivierung des potenten E₂ aufgrund eines Mangels an 17 β -HSD2 verursacht.^{4, 10, 21, 22}

Therapie

Die polymorphen von Endometriose verursachten Symptome umfassen jegliche Schmerzsymptomatik im kleinen Becken, Kreuzschmerzen, Dyspareunie, Dysurie, Defäkationsbeschwerden. Die eingesetzten Therapeutika sind sehr unterschiedlicher Natur und greifen entsprechend dem komplexen Krankheitsbild der Endometriose auf verschiedenen Ebenen an.

Eine der häufigsten eingesetzten therapeutischen Maßnahmen bei Endometriose ist die chirurgische Entfernung der Endometrioseherde.¹⁴ Die Durchführung solcher operativen Massnahmen zur Verminderung oder Ausräumung von Endometrioseherden kann durch verschiedene Techniken, u.z. Laparoskopie oder Laparotomie, vorgenommen werden. Bei der Laparoskopie erfolgt der Eingriff über mehrere Einstiche in der Bauchdecke während bei der Laparotomie ein Bauchschnitt vorgenommen wird. Letztere Technik wird zur Behandlung größerer Endometrioseherde eingesetzt, die entweder entfernt werden bzw. mittels Elektro-/Thermokoagulation oder Laserbehandlung funktionsuntüchtig gemacht werden.

Die medikamentöse Behandlung bleibt trotz neuer Therapiekonzepte verbesserungswürdig. Die rein symptomatische Behandlung der Dysmenorrhoe erfolgt mittels nichtsteroidaler antiinflammatorischer Medikamente (NSAID) wie z.B. Acetylsalicylsäure, Indomethacin, Ibuprofen und Diclofenac. Da in malignen Tumoren als auch im eutopen Endometrium von Frauen mit Endometriose eine COX2 Überexpression beobachtet werden konnte, bieten sich therapeutisch die selektiven COX2 Inhibitoren wie z.B. Celecoxibe an.^{23, 24} Im Gegensatz zu den NSAID weisen sie zwar ein besseres gastrointestinales Nebenwirkungsprofil auf, allerdings ist das Risiko von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Infarkt und Schlaganfall besonders bei Patienten mit vorgeschädigtem Herz-Kreislauf-System erhöht.²⁵

Die kausale medikamentöse Therapie beruht auf einem Estrogenentzug mit damit verbundenen variablen Nebenwirkungen und im Allgemeinen kontrazeptivem Charakter. Einen großen Stellenwert nehmen die Gestagene mit ihrem antiestrogenen und antiproliferativen Effekt auf das Endometrium ein. Zu den am häufigsten eingesetzten Substanzen gehören Medroxyprogesteronacetat, Norethisteron, Cyproteronacetat. Die Verwendung von Danazol ist aufgrund seines androgenen Nebenwirkungsprofils mit potentieller Gewichtszunahme, Hirsutismus und Akne rückläufig. Eine zentrale Bedeutung nimmt die Behandlung der Patientinnen mit GnRH-Analoga ein,²⁶ allerdings sollte die Therapiedauer einen Zeitraum von 6 Monaten nicht überschreiten, da eine längerfristige Anwendung mit irreversiblen Schäden und einer erhöhten Frakturgefahr verbunden ist. Das Nebenwirkungsprofil der GnRH-Analoga umfasst des Weiteren Hitzewallungen, Amenorrhoe, Libidoverlust und v.a. im Rahmen einer Langzeitbehandlung Osteoporose.

Einen weiteren Therapieansatz bilden die steroidalen und nichtsteroidalen Aromatasehemmer.²⁷ Es konnte gezeigt werden, dass der Einsatz des nichtsteroidalen Aromataseinhibitors Letrozol zu einer signifikanten Reduktion von Häufigkeit und Schweregrad einer Dysmenorrhoe und Dyspareunie, sowie zu einer Verminderung des Endometriosemarkers CA125 führt.²⁸ Das Nebenwirkungsprofil der Aromataseinhibitoren reicht von Hitzewallungen, Übelkeit, Müdigkeit bis hin zu Osteoporose und kardialen Erkrankungen.²⁹ Langzeiteffekte können zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht ausgeschlossen werden. Die Sicherheit der Aromataseinhibitoren in der Langzeittherapie muss geprüft werden.

Alle hier erwähnten Therapiemöglichkeiten werden auch in der Bekämpfung von Erkrankungen wie Leiomyosis, Adenomyosis, Menorrhagie, Metrorrhagie und Dysmenorrhoe eingesetzt, doch es besteht bei diesen medikamentösen Therapiemöglichkeiten wie bereits oben erwähnt Handlungsbedarf.

Neue wirksame Therapiekonzepte sind gefragt, zu denen z.B. die Hemmung des in den letzten Schritt der Biosynthese von E_2 involvierten Enzyms 17β -HSD1, welches erwiesenermaßen in endometriotischem Gewebe überexprimiert wird, zählen könnte.

1.1.3.2 Brustkrebs

Die verbreitetste estrogenabhängige Erkrankung ist der Brustkrebs.³ Jede vierte Krebserkrankung in der weiblichen Bevölkerung fällt unter die Kategorie der Mammakarzinome und ist die Haupttodesursache in der westlichen weiblichen Bevölkerung im Alter zwischen 35 und 54 Jahren.³⁰ Viele dieser Tumore zeigen ein estrogenabhängiges Wachstum und werden als so genannte HDBC (*hormone dependent breast cancer*) bezeichnet. Man unterscheidet Estrogenrezeptor positive (ER+) und Estrogenrezeptor negative (ER-) Tumore. Beide Unterteilungskriterien sind wichtig für die Wahl der geeigneten Therapie. Etwa 50% der Brustkrebsfälle bei premenopausalen Frauen und 75% der Brustkrebsfälle bei postmenopausalen Frauen sind ER+,^{31, 32} d.h. das Wachstum des Tumors wird bereits durch eine physiologische Konzentration an Estrogenen im erkrankten Gewebe gefördert.

Auffällig und die Therapie beeinflussende Merkmale der HDBC sind eine Überexpression an Aromatase^{33, 34} und 17β -HSD1³⁵⁻³⁸ sowie ein Mangel an 17β -HSD2^{9, 37}. Entscheidend ist auch die im Vergleich zu Aromatase bis zu 500fach erhöhte Aktivität der Sulfatase^{13, 39} und damit einhergehend sehr hohe intratumorale Konzentrationen an E_1 , die mittels 17β -HSD1 in das hochpotente E_2 umgewandelt werden.

Des Weiteren ist die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs bei einer gesteigerten Expression von 17β -HSD1 erhöht.⁹

Therapie

Die Therapie der Wahl im Frühstadium des Brustkrebses sind chirurgische Maßnahmen, wenn möglich brusterhaltende Eingriffe. Nur in den wenigsten Fällen wird eine Mastektomie vorgenommen. Um Rezidive zu vermeiden schließt sich der Operation eine Radiotherapie an, oder aber die Radiotherapie wird zunächst durchgeführt, um einen größeren Tumor zu einer

operablen Größe zu reduzieren. Im fortgeschrittenen Stadium oder dem Auftreten von Metastasen in Lymphen, der Haut oder dem Gehirn ist es nicht mehr Ziel die Erkrankung zu heilen sondern eine palliative Kontrolle zu erreichen.

Der hormonelle Status des Tumors, ob es sich um eine pre- oder postmenopausale Patientin handelt und der Status des Tumors sind Kriterien für die Wahl einer geeigneten Therapie.⁴⁰ Es stehen verschiedene Therapieansätze zur Verfügung, die aber alle auf einer Hormondeprivation (Entzug wachstumsfördernder, körpereigener Hormone) oder aber einer Hormoninterferenz (Zufuhr exogener Hormone) beruhen. Voraussetzung für eine solche Beeinflussbarkeit ist jedoch die endokrine Sensitivität der Tumore, die bei HDBC ER+ Tumoren gegeben ist. Zu diesen endokrinen Therapien zählen GnRH-Analoga, Antiestrogene, Aromataseinhibitoren und Sulfataseinhibitoren. Eine weitere Therapiemöglichkeit bei Brustkrebs ist die Immuntherapie mit Interferonen, Interleukinen, Zytokinen und monoklonalen Antikörpern, z.B. Herceptin®, ein gegen Her2 gerichteter Antikörper, der nur bei Frauen mit einer sehr starken Reaktion und Überexpression von Her2 teilweise zum Einsatz kommt. Diese Optionen sind allerdings z.T. noch sehr umstritten und von geringer Bedeutung.

GnRH-Analoga wie z.B. Goserelin binden im Zielorgan Hypophyse an spezifische membranständige Rezeptoren, was zu einer vermehrten Sekretion von FSH und LH führt. Beide Hormone führen ihrerseits in einer negativen Rückkopplung in den hypophysären Zellen zu einer Verminderung der GnRH-Rezeptoren. Die daraus resultierende Desensitivierung der Hypophysenzellen in Bezug auf GnRH führt zu einer Sekretionshemmung von FSH und LH, so dass der steroidhormonelle Regelkreis unterbrochen wird. Zu den Nebenwirkungen dieser Therapeutika zählen wie bereits oben erwähnt Hitzewallungen, Schweißausbrüche und Osteoporose.

Eine weitere Therapieoption ist mit den Antiestrogenen, Antagonisten am ER, gegeben. Ihre Wirkung beruht auf der Fähigkeit kompetitiv an den ER zu binden und damit eine spezifische Bindung des endogenen Estrogens zu vermeiden. Das natürliche Hormon ist damit nicht mehr in der Lage das Tumorwachstum zu fördern. Therapeutischen Einsatz finden heute so genannte SERM (selektive Estrogenrezeptor Modulatoren), die einen Estrogen-Agonismus in Geweben wie Knochen oder Leber entwickeln, hingegen antagonistisch und/oder minimal agonistisch im Brustgewebe oder Uterus wirken.⁴¹⁻⁴³ Damit sind diese Verbindungen nicht

nur effektive in der Bekämpfung des Brustkrebses, sondern erhöhen auch die Knochendichte und reduzieren die Osteoporosegefahr bei postmenopausalen Frauen. Am verbreitetsten ist der Einsatz von Tamoxifen. Nach einer Behandlung von ca. 12-18 Monaten kommt es allerdings zur Entwicklung von Resistenzen, die auf niedrigere Tamoxifenspiegel in den Brustkrebszellen und das verstärkte Vorkommen von inaktivem cis-4-Hydroxytamoxifen im Vergleich zu dem potenten trans-4-Hydroxytamoxifen zurückzuführen sind.⁴⁴ Mit der partialagonistischen Wirkung am ER bei Gabe von Tamoxifen wird das erhöhte Risiko von Endometriumkarzinomen und thromboembolischen Erkrankungen assoziiert.^{45, 46}

Die enzymatisch katalysierte Estrogenbiosynthese kann allerdings auch durch selektive Enzyminhibitoren beeinflusst werden. Das Enzym Aromatase, welches C19 Steroide in C18 Steroide umwandelt und im Brustkrebsgewebe erwiesenermaßen überexprimiert wird²⁷, ist eines der Targets zur Senkung des Estradiolspiegels. Dieser Enzymkomplex, der zu den Cytochrom P450 Enzymen gehört, katalysiert die Aromatisierung des androgenen A Rings unter Abspaltung der C19 Methylgruppe zu Estrogenen. Der erste Aromataseinhibitor, der zur Therapie des Brustkrebses eingesetzt wurde, war Aminogluthetimid. Allerdings beeinflusst Aminogluthetimid mehrere Enzyme der Superfamilie Cytochrom P450 und hemmt damit eine Reihe anderer biochemischer Umwandlungen. Die Selektivität der Verbindung ist sehr gering. Beispielsweise greift Aminogluthetimid unter anderem so stark in die Steroidproduktion der Nebennieren ein, dass sowohl eine Glucocorticoid- als auch eine Mineralocorticoids substitution notwendig sein können. Inzwischen sind potente und selektive Aromataseinhibitoren auf dem Markt, die in steroidale und nichtsteroidale Verbindungen unterteilt werden können. Zu den steroidalen Inhibitoren zählt z.B. Exemestan, welches einen positive Effekt auf die Knochendichte hat, was mit dessen Affinität zum Androgenrezeptor assoziiert ist.⁴⁵ Allerdings handelt es sich bei diesem Typ von Verbindungen um irreversible Hemmer, die auch eine größere Anzahl an Nebenwirkungen haben wie z.B. Hitzewallungen, Übelkeit, Müdigkeit. Es gibt allerdings auch nichtsteroidale Verbindungen, die sich auf dem Markt befinden, z.B. Letrozol. Der Vorteil dieser Verbindungen liegt in den geringeren Nebenwirkungen. Sie zeigen keine uterine Hypertrophie, haben aber keinen positiven Effekt auf die Knochendichte und führen zu einer Erhöhung von LDL, Cholesterol und Triglyzeriden.^{45, 46} Aromataseinhibitoren werden heute vorwiegend als second line Therapeutika eingesetzt. Mittlerweile wurde jedoch in klinischen Studien die Gleichwertigkeit oder sogar Überlegenheit der Aromataseinhibitoren gegenüber Tamoxifen unter Beweis gestellt und damit deren Einsatz als first line Therapeutika begründet.^{29, 47}

Die Estrogenbiosynthese beinhaltet auch andere Wege zur Bildung des potenten E₁ und E₂ unter Umgehung des lokal im Zielgewebe, z.B. Brusttumoren, vorhandenen Enzyms Aromatase.

Es werden zwei mögliche Wege zur Bildung von Estrogenen postuliert, der Aromataseweg^{48, 49} und der Sulfataseweg⁵⁰. Der Aromataseweg beinhaltet die Bildung von Estrogenen aus Androgenen unter Beteiligung des Enzyms Aromatase. Bei dem Sulfataseweg, handelt es sich um einen Weg zur Bildung von E₁/E₂ mittels des Enzyms Steroidsulfatase, ein Enzym, welches die Umwandlung von E₁-sulfat und DHEA-S zu E₁ und DHEA katalysiert. Auf diesem Wege entsteht 10x mehr Estron im Zielgewebe als auf dem Aromataseweg.¹³ Das E₁ wird dann mittels der Isoenzyme 17β-HSD1, 7 und 12 zu E₂, dem potentesten Estrogen reduziert. Die Steroidsulfatase und 17β-HSD1 stellen neue Targets im Kampf gegen estrogenabhängige Erkrankungen dar, insbesondere in der Entwicklung von Therapeutika zur Behandlung des Mammakarzinoms.⁴²

Zahlreiche steroidale Sulfataseinhibitoren konnten gefunden werden, darunter auch der potente, irreversible Hemmer EMATE, der allerdings agonistische Wirkung am Estrogenrezeptor zeigte.^{51, 52} Es konnten auch einige potente nichtsteroidale Sulfataseinhibitoren gefunden werden, wie z.B. COUMATE und Derivate sowie zahlreiche Sulfamatderivate des Tetrahydronaphthalins, Indanons und Tetralons.⁵² Bis heute fand aber kein Sulfataseinhibitor den Einzug in die Therapie von estrogenabhängigen Erkrankungen.

Einen neuen Therapieansatz stellt die duale Inhibition der Aromatase und Sulfatase dar. Ein Ansatz bei dem Design entsprechender Inhibitoren stellt der Zusammenschluss des für Sulfataseinhibitoren entwickelten Pharmakophormodells, z.B. ein Phenolsulfamatester, mit einem beispielsweise bereits bekannten Aromataseinhibitor der dritten Generation dar.⁵³ Dabei konnten *in vivo* potente Verbindungen synthetisiert werden. Allerdings befindet sich bis heute noch kein entsprechender Inhibitor in der klinischen Phase.

Die Hemmung der 17β-HSD1, ein Schlüsselenzym in der Biosynthese von Estrogenen könnte sich als weitere Alternative in der Therapie estrogenabhängiger Erkrankungen sowohl bei premenopausalen als auch bei postmenopausalen Frauen anbieten.^{10, 54-56} Bisher ist nämlich nur eine Therapie von postmenopausalen Frauen mit Aromataseinhibitoren möglich, da bei premenopausalem Einsatz eine Hochregulierung des Enzyms Aromatase bewirkt wird. Daher müssen premenopausale Brustkrebspatientinnen in eine künstliche Menarche versetzt werden, um

anschließend mit Aromataseinhibitoren behandelt zu werden, oder aber es finden andere Therapieoptionen Einsatz. Laut bisherigem Kenntnisstand bewirkt die Gabe von 17 β -HSD1 Inhibitoren keine Hochregulation des Enzyms und ist damit ein vollkommen neuer Ansatz zur Behandlung von premenopausalen Patientinnen.

Ein weiterer Vorteil dieses Ansatzes ist, dass ein Eingriff in den letzten Schritt der Estrogenbiosynthese erfolgt, also die Umwandlung von E₁ in das hochpotente E₂ gehemmt wird. Der Eingriff erfolgt in den im peripheren Gewebe ablaufenden Biosyntheseschritt, so dass lokal in dem erkrankten Gewebe eine Reduktion der Estradiolbildung stattfindet. Der Einsatz entsprechend selektiver Hemmstoffe wäre voraussichtlich mit geringeren Nebenwirkungen verknüpft, da die Synthese anderer Steroide unbeeinflusst bleiben würde. Wichtig wäre, dass diese Inhibitoren keine oder nur eine sehr geringe agonistische Wirkung am ER zeigen, insbesondere am ER α , da eine agonistische Bindung am ER mit einer Aktivierung und damit einer Proliferation und Differenzierung der Targetzelle einhergeht. Im Gegensatz dazu würde eine antagonistische Wirkung dieser Verbindungen am ER ein Binden der natürlichen Substrate an den Rezeptor verhindern und zur Reduktion der Proliferation der Targetzellen führen. Der Einsatz von selektiven 17 β -HSD1 Inhibitoren wird zur Therapie zahlreicher estrogenabhängiger Erkrankungen diskutiert, z.B. Brustkrebs, Ovarial-, Endometriumkarzinom, Endometriose, Adenomyose. Hochinteressant und völlig neuartig ist der Vorschlag, selektive Inhibitoren der 17 β -HSD1 präventiv bei Vorliegen einer genetischen Disposition für Brustkrebs einzusetzen.⁵⁷

1.2 Hydroxysteroid Dehydrogenasen

1.2.1 Allgemein

Hydroxysteroid Dehydrogenasen (HSD) können in verschiedene Klassen eingeteilt werden. Die 11 β -HSD modulieren die Aktivität der Glucocorticoide, 3 β -HSD katalysieren die Reaktion der Δ 5-3 β -Hydroxysteroiden (DHEA oder 5-Androsten-3 β ,17 β -diol) zu den Δ 5-3 β -Ketosteroiden (Androstendion oder Testosteron) und 17 β -HSD wandeln die weniger aktiven 17-Ketosteroiden zu den entsprechenden 17-Hydroxyverbindungen um (Androstendion zu Testosteron und E₁ zu E₂) oder umgekehrt.⁵⁸⁻⁶⁰ Die HSD spielen sowohl bei der Aktivierung als auch bei der Inaktivierung der Steroidhormone eine entscheidende Rolle. In Abhängigkeit vom Bedarf der Zelle an Steroidhormonen, verändern sie die Potenz der Sexualhormone⁵⁵, z.B. wird E₁ mittels 17 β -HSD1 zu dem hoch potenten E₂ umgewandelt, während E₂ mit Hilfe

von 17β -HSD2 in das weniger potente E_1 konvertiert wird, 17β -HSD2 inaktiviert E_2 während 17β -HSD1 E_1 aktiviert.

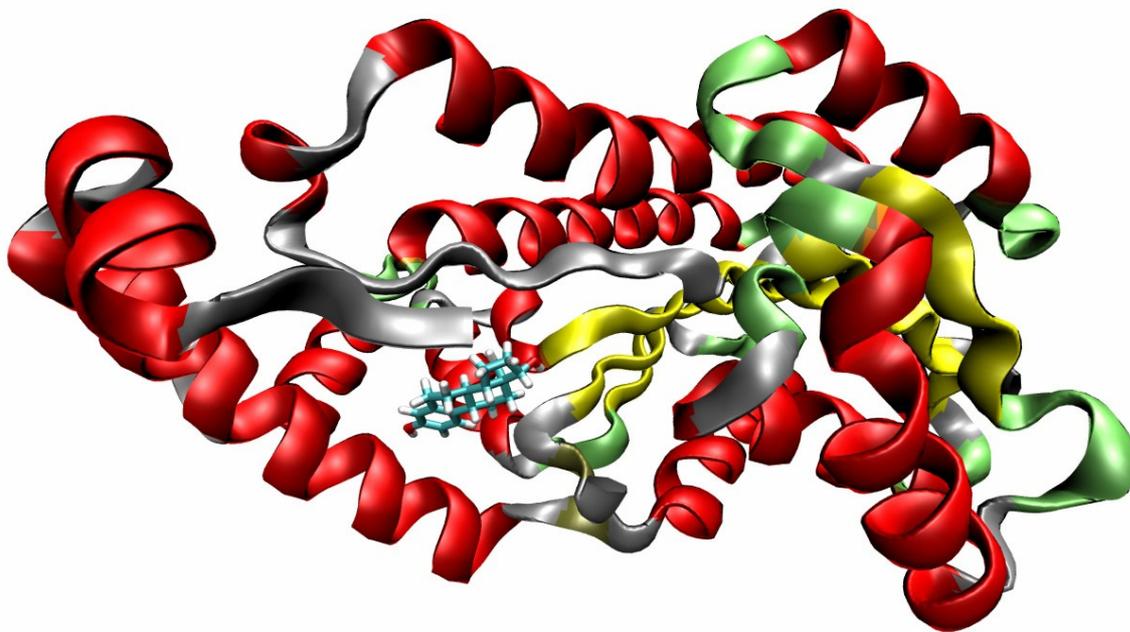
Bis heute wurden vierzehn verschiedene 17β -HSD identifiziert^{61, 62} und zwölf dieser Enzyme konnten cloniert werden⁶⁰. Sie gehören alle zu der so genannten short chain dehydrogenase/reduktase Familie, mit Ausnahme von 17β -HSD5, einer Ketoreduktase. Die Aminosäureidentität zwischen den unterschiedlichen 17β -HSD ist mit 20-30% sehr gering⁶³ und es handelt sich um membrangebundene oder lösliche Enzyme. Die Röntgenstruktur von 6 humanen Subtypen ist bekannt (17β -HSD1, 3, 5, 10, 11 und 13).⁶⁴⁻⁶⁶ Bei den 17β -HSD handelt es sich um NAD(H) und NADP(H) abhängige Enzyme, die in der Lage sind inaktive oder wenig aktive Steroidhormone in potentere Hormone umzuwandeln und umgekehrt. Daher spielen die 17β -HSD eine entscheidende Rolle in der hormonellen Regulation und Funktion im Menschen. Sie unterscheiden sich allerdings in ihrer Gewebeverteilung, der katalytischen Präferenz (Oxidation oder Reduktion), Substratspezifität und subzellulären Lokalisation. Derselbe HSD-Subtyp wurde in verschiedenen Geweben gefunden. Es ist wahrscheinlich, dass alle 17β -HSD in den verschiedenen estrogenabhängigen Geweben exprimiert werden, allerdings in unterschiedlichen Konzentrationen. Im erkrankten Gewebe ist das Verhältnis zwischen den verschiedenen Subtypen verändert im Vergleich zum gesunden Gewebe, wobei einige Subtypen überexprimiert werden, während andere fehlen können, so dass eine Erhöhung bzw. Erniedrigung der Konzentration des entsprechenden Steroids erfolgen kann. Damit ist den 17β -HSD eine äußerst wichtige Rolle bei der Regulation der Aktivität der Sexualhormone zuzuschreiben. Des Weiteren sind sie in die Entwicklung estrogensensitiver Erkrankungen wie z.B. Brustkrebs, Ovarial-, Uters- und Endometriumkarzinome sowie androgenabhängigen Erkrankungen wie Prostatakarzinom, benigne Prostatahyperplasie, Akne, Hirsutismus, etc. involviert. Es konnte gezeigt werden, dass einige 17β -HSD an der Entwicklung von speziellen Erkrankungen beteiligt sind, z.B. Pseudohermaphroditismus (17β -HSD3⁶⁷), bifunktionale Enzymdefizienz (17β -HSD4^{68, 69}), polycystische Nierenerkrankungen (17β -HSD8⁷⁰) und Alzheimer (17β -HSD10^{65, 71-74}). Selektivität von potentiellen Inhibitoren der 17β -HSD zu erreichen sollte erleichtert werden aufgrund der Tatsache, dass jeder HSD-Subtyp eine spezielle Substrataffinität hat, eine unidirektionale (oxidative oder reduktive) Aktivität in intakten Zellen und eine spezielle Gewebeverteilung aufweist. Es sollte durch Angriff an bestimmten HSD möglich sein, die intrakrine und parakrine Konzentration an Estrogenen und Androgenen in verschiedenen Zielgeweben zu beeinflussen oder sogar zu kontrollieren.

1.2.2 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1 (17 β -HSD1)

1.2.2.1 Struktur

Das am besten charakterisierte Mitglied der 17 β -HSD ist die Typ 1 17 β -HSD. Bei der 17 β -HSD1 handelt es sich um ein Enzym der short chain dehydrogenase/reduktase (SDR)-Familie, die auch als humane Plazentaestradioldehydrogenase bezeichnet wird.^{3, 75} Die dabei von der Enzym Kommission vergebene Bezeichnung lautet E.C.1.1.1.62.

Engel und Mitarbeiter⁷⁶ waren die ersten, die in den fünfziger Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts dieses Enzym beschrieben. In den neunziger Jahren wurden erste Kristallisationsversuche unternommen, so dass man heute bei der Entwicklung von Inhibitoren auf insgesamt 16 kristallographische Strukturen zurückgreifen kann.⁷⁷ Es liegen Röntgenstrukturen vom Enzym alleine vor, aber auch binäre und ternäre Komplexe des Enzyms mit dem Substrat und anderen Liganden bzw. Substrat/Ligand und Cofaktor. (Abb. 3)



*Abbildung 3: Darstellung eines binären Komplexes von 17 β -HSD1 mit Estradiol
(rot) α -Helices, (gelb) β -Faltblätter, (grün) turns (Schleifen),
(grau) random coils (unstrukturierte Bereiche)*

Als natürlicher Cofaktor dient NADPH⁷⁸ allerdings kann 17 β -HSD1 z.B. *in vitro* auch NADH nutzen. Die Homologie bei den Enzymen dieser Familie liegt bei lediglich 25%. Codiert wird dieses menschliche Enzym von einem 3.2 kb-Gen, welches aus 6 Exons und 5 Introns besteht und in ein 2.2 kb Transcript umgewandelt wird.^{63, 79} Aufgebaut ist es aus 327 Aminosäuren und es kommt als Homodimer vor. Das Molekulargewicht des Monomeren liegt bei 34.9 kDa.^{55, 80}

17 β -HSD1 wird in Plazenta, Leber, Eierstöcken, Endometrium, Prostata, peripherem Gewebe wie z.B. Fettgewebe⁵⁵ und zahlreichen Krebszelllinien⁸¹ exprimiert. Es handelt sich dabei um ein cytosolisches Enzym, welches zum ersten Mal aus humaner Plazenta isoliert wurde.⁸² Hauptaufgabe der 17 β -HSD1 ist die Umwandlung des weniger aktiven E₁ in das hochpotente E₂. Es katalysiert auch in einem geringeren Maße die Reaktion von Dehydroepiandrosteron (DHEA) zu 5-Androsten-3 β ,17 β -diol, ein estrogene Wirkung zeigendes Androgen.⁸³⁻⁸⁵ (Abb. 4) *In vitro* katalysiert das Enzym sowohl Reduktion als auch Oxidation zwischen E₁ und E₂, während es unter physiologischen Bedingungen nur die Reduktion katalysiert.⁸⁶ Diese Bisubstratreaktionen können nach einem zufälligen katalytischen Mechanismus ablaufen, während dessen entweder Steroid oder Cofaktor zuerst an das Enzym binden.⁸⁷ Postuliert wird auch ein katalytischer Mechanismus bei dem der Cofaktor zuerst an das Enzym bindet.⁸⁸

Ausschnitt aus der Steroidbiosynthese:

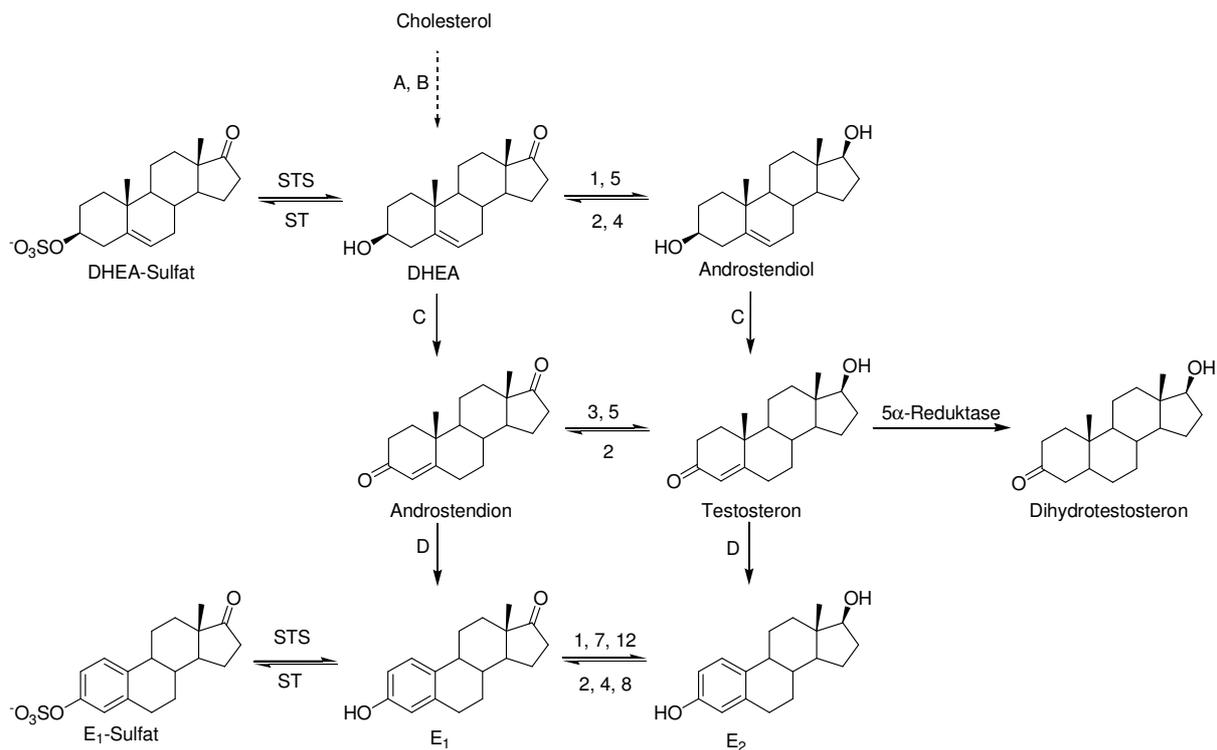


Abbildung 4: Die Isoformen der 17β-HSD und ihre Rolle in der Steroidbiosynthese

Die Isoformen sind durch Zahlen gekennzeichnet (A) P450 side chain cleavage Enzyme, (B) P450 17α Hydroxylase/P450 17,20 Lyase, (C) 3β-Hydroxysteroid Dehydrogenase, (D) Aromatase, (STS) Steroidsulfatase, (ST) Steroidsulfotransferase, (DHEA) Dehydroepiandrosteron, (Androstendiol) 5-Androsten-3β,17β-diol, (Androstendion) 4-Androsten-3,17-dion, (E₁) Estron, (E₂) Estradiol

Das Enzym besteht aus einer Substrat- und einer Cofaktorbindungstelle. Bei der Substratbindungsstelle handelt es sich um einen hydrophoben Tunnel, der eine hohe Komplementarität zum Steroid aufweist. Wie Penning in seinem Reviewartikel⁵⁵ schreibt, stechen einige Positionen des Estrons/Estradiols durch eine Wechselwirkung mit dem Enzym hervor. Es handelt sich dabei um die Hydroxygruppe in Position 3 des Steroids, welche mit His221 und möglicherweise mit Glu282 und Met279 interagiert, wobei die Aminosäuren als Wasserstoffbrückenakzeptoren fungieren. Tyr155 und Ser142 können als Wasserstoffbrückendonatoren mit der Ketoposition (C17) des Steroids reagieren. Außerdem kommt es zu Wechselwirkungen zwischen dem unpolaren Grundgerüst und dem relativ hydrophoben aktiven Zentrum des Enzyms. Eine Ausnahme stellen die polaren Aminosäuren

Tyr218, Ser222 und Asn152 dar, die sich in der Nähe der Positionen 6 und 7 des Steroids befinden.

17 β -HSD1 weist auch einen eher unpolaren Eintrittskanal auf, der Platz für sterisch anspruchsvolle Substituenten bietet und einen entry loop (Aminosäuren 188-201), der allerdings nicht in allen Kristallstrukturen gut aufgelöst ist. Dieser entry loop kann zwei Konformationen einnehmen, u.z. die Substrat- oder die Cofaktorbindestelle blockierend.⁸⁸ Aufgrund seiner Flexibilität sollten bei dem Design von potentiellen Inhibitoren keine Interaktionen mit diesem dem loop angehörenden Aminosäuren angestrebt werden.

Die hydrophoben van der Waals Wechselwirkungen scheinen die Hauptinteraktionen mit dem Steroid auszubilden, während die Wasserstoffbrückenbindungen für die Spezifität des Steroids zum Enzym verantwortlich sind.⁸⁹ Als Cofaktorbindestelle taucht wie bei allen andern Enzymen dieser Familie auch der Rossmann fold⁵⁵, eine aus α -Helices und β -Faltblättern aufgebaute Region (β - α - β - α - β)₂, ein allgemein auftretendes Motiv Gly-Xaa-Xaa-Xaa-Gly-Xaa-Gly sowie eine Nonsens Region Tyr-Xaa-Xaa-Xaa-Lys innerhalb der active site auf. Wichtig für die Aktivität ist eine katalytische Tetrade bestehend aus Tyr155-Lys159-Ser142-Asn114, die bei der Hydridübertragung das Steroid und die Ribose im Nicotinamid stabilisieren.^{77, 89, 90} (Abb. 5)

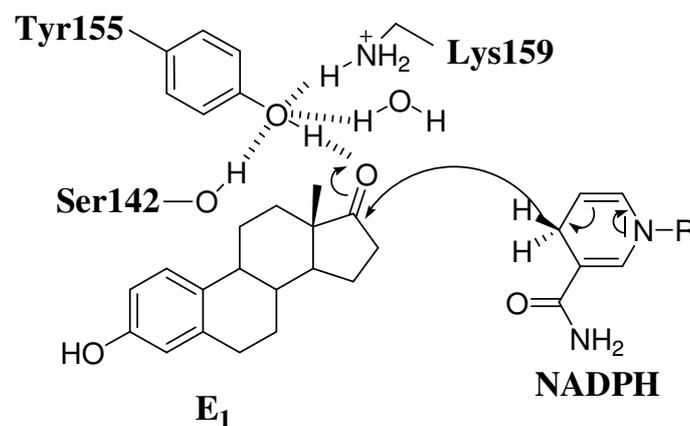


Abbildung 5: Von Ghosh vorgeschlagener Mechanismus der Umwandlung von Estron zu Estradiol durch 17 β -HSD1⁶⁴. Die Pfeile markieren die Übertragung eines Hydridions von NADPH auf das C17 des Estrons.

Das 17 β -HSD1 codierende Gen ist mit dem für Mutationen sehr anfälligen und vererbaren Gen für Mamma- und Ovarialkarzinom, dem BRCA1 Gen auf Chromosom 17q11-q21, verknüpft.⁷⁹ Erwiesenermaßen ist die Aktivität von 17 β -HSD1 in endometriotischem Gewebe

und Brustkrebszellen höher als in gesundem Gewebe, was hohe intrazelluläre Estradiolspiegel nach sich zieht, die wiederum Proliferation und Differenzierung des erkrankten Gewebes bedingen.^{3, 8, 10, 29, 42, 43, 45, 50} Eine Hemmung von 17 β -HSD1 könnte zu einer Senkung des Estradiolspiegels führen und damit eine Regression der estrogenabhängigen Erkrankungen zur Folge haben. Des Weiteren könnten selektive Inhibitoren der 17 β -HSD1 präventiv bei Vorliegen einer genetischen Disposition für Brustkrebs Einsatz finden.⁵⁷

Dieses Enzym würde sich damit als Target zur Entwicklung neuer selektiver und nichtsteroidaler Inhibitoren als Therapeutika im Kampf gegen estrogenabhängige Erkrankungen anbieten. Ein proof of concept liegt bislang noch nicht vor. Anhand eines Mausmodells entwickelt von der Firma Solvay Pharmaceuticals konnte zwar gezeigt werden, dass durch MCF-7 Zellen induzierte Tumore in ovariectomierten Mäusen in ihrem Wachstum durch Gabe von 17 β -HSD1 Inhibitoren sehr stark gehemmt werden können,⁹¹ bis heute wurde jedoch der Beweis, dass das Konzept auch am Menschen funktioniert aufgrund des relativ neuen Forschungsfeldes noch nicht erbracht.

1.2.2.2 Inhibitoren

In der Literatur sind wenige Verbindungen als Inhibitoren der 17 β -HSD1 beschrieben.⁸⁴ Die Palette der potentiellen Strukturen reicht dabei von Phytoestrogenen über synthetische, steroidale Verbindungen bis hin zu nichtsteroidalen Inhibitoren, die auf eine Hemmung des Enzyms getestet wurden.

Steroidale Inhibitoren

Die Klasse der synthetischen steroidalen Hemmstoffe wurde durch verschiedenartige Variationen des Estrogengrundgerüsts erhalten.⁹²⁻⁹⁵ Der Nachteil dieser Verbindungen ist allerdings die geringe Selektivität, denn als Steroide können sie auch gut an anderen Enzymen der Steroidbiosynthese angreifen, was wiederum unerwünschte Nebenwirkungen nach sich zieht. Außerdem können sie aufgrund ihrer steroidal Struktur eine Affinität zu Steroidrezeptoren aufweisen und eine agonistische oder antagonistische Wirkung erzielen.

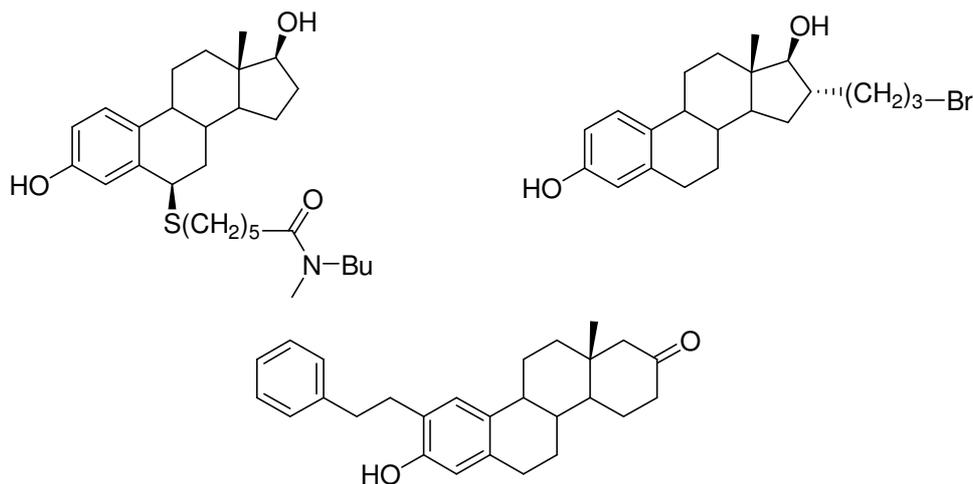


Abbildung 6: Beispiele steroidaler Inhibitoren

Eine weitere Verbindungsklasse, die beschrieben wurde, sind so genannte Hybridinhibitoren⁹⁶⁻⁹⁸, Verbindungen, sowohl eine hydrophile als auch eine hydrophobe Region enthaltend, die es ihnen ermöglichen nicht nur an der Substratbindungsstelle anzugreifen, sondern auch Interaktionen mit der Cofaktorbindungsstelle einzugehen. Die Hemmstoffe sind dabei folgendermaßen aufgebaut:

- Adenosinanteil oder vereinfachte Derivate, die mit der Cofaktorbindungsstelle interagieren können
- Estradiol- oder Estronteil, der mit der Substratbindungsstelle wechselwirkt und ein
- Spacer verschiedener Länge als Bindeglied zwischen den beiden Teilen

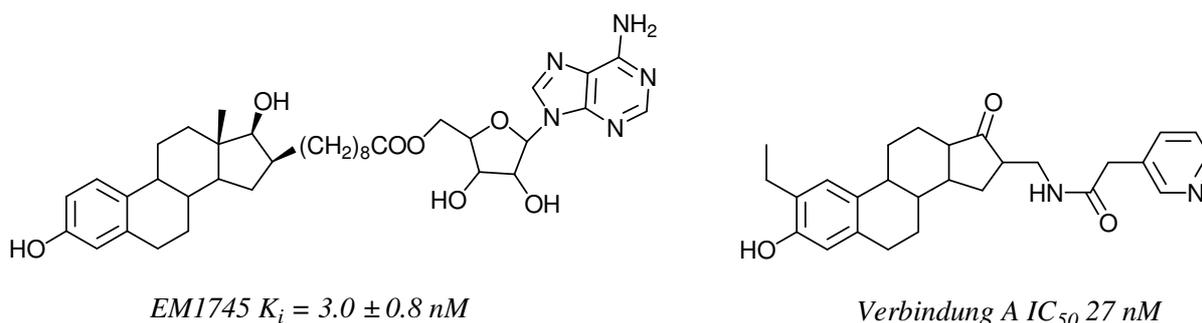


Abbildung 7: Hybridinhibitoren

In der Reihe dieser Verbindungen sind Inhibitoren synthetisiert worden, die eine gute Hemmung des Enzyms und eine gute Selektivität gegenüber 17 β -HSD2 aufweisen (EM1745⁹⁹, Verbindung A⁹⁸). Steroidale Strukturen zeigen im Allgemeinen eine

unerwünschte estrogenere Wirkung, jedoch gehen z.B. die Inventoren der Verbindung A davon aus, dass durch die Substitution am C2 eine geringere estrogenere Wirkung erreicht werden kann.^{100, 101} Das wurde bislang in Tests jedoch nicht nachgewiesen.

Natürliche Inhibitoren

Von den Phytoestrogenen, die eine Affinität zum Estrogenrezeptor haben und je nach physiologischen Bedingungen als Estrogene oder Antiestrogene agieren, wurden Flavone, Isoflavone und Lignane auf eine Hemmwirkung getestet.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Dabei erwies sich das Coumestrol als besonders potent, zeigte aber estrogenere Aktivität.¹⁰⁵ Zahlreiche Gossypolderivate wurden auch als Inhibitoren synthetisiert.¹⁰⁶ In diesem Falle wird allerdings nicht die Substratbindungsstelle sondern die Cofaktorbindungsstelle als Angriffspunkt gewählt¹⁰⁷, was Probleme in der Selektivität gegenüber anderen Enzymen, die NAD(H) oder NADP(H) als Cofaktor nutzen, nach sich ziehen könnte. Das allgemeine Problem der Phytoestrogene ist und bleibt allerdings ihre fehlende Selektivität, denn sie sind meistens in der Lage mehrere steroidogene Enzyme zu hemmen und greifen an Steroidrezeptoren und Signaltransduktionselementen an.¹⁰⁸

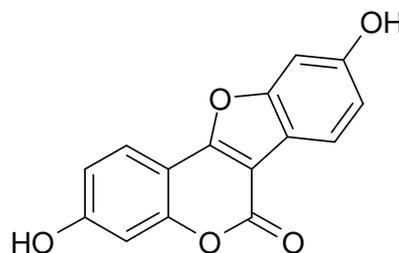


Abbildung 8: *Coumestrol* IC_{50} $0.2\mu M$

Nichtsteroidale Inhibitoren

Neben Diketonen wie beispielsweise 2,3-Butandion, Glyoxal oder 16-Oxo-Estron, die zu Studien des Enzyms verwendet wurden, wurden noch Suizidinhibitoren getestet. Diese durch das Enzym generierten Verbindungen erwiesen sich allerdings nicht als therapeutisch nutzbar, da die Oxidationsrate der Alkohole in die entsprechend reaktive Form, die Ketone, zu schwach war.⁸⁴

In anderen Studien untersuchten Jarabak und Mitarbeiter¹⁰⁹ verschiedene nichtsteroidale Inhibitoren auf ihre Hemmwirkung. In dieser Reihe erwies sich Verbindung U-11-100A als

potenteste Verbindung. Im Vergleich zu anderen nichtsteroidalen Verbindungen ist U-11-100A hingegen ein schwacher Hemmstoff der 17 β -HSD1.

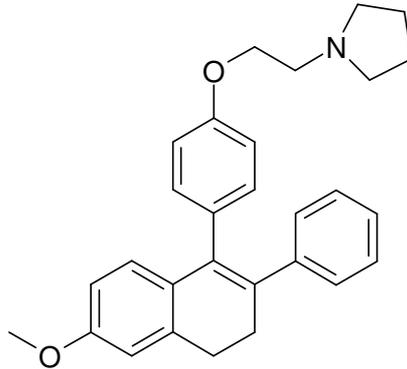


Abbildung 9: U-11-100A $K_i = 0.61 \mu\text{M}$

Als weitere nichtsteroidale Inhibitoren der 17 β -HSD1 wurden Thiophenpyrimidinonderivate untersucht. Der Nachteil dieser Verbindungen ist die geringe Potenz gegenüber 17 β -HSD1 und der Mangel an Selektivität gegenüber anderen HSD wie z.B. 17 β -HSD2 und 17 β -HSD3.¹¹⁰⁻¹¹⁴

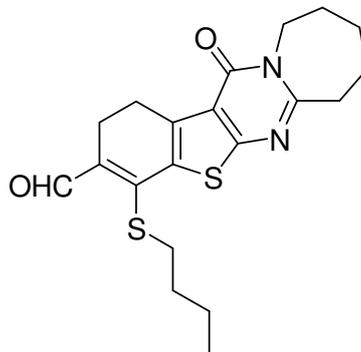


Abbildung 10: Beispiel eines nichtsteroidalen Inhibitors:

74% Hemmung bei einer Konzentration von $1\mu\text{M}$

2 Aufgabenstellung

Ziel der durchgeführten Arbeit ist es neue, nichtsteroidale und selektive Inhibitoren zu entwickeln, die zur Hemmung des in den letzten Schritt der Estrogenbiosynthese involvierten Enzyms 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ1 (17 β -HSD1) eingesetzt werden können. Durch eine starke Hemmung dieses Schlüsselenzyms kann eine Senkung des Estradiolspiegels im peripheren erkrankten Gewebe gezielt bewirkt werden. Diese Verbindungen könnten sich als potente Therapeutika im Kampf gegen estrogenabhängige Krankheiten wie Endometriose und Brustkrebs erweisen.^{10, 55, 56} Durch die Synthese nichtsteroidaler Inhibitoren soll eine höhere Selektivität erreicht werden. Es soll so verhindert werden, dass diese Verbindungen auch andere Enzyme der Steroidbiosynthese hemmen oder möglicherweise an Steroidrezeptoren angreifen.

Ausgehend von der für dieses Enzym vorliegenden Kristallstruktur und darauf basierenden Molecular Modelling Versuchen soll eine Leitstruktur, ein Grundgerüst entwickelt werden. Diese Struktur soll Möglichkeiten der Variation und insbesondere Substitution bieten, um Interaktionen mit Aminosäuren in der Substratbindungsstelle zu bewirken. (siehe Abb. 11)

In die Überlegungen zum Design von nichtsteroidalen Inhibitoren der 17 β -HSD1 wurde zu Selektivitätszwecken auch die Struktur des ER α mit einbezogen. Der Unterschied zur Struktur des Targetenzym besteht darin, dass keine polaren Aminosäuren in der Nähe des steroidalen B/C Rings entsprechend den Aminosäuren Tyr218 und Ser222 zu finden sind und in der Nähe der Positionen 15 und 16 des natürlichen Substrates im Estrogenrezeptor ist in Ermangelung eines Cofaktor nicht so viel Platz wie in der Struktur von 17 β -HSD1. Allerdings bieten ER α und β im Gegensatz zur Struktur von 17 β -HSD1 Raum im Bereich der Positionen 11 und 12 des Steroids.

Diese Überlegungen führten zur Entwicklung eines Pharmakophormodells der zu synthetisierenden Verbindungen, welches aus einem unpolaren Grundgerüst und vier Resten besteht. (siehe Abb. 11)

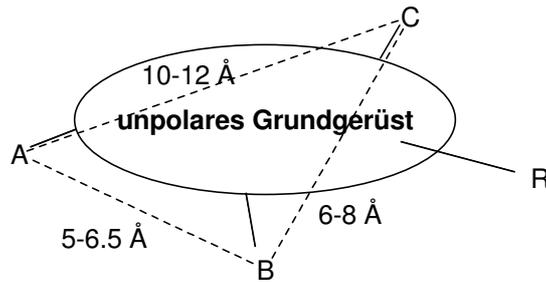


Abbildung 11: Schematische Darstellung der zu synthetisierenden Inhibitoren

- A: Wasserstoffbrückendonator, der die 3-Hydroxygruppe des Steroids imitiert*
B: polare Gruppe zur Interaktion mit Tyr218, Ser222, Asn152
C: Wasserstoffbrückendonator oder -akzeptor, der C17 des Steroids nachbildet
R: Substituent, der mit Aminosäureresten im Kanal/Cofaktorbindungsstelle interagiert

Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse wurde nun ein allgemeines Gerüstmolekül entwickelt, in dem das Pharmakophormodell ganz oder teilweise verwirklicht ist. (siehe Abb. 12)

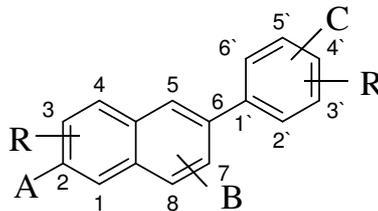


Abbildung 12: Allgemeines Grundgerüst der zu synthetisierenden Verbindungen

- A: Methoxy- oder Hydroxygruppe, die 3- bzw. 17-Position des Steroids imitierend*
B: Stickstoff in Position 5 oder 8 für Interaktionen mit Tyr218, Ser222 oder Asn152
C: Methoxy- oder Hydroxygruppe, die 17- bzw. 3-Position des Steroids imitierend
R: funktionelle Gruppe zur Synthese komplexerer Verbindungen, die z.B. mit Aminosäuren in der Cofaktorbindungsstelle interagieren kann

Aufgabe soll es zunächst sein die Art der Substituenten A und C zu erarbeiten, ob es sich um Wasserstoffbrückendonatoren oder -akzeptoren handeln soll. Des Weiteren soll die ideale Position dieser Substituenten durch Synthese verschiedener Verbindungen eruiert werden. So soll die Bedeutung sowohl der Art als auch der Position der Substituenten für Interaktionen mit den Aminosäuren His221, Glu282 einerseits und Ser142, Tyr155 andererseits aufgeklärt

werden. Des Weiteren soll die Auswirkung eines polaren Stickstoffs in den Positionen 5 und 8 auf Aktivität und Selektivität überprüft werden und damit die Frage beantwortet werden, ob dieser zusätzliche Stickstoff eventuell stabilisierende Wasserstoffbrückenbindungen zu den Aminosäuren Ser222 und Tyr218 ausbildet.

In dem so erhaltenen bestmöglichen Grundgerüst, sollen durch Einführen eines Restes R diejenigen Stellen herausgearbeitet werden, die Möglichkeiten der Substitution bieten ohne einen Verlust der Aktivität und Selektivität nach sich zu ziehen. Eine Leitstruktur soll identifiziert werden, die durch strukturelle Modifikation Verbindungen liefert, die eine erhöhte Aktivität und Selektivität aufweisen.

Mit Hilfe der ermittelten biologischen Hemmdaten sollen Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden um neue Substanzen in ihrer potentiellen Wirkung abschätzen zu können.

Als interessante Verbindungsklassen wurden 6-Phenyl-naphthaline und 2/3-Phenylchinoline gewählt und es galt Derivate dieser Grundkörper zu synthetisieren. (siehe Abb. 13)

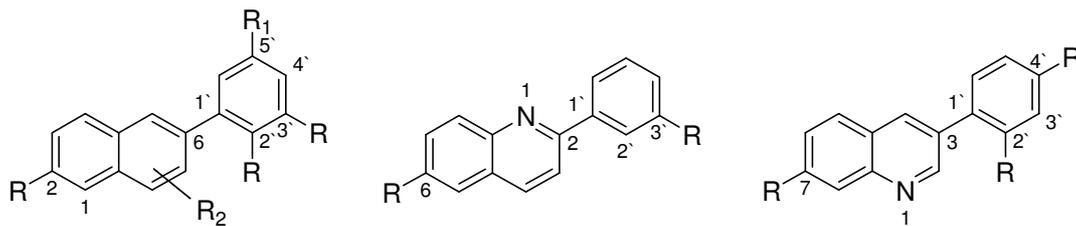


Abbildung 13: Auswahl an zu synthetisierenden Verbindungen

$R = \text{z.B. } -\text{OH}, -\text{OMe} \text{ oder } -\text{H}, R_1 = \text{z.B. Alkyl, Amid} \text{ und } R_2 = \text{z.B. } -\text{CN}, \text{Aryl, Amid}$

Da die zu synthetisierenden Verbindungen potentielle Arzneistoffe darstellen, sollen sie Selektivität gegenüber dem ER α/β und 17 β -HSD2 zeigen, zellgängig sein und eine größtmögliche metabolische Stabilität aufweisen. Des Weiteren sollen die Verbindungen selektiv gegenüber diversen CYP450 Isoenzymen sein, wie z.B. CYP3A4, CYP2D6, CYP1A2 etc. um Interaktionen mit anderen Wirkstoffen nach Möglichkeit zu vermeiden. Diese Parameter gilt es anhand diverser Assays zu bestimmen.

Hoch potente und selektive Verbindungen sollen zusätzlich auf ihre *in vivo* Wirkung hin untersucht werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Einführung

Auf dem Weg zur Synthese von nichtsteroidalen und selektiven Inhibitoren der 17 β -HSD1 wurden in einem ersten Schritt einfache, unsubstituierte, bicyklische Verbindungen gewählt, die der Grundgerüstfindung dienen sollten (siehe Abb. 14 und 15). Dieses Grundgerüst sollte eine gute Hemmung der 17 β -HSD1 zeigen.

In einem zweiten Schritt wurden in verschiedenen Positionen des Grundgerüsts Substituenten eingeführt, die in der Lage sein sollten zusätzliche Interaktionen mit Aminosäuren des Enzyms einzugehen. So sollten die Positionen gefunden werden, die vom Enzym als Substitutionsstellen toleriert werden, d.h. es sollten potentielle Hemmstoffe mit nach Möglichkeit höheren Hemmwerten und Selektivität gegenüber ER α/β und 17 β -HSD2 synthetisiert werden.

In einem letzten Schritt wurde daraufhin in der favorisierten Position eine breite Palette an Substituenten eingefügt, um nichtsteroidale, selektive und hoch aktive Hemmstoffe der 17 β -HSD1 zu erhalten (siehe Abb. 19, 20, 21).

Die synthetisierten Verbindungen wurden von einem externen Labor auf Hemmung der 17 β -HSD1 untersucht und von einigen Verbindungen wurden im Arbeitskreis von Prof. Hartmann IC₅₀-Werte bestimmt. Des Weiteren wurde die Selektivität gegenüber 17 β -HSD2 und dem ER α und β getestet. Die aktivsten Verbindungen wurde in einem *in vitro* Zellassay auf Hemmwirkung der 17 β -HSD1 untersucht. Die Permeabilität der dargestellten Verbindungen wurde in einem Caco-2 Assay als Modell zur Vorhersage der oralen Bioverfügbarkeit untersucht. Da es sich bei den synthetisierten Verbindungen um potentielle Arzneistoffe handelt, wurde schon in einem frühen Stadium deren metabolische Stabilität an Rattenlebermikrosomen sowie die Interaktionen mit verschiedenen CYP450 Enzymen, um Arzneimittelwechselwirkungen abschätzen zu können, geprüft. Zwei Verbindungen wurden außerdem *in vivo* getestet.

3.2 Synthese

3.2.1 Corefindung

Bei den zur Darstellung der Inhibitoren gewählten Synthesen sollte es sich um möglichst einfache Reaktionen handeln, die gute Ausbeuten erlauben und gleichzeitig den Einsatz variabler Ausgangsstrukturen ermöglichen. So sollte innerhalb relativ kurzer Zeit eine breite Palette an Verbindungen synthetisiert werden, die klare Aussagen bezüglich des Weiteren Vorgehens bei dem Design und der Synthese von Inhibitoren der 17 β -HSD1 erlauben.

In einem ersten Schritt sollten diverse Verbindungen synthetisiert werden, die der Corefindung dienen sollten. Es sollten möglichst alle Anforderungen erfüllt sein, die aufgrund von Molecular Modelling Studien in dem entwickelten Pharmakophormodell vereint wurden, d.h. ein unpolarer Grundkörper mit Substituenten, die in der Lage sind, Wechselwirkungen mit den Aminosäuren His221, Glu282, Ser142 und Tyr155 einzugehen und so zu einer Stabilisierung des Ligand-Enzym-Komplexes führen.

Es handelt sich bei allen synthetisierten Verbindungen um Bizyklen, die einen oder zwei Substituenten in unterschiedlichen Positionen tragen, die entweder als Wasserstoffbrückendonatoren oder -akzeptoren dienen können. Als potentielle Strukturen wurden z.B. Phenyl-naphthaline und -chinoline synthetisiert.

Eine Übersicht über die Synthese von 2-(3-Hydroxyphenyl)chinolin-6-ol mittels Grignard Reaktion gibt Abb. 14.

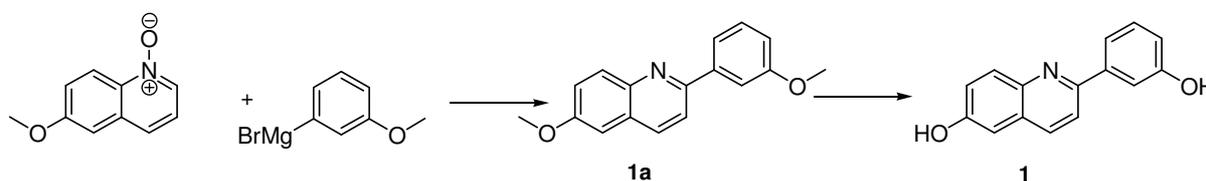


Abbildung 14: Synthese von Verbindung 1

Die Synthese der anderen bizyklischen Verbindungen ist in Abb. 15 zusammengefasst. Lediglich die Darstellung von Verbindung **6** weicht davon ab. Sie wurde wie im experimentellen Teil beschrieben durch Reduktion der entsprechenden Nitroverbindung (Verbindung **5**) erhalten.

Die für die Darstellung der aufgeführten Verbindungen benötigten Reaktionen, waren die Suzukikupplung und eine sich anschließende Etherspaltung, die in den folgenden Abschnitten näher erklärt werden. Die für die Suzukikupplung benötigten Boronsäuren wurden in einigen Fällen synthetisiert, ansonsten käuflich erworben.

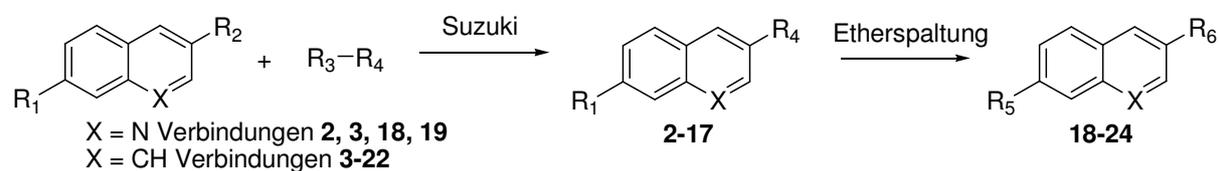


Abbildung 15: Synthese von Naphthalin- und Chinolinderivaten zur Corefindung

Tabelle 1: Übersicht zur Synthese der Verbindungen **2-17**, Suzukikupplung

Ver- bindung	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Reaktionszeit	Ausbeute [%]
2	N	-H	-Br	-B(OH) ₂		18h	89
3	N	2-OMe	-Br	-B(OH) ₂		22h	17
4	CH	2-OMe	-B(OH) ₂	-Br		24h	84
5	CH	2-OMe	-B(OH) ₂	-Br		20h	40
7	CH	2-OMe	-Br	-B(OH) ₂		22h	81
8	CH	2-OMe	-Br	-B(OH) ₂		k.A. *	
9	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		20h	87
10	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	40
11	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	99
12	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	97
13	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	40
14	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	53
15	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	49
16	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	42
17	CH	2-OH	-Br	-B(OH) ₂		300s	40

*k.A. = keine Aufreinigung

Tabelle 2: Übersicht zur Synthese der Verbindungen **18-24**, Etherspaltung

Verbindung	X	R ₅	R ₆	Ausbeute [%]
18	N	-H		82
19	N	-OH		50
20	CH	-OH		7
21	CH	-OH		7
22	CH	-OH		52
23	CH	-OH		47
24	CH	-OH		14

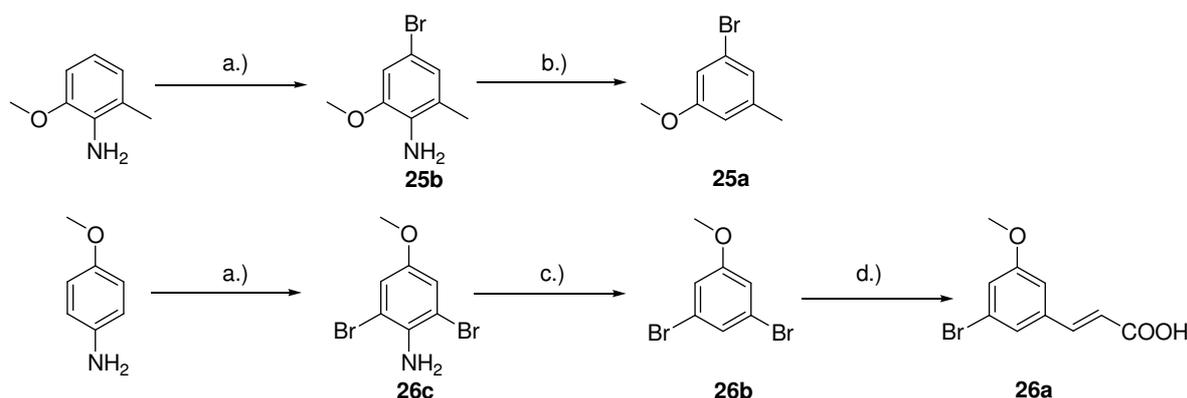
3.2.2 Substitution

In einem zweiten Schritt sollte an dem Grundgerüst in verschiedene Positionen Reste eingeführt werden, mit dem Ziel eine Position zu finden, in deren Bereich das Enzym Platz für eine Substitution bietet ohne einen Verlust der Aktivität zu verzeichnen. Dabei wurden Substituenten am Phenylrest eingeführt und verschiedene Positionen am Naphthalingerüst untersucht. Es stellte sich heraus, dass lediglich die Bereiche im Enzym entsprechend den Positionen 1, 4 und 8 am Naphthalin genug Platz zum Einführen von Substituenten bieten.

In einem letzten Schritt wurden in Position 1 eine Reihe an unterschiedlichsten Substituenten eingeführt und die Verbindungen auf Aktivität und Selektivität untersucht.

3.2.2.1 Substitution am Phenylrest

Auf der Suche nach der zur Einführung von Substituenten geeigneten Stelle im Grundgerüst, wurden zunächst verschiedenen Positionen am Phenylrest der Corestruktur untersucht. Es wurden diverse Amide synthetisiert, die entweder direkt an den Phenylrest geknüpft oder aber durch einen C2 Linker mit dem Phenylrest verbunden waren. Die dafür benötigten Edukte konnten nicht käuflich erworben werden. Sie mussten synthetisiert werden. Die Synthese ist in Abb. 16 dargestellt.



Reaktionsbedingungen: a.) BTMABr₃, CaCO₃, Dichlormethan/Methanol, 2h, RT; b.) NaNO₂, H₃PO₂, Essigsäure/Wasser, HCl, 8h, 0°C; c.) H₂SO₄, H₃PO₂, NaNO₂, 4.5h, 0°C; d.) Acrylsäure, PPh₃, Pd(OAc)₂, Xylol, 11h, 100°C

Abbildung 16: Übersicht zur Synthese von Verbindungen mit Substituenten am Phenylrest

Die auf diese Art und Weise dargestellten Edukte wurden in einer Suzuki Reaktion mit 6-Methoxy-2-boronsäure umgesetzt. Die erhaltenen Produkte wurden danach auf unterschiedlichste Weise weiterverarbeitet, um die gewünschten Endprodukte zu erhalten. Eine Übersicht über die durchgeführten Synthesen gibt Abb. 17.

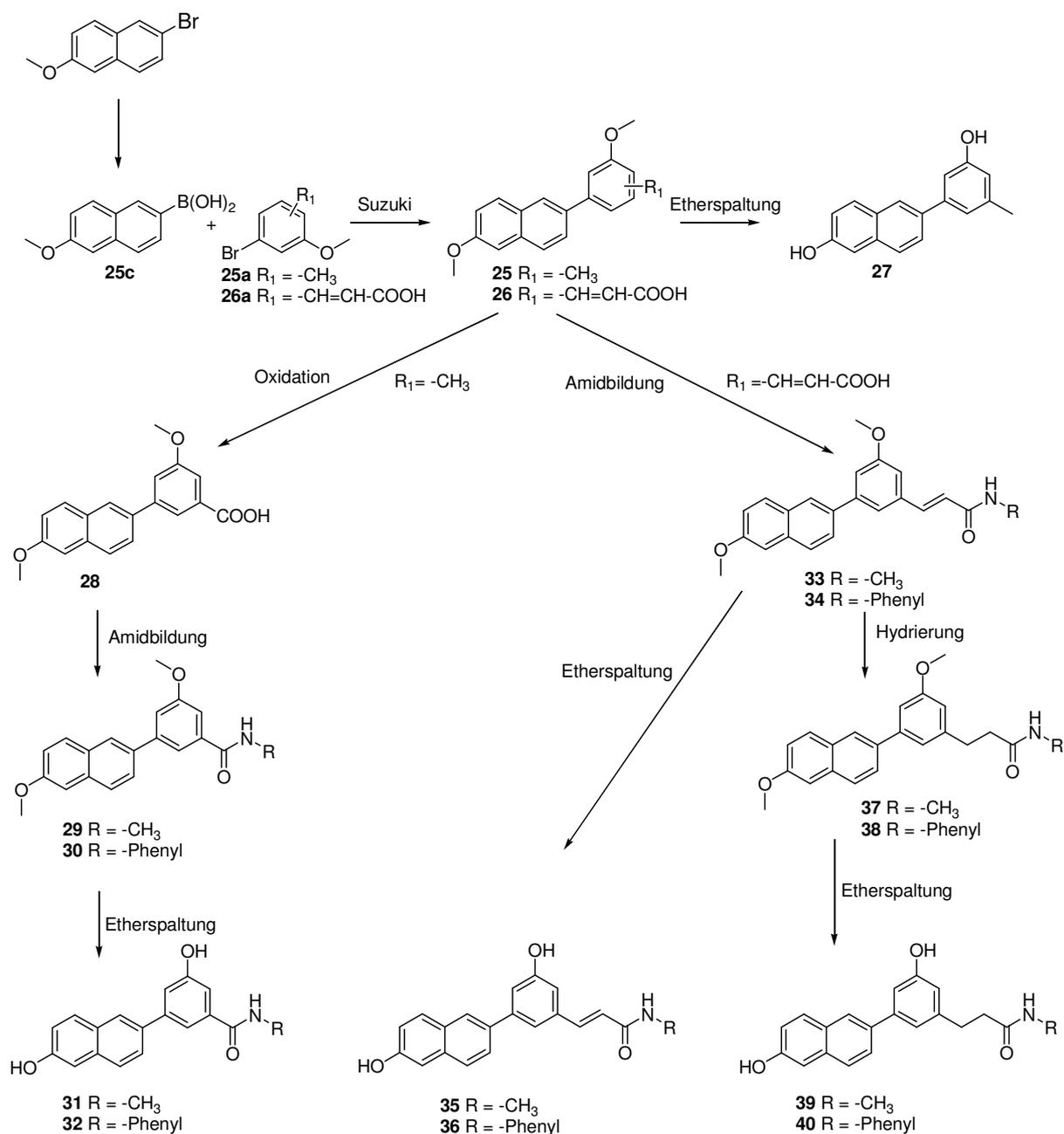


Abbildung 17: Übersicht zur Synthese von Verbindungen mit Substituent am Phenylrest

3.2.2.2 Substitution am Naphthalinrest

Neben dem Phenylrest des Grundgerüsts wurde auf der Suche nach potentiellen und selektiven Hemmstoffen der 17 β -HSD1 auch der Naphthalinrest substituiert. Es wurden verschiedene Positionen untersucht. Abb. 18 gibt einen Überblick über die Synthesen zur Einführung von Resten in den Positionen 4 und 8.

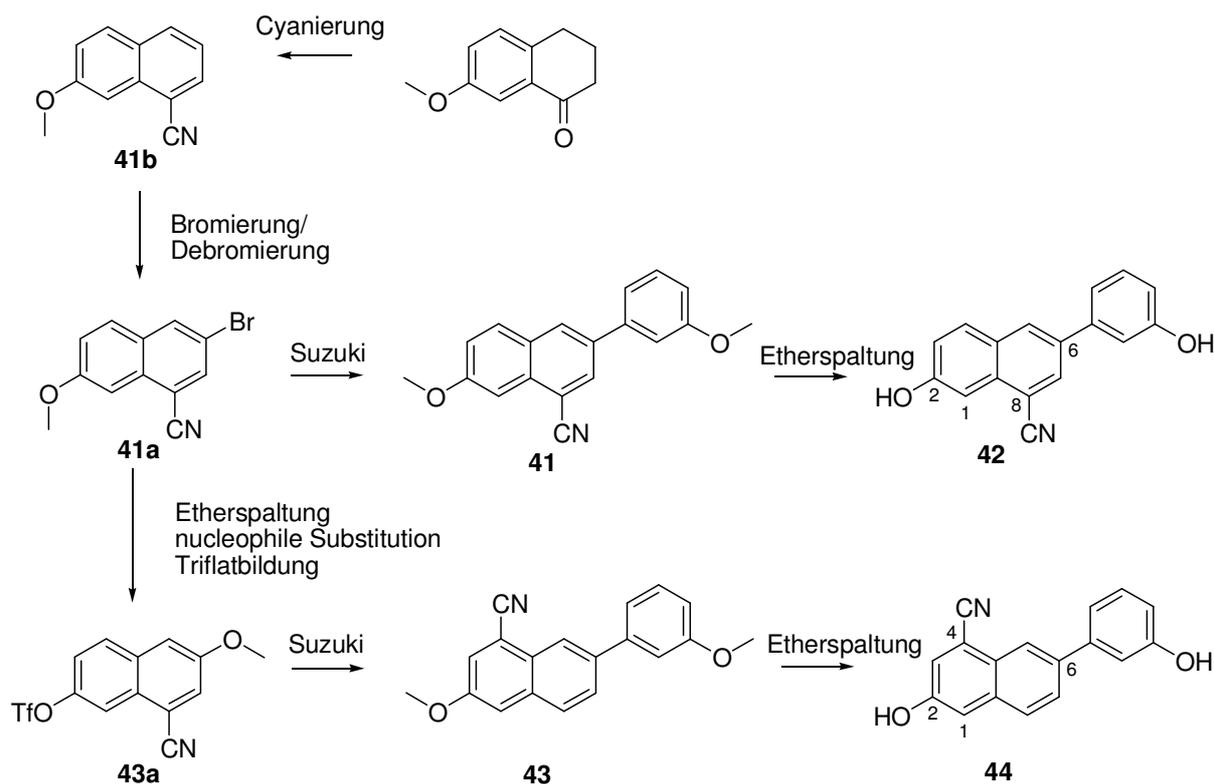
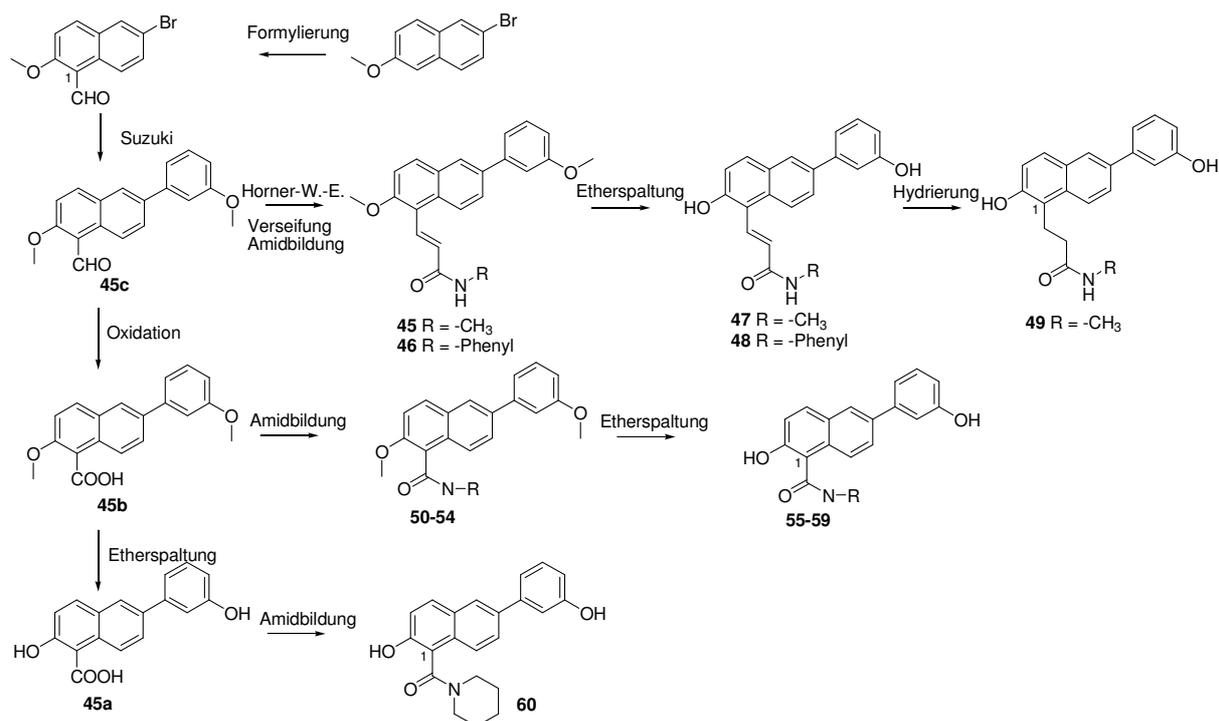


Abbildung 18: Substitution in Position 4 und 8 am Naphthalinrest

Bei der Position 1 des Naphthalins handelt es sich um eine weitere Position die untersucht wurde. Zunächst wurden vergleichbar mit den Substituenten in 5' Position am Phenylrest Amide eingeführt, die entweder direkt oder aber durch einen C2 Linker ans Naphthalin gebunden waren. Eine Übersicht über die synthetisierten Verbindungen gibt Abb. 19.



Verbindung	R
50/55	-CH ₃
51/56	-Ph
52/57	
53/58	
54/59	

Abbildung 19: Substitution in Position 1 am Naphthalinrest

Aufgrund der Tatsache, dass mit Position 1 am Naphthalin eine geeignete Stelle im Grundgerüst gefunden war, die Substitution ohne Verlust der Aktivität erlaubte, wurden noch zahlreiche weitere Substituenten in dieser Position eingeführt. Die Synthese dieser Verbindungen ist in den Abb. 20 und 21 dargestellt.

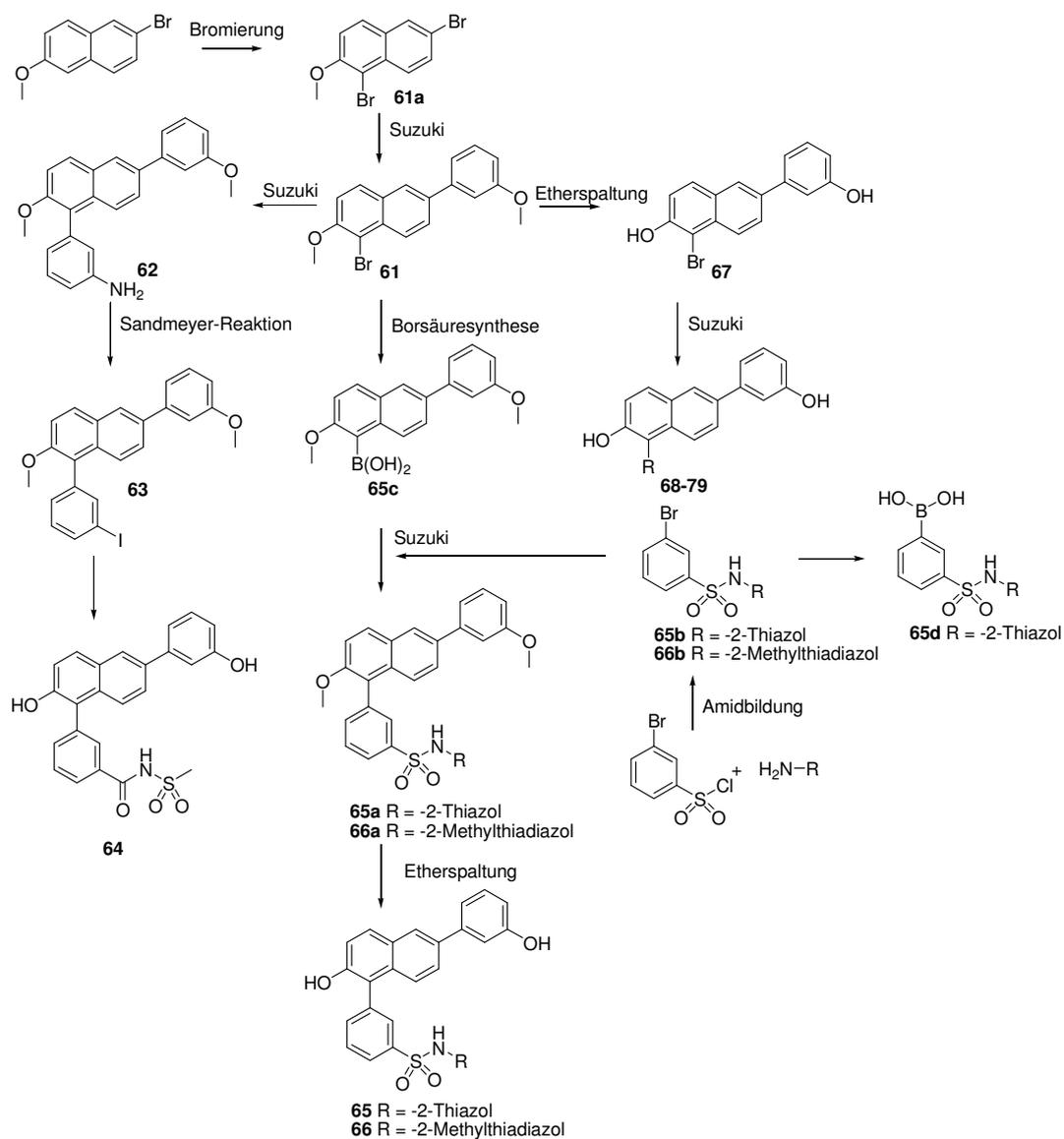
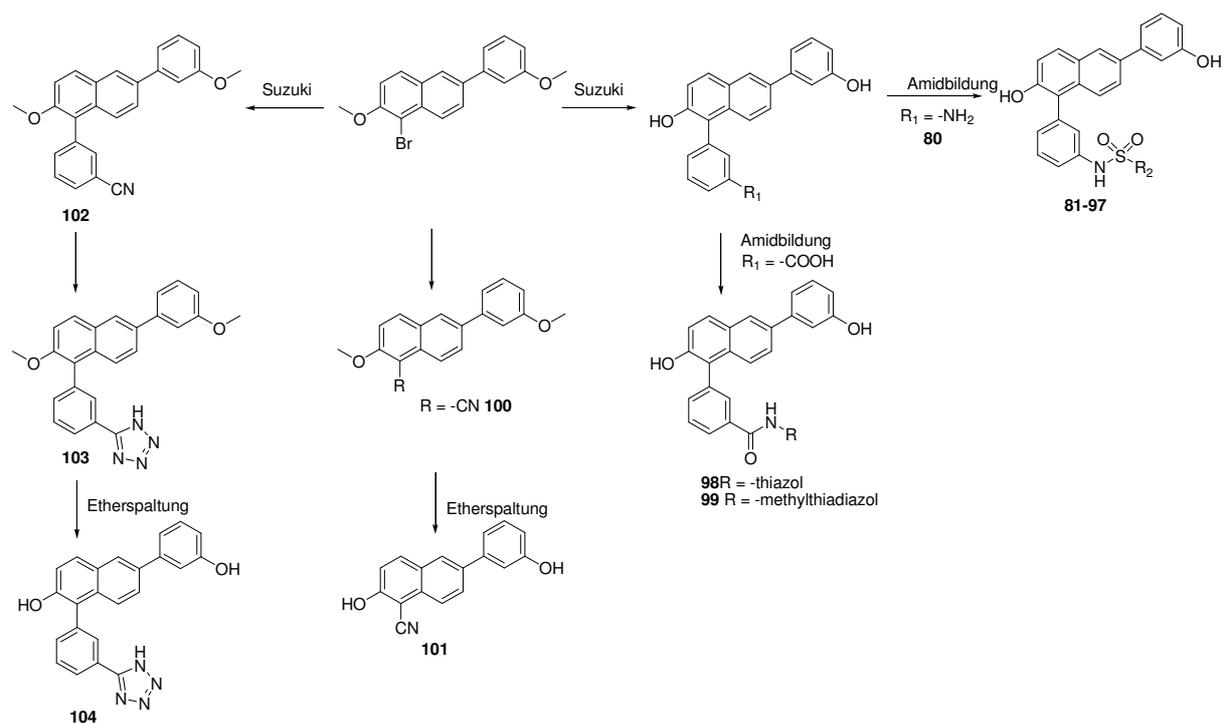


Abbildung 20: Substitution in Position 1 am Naphthalinrest

Tabelle zu Abb. 20:

Verbindung	R	Verbindung	R	Verbindung	R
68	-Ph	72		76	
69		73		77	
70		74		78	
71		75		79	



Verbindung	R	Verbindung	R
81		90	
82		91	
83		92	
84		93	
85		94	
86		95	
87		96	
88		97	
89			

Abbildung 21: Übersicht zur Substitution in 1 Position am Naphthalinrest

3.2.2.3 Substitution am Phenyl- und am Naphthalinrest

Durch Substitution am Naphthalin in Position 1 konnten viele Verbindungen synthetisiert werden, die eine sehr gute Hemmwirkung gegenüber 17 β -HSD1 zeigten. Allerdings kam es bei einigen Verbindungen zu einem Verlust der Selektivität (siehe Hemmdaten: Verbindung **22** Tab. 8 vs **67** Tab. 12). Um dieser Entwicklung entgegenzusteuern, sollten nun Verbindungen dargestellt werden, die nicht nur einen Substituenten am Naphthalin aufweisen, sondern auch einen Rest in 2' Position am Phenyl tragen.

Eine Forschergruppe von Sterix hatte anhand von Estronderivaten gezeigt, dass durch Einführen eines Methoxy- oder Ethylsubstituenten in 2 Position des Steroids, eine Selektivitätserhöhung gegenüber 17 β -HSD2 und eine Senkung der Estrogenizität erreicht werden kann.⁹⁸ Überlagerungsstudien dieser durch die Forschergruppe dargestellten steroidalen Verbindungen mit den synthetisierten nichtsteroidalen Verbindungen haben gezeigt, dass die 2 Position des Steroids der 2' Position des PhenylnaphthalinGrundgerüsts entspricht. Daraus kann der Schluss gezogen werden, dass die Einführung eines Substituenten in 2' Position zu Verbindungen führen könnte, die weiterhin eine hohe Aktivität gegenüber 17 β -HSD1 und eine zusätzliche Steigerung der Selektivität gegenüber 17 β -HSD2 zeigen.

Abb. 22 gibt die Synthese der in 1 und 2' Position des PhenylnaphthalinGrundgerüsts substituierten Verbindung wieder.

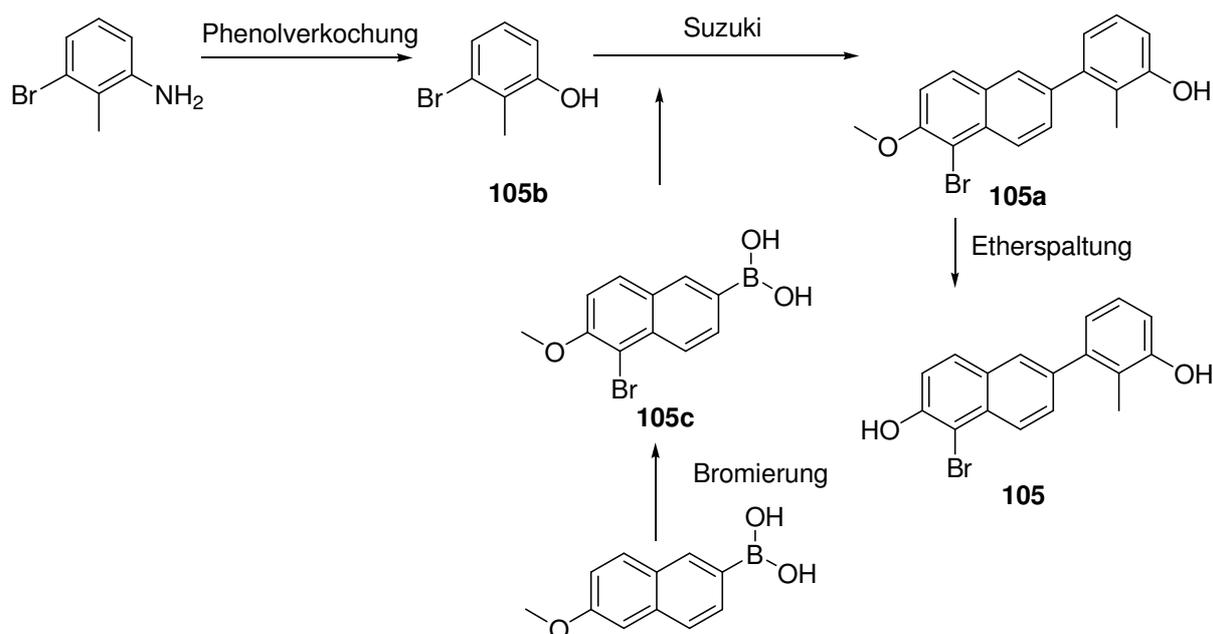


Abbildung 22: Synthese von Verbindung **105**

3.3 Einzelsynthesen und Diskussion

3.3.1 Amidbildung

Zur Synthese von Amiden steht eine Reihe von Reaktionen zur Verfügung. Eine der gängigsten Methoden setzt die Aktivierung der eingesetzten Säure zu einem Säurechlorid mittels Thionylchlorid voraus. In einer sich anschließenden nucleophilen Substitutionsreaktion wird ein Amin zu dem entsprechenden Amid umgesetzt. In der dabei ablaufenden Reaktion kann 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) als Katalysator eingesetzt werden.¹¹⁵ Dabei fungiert die Dimethylaminogruppe als Elektronendonator und erhöht sowohl die Nucleophilie als auch die Basizität am Pyridinstickstoff. Die katalytische Wirkung beruht auf der Bildung eines N-Acylpyridinium-Ions, das anschließend mit dem Amin reagiert. Die dabei ablaufende Reaktion ist in Abb. 23 dargestellt.

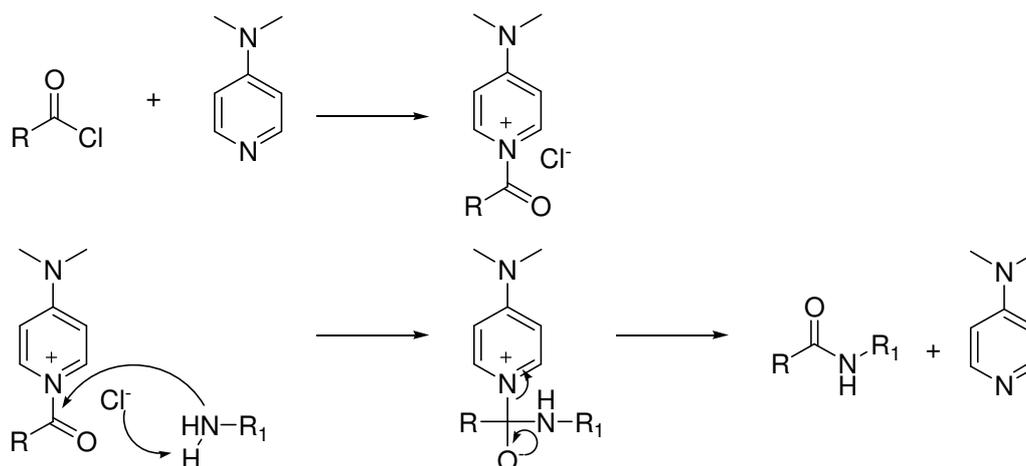


Abbildung 23: Bildung von Amiden mittels DMAP Katalyse

Durch Reaktion der entsprechenden Sulfonylchloride mit Verbindung **80**, ein Amin, wurde eine kleine Bibliothek an Verbindungen **81-97** hergestellt. Das besondere an diesen Reaktionen ist der Einsatz von an Polystyrol gebundenes DMAP, welches nach der Reaktion so besser abgetrennt werden kann, und von so genannten Scavengern bei der Aufarbeitung der Reaktion. Bei den Scavenger handelt es sich um polymer gebundene Verbindungen die funktionelle Gruppen tragen, die den zu koppelnden reaktiven Gruppen ähnlich sind. Der Vorteil liegt in der vereinfachten Aufarbeitung. Die Scavenger können mit den daran gebundenen überschüssigen Reagenzien einfach abfiltriert werden. Bei der Bildung der oben

aufgeführten Amide fanden zwei Scavenger Einsatz, u.z. polymer gebundenes Tris(2-aminoethyl)-amin, um überschüssiges Sulfonylchlorid abzufangen, und polymer gebundenes Isocyanat, um überschüssiges Amin abzufangen.

Ohne den Einsatz von DMAP aber nach Aktivierung der entsprechenden Carbonsäure mittels Thionylchlorid wurden die Verbindungen **53**, **60**, **98** und **99** synthetisiert.

Für die Aktivierung von Carbonsäuren stehen aber noch weitere Verfahren zur Verfügung, wie z.B. die Aktivierung mittels DCC (N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid) oder EDC*HCl¹¹⁶ (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid Hydrochlorid). Bei der Reaktion mit EDC*HCl erfolgt die Aktivierung der Carbonsäure und Bildung eines Harnstoffderivates (siehe Abb. 24). Darin besteht der Vorteil gegenüber der Aktivierung mit DCC, denn das während der Reaktion als Nebenprodukt anfallende Harnstoffderivat ist wasserlöslich und kann damit genau wie ein Überschuss an Reagenz einfach bei der Aufarbeitung durch Waschen mit Wasser entfernt werden. Die Reaktion mit EDC*HCl wird oft in Gegenwart von z.B. HOBt (1-Hydroxybenzotriazol) oder N-Hydroxysuccinimid durchgeführt. Mit Hilfe von EDC*HCl und HOBt wurden zahlreiche Verbindungen in z.T. hervorragenden Ausbeuten dargestellt u.z. **29**, **30**, **33**, **34**, **45**, **46**, **50-52** und Verbindung **54**.

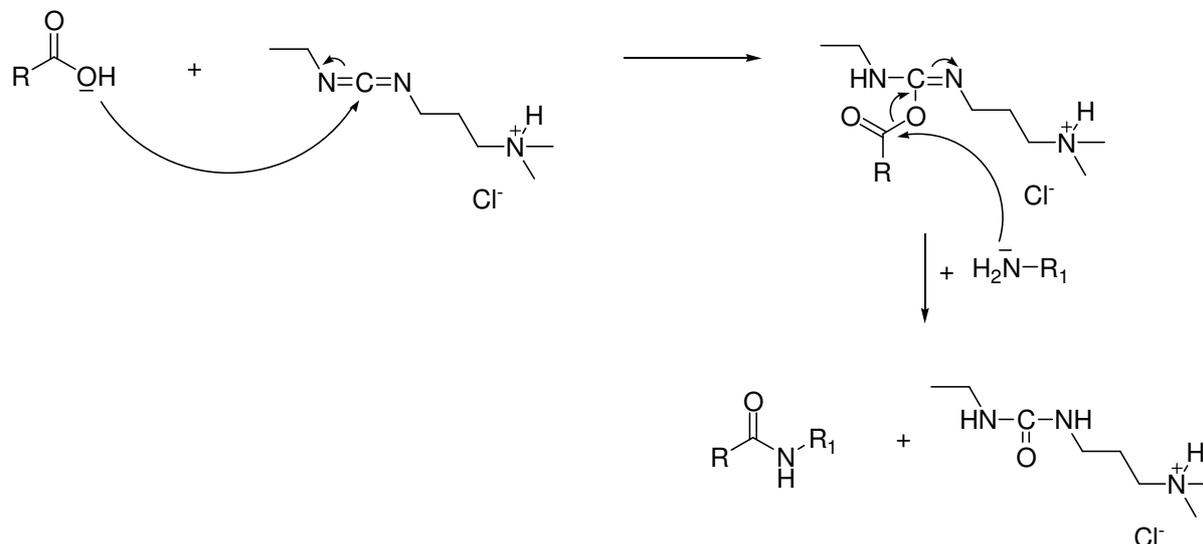
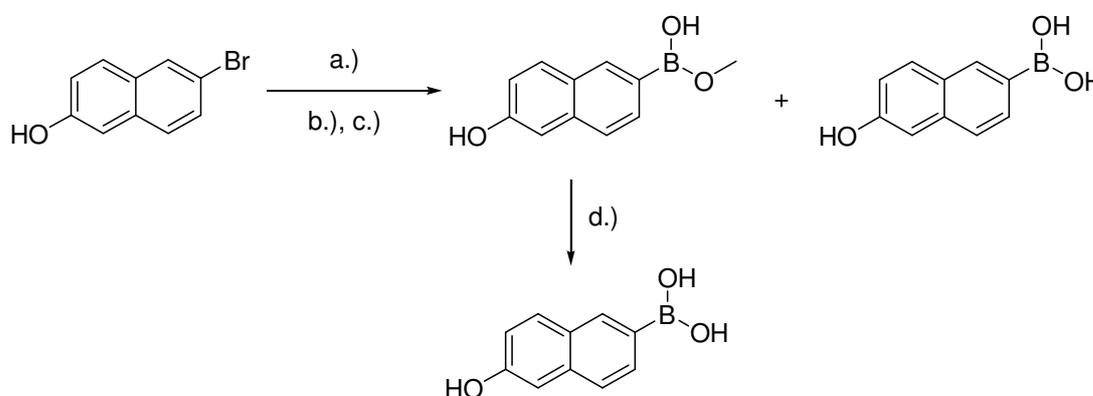


Abbildung 24: Bildung von Amiden mittels EDC*HCl

3.3.2 Boronsäuresynthese

Da die von uns gewählte Methode zur Darstellung von C-C-Bindungen, die Suzukikupplung, Boronsäuren als Reagenzien benötigt und die Palette der käuflich erwerbbaeren Boronsäuren nicht so umfangreich war, war es nötig insgesamt drei Boronsäuren zu synthetisieren, u.z. 6-Methoxynaphthalin-2-boronsäure, 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-ylboronsäure und 3-Boron-*N*-(thiazol-2-yl)benzonsulfonamid.

Am Beispiel der Darstellung von 6-Methoxynaphthalin-2-boronsäure soll die allgemeine Synthesevorschrift von Boronsäuren näher erläutert werden. (siehe Abb. 25)



Reaktionsbedingungen: a.) nBuLi, THF trocken, 15 min, -78 °C; b.) B(OEt)₃, -78 °C, 2h; c.) H₂O/Methanol, RT, ca. 10 min; d.) 2N HCl, RT, 10 min

Abbildung 25: Synthese von 6-Hydroxy-2-naphthylboronsäure

Bei dieser Reaktion konnte nach Zugabe von Methanol/Wasser ein Gemisch aus zwei Produkten isoliert werden. Dabei handelt es sich um die gesuchte 6-Hydroxy-2-naphthylboronsäure und den entsprechenden Monoester. Die Anwesenheit der Produkte konnte anhand von IR-Spektren eindeutig bewiesen werden. Es tauchten nämlich drei charakteristische Banden auf, u.z. die OH-Bande bei 3290 1/cm, bei 1351 1/cm die Bande charakteristisch für die B-O-Bindung und schließlich bei 685 1/cm die für ein Anhydrid typische Bande. Nach Esterhydrolyse mittels 2N HCl und einer säulenchromatographischen Auftrennung konnte die 6-Hydroxy-2-naphthylboronsäure in einer Ausbeute von 16% isoliert werden. Es gibt zwei mögliche Gründe für die geringe Ausbeute dieser Reaktion. Der Austausch von Brom gegen Lithium ist bei der Wahl von nBuLi aufgrund der geringeren induktiven Effekte der unverzweigten Kohlenstoffkette erschwert im Vergleich z.B. zu secBuLi und die Verbindung bleibt aufgrund ihrer Hydrophilie in der Säule hängen.

Das Problem der säulenchromatographischen Aufreinigung konnte auch durch den Einsatz von reinem Ethylacetat als Eluent nicht gelöst werden. Doch Dank der Wahl eines noch hydrophileren und aciden Eluenten bestehend aus 5 Teilen Ethylacetat, 3 Teilen 2-Butanon und jeweils 0.5 Teilen Essigsäure und Wasser konnte die Boronsäure schließlich von der Säule eluiert werden und für die nun folgenden Suzukikupplungen eingesetzt werden.

Die Synthese der Boronsäure erfolgte allerdings letztendlich ausgehend von 2-Bromo-6-methoxy-naphthalin nach einem in der Zwischenzeit bekannt gewordenen Patent.¹¹⁷ Der dabei ablaufende Reaktionsmechanismus wird in Abb. 26 beschrieben.

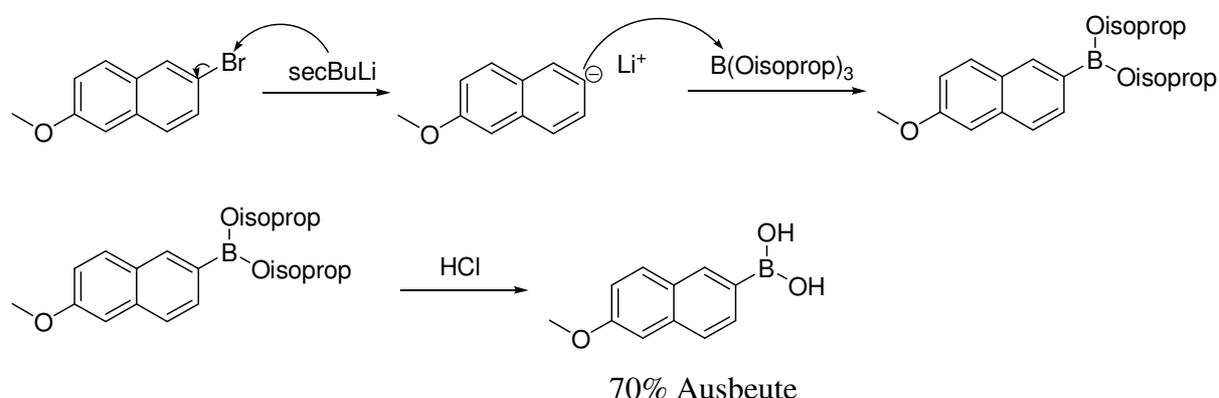
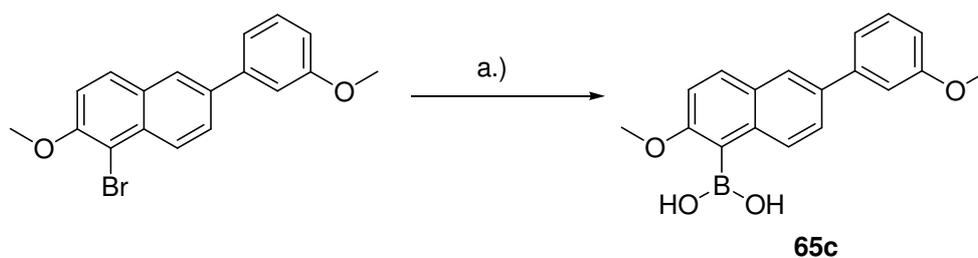


Abbildung 26: Allgemeiner Reaktionsmechanismus zur Darstellung von Boronsäuren am Beispiel von 6-Methoxy-2-naphthylboronsäure

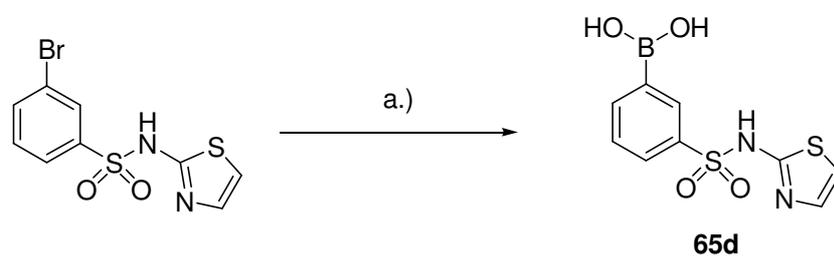
Im ersten Reaktionsschritt findet dabei ein Halogen-Metall-Austausch statt, der durch den Austausch des Broms durch das Lithium zu einer negativen Ladung am Kohlenstoffatom führt und damit eine Reaktion mit der Lewisäure Boronsäureisopropylester ermöglicht. Durch Zugabe von 2N HCl bei der Aufarbeitung wird eine Spaltung des Esters zur entsprechenden Boronsäure erreicht. Die Ausbeute beträgt dabei 70%, so dass diese Vorschrift sich gut zur Darstellung größerer Mengen Boronsäure eignet.

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-ylboronsäure wurde unter Verwendung von *n*-BuLi synthetisiert und der Halogen-Metall-Austausch bei 3-Boron-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid erfolgte mittels *tert*-BuLi. Beide Reaktionen lieferten die gewünschten Produkte in guter Ausbeute und sind in den Abb. 27 und Abb. 28 dargestellt.



Reaktionsbedingungen: a.) nBuLi, B(oisoprop)₃, THF trocken, -78 °C, 30 min;
b.) 2N HCl, RT, 1h;

Abbildung 27: *Synthese von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-ylboronsäure*



Reaktionsbedingungen: a.) t-BuLi, B(oisoprop)₃, THF trocken, -78 °C, 30 min;
b.) 2N HCl, RT, 1h;

Abbildung 28: *Synthese von 3-Boron-N-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid*

3.3.3 Bromierung

Bei der Bromierung von aromatischen Verbindungen handelt es sich um eine elektrophile Aromatensubstitution (S_{eAr}), die aber im Falle von Benzol nur in Anwesenheit eines Katalysators wie Pyridin, Aluminium oder Eisen von statten geht. Nach der Ausbildung eines π -Komplexes (1) und eines σ -Komplexes (2) kommt es zur Rückbildung des aromatischen Systems unter Abspaltung von Bromwasserstoffsäure. (siehe Abb. 29)

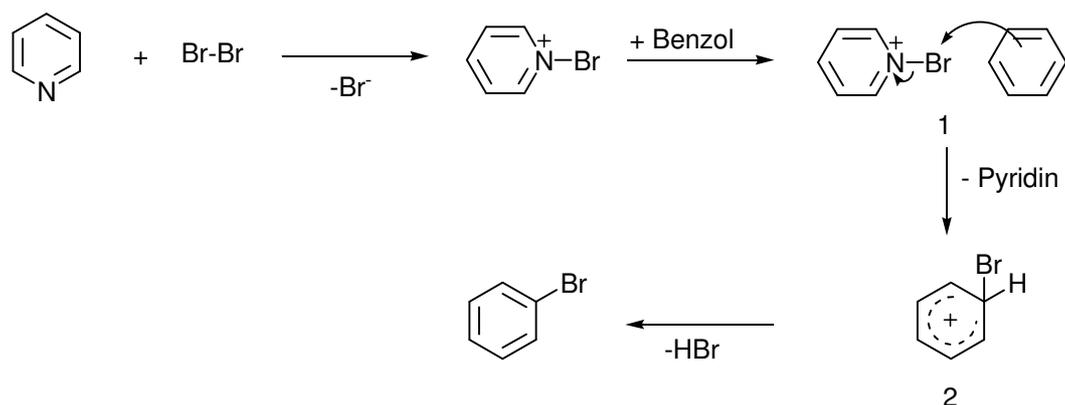
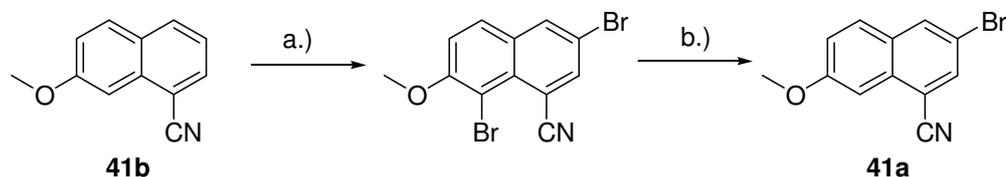


Abbildung 29: Allgemeines Reaktionsschema der elektrophilen Substitution am Aromaten

Die Bromierung mittels Brom in Essigsäure wurde zur Darstellung von 3-Brom-7-methoxy-1-naphthonitril (**41a**) gewählt.¹¹⁸ Es handelt sich dabei um eine sehr temperaturempfindliche Methode, die lediglich im Bereich von 40-70°C das gewünschte dibromierte Produkt lieferte, welches mit Zinnchlorid-Dihydrat in einer Mischung aus Essigsäure und konz. HCl bei 100°C selektiv in 8 Position debromiert wurde und so das gewünschte Produkt in guter Ausbeute lieferte. (siehe Abb. 30)

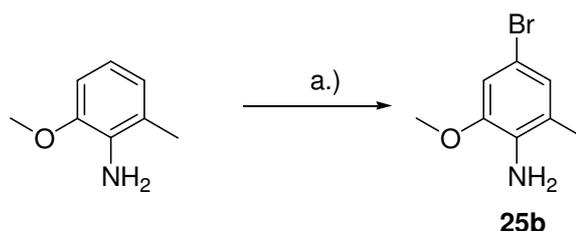


Reaktionsbedingungen: a.) Br₂, Essigsäure, 65°C, 3h; b.) SnCl₂·2H₂O, Essigsäure, konz. HCl, 100°C, 7h

Abbildung 30: Synthese von Verbindung **41a**

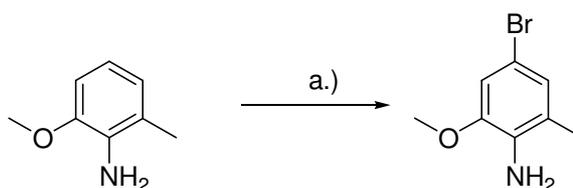
Zur Darstellung von Verbindung **25b** standen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Beschrieben war schon die Bromierung mittels Brom in Essigsäure.¹¹⁹ (Abb. 31) Der Nachteil dieser Reaktion besteht in der Handhabung des leicht flüchtigen Broms und eine Aufreinigung des Produktes ist notwendig. Es bot sich eine elegantere Methode an, nämlich die Bromierung mittels Benzyltrimethylammonium-tribromid (BTMABr₃).^{119, 120} (Abb. 32) Der Einsatz dieses Bromierungsreagenzes und Calciumcarbonat in Dichlormethan/Methanol führte nach einer Stunde bei RT zu der in quantitativer Ausbeute erhaltenen Verbindung **25b**. Es wurde ein Äquivalent BTMABr₃ verwendet, so dass die gewünschte Monobromierung von statten ging und Methoxymethylanilin wurde als Ausgangsverbindung gewählt. Die

Aminogruppe übt einen $-I$ - und $+M$ -Effekt auf den aromatischen Kern aus, besitzt also aktivierende Eigenschaften, die zu einer Bromierung in Ortho- und Paraposition führen. Da eine Orthosubstitution durch die Methoxy- und Methylsubstituenten ausgeschlossen ist, kommt es ausschließlich zu der gewünschten Bromierung der Verbindung in Paraposition. 2,6-Dibrom-4-methoxy-anilin (Verbindung **26c**) ist eine weitere Verbindung, die in quantitativer Ausbeute mittels Bromierung mit BTMABr₃ dargestellt werden konnte.



Reaktionsbedingungen: a.) Br₂ in Essigsäure, Essigsäure/Methanol 2/1, Eisbad, 2h

Abbildung 31: Mögliches Syntheschema für Verbindung **25b**



Reaktionsbedingungen: a.) BTMABr₃, Dichlormethan/Methanol, RT, 2h

Abbildung 32: Syntheschema für Verbindung **25b**

BTMABr₃ (Abb. 33) dient in dieser Reaktion der Bildung von Brom und das Calciumcarbonat wird der Reaktion beigegeben, um die entstehende Bromwasserstoffsäure zu neutralisieren. Die Vorteile des Bromierungsreagenzes liegen dabei in der guten Handhabung der kristallinen Verbindung, der Endpunkt der Reaktion kann bei einigen Reaktionen leicht aufgrund einer Entfärbung des Reaktionsgemisches bestimmt werden und die Ausbeuten sind hervorragend.¹²⁰

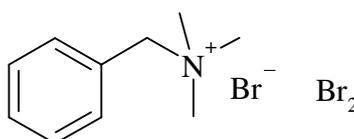


Abbildung 33: Struktur von BTMABr₃

Ein weiteres Bromierungsreagenz, welches Einsatz in der Bromierung von aktivierten Aromaten fand, war N-Bromsuccinimid (NBS).¹²¹ Untersuchungen zum Mechanismus der Bromierung mittels NBS haben ergeben, dass unter den normalen Bedingungen der NBS-Bromierung elementares Brom das aktive halogenierende Agens ist.¹²² Der dabei ablaufende Mechanismus ist in Abb. 34: dargestellt.

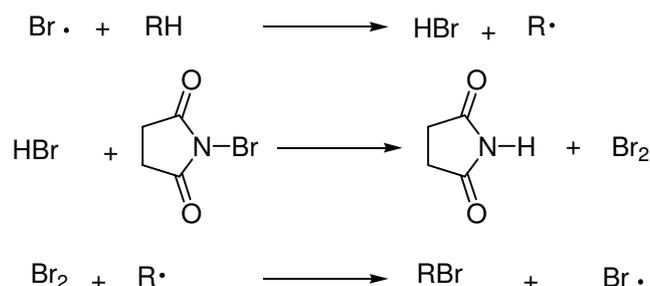


Abbildung 34: *Reaktionsmechanismus von NBS*

NBS wurde zur Darstellung von 1,6-Dibrom-2-naphthol und 1,6-Dibrom-2-methoxynaphthalin (**61a**) eingesetzt.¹¹⁷ Des Weiteren fand dieses Reagenz Einsatz bei der Bromierung von 2-Methoxynaphthalinboronsäure zur Darstellung von Verbindung **105c**. Zur quantitativen Darstellung von 1,6-Dibrom-2-methoxynaphthalin und Verbindung **105c** wurden 2-Methoxynaphthalin bzw. 6-Methoxy-2-naphthalinboronsäure mit jeweils einem Äquivalent NBS 2h in THF refluxiert. 1,6-Dibrom-2-naphthol wurde aus 2-Naphthol in Aceton/HCl in 15 min bei RT in quantitativer Ausbeute dargestellt.

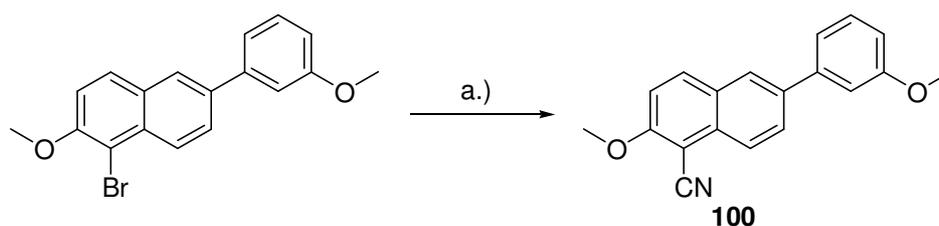
3.3.4 Cyanierung

Nitrile sind wichtige Intermediate in der organischen Synthese und können zu einem breiten Spektrum an Verbindungen umfunktionalisiert werden, z.B. Tetrazole. Die Darstellung von Nitrilen erfolgt mittels einer Cyanierungsreaktion, die ähnlich wie die Suzuki-Kupplung als Palladium-katalysierte Kreuzkupplung gesehen werden kann, in diesem Fall zwischen einem Arylhalogenid und einem anorganischen Cyanid.

Es stehen verschiedene Möglichkeiten zur Darstellung von Nitrilen zur Verfügung.¹²³ Der Nachteil vieler Methoden ist die z.T. mehrere Stunden dauernde Reaktionszeit, die

mittlerweile allerdings durch Einsatz der Mikrowelle auf wenige Minuten verkürzt werden konnte.¹²⁴

Abb. 35 gibt die Darstellung von Verbindung **100** wieder. Sie wurde entsprechend einer Veröffentlichung von Weissmann et al.¹²⁵ in Dimethylacetamid (DMAC) in zufrieden stellenden Ausbeuten über Nacht bei 120°C dargestellt. Durch Einsatz der Mikrowelle kann die Reaktionszeit höchstwahrscheinlich verringert werden. Dieser Versuch wurde zur Darstellung von Verbindung **100** allerdings nicht unternommen.



Reaktionsbedingungen: a.) $K_4[Fe(CN)_6]$, $Pd(OAc)_2$, Na_2CO_3 , DMAC, 120°C, über Nacht und 170°C, 3h

Abbildung 35: Synthese von Verbindung 100

3.3.5 Deaminierung

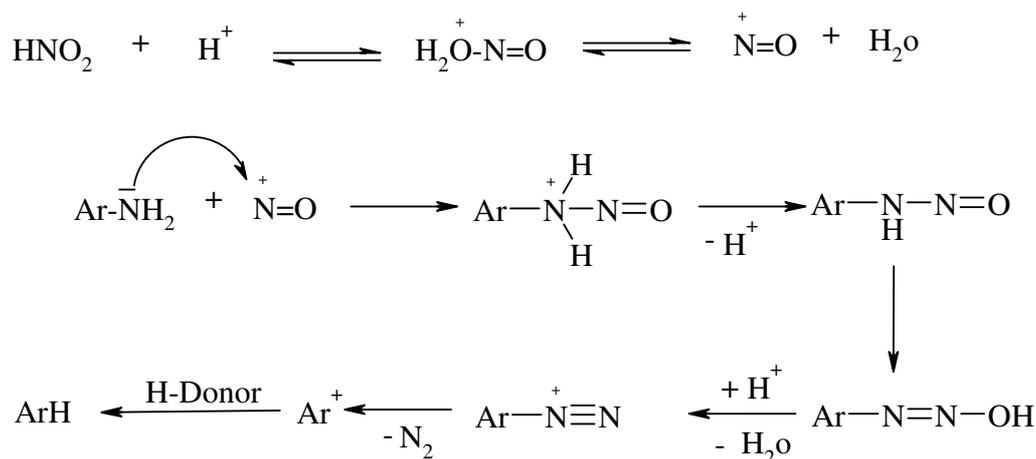
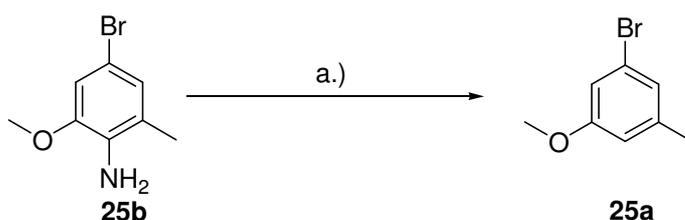


Abbildung 36: Allgemeines Reaktionsschema der Deaminierung

Abb. 36 stellt das allgemeine Reaktionsschema einer Deaminierung dar. Die erste dabei ablaufende Reaktion ist die Bildung des Diazoniumsalzes. Es bildet sich bei der Reaktion von Salzsäure mit Natriumnitrit das Nitrosylkation, welches mit dem primären aromatischen

Amin zu der entsprechenden Diazoverbindung reagiert. Durch Zugabe von Wasserstoffdonatoren wie Wasserstoffperoxid, Tetrahydrofuran, Ethanol oder unterphosphoriger Säure kommt es unter Bildung von Stickstoff zur Deaminierung. Entscheidend ist dabei, dass es zu keinen signifikanten Interaktionen mit am Aromaten befindlichen Substituenten kommt.¹²⁶ Durch Deaminierung wurden zwei Verbindungen dargestellt, u.z. 1-Brom-3-methoxy-5-methylbenzen (**25a**) (siehe Abb. 37) und 1,3-Dibrom-5-methoxy-benzen (**26b**) (siehe Abb. 39).

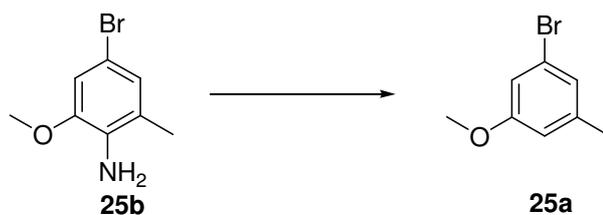


Reaktionsbedingungen: a.) NaNO₂, H₃PO₂, Essigsäure/Wasser, HCl, 0°C, 8h;

Abbildung 37: Syntheschema für Verbindung **25a**

Die Synthese von Verbindung **25a** erfolgte in Essigsäure/Wasser. Konzentrierte Salzsäure und in Wasser gelöstes Natriumnitrit wurden dazu gegeben und als Wasserstoffdonator diente unterphosphorige Säure. Das Reaktionsgemisch wurde 8h bei 0°C gerührt und anschließend 72h bei RT stehen gelassen. Diese 72h konnten auf stehen lassen über Nacht reduziert werden ohne Einbußen in der Ausbeute verzeichnen zu müssen. Die Ausbeute betrug 90%, so dass durchaus mit dem Reaktionsgemisch weiter gearbeitet werden konnte. Eine aufwendige säulenchromatographische Aufreinigung konnte unterlassen werden.

Da die Reaktionszeiten relativ lange waren, wurde versucht durch Veränderung der Reagenzien und des Lösungsmittels diese Zeiten zu verkürzen. Als Lösungsmittel diente THF/Essigsäure und als Wasserstoffdonator 3%-ige Wasserstoffperoxidlösung. Die Reaktion war nach 30 min bei 0°C und 1h bei 25°C beendet.¹²⁶ (siehe Abb. 38)



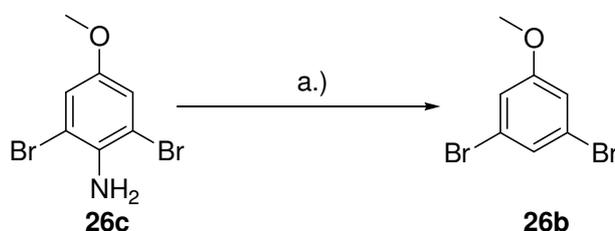
Reaktionsbedingungen: a.) HCl, NaNO₂, 3%-ige H₂O₂-Lösung, Essigsäure/THF, 0°C, 30min und RT, 1h;

Abbildung 38: Mögliches Syntheschema für Verbindung 25a

Es traten allerdings mehr Verunreinigungen auf und die Ausbeute betrug nach säulenchromatographischer Aufreinigung „nur“ 65%. Die Reaktionszeit konnte damit verkürzt werden, allerdings unter Inkaufnahme einer schlechteren Ausbeute.

Damit hatte sich die von Chan¹¹⁹ beschriebene Synthese in Essigsäure/Wasser mit unterphosphoriger Säure als Wasserstoffdonator als die beste Methode zur Darstellung von Verbindung **25a** erwiesen.

Die Deaminierung von 2,6-Dibrom-4-methoxy-anilin (**26c**) erfolgte in sehr guten Ausbeuten in einer leicht veränderten Synthese. Die Reaktion wurde mit Natriumnitrit und Schwefelsäure in Toluol bei 0°C durchgeführt. Unterphosphorige Säure diente als Wasserstoffdonator (siehe Abb. 39).



Reaktionsbedingungen: a.) H₂SO₄, H₃PO₂, NaNO₂, Toluol, 0°C, 4.5h;

Abbildung 39: Syntheschema für Verbindung 26b

3.3.6 Etherspaltung

Zur Spaltung von Ethern, die hauptsächlich als Schutzgruppen eingesetzt werden, wurden in den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts¹²⁷ die ersten selektiven Versuche gemacht und bis heute stehen verschiedene Spaltreagenzien zur Verfügung, die sich sehr in ihrer Selektivität unterscheiden.¹²⁸

Zu nennen sind z.B. die Brønstedsäuren HI, HBr, HCl die allerdings keine Diarylether spalten sondern hauptsächlich Alkylarylether angreifen, die zu einem Halogenalkan und einem Alkohol reagieren.¹²⁸ Die Effektivität der Etherspaltung hängt bei den Brønstedsäuren von deren Säurestärke ab, denn mit sinkendem pK_a Wert steigt ihre Reaktivität. Als negativ anzumerken sind die Reaktionszeiten, die sich bis zu 87h erstrecken können. Kürzere Zeiten weisen die Lewissäuren Aluminiumchlorid, -bromid und -iodid auf. Aluminiumchlorid erweist sich dabei als gutes Reagenz zur Spaltung von Ethern, in deren Umgebung im Molekül ein Keton oder Aldehyd auftaucht, denn andere Methoxygruppen werden nicht angegriffen. Die Reaktivität steigt hier auch mit zunehmender Azidität, also in der Reihenfolge $AlCl_3 < AlBr_3 < AlI_3$. Zu den Lewissäuren gehört auch das in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich eingesetzte Bortribromid. (Reaktionsmechanismus siehe Abb. 40) Der Vorteil dieses Reagenzes liegt darin, dass keine stark sauren oder basischen Konditionen herrschen müssen und es werden unter diesen Bedingungen keine Doppelbindungen oder funktionelle Gruppen wie z.B. Estergruppierungen angegriffen. Dabei muss aber der Einsatz von einem Äquivalent Bortribromid pro Methoxygruppe und jede weitere Gruppe, die ein freies Elektronenpaar besitzt, beachtet werden, sowie ein Äquivalent für eine Lewisbase wie Cyano- oder Nitrogruppen, die mit der Lewissäure einen Komplex eingehen können.

Neben diesen sauer reagierenden Verbindungen können zur Etherspaltung aber noch basische Reagenzien eingesetzt werden, z.B. Alkalihydroxide, Alkaliamide oder auch Iodtrimethylsilan.¹²⁸ Die Palette ist damit sehr groß, so dass aus der immensen Zahl an Spaltreagenzien lediglich die am geeignetsten erscheinende ausgesucht werden muss. Hierbei bieten die Arbeiten von Bhatt sowie Green und Mitarbeiter eine sehr gute Übersicht.^{128, 129}

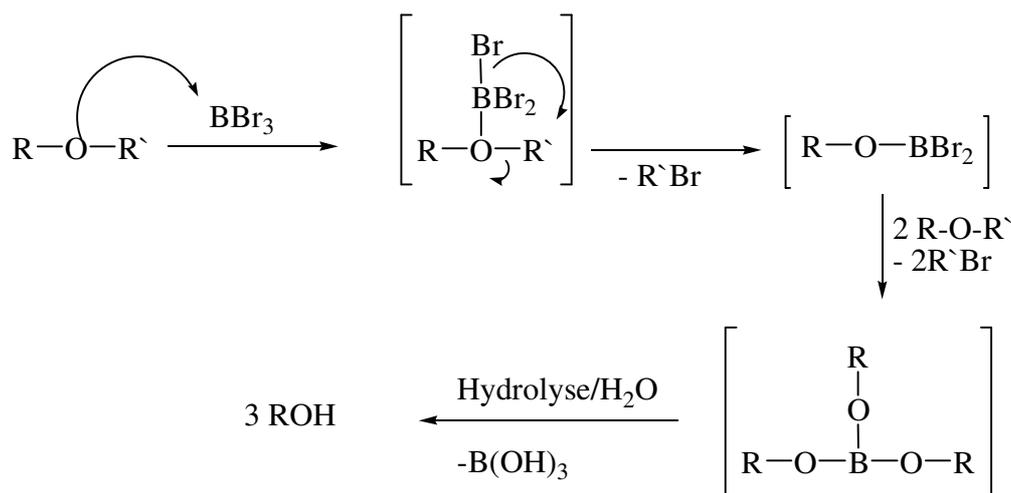
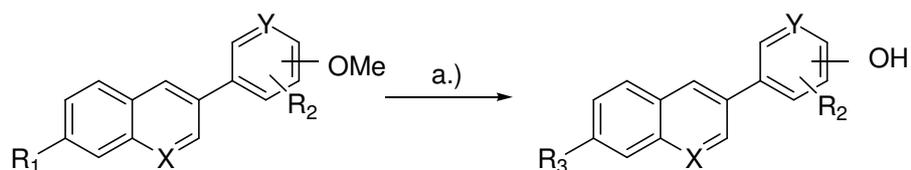


Abbildung 40: Reaktionsmechanismus der Etherspaltung mittels BBr_3

Der bei der Etherspaltung mittels AlCl_3 auftretende Reaktionsmechanismus ist identisch mit dem oben dargestellten. Lediglich die Reaktionsbedingungen variieren, denn während die Reaktion mit Bortribromid in Dichlormethan bei -78°C durchgeführt wurde, benötigt man für die Etherspaltung mit AlCl_3 80°C und sie wurde in Toluol durchgeführt.

Zur Darstellung der gewünschten Inhibitoren wurden drei Reaktionen angewendet. Bei Methode E handelt es sich um eine Etherspaltung mittels AlCl_3 , bei Methode F um eine Etherspaltung mit BBr_3 und bei Methode H um eine Etherspaltung mittels Pyridiniumhydrochlorid. (siehe Abb. 41, 42, 43)

Zunächst wurde eine Variante angewendet, bei der die Lewisäure AlCl_3 Einsatz fand und das Reaktionsgemisch nach zweistündigem Rückfluss aufgearbeitet werden konnte.^{130, 131} Es schien sich um eine einfache Synthesemöglichkeit zu handeln, die in vier Fällen das gewünschte Produkt lieferte. Die Ausbeuten variierten allerdings stark mit 7-82%. Im Falle der Darstellung von Verbindung **20** waren die Bedingungen zur Durchführung der Etherspaltung zu drastisch, was in einer Ausbeute von 7% resultierte. Eine Umsetzung mit Bortribromid könnte eine Alternative darstellen, aber die Reaktion wurde nicht durchgeführt, da das primäre Ziel nicht Syntheseoptimierung war sondern die Synthese von Verbindungen, die in ausreichender Menge für einen Test zur Verfügung stehen. Dieses Ziel wurde erreicht. Eine Alternative zur Etherspaltung mittels AlCl_3 stellt die Umsetzung mit Bortribromid in Dichlormethan dar.^{128, 132} Nach dieser Methode wurden alle weiteren dargestellten Hydroxyverbindungen synthetisiert.

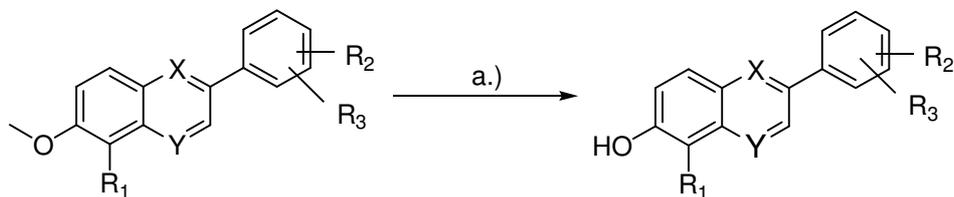


Allgemeine Reaktionsbedingungen: a.) AlCl_3 , Toluol, 80°C

Abbildung 41: Etherspaltung mittels AlCl_3

Tabelle 3: Etherspaltung mittels AlCl_3

Verbindung	X	Y	R_2	R_3	Ausbeute [%]
18	N	CH	-H	-H	82
20	CH	N	-H	-OH	7
39	CH	CH		-OH	35
40	CH	CH		-OH	34

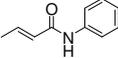
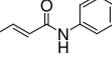
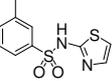


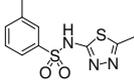
Allgemeine Reaktionsbedingungen: a.) BBr_3 , Dichlormethan, -78°C -RT

Abbildung 42: Methode F: Etherspaltung mittels Bortribromid

Die Ergebnisse der Etherspaltung mittels BBr_3 sind in Tab. 4 dargestellt.

Tabelle 4: Übersicht über Etherspaltung mittels Methode F

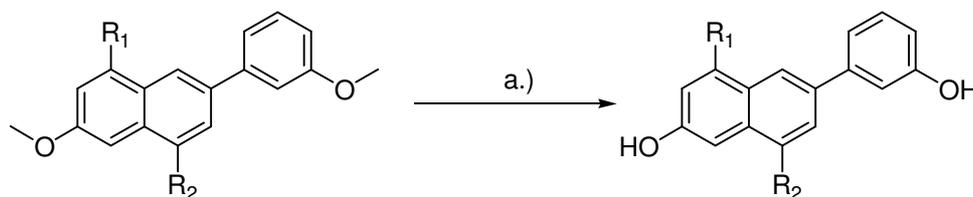
Verbindung	X	Y	R ₁	R ₂	R ₃	Ausbeute [%]
1	N	CH	-H	3'-OH	-H	7
19	CH	N	-H	2'-OH	-H	50
21	CH	CH	-H	2'-OH	-H	7
22	CH	CH	-H	3'-OH	-H	52
23	CH	CH	-H	3'-NO ₂	-H	47
24	CH	CH	-H	3'-NH ₂	-H	14
27	CH	CH	-H	3'-OH	-CH ₃	quant.
31	CH	CH	-H	3'-OH		quant.
32	CH	CH	-H	3'-OH		11
35	CH	CH	-H	3'-OH		13
36	CH	CH	-H	3'-OH		14
45a	CH	CH	-COOH	3'-OH	-H	57
47	CH	CH		3'-OH	-H	60
48	CH	CH		3'-OH	-H	13
55	CH	CH	-CH ₃	3'-OH	-H	95
56	CH	CH	-Ph	3'-OH	-H	23
57	CH	CH		3'-OH	-H	75
58	CH	CH		3'-OH	-H	93
59	CH	CH		3'-OH	-H	60
65	CH	CH		3'-OH	-H	27

66	CH	CH		3'-OH	-H	47
67	CH	CH	-Br	3'-OH	-H	quant.
101	CH	CH	-CN	3'-OH	-H	84
104	CH	CH		3'-OH	-H	81
105	CH	CH	-Br	3'-OH	2'-CH ₃	51

Auffallend sind bei der Etherspaltung mittels Bortribromid die sehr niedrigen Ausbeuten der Verbindungen **1** und **21**. Eine Lösung könnte im Falle von Verbindung **1**, ein Chinolinderivat, der Einsatz von Aluminiumchlorid sein, denn eine Etherspaltung des sehr ähnlichen 7-Methoxy-3-(3-methoxyphenyl)chinolins mit diesem Reagenz ergab eine Ausbeuten von ca. 50%. Bei Verbindung **21** könnten sterische Gründe für die niedrige Ausbeute verantwortlich sein. Auffallend sind auch die niedrigen Ausbeuten der Phenylamidverbindungen (**24**, **32**, **48** und **56**) und der Verbindungen, bei denen die Amidstruktur durch einen C2 Linker an den Phenylrest gekoppelt ist (**35** und **36**). Es wurden allerdings keine Versuche unternommen die Ausbeuten zu erhöhen, denn alle durch Suzukikupplung erhaltenen Methoxyverbindungen konnten durch Etherspaltung in z.T. sehr guten Ausbeuten in ihre entsprechenden Hydroxyderivate überführt und getestet werden. Damit war das Ziel der Arbeit erreicht.

Wie bereits erwähnt, wurden zwei Verbindungen nämlich **42** und **44** durch Etherspaltung mit Pyridiniumhydrochlorid dargestellt (siehe Abb. 43). Dabei handelt es sich um eine Methode die die gewünschten Verbindungen in guten Ausbeuten lieferte. (siehe Tab. 5)

Durch Reaktion mit Pyridiniumhydrochlorid wurden 7-Hydroxy-3-(3-hydroxyphenyl)-1-naphthonitril (**42**) und 3-Hydroxy-7-(3-hydroxyphenyl)-1-naphthonitril (**44**) dargestellt.



Allgemeine Reaktionsbedingungen: a.) Pyridiniumhydrochlorid, 190 °C, 3h

Abbildung 43: Methode H: Etherspaltung mittels Pyridiniumhydrochlorid

Tabelle 5: Etherspaltung mittels Pyridiniumhydrochlorid

<i>Verbindung</i>	<i>R₁</i>	<i>R₂</i>	<i>Ausbeute</i> [%]
42	-H	-CN	62
44	-CN	-H	64

3.3.7 Heck-Reaktion

Zur Einführung von Substituenten am Phenylring der Corestruktur wurde die Heck-Reaktion¹³³ gewählt. Bei der Heck-Reaktion handelt es sich um eine cyclische Reaktionsfolge, mit deren Hilfe Olefine leicht in Arylolefine umgewandelt werden können. Als Edukt werden meist Arylhalogenide verwendet. Der Katalysator wird in situ aus Palladium(II)salzen (meist Pd(OAc)₂) und Triphenylphosphin hergestellt. Der erste Schritt dieser cyclischen Reaktionsfolge besteht in der Anlagerung des Arylhalogenids an den Palladiumkatalysator (Palladium (0)) unter Bildung eines Arylpalladiumkomplexes. Der zweite Schritt ist die Insertion des Olefins in die Palladium-Arylbindung. Aus dieser Verbindung spaltet sich im Sinne einer β -Eliminierung das arylierte (substituierte) Produkt ab. Die Regenerierung des Katalysators erfolgt durch Deprotonierung. (siehe Abb. 44)

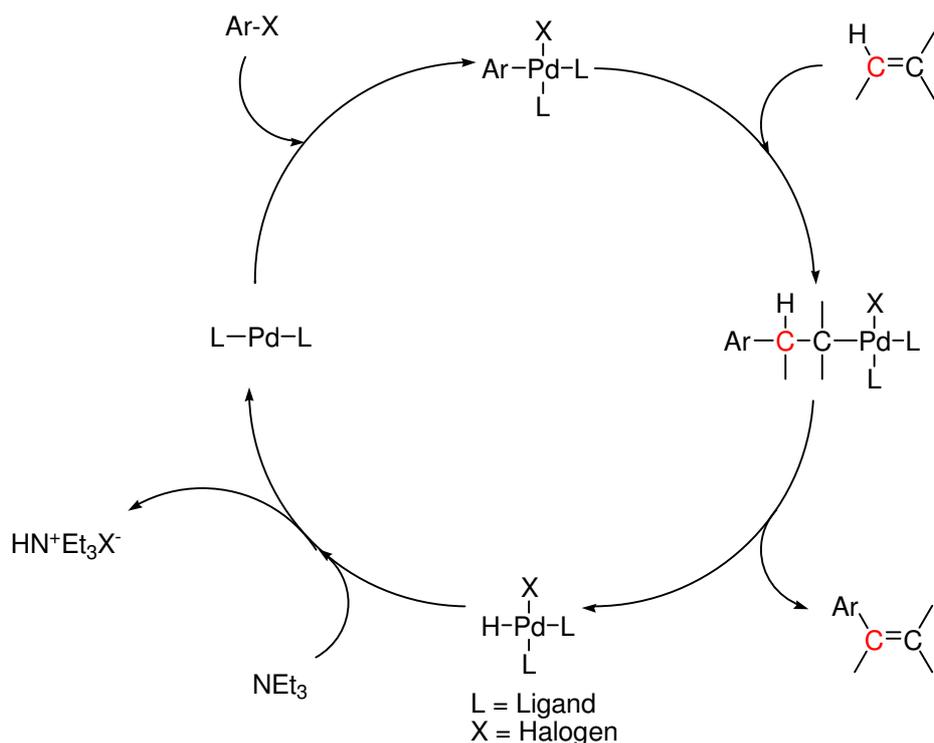
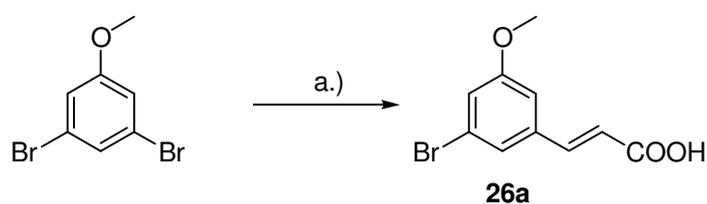


Abbildung 44: Mechanismus der Heck-Reaktion

Auf diese Art und Weise wurde (E)-3-(3-Brom-5-methoxyphenyl)acrylsäure (Verbindung **26a**) dargestellt.¹³⁴ (Abb. 45) Als Katalysator wurde $Pd(OAc)_2$ eingesetzt und als Ligand diente Triphenylphosphin. Die Reaktion wurde mit Acrylsäure in Xylol und Triethylamin als Base durchgeführt. Die Ausbeute war allerdings mit 32% relativ niedrig. Diese Verbindung wurde dann einer Suzukiireaktion unterzogen und es wurden verschiedene Amide gebildet, die nach durchgeführter Etherspaltung als potentielle Hemmstoffe der 17 β -HSD1 getestet wurden.



Reaktionsbedingungen: a.) Acrylsäure, $Pd(OAc)_2$, PPh_3 , NEt_3 , 100°C, 11h

Abbildung 45: Synthese von Verbindung **26a**

Die Synthese von (E)-3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäure mittels Heck-Reaktion war leider ohne Erfolg. Der Austausch des Katalysators $Pd(OAc)_2$ durch Bis-

(triphenylphosphin)palladium(II)chlorid und eine Änderung der Base brachten nicht den gewünschten Erfolg. Lediglich die Reaktion mit $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, tri-*o*-Tolylphosphin und K_2CO_3 in DMF liefert das Produkt allerdings nur in einer Ausbeute von 27%. Auch ein Wechsel von Acrylsäure als Edukt zu Acrylsäureethylester brachte keine Ausbeutesteigerung. Eine Alternative bot die weiter unten beschriebene Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion, die dann das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute lieferte.

3.3.8 Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion

Bei der Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion handelt es sich um eine Variante der Wittig Reaktion, die mehrere Vorteile aufweist. Die bei dieser Reaktion entstehenden Phosphonat-Carbanionen sind nucleophiler als die Ylide der Wittig-Reaktion und reagieren damit schneller. Außerdem entstehen als Nebenprodukte Phosphorsäurediester, die wasserlöslich sind und damit leicht vom Produkt abgetrennt werden können. Des Weiteren weist die Wittig-Horner-Reaktion eine höhere Stereoselektivität auf. Als Basen kommen neben Butyllithium auch Natriumhydrid und Kalium-*tert*-butanolat in Frage. Der dabei ablaufende Reaktionsmechanismus sieht wie folgt aus. (siehe Abb. 46)

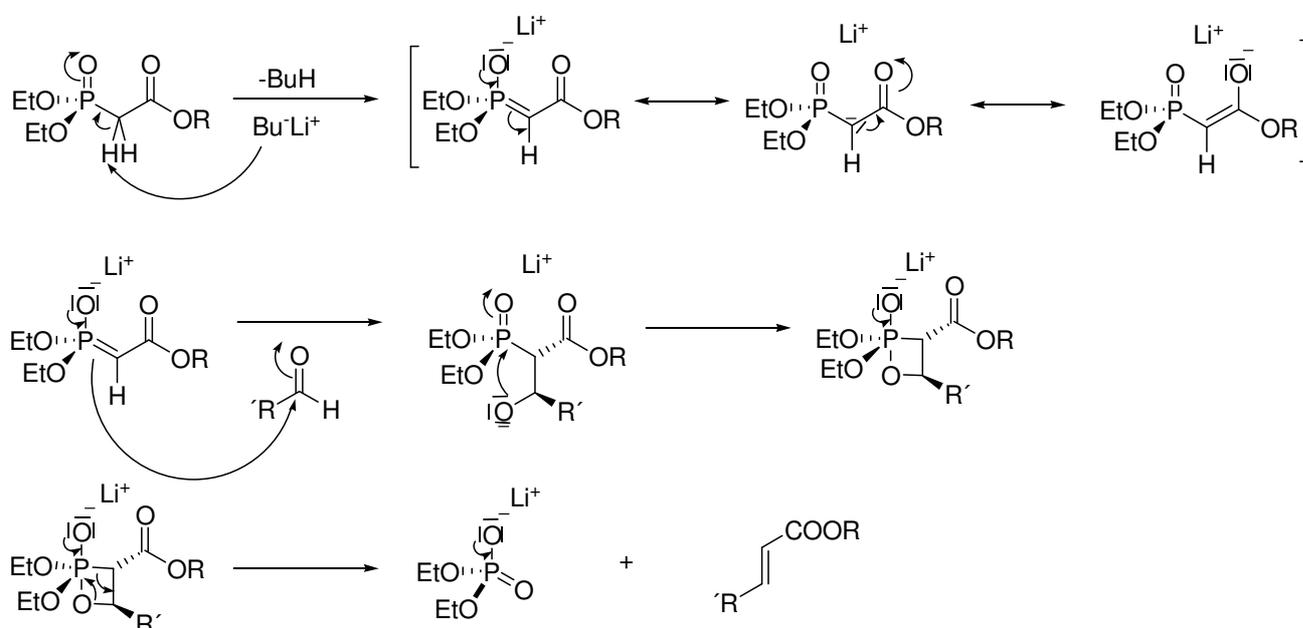
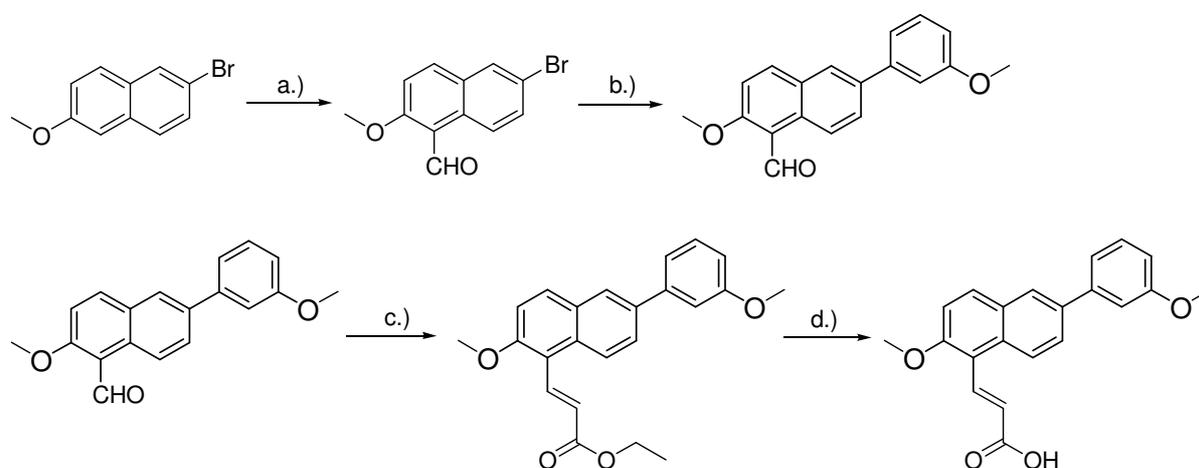


Abbildung 46: Mechanismus der Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion

Die Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion, mit NaH als Base, Triethylphosphonoacetat in trockenem DME liefert mit 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthaldehyd als Edukt (E)-

3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäureethylester in sehr guter Ausbeute.¹³⁵ Diese Verbindung wurde einer Esterspaltung mit LiOH in einem Wasser/THF Gemisch (3/1) unterzogen.¹³⁶ Mit der freien Säure, die in sehr guter Ausbeute erhalten wurde, wurden verschiedene Amide synthetisiert, die nach einer Etherspaltung auf potentielle Inhibition der 17 β -HSD1 getestet wurden.

Das für die Horner-Wadsworth-Emmons Reaktion eingesetzte Edukt 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthaldehyd, wurde durch Reaktion von 2-Bromo-6-methoxynaphthlin mit Titan-tetrachlorid und Dichlormethylmethylether in Dichlormethan bei 0°C und anschließender Suzuki Reaktion mit 3-Methoxyphenylboronsäure (siehe Abb. 47) erhalten.¹³⁷



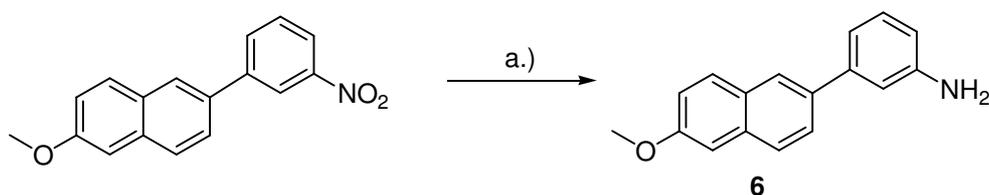
Reaktionsbedingungen: a.) Dichlormethylmethylether, TiCl₄, Dichlormethan, 0°C, über Nacht; b.) Suzuki, Methode A; c.) NaH, Triethylphosphonoacetat, RT, 1h; d.) LiOH, Wasser/THF, 60°C, über Nacht

Abbildung 47: Synthese von (*E*)-3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäure

3.3.9 Katalytische Hydrierung

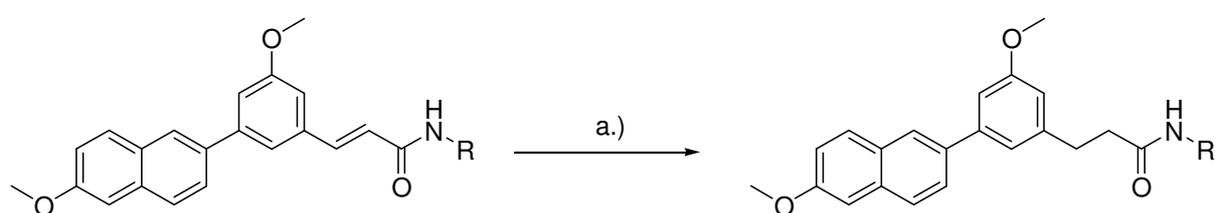
Neben der Oxidation, die später näher erläutert wird, fand auch die Reduktion von Verbindungen Einsatz bei der Synthese von potentiellen Hemmstoffen der 17 β -HSD1. Insgesamt vier Verbindungen u.z. **6**, **37**, **38** und **49** wurden mittels katalytischer Hydrierung dargestellt. Der im Falle von Verbindung **6** eingesetzten Katalysatoren war Pd/C¹³⁸ (Abb. 48), dessen Einsatz zur Darstellung der Verbindungen **37**, **38** und **49** allerdings ohne Erfolg war, so dass auf Pd(OH)₂, den so genannte Pearlman's Katalysator, zurückgegriffen werden musste.¹³⁹ (Abb. 49). Alle darzustellenden Verbindungen konnten mit den so gewählten

Katalysatoren unter Wasserstoffatmosphäre in z.T. hervorragenden Ausbeuten synthetisiert werden.

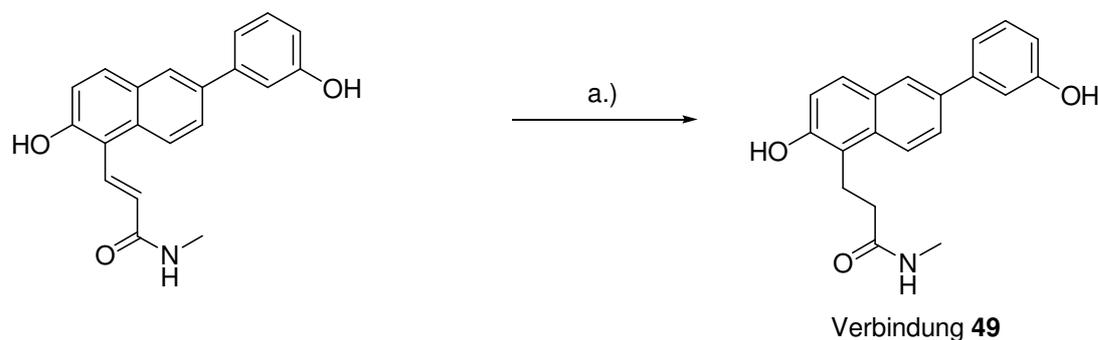


Reaktionsbedingungen: a.) Pd/C, H₂, THF/Ethanol, RT, über Nacht

Abbildung 48: Darstellung von Verbindung **6**



R = -CH₃ Verbindung **37**
-Ph Verbindung **38**



Reaktionsbedingungen: a.) Pd(OH)₂, H₂, THF/Ethanol, RT, über Nacht

Abbildung 49: Quantitative katalytische Hydrierung mittels Pearlman's Katalysator

3.3.10 Oxidation

Zur Durchführung einer Oxidationsreaktion werden hauptsächlich zwei Reagenzien eingesetzt. Es handelt sich dabei um Kaliumpermanganat und Chrom(VI)oxid. Für die unten aufgeführten Reaktionen wurde Kaliumpermanganat aufgrund der geringeren Toxizität gegenüber Chrom(VI)oxid gewählt.

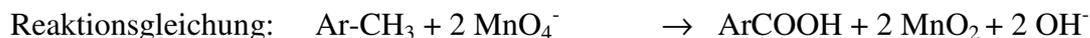
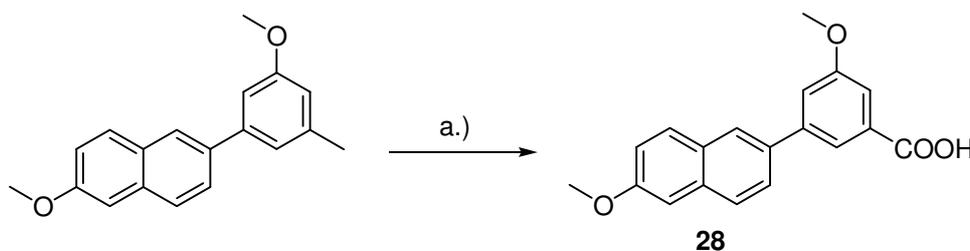


Abbildung 50: Allgemeines Reaktionsschema für die Oxidation von CH_3 -Gruppen am Aromaten

Es handelt sich bei dieser Reaktion um eine Redoxreaktion, bei der die aromatische Methylgruppe zu der entsprechenden Carbonsäure oxidiert wird, während das starke Oxidationsmittel Kaliumpermanganat zu Braunstein reduziert wird.



Reaktionsbedingungen: a.) KMnO_4 , Pyridin, Wasser, 42h, 75 °C;

Abbildung 51: Syntheschema für Verbindung **28**

Die Oxidation von Verbindung **28** erfolgte wie in Abb. 50 beschrieben mittels Kaliumpermanganat in Wasser mit Pyridin als Base.¹⁴⁰ Zu beachten ist dabei, die langsame, portionsweise Zugabe von Kaliumpermanganat und die Notwendigkeit der Anwesenheit einer Base.

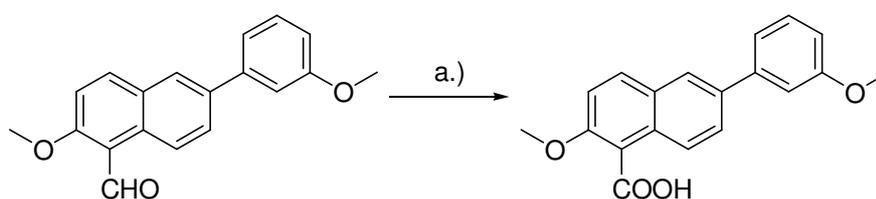
Eine Änderung der Synthesevorschrift erfolgte lediglich bei der Aufarbeitung des Produktes, denn es wurde keine Extraktion mit Ether vorgenommen und die verbleibende Lösung wurde nach Abrotieren des Pyridins als Azeotrop mit Wasser mit 2N Salzsäure angesäuert. Der pH-Wert sollte dabei ständig kontrolliert werden, da die Carbonsäure in zu stark saurem Milieu löslich ist.

Die von Claudi und Mitarbeitern¹⁴⁰ beschriebene Oxidation mittels Kaliumpermanganat erwies sich als gute Methode zur Darstellung von Verbindung **28**.

Bei der Reaktion besonders zu beachten ist die Durchführung im basischen oder neutralen Milieu, da es im Säuren zu einer starken Degradation der Ringsysteme kommt.¹⁴¹

Mit dieser so erhaltenen Säure sind Suzukikupplungen nach den von Bin Tao¹⁴² (PdOAc₂ als Katalysator) oder Peter Meier und Mitarbeitern¹⁴³ beschriebenen Bedingungen möglich. Damit bietet diese Verbindung Zutritt zu komplexeren Strukturen, die sich als gute Hemmstoffe für das gewählte Target, die 17β-HSD1, erweisen könnten.

Eine weitere Oxidation wurde zur Darstellung von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (Verbindung **45b**) durchgeführt.¹⁴⁴ Die dabei ablaufende Reaktion ist in Abb. 52 dargestellt.



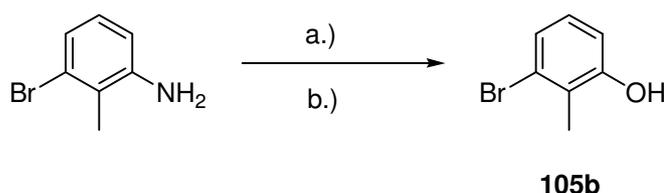
Reaktionsbedingungen: a.) H₂NSO₃H/NaOCIO, Wasser/Aceton, 0 °C, 30min;

Abbildung 52: Synthese von Verbindung **45b**

3.3.11 Phenolverkochung

Bei der Phenolverkochung handelt es sich normalerweise um eine unerwünschte Nebenreaktion bei der Bildung von Diazoniumsalzen.

Aromatische Diazoniumsalze verlieren bei Erhitzen oder Bestrahlung mit UV Licht elementaren Stickstoff. In wässrigen Lösungen entstehen dabei über ein intermediär gebildetes Phenylkation bevorzugt Phenole. Mittels einer solchen Phenolverkochung wurde Verbindung **105** in guter Ausbeute dargestellt, eine Optimierung der Reaktion musste nicht vorgenommen werden.¹⁴⁵

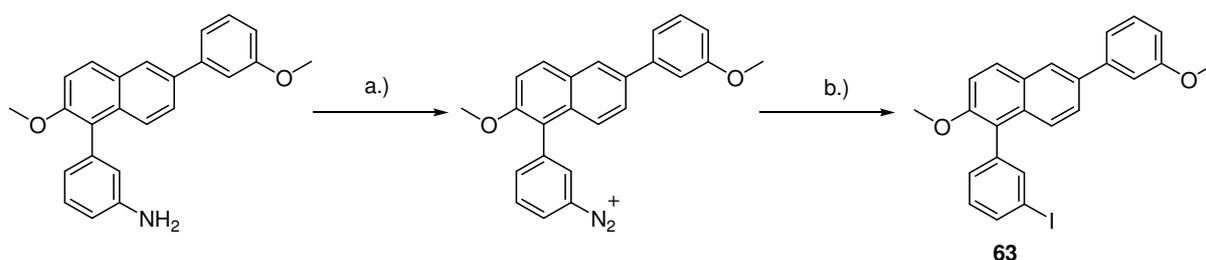


Reaktionsbedingungen: a.) H₂SO₄, NaNO₂, 10 min, 0 °C; b.) H₂SO₄, H₂O, 1h, 70 °C;

Abbildung 53: Synthese von Verbindung **105b**

3.3.12 Sandmeyer

Eine weitere Reaktion, die mit Diazoniumverbindungen durchgeführt wurde, war die Sandmeyer-Reaktion, eine Reaktion, bei der die Diazonium-Gruppe durch ein Halogen- oder Pseudohalogen-Rest ersetzt wird. Mittels einer leicht veränderten Variante, die von D. Carrico et al.¹⁴⁶ beschrieben wurde, konnte die Verbindung **63** in sehr guter Ausbeute dargestellt werden. Die dabei ablaufende Reaktion ist in Abb. 54 wiedergegeben.



Reaktionsbedingungen: a.) HCl, Essigsäure, Dichlormethan, NaNO₂/H₂O, 10 min, 0°C; b.) KI, RT, 1h,

Abbildung 54: Synthese von Verbindung 63

3.3.13 Suzuki-Reaktion

Zur Synthese der 6-Phenylnaphthalin-, 2/3-Phenylchinolin- sowie einiger in 1 Position am Naphthalinrest substituierten 6-Phenylnaphthalinderivate war es erforderlich eine C-C Bindung zwischen einem Naphthalin/Chinolin und einem Aromaten zu erzeugen. Dazu stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung, wie z.B. die Ullmann-Reaktion aber auch die Kharash, Negishi und Stille Kupplung.¹⁴⁷ Eine der effizientesten Methoden mit Nutzung relativ wenig toxischer Reagenzien ist allerdings die Suzuki-Kupplung, die dann auch zur Synthese der nichtsteroidalen Verbindungen gewählt wurde.¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ Der Reaktionsmechanismus dieser Kupplung ist in Abb. 55 beschrieben.

Dabei unterscheidet man drei Reaktionsschritte, die oxidative Addition der Halogenverbindung an einen Pd(0) Komplex, so dass ein Organo-Palladium-Komplex entsteht. Diesem Schritt folgt eine Transmetallierung mit einem Hauptgruppen-Organometall. Der sich bildende Diorganopalladium-Komplex durchläuft dann eine reduktive Eliminierung, was unter Regeneration des Katalysators zu einer C-C-Bindung führt.

Wichtig dabei scheint die Verwendung von zwei Äquivalenten Base. Ein Äquivalent wird bei der Bildung des Boronates verbraucht. Dabei reagiert das Bor als Lewisäure unter Bildung

eines tetravalenten Bor-Atoms. Die anionische Natur der organischen Gruppe wird so erhöht. Ein zweites Äquivalent soll ein Organopalladium-Hydroxid bilden. Die Pd-O-Bindung ist polarer als die Pd-Br-Bindung, das Palladium-Hydroxid ist also elektrophiler, wodurch die elektrophile Transmetallierung erleichtert wird.

Mittlerweile sind Kupplungsreaktionen ohne Verwendung von Palladium oder einem anderen Übergangsmetall¹⁵¹ durchgeführt worden bzw. unter Einsatz von „homeopathischen“ ligandfreien Mengen an Palladium.¹⁵²

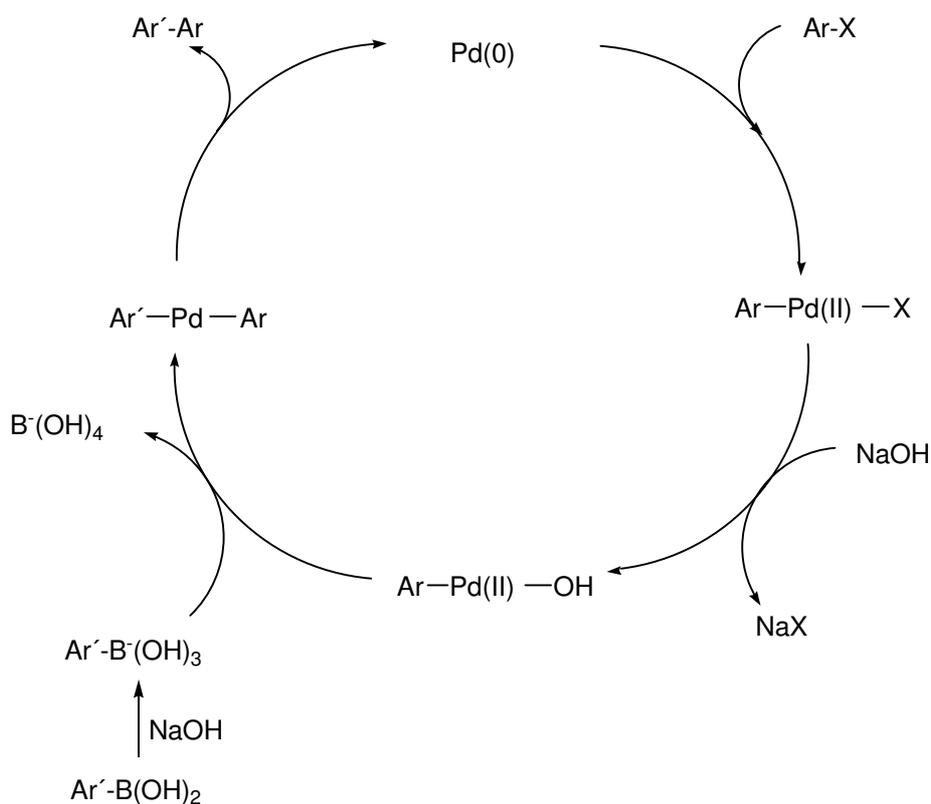


Abbildung 55: Von Suzuki vorgeschlagener Katalysezyklus

Es wurden insgesamt drei Methoden der Suzukikupplung eingesetzt. Eine Übersicht geben die Abb. 56, 57, 58 und 59. Es handelt sich zum einen um eine konventionelle Methode, bei der als Lösungsmittel Toluol oder DME und als Katalysator Pd(PPh₃)₄ verwendet wurden. Entscheidend für das Gelingen einiger dieser Suzukireaktionen bzw. eine Steigerung der Ausbeuten war die Wahl von sauerstofffreien Bedingungen. Die Darstellung von Verbindung **70** z.B. gelang erst durch das Entfernen des Sauerstoffs aus der Reaktionsmischung und die niedrigen Ausbeuten der Verbindungen **77** und **73** sind wahrscheinlich auf das Vorhandensein von Sauerstoff zurückzuführen. Ein Versuch der Ausbeutesteigerung wurde nicht vorgenommen, denn die erhaltenen Substanzmengen reichten zur Durchführung der entsprechenden Tests aus. Als Base wurde für die Reaktion eine 2%-ige Natriumcarbonatlösung in einer Menge von 2 eq eingesetzt. Die Boronsäuren wurden zunächst in Methanol gelöst, bevor sie dem Reaktionsgemisch beigelegt wurden (Methode A). Eine Ausnahme stellt 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)phenylamin dar, denn zur Synthese dieser Verbindung wurde Pd(OAc)₂ als Katalysator eingesetzt und die Reaktion wurde in Wasser bei 150°C mit Tetrabutylammoniumbromid (TBAB) als Phasentransferkatalysator durchgeführt. Die Reaktionsgemische wurden gleich aufgearbeitet und mit wenigen Ausnahmen säulenchromatographisch gereinigt.

Bei den beiden anderen Methoden der Suzukikupplung handelt es sich um Reaktionen die in der Mikrowelle durchgeführt wurden. Zur Synthese einer kleinen Bibliothek an Verbindungen (Verb. **10-17**) wurde Pd(OAc)₂ eingesetzt und die Reaktion wurden mit K₂CO₃ als Base in 5 ml DME/Wasser/Ethanol 7/3/2 durchgeführt. Das Reaktionsgemisch wurde für 300 sec bei 150°C einer Mikrowelleneinstrahlung von 100W unterzogen (Methode B). Nach Aufarbeitung und Aufreinigung mittels präparativer HPLC konnten alle Verbindungen in zum Teil hervorragenden Ausbeuten isoliert werden. Bei der zweiten Mikrowellenmethode handelt es sich um eine Suzukireaktion in DMF/Wasser 1/1 mit Pd(PPh₃)₄ als Katalysator und NaHCO₃ als Base und 100W Einstrahlung (Methode C). Eine weitere Suzukireaktion, die mit Hilfe der Mikrowelle durchgeführt wurde, ist die Synthese von Verbindung **102**. Es wurde hier TBAB als Phasentransferkatalysator benutzt und Palladium auf Kohle als Katalysator.

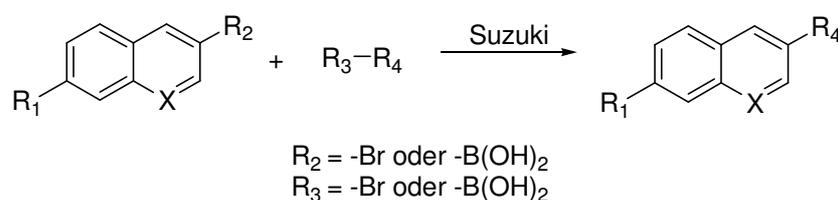
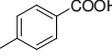
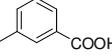
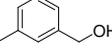
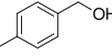
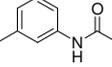
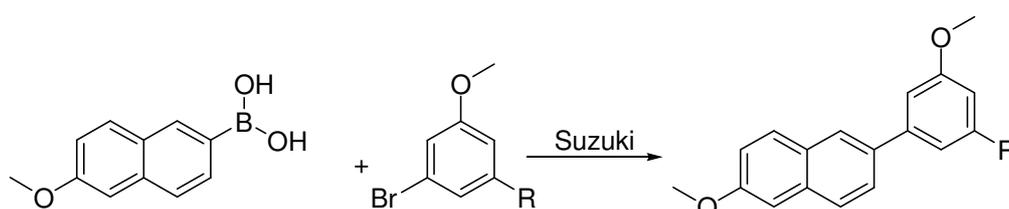


Abbildung 56: Übersicht über die Synthesen der Corestrukturen mittels Suzukireaktion

Tabelle 6: Übersicht über die Synthesen der Corestrukturen

Verbindung	X	R ₁	R ₄	Methode
2	N	-H		A
3	N	-OMe		A
4	CH	-OMe		A
5	CH	-OMe		A
7	CH	-OMe		A
8	CH	-OMe		A
9	CH	-OH		A
10	CH	-OH		B
11	CH	-OH		B
12	CH	-OH		B
13	CH	-OH		B
14	CH	-OH		B
15	CH	-OH		B
16	CH	-OH		B
17	CH	-OH		B

**Abbildung 57:** Substitution des Phenylrestes mittels Suzukireaktion**Tabelle 7:** Übersicht über die Substitution des Phenylrestes

Verbindung	R	Methode
25	-CH ₃	A
26		A

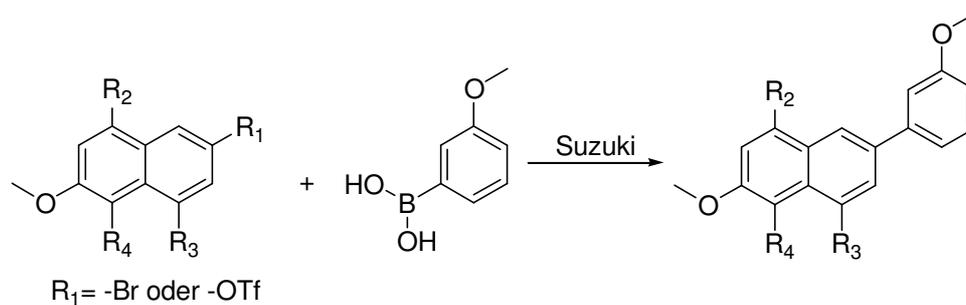


Abbildung 58: Substitution des Naphthalins in den Positionen 1, 4 und 8 mittels Suzuki-reaktion

Tabelle 8: Übersicht über die Substitution des Naphthalins in den Positionen 1, 4 und 8

Verbindung	R_2	R_3	R_4	Methode
41	-H	-CN	-H	A
43	-CN	-H	-H	A
45c	-H	-H	-CHO	A
61	-H	-H	-Br	A

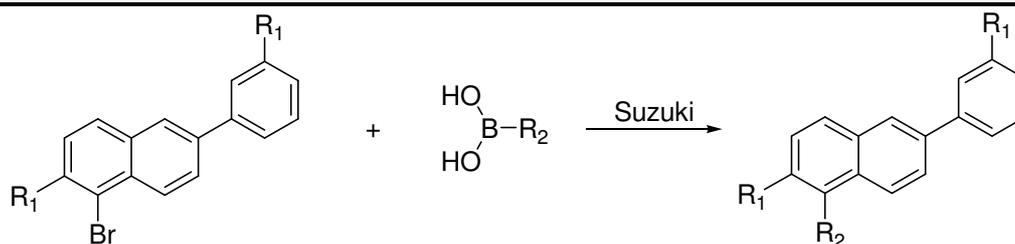
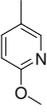
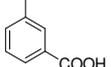
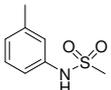
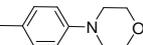
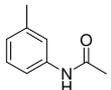
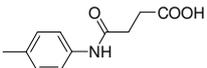
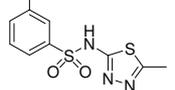
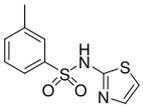


Abbildung 59: Substitution des Naphthalins in der Position 1 mittels Suzuki-reaktion

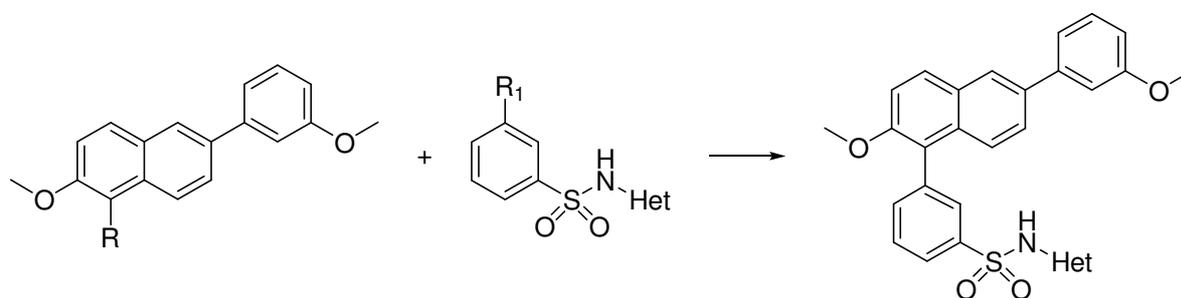
Tabelle 9: Übersicht über die Substitution des Naphthalins in der Position 1

Verbindung	R_1	R_2	Methode
41	-OMe	-H	A
43	-OMe	-H	A
62	-OMe		
68	-OH	-Ph	A
69	-OH		A
70	-OH		A
71	-OH		A

72	-OH		A
73	-OH		A
74	-OH		A
75	-OH		A
76	-OH		A
77	-OH		A
78	-OH		A
79	-OH		A
80	-OH		A
102	-OMe		A
66a	-OMe		C
65a	-OMe		C
105a		-Br	A

Die Synthese von 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzenesulfonamid (**66a**) und 3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-(thiazol-2-yl)benzenesulfonamid (**65a**) stellte sich schwierig dar. Es waren zahlreiche Versuche zur erfolgreichen Darstellung der Verbindungen nötig, die alle in Abb. 60 und Tab. 10 aufgeführt sind. Es wurde eine Änderung der Base, des Katalysators und des Lösungsmittels vorgenommen. Doch diese Änderungen führten leider nicht zu den gewünschten Verbindungen. Zur erfolgreichen Synthese dieser Verbindungen wurde letztendlich Methode C eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde einer Mikrowellenstrahlung von 100W für 15 min und 140°C ausgesetzt.¹⁵³ Die Ausbeute war gering, aber die

erfolgreiche Darstellung der Verbindung in ausreichender Menge machte eine Syntheseoptimierung überflüssig.



Reaktionsbedingungen siehe Tab. 10

Abbildung 60: Versuche zur Synthese von 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid und 3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid

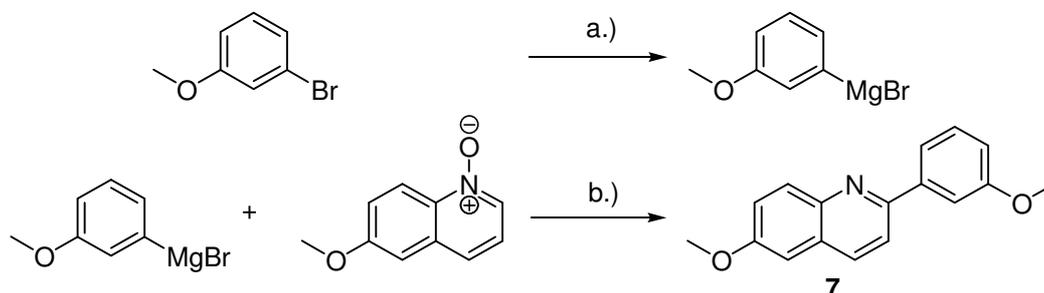
Tabelle 10: Reaktionsbedingungen zu Abb. 60

R	R1	Het	Katalysator	Base	Solvens	Reaktionsbedingungen
-B(OH) ₂	-Br		Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	Toluol/EtOH 5/1	80°C, ü.N.
-Br	-B(OH) ₂		Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	Toluol/EtOH 5/1	80°C, ü.N.
-Br	-B(OH) ₂		Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	DME	60°C, ü.N.
-Br	-B(OH) ₂		Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	DME/Wasser	60W, 150°C, 15min
-B(OH) ₂	-Br		Pd(PPh ₃) ₄	Ba(OH) ₂	DME	60°C, ü.N.
-B(OH) ₂	-Br		Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	DME	60°C, ü.N.
-B(OH) ₂	-Br		Pd(OAc) ₂	Na ₂ CO ₃	Wasser	150°C, 1h

ü.N. = über Nacht

Die eingesetzten Naphthalinderivate konnten meist käuflich erworben werden, die bei anderen Reaktionen eingesetzten Chinoline mussten wie in Abb. 61 und 62 beschrieben zunächst synthetisiert werden. Die zur Durchführung der Suzukikupplung benötigten Boronsäuren

waren ebenfalls im Handel erhältlich. Lediglich drei Boronsäuren wurden synthetisiert (siehe Boronsäuresynthese).

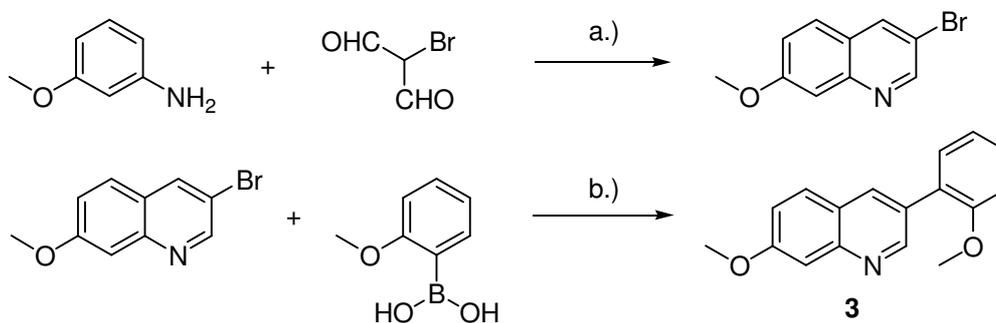


Reaktionsbedingungen: a.) Mg, Ether trocken, 30°C, 2h; b.) Toluol, 90°C, 2h

Abbildung 61: Synthese von Verbindung 7

*Zweischrittreaktion: Grignard und anschließende Kupplung des Produktes an
6-Methoxychinolin-N-oxid*

Zur Synthese von Verbindung **7** wurde 6-Methoxychinolin-N-oxid als Ausgangsverbindung gewählt, da ein erleichterter Angriff in Position 2 möglich ist. Zur Darstellung der in 3 Position substituierten Chinoline musste hingegen auf einen anderen Reaktionsweg zurückgegriffen werden. Zunächst musste das 3-Bromo-7-methoxychinolin synthetisiert werden. Es handelt sich um eine Ein-Schritt-Reaktion, die im Arbeitskreis von Prof. Hartmann entwickelt wurde. (bzgl. Durchführung der Reaktion siehe auch experimenteller Teil)



Reaktionsbedingungen: a.) HCl konz., Ethanol, 80°C, 4 Tage; b.) Suzuki, Methode A

Abbildung 62: Synthese von Verbindung 3

Mit der Durchführung der Suzukireaktion unter sauerstofffreien Bedingungen in Toluol oder DME als Lösungsmittel und mit 2%-iger Natriumcarbonatlösung als Base wurde eine Methode zur Darstellung von C-C verknüpften Verbindungen gewählt, die bei jeder so durchgeführten Reaktion zu der gewünschten Verbindung führte. Die Reaktionszeiten liegen mit 18 – 24h im Rahmen der in der Literatur vorkommenden Zeiten. Die Reaktionszeiten konnten in einigen Fällen durch erfolgreichen Einsatz der Mikrowelle sehr kurz gehalten werden. Die Ausbeuten der durchgeführten Synthesen rangierten in den meisten Fällen über 60%, wobei lediglich die Verbindung **3** mit 17% Ausbeute aus dem Rahmen fällt. (siehe Tab. 1).

Zur Synthese von Verbindung **3** musste zunächst das 3-Bromo-7-methoxychinolin synthetisiert werden. Diese Synthese erwies sich als problematisch, da mit zunehmender Menge an Ausgangskomponenten die Ausbeute sank. So konnten letztendlich nur 25 mg 3-Bromo-7-methoxychinolin zur Suzukikupplung eingesetzt werden. Geringe Verluste, die aber bei der Aufarbeitung und säulenchromatographischen Aufreinigung des Reaktionsgemisches auftreten können, äußern sich bei einer solchen kleinen Menge in drastischer Senkung der Ausbeute. Ein weiterer Grund für die geringe Menge an Produkt könnten z.B. sterische Hinderungen der Suzukireaktion sein, die durch Einsatz andere Basen wie Bariumhydroxid und Kaliumphosphat umgangen werden könnten.¹⁴⁷ Allerdings wurde die Reaktion unter diesen veränderten Bedingungen nicht durchgeführt, so dass nur Vermutungen über das bessere Gelingen der Kupplungsreaktion vorgenommen werden können. Schwierigkeiten ergaben sich auch bei der Synthese von 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid und 3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid, die allerdings behoben werden konnten und die gewünschten Verbindungen wurden in zufrieden stellenden Ausbeuten erhalten.

3.3.14 Tetrazolringbildung

Tetrazole sind wichtige Verbindungen in der medizinischen Chemie. Es handelt sich um Bioisostere der Carboxylgruppe, mit meist besserem pharmakokinetischem Profil aufgrund der höheren metabolischen Stabilität.

Die Bildung des Tetrazolrings zur Darstellung von Verbindung **103** verläuft als 1,3 dipolare Cycloaddition, eine pericyclische Reaktion, zwischen dem 1,3-dipolaren Azidion und einer Nitrilgruppe. Abb. 63 gibt den Mechanismus dieser Reaktion wieder und in Abb. 64 ist die Synthese von Verbindung **103** dargestellt. Die Synthese der Verbindung verlief problemlos. Sowohl für die Suzukikupplung¹⁵⁴ als auch für die Bildung des Tetrazolrings¹²⁴ wurde die Mikrowelle eingesetzt. Für die Bildung des Tetrazolrings war allerdings eine höhere als die bereits beschriebene Leistung nötig. Es wurden 100W statt der angegebenen 20W benötigt.

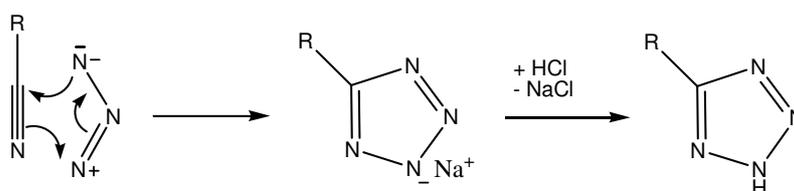
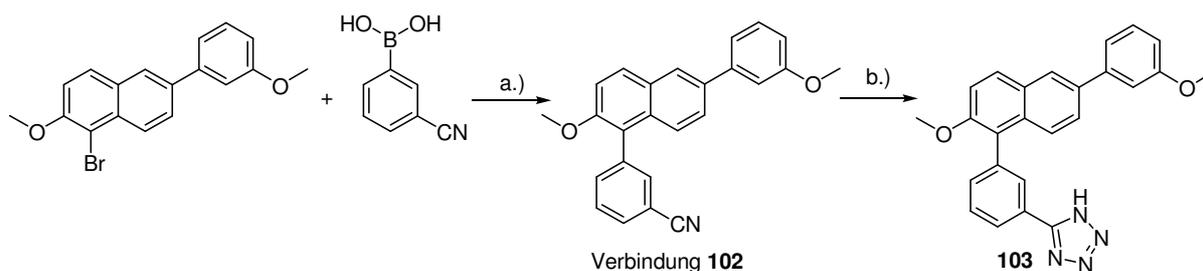


Abbildung 63: Mechanismus der Bildung eines Tetrazolrings



Reaktionsbedingungen: a.) Pd/C, Na_2CO_3 , TBAB, Wasser, MW, 300W, 120°C, 5bar, 25min; b.) NaN_3 , NH_4Cl , DMF, Mikrowelle, 100W, 150°C, 10bar, 30min;

Abbildung 64: Synthese von Verbindung **103**

3.4 Biologische Evaluierung und Diskussion

Wenige aktive und gegenüber 17 β -HSD2 selektive Inhibitoren der 17 β -HSD1 konnten bis heute entwickelt werden. Bei den meisten Verbindungen handelt es sich zu dem um steroidale Strukturen, die eine estrogene Wirkung zeigen.

Ziel der Arbeit war es neue, nichtsteroidale und selektive Inhibitoren der 17 β -HSD1 darzustellen, die als potentielle Wirkstoffe im Kampf gegen estrogenabhängige Erkrankungen wie Brustkrebs und Endometriose Einsatz finden können.

Die Hemmwerte der synthetisierten Verbindungen wurden in einem Assay bestimmt, der von der finnischen Firma Hormos durchgeführt wurde. Hier wurden die Verbindungen auf Hemmung der 17 β -HSD1 und 17 β -HSD2 getestet. Dabei wurde das rekombinant gewonnene Enzym mit dem entsprechenden Substrat/Cofaktor und mit unterschiedlichen Inhibitorkonzentrationen inkubiert. Nach 30 min wurde die Reaktion gestoppt und die Umsatzrate bestimmt, die wiederum zur Berechnung der prozentualen Hemmung herangezogen wurde.

Auf der Suche nach einer geeigneten Corestruktur wurden diverse Verbindungen synthetisiert, deren Hemmdaten in Tab. 11 wiedergegeben sind. 6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (**22**) erwies sich als potent und selektiv und wurde in einem zweiten Schritt derivatisiert.

Zunächst erfolgte die Substitution des Phenylrings. Die Hemmdaten sind in Tab. 12 dargestellt. Leider waren alle synthetisierten Verbindungen inaktiv, so dass die Substitution des Naphthalinrestes in Angriff genommen wurde. Tab. 13 gibt die Hemmdaten der Verbindungen wieder, die in 1, 4 und 8 Position des Naphthalins substituiert sind. Position 1 stellte sich als zur Einführung von Substituenten geeignet heraus.

IC₅₀-Werte wurden lediglich von einigen Verbindungen bestimmt, diese Werte sind in Tab. 21 aufgelistet. Diese Bestimmung wurde im Arbeitskreis von Prof. Hartmann nach einer im Vergleich zum Protokoll der Firma Hormos leicht veränderten Prozedur durchgeführt, die im experimentellen Teil näher beschrieben wird.

Mit einigen Verbindungen wurde auch ein Estrogenrezeptor Bindungsassay durchgeführt um eine eventuell auftretende unerwünschte Estrogenizität abschätzen zu können (siehe Tab. 23).

Da die synthetisierten Verbindungen als Arzneistoffe Einsatz finden sollen, wurde die Permeabilität der Verbindungen anhand eines Caco-2 Assays überprüft und durch Pharmacelsus ein Assay auf metabolische Stabilität an Rattenlebermikrosomen durchgeführt. In einem weiteren Test wurde überprüft, ob die Verbindungen eventuell CYP450 Enzyme hemmen und damit Nebenwirkungen und Interaktionen mit anderen Wirkstoffen hervorrufen

können. Es wurde dabei auf Hemmung der gängigsten CYP450, wie z.B. CYP1A2, CYP3A4, CYP2D6 etc. getestet. Die Ergebnisse bzgl. der metabolischen Stabilität sind in Abb. 70 dargestellt und Tab. 27 gibt einen Überblick über die Hemmung der CYP450 Enzyme.

3.4.1 Corefindung

3.4.1.1 Ergebnisse

In einem ersten Schritt wurde zur Grundgerüstfindung eine breite Palette an Steroidomimetika synthetisiert. Der Focus galt aus zwei Gründen dem Design und der Synthese von nichtsteroidalen Verbindungen: zum einen besteht im Arbeitskreis von Prof. Hartmann umfangreiche Erfahrung im Design von Steroidomimetika (z.B. auf dem Gebiet des ER¹⁵⁵, CYP19¹⁵⁶⁻¹⁵⁸, CYP17^{159, 160} und CYP11B2¹⁶¹⁻¹⁶⁵) und Nebenwirkungen der Verbindungen hervorgerufen durch Interaktion mit dem ER α und β sollten nach Möglichkeit minimiert oder sogar vermieden werden. Es entstanden Verbindungen, die die bei dem Design der Inhibitoren geforderten Bedingungen in sich vereinten, z.B. besitzen alle synthetisierten Strukturen ein unpolares Grundgerüst, das in verschiedenen Positionen einen oder zwei Substituenten trägt, die in der Lage sind zu den polaren Aminosäuren der active site (His221, Glu282 und Met279 in der Nähe der steroidalen C3 Position und Tyr155/Ser142 in der Nähe der C17 Position) Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden. Außerdem wurde die Bedeutung der zusätzlichen zwei polaren Aminosäuren (Ser222 und Tyr218) in der active site auf eine mögliche Interaktion mit potentiellen Inhibitoren untersucht.

Es wurden verschiedene Verbindungen synthetisiert z.B. Phenyl-naphthalin- und -chinolinderivate deren Strukturen dem allgemeinen Grundgerüst in Abb. 65 entsprechen. (Hemmdaten siehe Tab. 11 und 12)

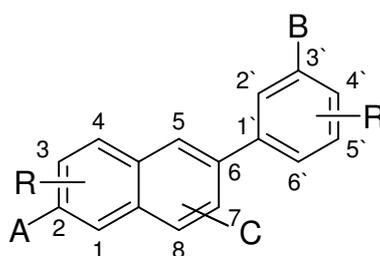
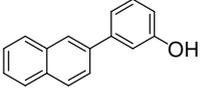
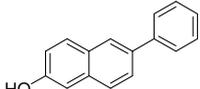
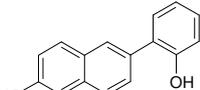
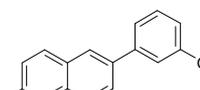
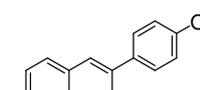
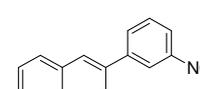
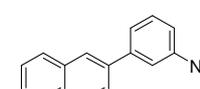
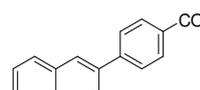
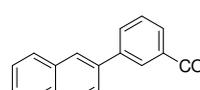
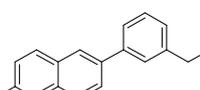
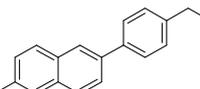
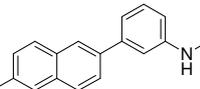
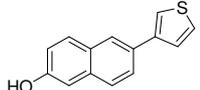
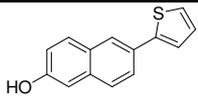
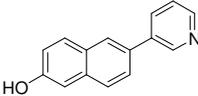
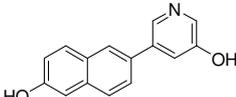


Abbildung 65: Allgemeines Grundgerüst

Tabelle 11: Hemmdaten der Naphthalinderivate

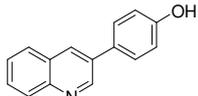
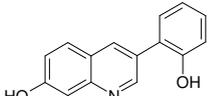
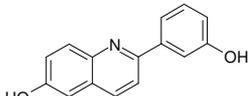
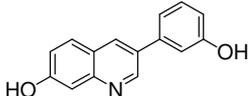
Verbindung	Struktur	<i>17β</i> -HSD1		<i>17β</i> -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μM	100 nM	1 μM
A		26.0	61.0	n.b.	n.b.
9		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
21		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
22		91.4	94.0	12.4	16.6
B		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
23		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
24		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
13		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
14		36.3	75.8	n.b.	n.b.
15		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
16		k.H.	12.9	n.b.	n.b.
17		k.H.	18.5	n.b.	n.b.
11		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.

12		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
10		k.H.	31.6	n.b.	n.b.
20		30.3	57.7	n.b.	n.b.

k.H. = keine Hemmung (Hemmung < 10%)

n.b. = nicht bestimmt

Tabelle 12: Hemmdaten der Chinolinderivate

Verbindung	Struktur	<i>17β-HSD1</i>		<i>17β-HSD2</i>	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μM	100 nM	1 μM
18		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
19		k.H.	k.H.	n.b.	n.b.
1		14.4	63.1	n.b.	n.b.
C		24.0	56.9	23.9.	42.6

3.4.1.2 Diskussion

Naphthalinderivate

Das entwickelte Pharmakophormodell führte zur Synthese verschiedener nichtsteroidaler Verbindungen. Zunächst wurden Phenylnaphthalinderivate synthetisiert, die in verschiedenen Positionen am Phenylrest oder aber dem Naphthalinrest Methoxy- respektive Hydroxysubstituenten tragen. Alle methoxytragenden Verbindungen zeigten keine Inhibition des Enzyms. Durch Etherspaltung konnten sie in ihre entsprechenden Hydroxyderivate überführt werden. Es entstanden Verbindungen, die eine oder zwei Hydroxygruppen in

unterschiedlichen Positionen des unpolaren Kerns trugen. Auf diese Art und Weise sollte eine Optimierung der Position der für die Aktivität sehr wichtigen Hydroxysubstituenten vorgenommen werden, denn sowohl Anzahl als auch Position der OH-Gruppen schien von entscheidender Bedeutung für die Aktivität zu sein

Verbindungen mit einer Hydroxygruppe

Eine Hydroxygruppe in 2-Position brachte keine Hemmung (Verbindung **9**), allerdings konnte mit einer von Ludivine Fetzer synthetisierten Verbindung (3-(Naphthalin-2-yl)phenol **A**), die am Phenylrest eine Hydroxygruppe trägt, eine mittel aktive Verbindung dargestellt werden (26% Hemmung in einer Konzentration von 100 nM und 61% in einer Konzentration von 1 μ M, siehe Tab. 11). Die phenolische OH-Gruppe scheint von größerer Bedeutung für die Aktivität eines potentiellen Inhibitors zu sein. Das ideale Grundgerüst war damit noch nicht gefunden aber es konnte gezeigt werden, dass eine OH-Gruppe nicht ausreichend ist, um die für eine starke Hemmung des Enzyms nötigen stabilisierenden Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden. Als Konsequenz wurden zwei Hydroxygruppen eingeführt.

Verbindungen mit zwei Hydroxygruppen

Es wurden insgesamt drei Verbindungen synthetisiert, die eine Hydroxygruppe jeweils in der 2 Position am Naphthalin tragen während die Position der zweiten Hydroxygruppe am Phenylrest variierte. Zunächst wurden in der Positionen 2' (Verbindung **19**) eine Hydroxygruppe eingeführt. Die Verbindung war leider inaktiv. Die Position der zweiten OH-Gruppe war falsch gewählt, der ideale Abstand der beiden Hydroxygruppen wurde nicht erfüllt. Durch Verschieben aus der 2' in die 3' Positionen konnte eine Verbindung synthetisiert werden, die eine gute Hemmung der 17 β -HSD1 (91% Hemmung in einer Konzentration von 100 nM) und eine gute Selektivität gegenüber 17 β -HSD2 (keine Hemmung in einer Konzentration von 100 nM) aufwies, Verbindung **22**. Durch Verschieben der Hydroxygruppe in 4' Position am Phenylrest (Verbindung **B**) wurde ein kompletter Verlust der Aktivität verzeichnet. Damit konnte eindeutig bewiesen werden, dass Zahl und Position der OH-Gruppen von entscheidender Bedeutung für die Inhibition der 17 β -HSD1 sind.

Auf der Suche nach einem eventuell potenteren Grundgerüst wurden weitere sehr verschiedene Verbindungen synthetisiert, bei denen die Hydroxygruppe in 3'-Position durch diverse Elektronendonatoren und -akzeptoren ersetzt wurde. Sie wurde beispielsweise durch eine Amino- (Verbindung **24**), Amid- (**17**) oder Nitrogruppe (**23**) ersetzt, was aber in einem Verlust der Aktivität endete. Die Einführung eines Benzylhydroxysubstituenten (**15** und **16**) anstatt eines Hydroxyphenylrestes in 6 Position des 2-Hydroxynaphthalins brachte auch keinen erhofften Erfolg. Lediglich durch die Einführung einer Carboxygruppe in 3' Position (Verbindung **14**) konnte eine mittlere Inhibition verzeichnet werden. Verbindung **14** zeigte eine Hemmung von 76% in einer Konzentration von 1 μ M und noch 36% in einer Konzentration von 100 nM. Eine Carboxygruppe in 3' Position (**13**) brachte keinerlei Aktivität.

Der Austausch des Hydroxyphenylrestes im Grundgerüst 6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol durch verschiedene Heteroaromaten wie z.B. Thiophen oder Pyridin führte zu Verbindungen, die keinerlei Hemmeigenschaften zeigten. Durch Einführen eines Stickstoffs in den Phenylrest (Verbindung **20**) konnten keine für die Hemmwirkung positiven Wechselwirkungen erreicht werden. Das Gegenteil war der Fall, die Aktivität sank um etwa die Hälfte im Vergleich zu Verbindung **22**, obwohl die Geometrie des Grundgerüsts nicht verändert wurde und sich damit die zwei Hydroxygruppen in der zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen richtigen Stellung befinden sollten. Es konnte also gezeigt werden, dass nicht nur sterische Aspekte für die Hemmeigenschaften wichtig sind, sondern auch elektronische Effekte sehr großen Einfluss auf die Inhibition haben.

6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (**22**) war damit ein sehr gutes Grundgerüst, welches durch strukturelle Modifikation zur Synthese weit potenterer und selektiverer Verbindungen als Inhibitoren der 17 β -HSD1 genutzt werden konnte.

Chinolinderivate

Laut Molecular Modelling befinden sich in der relativ hydrophoben Substratbindungstelle, die wahrscheinlich auch von unserem Grundgerüst besetzt wird, einige polare Aminosäuren. Bei diesen Ausnahmen handelt es sich um die Aminosäuren Tyr218, Ser222 und Asn152, die sich in der Nähe der Positionen 6 und 7 des Steroids befinden.

Sollte es etwa möglich sein durch geeignete Substitution am oder im Naphthalingerüst zusätzliche Interaktionen mit diesen Aminosäuren einzugehen und damit eine Erhöhung der Aktivität zu bewirken?

Um dieser Frage nachzugehen wurden Chinolinderivate synthetisiert. Der Stickstoff des Chinolins sollte in der Lage sein Wasserstoffbrückenbindungen z.B. zu den oben aufgeführten Aminosäuren auszubilden und damit eine Stabilisierung des Ligand-Protein-Komplexes bewirken, was eine bessere Hemmwirkung zur Folge haben sollte. Der Abstand zu Tyr218 (Abstand $O_{\text{Tyr218}}-C_5$ Steroid) beträgt laut Berechnung 3.8 \AA und zu Ser222 6.8 \AA (Abstand $O_{\text{Ser222}}-N_{\text{Chinolin}}$, Abb. 66), wenn die Hydroxygruppe des Serins dem Chinolin abgewandt ist. Aufgrund ihrer Flexibilität konnte allerdings erwartet werden, dass sich die OH-Gruppe des Serins in Richtung des Stickstoffs dreht, so dass sich ein günstigerer Abstand von 3.6 \AA ergibt.

Es wurden verschiedene Chinolinderivate synthetisiert und auch im Falle dieser Verbindungsklasse konnte gezeigt werden, dass sowohl Art, als auch Anzahl und Position der Substituenten sehr wichtig für die Hemmeigenschaften einer Verbindung sind. Chinolinderivate mit Methoxygruppen oder einem Hydroxysubstituenten wie z.B. Verbindung **18** zeigten keine Hemmung des Enzyms. Zwei Hydroxysubstituenten in den Positionen 6 und 3' sind für die Hauptinteraktionen mit den Aminosäuren His221, Glu282, Tyr155 und Ser142 verantwortlich. Trotzdem sank die Aktivität der so substituierten Verbindung **1** bzw. **C** im Vergleich zum entsprechenden Naphthalinderivat. Verbindung **1** zeigte vergleichbar mit Verbindung **C** nur noch 24% Hemmung in einer Konzentration von 100 nM im Vergleich zu 94% Hemmung der Verbindung **22** bei derselben Konzentration. Der zusätzliche Stickstoff im Chinolingrundgerüst bildet leider keine günstigen Interaktionen mit den polaren Aminosäure Tyr218 und Ser222 aus. Der Abstand des Stickstoffs zum Sauerstoff des Tyr218 ist zu groß, um Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden zu können und die OH-Gruppe von Ser222 dreht sich, wie mittels durchgeführter Molecular Dynamics Simulationen gezeigt werden konnte, nicht in Richtung des Steroids.

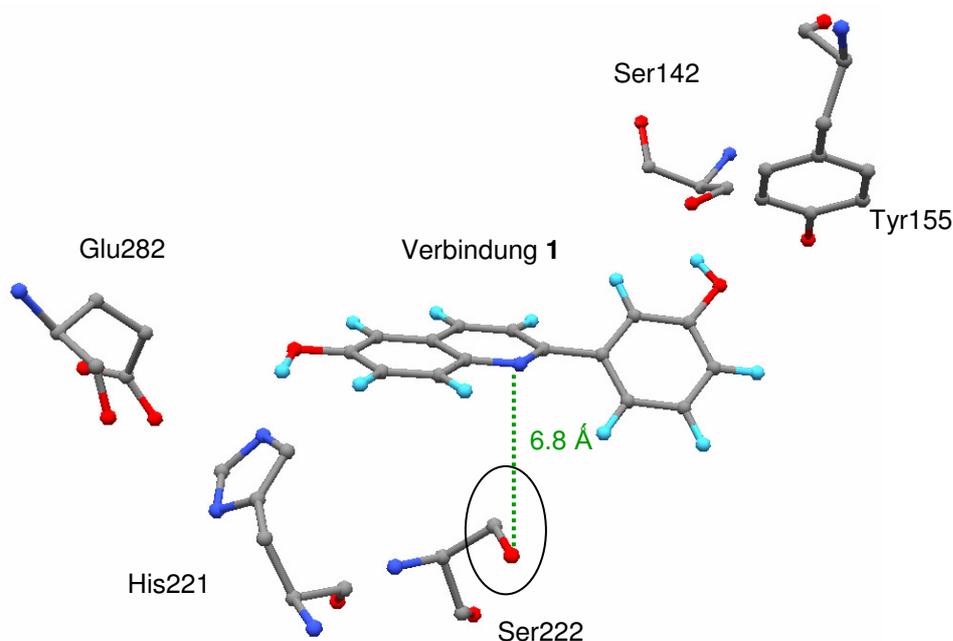


Abbildung 66: Ausschnitt aus einem binären Komplex von 17β-HSD1 mit Verbindung 1

Dr. Alexander Neugebauer führte diese oben erwähnte Molecular Dynamics (MD) Simulation eines binären Komplexes von 17β-HSD1 mit Verbindung 1 durch. Dabei wurde in einem ersten Schritt die Hydroxygruppe des Ser222 manuell in Richtung des Chinolins gedreht. Es ergab sich der bereits angegebene $O_{\text{Ser222}}-N_{\text{Chinolin}}$ Abstand von 3.6 Å. Nach 25ps kehrte diese Gruppe aber wieder in ihre Ausgangsposition zurück und blieb auch für die folgenden 475ps der MD Simulation stabil. Damit wurden die experimentellen Daten bestätigt. Der Abstand von 6.8 Å ist zu groß, um zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden. Das Vorhandensein von hydrophilen Gruppen im Grundgerüst wirkt sich sogar negativ auf die Aktivität der Verbindungen aus, scheint also in der von unpolaren Aminosäuren dominierten active site der 17β-HSD1 nicht toleriert zu werden. Damit konnte eindeutig mit einer weiteren Verbindung gezeigt werden, dass nicht nur die Zahl und Position der OH-Gruppen für die Aktivität einer Verbindung von Bedeutung sind, sondern auch die van der Waals Wechselwirkungen des unpolaren Grundgerüsts eine entscheidende Rolle spielen.

6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (**22**) erwies sich in dieser Reihe an synthetisierten Verbindungen als das geeignetste Grundgerüst zur Darstellung weiterer Inhibitoren der 17β-HSD1. Die Verbindung weist ein unpolares Grundgerüst auf, welches van der Waals Wechselwirkungen mit den unpolaren Aminosäuren des Substratbindungststelle ausbildet und zwei Hydroxygruppen, zwei Ankerpunkte, die Wasserstoffbrückenbindungen zu His221,

Glu282, Tyr155 und Ser142 bilden. Des Weiteren bietet diese Struktur zahlreiche Möglichkeiten der Substitution

3.4.2 Substitution

In einem ersten Schritt der durchgeführten Arbeit auf der Suche nach aktiven und selektiven Inhibitoren der 17 β -HSD1 wurde ein Grundgerüst gefunden, welches zahlreiche Möglichkeiten der Substitution bietet. In einem zweiten Schritt galt es die Positionen zu finden, die Möglichkeiten der Substitution bieten unter Erhalt der Aktivität und Selektivität.

Doch welches ist die für eine Substitution geeignete Stelle und welches ist der richtige Substituent?

Mittels Docking konnte gezeigt werden, dass 6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (**22**) zwei Möglichkeiten hat sich in der Substratbindungsstelle anzulagern, u.z. so, dass die Hydroxygruppe in 2 Position die 3 Hydroxygruppe des Steroids und die Hydroxygruppe in 3' Position des Phenylrings die Ketogruppe in 17 Position des Steroids imitiert (Bindungsmodus A) oder aber die 3' Position ahmt die Hydroxygruppe in 3 Position am Steroid und die 2 Position die Ketogruppe des Steroids in 17 Position nach (Bindungsmodus B). Beide Positionen scheinen gleichwertig zu sein.

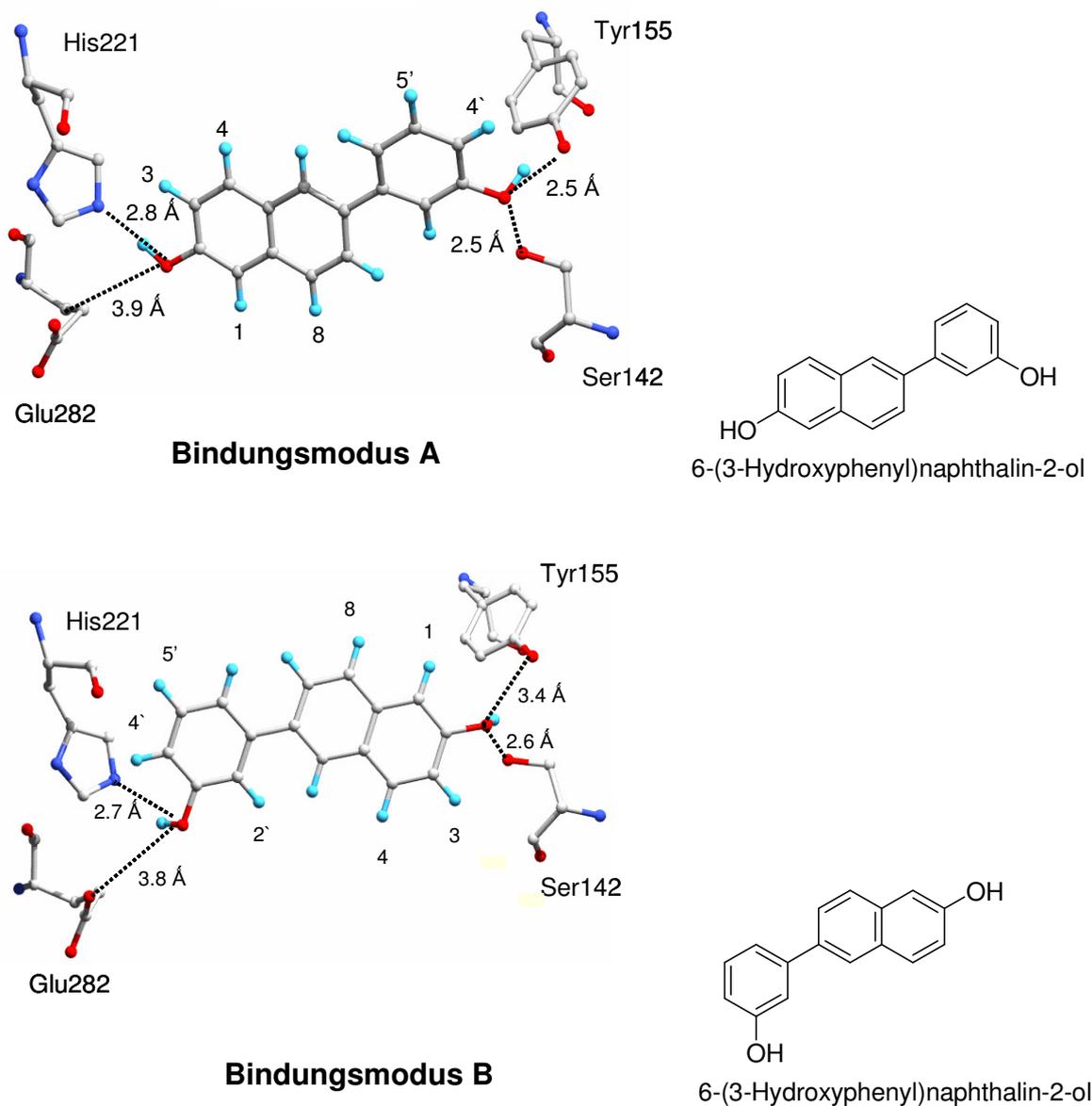


Abbildung 67: Mögliche Bindungsmodi von 6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol

Damit sollte sowohl eine Substitution am Phenyl- als auch am Naphthalinrest möglich sein, es sei denn die freie Anlagerung geht durch Substitution verloren. Durch Einführen diverser Reste im Grundgerüst sollte es jedoch möglich sein diese Gegebenheit zu verifizieren.

3.4.2.1 Substitution am Phenylrest

Ergebnisse

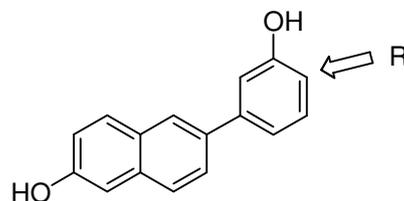
Zunächst wurden einige Verbindungen mit Substituent in 5' Position synthetisiert. (Hemmdaten siehe Tab. 13)

Tabelle 13: Hemmdaten der Verbindungen mit zusätzlichen Substituenten in 5' Position am Phenylrest

Verbindung	Struktur	<i>17β</i> -HSD1 Hemmung [%]	
		100 nM	1 μM
27		14.3	41.7
31		k.H.	k.H.
32		k.H.	k.H.
35		k.H.	k.H.
36		k.H.	19.6
39		k.H.	k.H.
40		k.H.	13.6

Die Position 4' wurde von Dr. Sandrine Oberwinkler-Marchais untersucht. Die Hemmdaten dieser Verbindungen sind in Tab. 14 dargestellt.

Tabelle 14: Hemmdaten der Verbindungen mit zusätzlichen Substituenten in 4' Position am Phenylrest



Verbindung	Struktur	17 β -HSD1 Hemmung [%]	
		100 nM	1 μ M
D		k.H.	k.H.
E		k.H.	k.H.

Diskussion

Die Einführung einer Methylgruppe in Position 5' (Verbindung **27**) senkte die Aktivität stark ab, aber es war ein Rest Hemmung noch vorhanden, so dass vielleicht lediglich die Art des Substituenten falsch gewählt war. In weiteren Synthesen wurden in dieser Position diverse Substituenten eingeführt. Zunächst wurden Amide eingeführt, die direkt an den Phenylrest gekoppelt waren. Die beiden Verbindungen **31** und **32** zeigten keine Aktivität. Eine Erhöhung der Flexibilität durch Einführung einer C2-Kette in derselben Position brachte auch nicht den gewünschten Erfolg. Die Verbindungen **35**, **36**, **39** und **40** zeigten keine Hemmung des Enzyms.

Die 4' Position am Phenylrest wurde durch Dr. Sandrine Oberwinkler-Marchais erforscht. Es zeigte sich, dass eine Substitution des Phenylrestes in 4' Position durch das Enzym nicht toleriert wird, die synthetisierten Verbindungen zeigten keine inhibitorische Aktivität.

Durch Einführung von Substituenten scheint die freie Anlagerung des Grundgerüsts verloren zu gehen. Die experimentellen Daten sind ein Indiz dafür, dass Bindungsmodus B wahrscheinlicher ist als Bindungsmodus A.

3.4.2.2 Substitution am Naphthalinrest

Ergebnisse

Da eine Substitution der Positionen 5' und 4' des Phenylrestes im Grundgerüst aufgrund des Verlustes der Aktivität ungeeignet ist, wendete sich das Augenmerk hinsichtlich der Substitution dem Naphthalin zu. Es wurden in verschiedenen Positionen Substituenten eingeführt, u.z. 1, 4 und 8. (Hemmdaten siehe Tab. 15, 16 und 17) Nachdem die geeignete Substitutionsstelle gefunden wurde, wurden in dieser Position 1 diverse sterisch und elektronisch sehr unterschiedliche Reste eingeführt. (Hemmdaten siehe Tab. 18, 19 und 20). Von einigen hochaktiven Verbindungen wurden zur genaueren Abschätzung der Aktivität IC₅₀-Werte bestimmt, die in Tab. 21 wiedergegeben werden.

Tabelle 15: Hemmdaten der Verbindungen mit zusätzlichen Substituenten am Naphthalinrest in den Positionen 1, 4 und 8

Verbindung	Struktur	<i>17β</i> -HSD1		<i>17β</i> -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μM	100 nM	1 μM
42		32.3	74.4	n.b.	n.b.
44		83.0	94.0	n.b.	n.b.
101		k.H.	26.4	n.b.	n.b.
67		82.9	88.4	19.0	69.0

Tabelle 16: Hemmdaten der Verbindungen mit Substituenten in 1 Position

Verbindung	Struktur	<i>17β</i> -HSD1		<i>17β</i> -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μM	100 nM	1 μM
47		19.2	57.6	33.9	73.2
48		k.H.	60.4	28.1	76.9
49		k.H.	80.0	k.H.	35.8
55		21.8	76.3	k.H.	21.6
56		40.0	80.2	k.H.	16.3
57		20.5	69.9	k.H.	11.0
58		27.8	62.4	n.b.	n.b.
59		k.H.	44.5	n.b.	n.b.
60		28.8	73.4	n.b.	n.b.

Tabelle 17: Hemmdaten der Verbindungen mit rigiden Substituenten in 1 Position

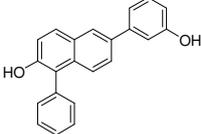
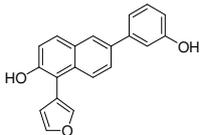
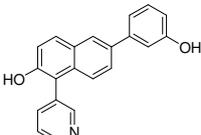
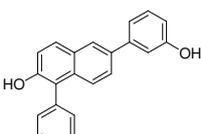
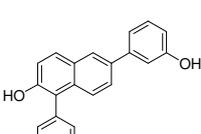
Verbindung	Struktur	<i>17β</i> -HSD1		<i>17β</i> -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μM	100 nM	1 μM
68		76.2	89.4	22.1	77.2
70		83.0	89.1	60.6	92.3
71		87.4	92.3	66.1	90.3
72		74.4	85.9	12.2	48.5
73		k.H.	22.1	15.5	51.7

Tabelle 18: Hemmdaten der Verbindungen mit Substituenten in 4'' Position

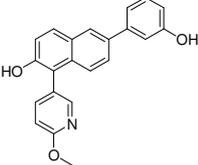
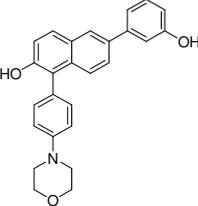
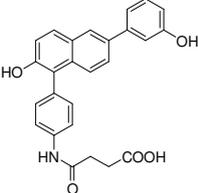
Verbindung	Struktur	17 β -HSD1		17 β -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μ M	100 nM	1 μ M
74		85.9	89.2	24.3	67.2
77		31.9	64.9	12.4	31.9
79		k.H.	62.3	24.2	68.0

Tabelle 19: Hemmdaten der Verbindungen mit Substituenten in 3'' Position

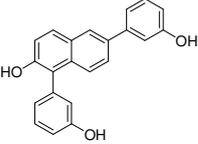
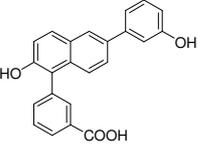
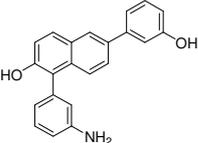
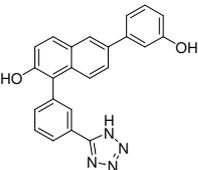
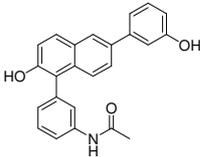
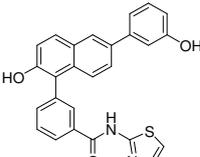
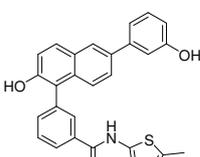
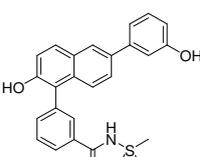
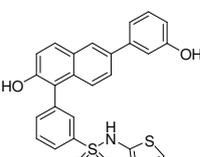
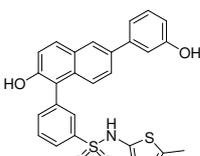
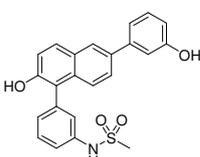
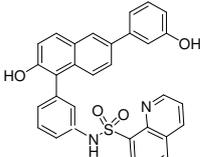
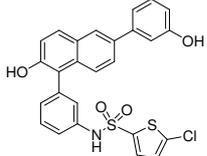
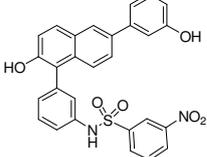
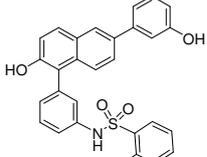
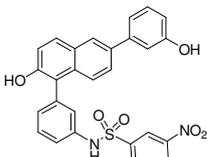
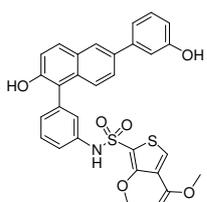
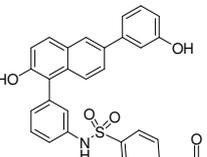
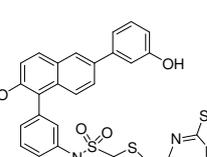
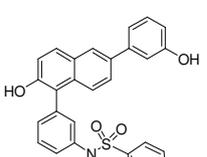
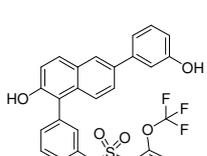
Verbindung	Struktur	17 β -HSD1		17 β -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μ M	100 nM	1 μ M
69		82.9	92.6	k.H.	40.1
75		44.7	80.0	k.H.	34.2
80		74.1	87.3	k.H.	39.1
104		17.3	78.6	n.b.	n.b.

Tabelle 20: Hemmdaten der Verbindungen mit Carbonsäure- oder Sulfonamidsubstituenten in 3'' Position

Verbindung	Struktur	17 β -HSD1		17 β -HSD2	
		Hemmung [%]		Hemmung [%]	
		100 nM	1 μ M	100 nM	1 μ M
78		35.1	81.5	24.1	63.6
98		66.4	74.7	n.b.	n.b.
99		62.2	74.0	n.b.	n.b.
64		16.5	77.3	n.b.	n.b.
65		87.0	96.3	24.0	71.0
66		84.0	n.b.	n.b.	n.b.
76		88.1	90.8	31.1	71.3
81		71.2	80.5	n.b.	n.b.

82		46.4	78.0	n.b.	n.b.
83		72.8	78.9	n.b.	n.b.
84		62.1	79.7	n.b.	n.b.
85		73.2	79.9	n.b.	n.b.
86		63.7	79.2	n.b.	n.b.
87		73.8	80.2	n.b.	n.b.
88		64.7	79.4	n.b.	n.b.
89		71.5	82.9	n.b.	n.b.
90		40.5	78.4	n.b.	n.b.

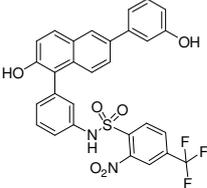
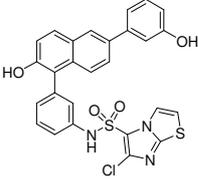
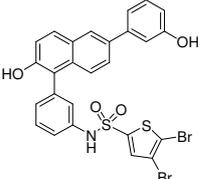
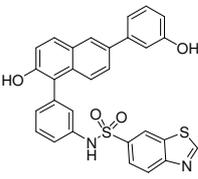
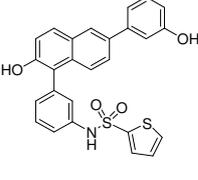
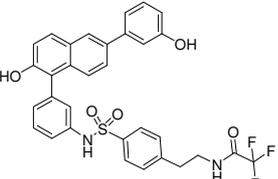
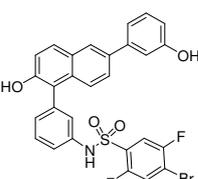
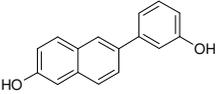
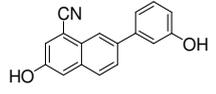
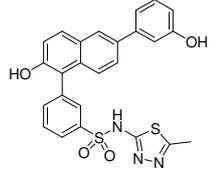
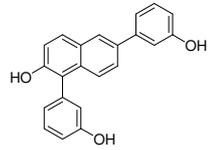
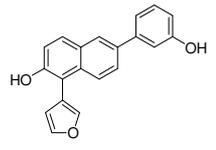
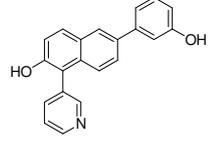
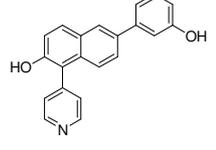
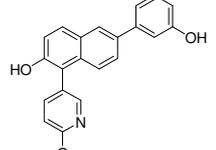
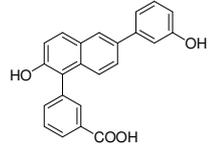
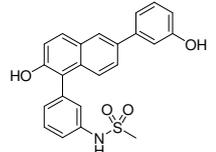
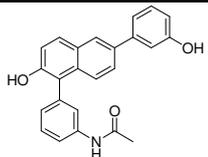
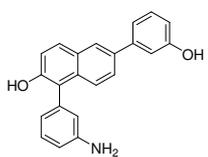
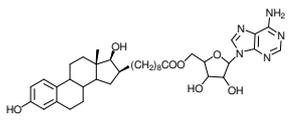
91		49.8	78.1	n.b.	n.b.
92		66.3	79.3	n.b.	n.b.
93		54.5	77.7	n.b.	n.b.
94		71.6	80.9	n.b.	n.b.
95		71.7	80.6	n.b.	n.b.
96		76.8	82.4	n.b.	n.b.
97		68.0	78.2	n.b.	n.b.

Tabelle 21: IC_{50} -Werte ausgetesteter Verbindungen und Selektivitätsfaktoren

Verbindung	Struktur	17β -HSD1 IC_{50} [nM]	17β -HSD2 IC_{50} [nM]	Faktor
22		65	n.b.	
44		120	n.b.	
66		30	200	7
69		15	n.b.	
70		39	n.b.	
71		21	1200	57
72		93	n.b.	
74		51	n.b.	
75		144	n.b.	
76		15	n.b.	

78		116	n.b.	
80		42	1800	43
EM1745		47	n.b.	

Diskussion

Entsprechend dem Bindungsmodus B sollte im Bereich der 1 Position Platz für große Substituenten sein, während in 4 und 8 Position kleinere Reste ohne Verlust der Aktivität eingeführt werden könnten. Die an diesen Stellen substituierten Cyanogruppen lieferten ein positiveres Bild als die Substitution am Phenyl. Die Verbindung **42** mit einer Cyanogruppe in der Position 8 zeigte eine mittlere Aktivität, während die Verbindung **44** mit einer Cyanogruppe in 4 Position eine sehr starke Hemmung von 83% in einer Konzentration von 100 nM zeigte, allerdings kam es zu einem Verlust der Selektivität (79% Hemmung der 17 β -HSD2 in einer Konzentration von 100 nM). Dieses Ergebnis bestärkt die Annahme, dass diese Verbindungsklasse sich im Bindungsmodus B im Enzym anlagert, denn in Bindungsmodus A sollte nach Betrachtung des freien Raumes im Enzym in dieser Position kein Platz selbst für kleine Substituenten sein. Damit waren zwei Stellen im Grundgerüst gefunden nämlich die Positionen 4 und 8, die ohne einen zu großen Verlust der Aktivität zu verzeichnen das Einführen von Substituenten erlauben, und der propagierte Bindungsmodus B konnte für diese substituierten Verbindungen anhand einschlägiger Hemmdaten bestätigt werden.

Eine Cyanogruppe in Position 1 (Verbindung **101**) brachte keine guten Hemmeigenschaften. Die Aktivität der so substituierten Verbindung sank sehr stark ab. Erstaunlicherweise wurde die Hemmwirkung durch Einführung eines Bromsubstituenten wieder vollständig zurückgewonnen, d.h. diese Position schien ebenfalls für eine Substitution geeignet zu sein. Im Falle der Cyanogruppe, die einen –I- und –M-Effekt besitzt, kommt es möglicherweise zu einem elektronischen Einfluss auf die sich in Orthoposition zur CN-Gruppe befindenden OH-Gruppe, so dass es zu einem Verlust dieses zweiten Wasserstoffbrückenbindungen ausbildenden Ankerpunktes kommt. Ein Bromsubstituent in dieser Position übt einen –I- aber +M-Effekt aus, die Elektronendichte in 2 Position des Naphthalins wird erhöht und damit

auch die Fähigkeit des Substituenten als Elektronendonator bei der Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu fungieren

Zwei Stellen im Grundgerüst waren damit gefunden, u.z. die Positionen 1 und 4, die geeignet sind Substituenten einzuführen ohne einen Verlust der Inhibition zu bewirken und eine weitere Stelle nämlich Position 8, die kleine Substituenten toleriert. Der Fokus galt der Synthese von in 1 Position substituierten Verbindungen, da der bereits vorhandene Bromrest Zugang zu einer breiten Palette an strukturell sehr unterschiedlichen Substituenten bietet.

Zunächst wurde in Position 1 ein flexibler C2-Linker mit einem daran gekoppelten Säureamid eingeführt. Leider zeigten die in dieser Reihe synthetisierten Verbindungen **47**, **48** und **49** nur eine mittlere bis schwache Aktivität und eine schlechte Selektivität gegenüber 17 β -HSD2. Bei den Verbindung **47** und **48** stellte sich sogar heraus, dass sie bessere Inhibitoren der 17 β -HSD2 sind (Verbindung **47**: 19% Hemmung der 17 β -HSD1 in einer Konzentration von 100 nM im Vergleich zu 34% Hemmung der 17 β -HSD2 in derselben Konzentration; Verbindung **48**: keine Hemmung im Vergleich zu 28% Hemmung). Sie könnten als Leitstrukturen zur Synthese selektiver Inhibitoren der 17 β -HSD2 herangezogen werden.

Um höhere Rigidität zu erreichen wurde der C2-Linker gekürzt und die Amide wurden nun direkt an das Naphthalin synthetisiert. Die in dieser Serie dargestellten Verbindungen zeigten eine mittlere Hemmwirkung. Lediglich Verbindung **59** wies keine Inhibition des Enzyms auf.

Obwohl zahlreiche Verbindungen synthetisiert werden konnten, die eine gewisse Hemmwirkung zeigten, entstanden trotzdem keine Substanzen, die der in 1 Position mit Brom substituierten Verbindung **67** hinsichtlich Aktivität vergleichbar gewesen wären. Die Einführung eines weiteren Phenylsubstituenten brachte jedoch einen Durchbruch. Verbindung **68** wies eine starke Hemmung der 17 β -HSD1 auf und war gleichzeitig selektiv gegenüber 17 β -HSD2. Eine Leitstruktur war gefunden, die zwei Hydroxygruppen trägt, die Wasserstoffbrückenbindungen zu den Aminosäuren His221, Glu282 einerseits und Tyr155, Ser142 andererseits ausbilden, einen unpolaren Kern, der van der Waals Wechselwirkungen mit den unpolaren Aminosäuren der Substratbindungsstelle eingeht und einen zusätzlichen Phenylrest besitzt, der unter Umständen in π - π Wechselwirkungen mit dem Nicotinamidring des Cofaktors tritt. (bzgl. Bindung im Enzym siehe Abb. 68).

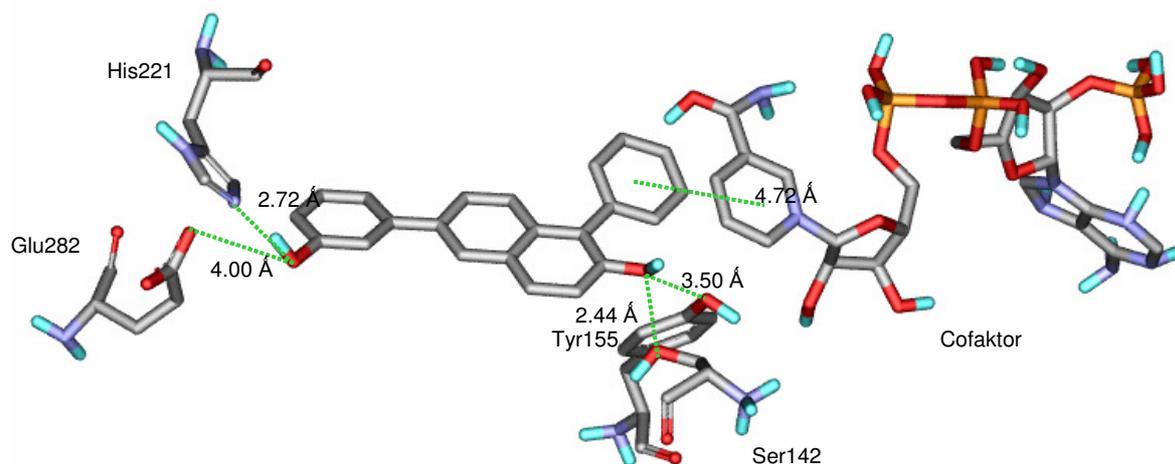


Abbildung 68: Propagierter Bindungsmodus von Verbindung **68**

(in grün dargestellt sind Wasserstoffbrückenbindungen bzw. π - π Wechselwirkungen)

Aufgrund der neuen Erkenntnisse wurden nun verschiedene Substituenten in dieser Position 1 eingeführt, wie z.B. 3-Pyridin, Thiophen, 3-Carboxyphenyl etc. Es wurde eine ganze Serie an Verbindungen synthetisiert, die alle eine sehr gute Hemmung des Enzyms zeigten unter leichtem Verlust der Selektivität, der bei wenigen Verbindungen auftrat.

Aufgrund der biologischen Daten der in 1 Position substituierten Verbindungen kann folgender Schluss gezogen werden. Es sollte ein unpolarer rigider Substituent vorhanden sein, z.B. die Einführung eines 3-Pyridin Restes (Verbindung **71**) wirkt sich genau wie ein Phenylrest (Verbindung **68**) positiv auf die Hemmwirkung aus, was durch eine Erniedrigung der Elektronendichte im Ring und damit stärkeren π - π Wechselwirkungen zwischen dem Heteroaromaten und dem Nicotinamidring des Cofaktors erklärt werden kann. Wird hingegen ein Pyrimidinrest (Verbindung **73**) eingeführt, so kommt es zum Verlust der Aktivität. Im Falle des Pyrimidins würden die beiden π - π Wechselwirkungen ausbildenden Ringe so übereinander zum Liegen kommen, dass ein N des Pyrimidins sich direkt über dem N des Nicotinamids befindet. Daher kommt es zu einem Verlust dieser π - π Wechselwirkungen und damit einhergehend zu einem Aktivitätsverlust.

In einem weiteren Schritt wurden verschiedene Positionen dieses zusätzlichen Phenylrings untersucht. Eine Methoxygruppe in 4'' Position wies noch eine gute Inhibition auf (Verbindung **74**), während große rigide (Verbindung **77**) aber auch flexible Substituenten (Verbindung **79**) zum Verlust der Aktivität führten. Eine Begründung könnte das Auftreten

sterischer Hinderung mit Aminosäuren des entry loops (Aminosäuren 188-201) sein. Der Abstand zu den Aminosäuren scheint Platz für eine kleine Methoxygruppe zu gewähren, aber nicht mehr für größere Substituenten.

In 3'' Position hingegen werden selbst große Substituenten (z.B. Verbindung **96**) noch sehr gut toleriert, denn diese Reste sind in der Lage die viel Platz bietende Cofaktorbindungsstelle oder den oben erwähnten Kanal zu erreichen. In dieser Position des Phenylrestes wurden noch zahlreiche sehr unterschiedliche Substituenten eingeführt, die aber alle eine gute bis sehr gute Hemmwirkung zeigten. Hervorzuheben sind die synthetisierten Sulfonamide. Diese zusätzliche funktionelle Gruppe ist in der Lage stabilisierende Wasserstoffbrückenbindungen zu dem Säureamid des Nicotinamidrings des Cofaktors auszubilden. Dabei scheint eine Sulfonamidstruktur eine stärkere Bindung zu bewirken als ein Carbonsäureamid. (vgl. 87% Hemmung in einer Konzentration von 100 nM von Verbindung **65** im Vergleich zu 66% Hemmung von Verbindung **98**), wobei allerdings kein signifikanter Unterschied in den Hemmwerten der Sulfonamide (-PhSO₂NH-R) bzw. inverser Sulfonamide (-PhNHSO₂-R) zu beobachten ist. Aufgrund dieser Tatsache wurde eine kleine Bibliothek an inversen Sulfonamiden synthetisiert die z.T. sehr große und von ihren chemischen Eigenschaften sehr unterschiedliche Substituenten trugen. Alle zeigten eine gute Aktivität. Lediglich die substituierten Thiophene (**82**, **86**, **88**, **93** und **95**) und die Verbindungen **90** und **91** zeigten „nur“ eine Hemmwirkung von etwa 50% in einer Konzentration von 100 nM. Orthosubstitution eines zusätzlichen Phenylsulfonamidrestes scheint sich negativ auf die Hemmung auszuwirken. Eine Begründung könnte darin liegen, dass sich in der Nähe dieser Position Aminosäuren befinden die größerer Substituenten nicht tolerieren. Es kommt zu einer sterischen Hinderung. Des Weiteren kann sich aber auch die Geometrie des Moleküls verändern. Die freie Drehbarkeit des Phenylrings wird durch einen größeren Orthosubstituenten eingeschränkt, so dass sich die für Wechselwirkungen mit Aminosäuren des Enzyms günstigste Konformation möglicherweise nicht einstellen kann.

In Paraposition dieses dritten Phenylrings hingegen können unter Erhalt der sehr guten Inhibition sogar sterisch anspruchsvolle lange Ketten eingeführt werden (Verbindung **96**).

Damit ist der Hinweis erbracht, dass diese Substituenten in die Cofaktorbindungsstelle oder den Kanal ragen, wo sie aber scheinbar keine signifikanten Interaktionen mit Aminosäuren des Enzyms eingehen.

Von einigen in 1 Position substituierten Verbindungen wurden IC₅₀-Werte bestimmt um eine bessere Abgrenzung der gut hemmenden Verbindungen zueinander vornehmen zu können.

Dabei zeigte Verbindung **76** (ein Sulfonamid) den besten IC_{50} -Wert von 15 nM, Verbindung **69** und **71** jeweils einen sehr guten IC_{50} -Wert von etwa 20 nM, Verbindung **66** einen IC_{50} von 30 nM sowie weitere Verbindungen mit einem IC_{50} -Wert von etwa 50 nM (z.B. Verbindung **80**). Alle Verbindungen zeigten damit eine bessere oder zumindest mit der von uns gewählten Referenzverbindung (EM1745, Abb. 7), ein Hybridinhibitor, der uns freundlicherweise von Donald Poirier zur Verfügung gestellt wurde, vergleichbare Hemmung. Diese Verbindung wies in unserem Test einen IC_{50} -Wert von 47 nM auf.

3.4.2.3 Substitution am Phenyl- und Naphthalinrest

Ergebnisse

Wie bereits erwähnt, konnten sehr viele aktive Verbindungen synthetisiert werden, von denen einige allerdings einen Selektivitätsverlust zeigten. Verbindung **71** wies einen Selektivitätsfaktor von 57 (siehe Tab. 21) auf, während die Verbindungen **80** und **66** nur noch einen Selektivitätsfaktor von 43 respektive 7 hatten.

Eine Forschergruppe von Sterix hatte anhand von Estronderivaten als Inhibitoren der 17β -HSD1 gezeigt, dass durch Einführen eines Methoxy- oder Ethylrestes in der Position 2 des Steroids die Selektivität gegenüber 17β -HSD2 gesteigert und die estrogenische Wirkung, also die Affinität zum Estrogenrezeptor, möglicherweise gesenkt werden kann.⁹⁵ Überlagerungsstudien dieser Verbindungen mit den von uns synthetisierten Verbindungen durchgeführt von Dr. Alexander Neugebauer hatten gezeigt, dass möglicherweise die Position 2 der steroidalen Struktur der 2' Position des von uns gewählten Grundgerüsts entspricht. Damit bestand die Hoffnung, durch Substitution in 2' Position Verbindungen zu synthetisieren, die ihre hohe Aktivität gegenüber 17β -HSD1 behalten aber eine höhere Selektivität gegenüber 17β -HSD2 zeigen. Des Weiteren konnte mittels Docking gezeigt werden, dass in der 2' Position genau wie in Position 1 genug Platz selbst für große Substituenten im propagierten Bindungsmodus B ist (siehe Abb. 69).

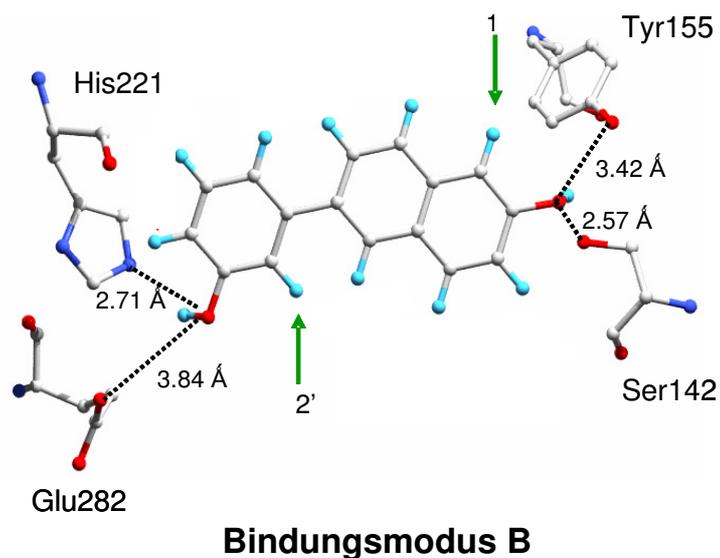


Abbildung 69: Propagierete Substitutionsstellen laut Molecular Modelling im Falle von Bindungsmodus B

Die aufgrund dieser Erkenntnisse synthetisierte Verbindung war Verbindung **105**. Die Hemmdaten sind in Tab. 22 wiedergegeben.

Tabelle 22: Hemmdaten der Verbindung **105**

Verbindung	Struktur	<i>17β-HSD1</i>	<i>17β-HSD2</i>
		Hemmung [%]	Hemmung [%]
		100 nM	100 nM
105		60	82

Diskussion

Nimmt man einen Vergleich der Hemmdaten der Verbindung **105** mit den Daten der Verbindung **67**, eine Verbindung ohne Substituenten in 2' Position, vor, so lässt sich Folgendes sagen: hinsichtlich Hemmung der 17 β -HSD1 zeigen beide Verbindung eine ähnliche Inhibition von 60% respektive 83% in einer Konzentration von 100nM. Der Unterschied wird bei Betrachtung der 17 β -HSD2 Hemmdaten deutlich. Während Verbindung **67** noch selektiv ist und eine Hemmung von nur 19% in einer Konzentration von 100nM aufweist, zeigt Verbindung **105** eine sehr gute, im Vergleich zu dem 17 β -HSD1 Wert sogar erhöhte Inhibition von 83% in der selben Konzentration. Damit konnte zwar eine weitere aktive Verbindung synthetisiert werden aber unter Verlust der Selektivität. Die von der Sterix Forschergruppe gewonnenen Erkenntnisse bezüglich Erhöhung der Selektivität durch Einführen eines zusätzlichen Substituenten in der 2 Position im steroidalen Grundgerüst lassen sich somit nicht ohne weiteres auf die hier vorgestellte Klasse an Verbindungen übertragen. Ein Grund könnte ein im Vergleich zum Steroid unterschiedlicher Bindungsmodus sein oder es handelt sich um den falschen Substituenten. Bei dem von der Sterixgruppe eingeführten Substituenten handelt es sich um eine Methoxy- oder Ethylgruppe, während in diesem Fall eine Methylgruppe eingeführt wurde. Um eine endgültige Aussage treffen zu können müssten daher noch eine kleine Anzahl an Verbindungen mit unterschiedlichen Substituent in 2' Position am Phenylring und eventuell sogar anderen Resten in der 1 Position am Naphthalin synthetisiert werden. Des Weiteren könnte auch eine bislang noch nicht durchgeführte Substitution der 6' Position des Phenylrings noch in Erwägung gezogen werden.

3.4.3 Estrogen-Rezeptor-Bindungsassay

3.4.3.1 Ergebnisse

Die prozentuale Bindung der Inhibitoren an den Estrogenrezeptor α und β wurden entsprechend der von Zimmermann et al.¹⁶⁶ beschriebenen Methode bestimmt. Dabei wurde der gelöste ER mit Estradiol und einem 5fachen Überschuss an Inhibitor inkubiert. Es wurden geringfügige Änderungen im Vergleich zu dem von Zimmermann et al. beschriebenen Prozedere vorgenommen, z.B. wurde die Bindungsinubation 2h bei RT unter Schütteln vorgenommen. Nach Zugabe von Hydroxyl-Appatit (HAP), welches den Ligand-Rezeptor

Komplex binden soll, wurde für 15 min auf Eis inkubiert und alle 5 min gevortext. Es wurden keine Bindungsaffinitäten bestimmt, sondern aus Zeitgründen mittels Szintillationsmessung die prozentuale Bindung der potentiellen Inhibitoren der 17 β -HSD1 an ER α und β in Gegenwart des 5fachen Überschusses an Estradiol ermittelt. (siehe Tab. 23)

Tabelle 23: Hemmung der Estrogenrezeptoren

<i>Verbindung</i>	<i>Bindung an ERα [%]</i>	<i>Bindung an ERβ [%]</i>
71	9	8
80	12	3
66	15	5
44	15	21
56	15	1

3.4.3.2 Diskussion

Ein Kriterium, welches die synthetisierten Verbindungen erfüllen sollten, ist keine oder nur eine sehr geringe estrogene Wirkung. Sie sollten keinen agonistischen Effekt am ER α ausüben, da es ansonsten zur Proliferation der Erkrankung kommt, v.a. im Falle der estrogenabhängigen Brusttumore. Eine antagonistische Wirkung könnte von Vorteil sein. Es wurde allerdings nur die prozentuale Bindung in Gegenwart eines 5fachen Überschusses an Estradiol an den ER getestet, so dass keine Aussagen bzgl. Agonismus oder Antagonismus getroffen werden können. Eine Bindung an ER β kann in Kauf genommen werden, aufgrund der Tatsache, dass ER β vorwiegend in die Modulation von inflammatorischen Erkrankungen involviert ist.¹⁶⁷ Nichtsdestotrotz sollten Strukturen, die keine oder nur eine sehr geringe Bindung an den ER α und β zeigen, synthetisiert werden, um mögliche Nebenwirkungen zu minimieren oder besser noch zu vermeiden.

Die als Grundgerüst gewählte Verbindung **22** wurde bereits von einer Forschergruppe als ER-Ligand beschrieben.¹⁶⁷ Sie untersuchte die Bindung an ER α und β und konnten zeigen, dass Verbindung **22** eine geringe Affinität zu ER α aber einen relativ niedrigen IC₅₀-Wert von 30 nM an ER β hat. Es handelt sich um einen ER β Agonisten, der in der Lage ist modulierend in das inflammatorische Geschehen einzugreifen. Diese Gruppe konnte gleichzeitig zeigen, dass durch Einführen von großen Substituenten in 1 Position des mit Verbindung **22** (6-(3-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol) vergleichbaren 6-(4-Hydroxyphenyl)naphthalin-2-ols (**B**) die

Affinität zum ER α und β aufgrund von Platzmangel in diesem Bereich der Rezeptoren nahezu vollständig zurückgeht. Diese Entwicklung konnte auch anhand der im Rahmen des Projektes synthetisierten Verbindungen gezeigt werden. Bei den im Arbeitskreis von Prof. Hartmann auf Bindung an ER α und β getesteten Strukturen handelte es sich um in 1 und 4 Position derivatisierte Inhibitoren der 17 β -HSD1. Alle Verbindungen wiesen wie erwartet eine sehr geringe Bindung an ER β auf. Möglicherweise positive antiinflammatorische Effekte sind damit nicht zu erwarten. Weit bedeutender ist aber ihre sehr geringe Affinität zum ER α . Eine estrogenische Wirkung und damit eine Proliferation von estrogenabhängigen Erkrankungen wie z.B. Brustkrebs kann bei dieser Klasse an Verbindungen auf jeden Fall ausgeschlossen werden.

3.4.4 *In vitro* Zellaassay und Permeabilität im Caco-2 Assay

3.4.4.1 Ergebnisse *in vitro* Zellaassay

Die Aktivität von Verbindungen wurde auch an einer Brustkrebszelllinie gemessen. Dafür wurden die Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen mit MCF7 Zellen, in denen 17 β -HSD1 stabil transfiziert wurde, inkubiert. Nach 30 min wurde die Reaktion gestoppt und anhand entnommener Proben die Umsetzungsrate bestimmt. Die Hemmdaten sind in nachfolgender Tab. 24 dargestellt.

Tabelle 24: *In vitro* Hemmwirkung ausgesuchter Verbindungen

Verbindung	<i>17β-HSD1</i>	
	Hemmung [%]	
	100 nM	1 μM
22	n.b.	13
42	11	29
44	28	13
47	21	15
48	15	23
49	14	13
55	19	22
56	k.H.	k.H.
57	k.H.	k.H.
58	k.H.	k.H.
59	k.H.	k.H.
60	k.H.	k.H.
65	21	9
67	n.b.	26
68	k.H.	k.H.
69	k.H.	30
70	k.H.	k.H.
71	k.H.	k.H.
72	k.H.	k.H.
74	22	35
75	k.H.	k.H.
76	17	17
77	k.H.	k.H.
78	k.H.	k.H.
79	14	16
80	k.H.	25
98	k.H.	25
99	26	10

3.4.4.2 Ergebnisse Permeabilität der Testsubstanzen im Caco-2 Assay

Caco-2 Zellen, eine humane Dickdarm-Karzinom-Zelllinie, werden in der Forschung auf der Suche nach neuen Pharmaka als *in vitro* Modell zur Vorhersage der Absorption von potentiellen Arzneistoffen genutzt.^{168, 169} Dabei kann in den meisten Fällen eine gute Korrelation zwischen den P_{app} -Werten und der *in vivo* Absorption von Verbindungen bestimmt werden. Es können drei Substanzklassen unterschieden werden: Substanzen mit P_{app} -Werten kleiner 10^{-6} cm/sec werden *in vivo* schlecht absorbiert (0-20%), P_{app} -Werte zwischen $1 \cdot 10^{-6}$ und $10 \cdot 10^{-6}$ cm/sec sind ein Hinweis auf moderate Absorption (20-70%) und bei einem P_{app} -Wert über $10 \cdot 10^{-6}$ cm/sec liegt eine gute Absorption vor (70-100%).¹⁷⁰

Um die *in vivo* Absorption der dargestellten Hemmstoffe vorherzusagen wurde ein Caco-2 Assay mit ausgesuchten Verbindungen durch Christiane Scherer durchgeführt. Vier Referenzverbindungen (Atenolol, Testosteron, Ketoprofen und Erythromycin) wurden in jedem Assay zur Validierung der Transporteigenschaften der Caco-2 Zellen herangezogen. Die Ergebnisse der getesteten Verbindungen sind in Tab. 25 wiedergegeben.

Tabelle 25: Permeabilität der Testsubstanzen^a

Verbindung	<i>basolaterale</i>	P_{app} -Werte ^c	<i>Massen</i>	<i>Permeabilität</i>
	<i>Endkonzentration</i> ^b [$\mu\text{M} \pm \text{SD}$]	[$\cdot 10^{-6}$ cm/sec $\pm \text{SD}$]	<i>balance</i> ^d [% $\pm \text{SD}$]	
22	6.5 \pm 3.2	8.9	37.5 \pm 8.1	mittel
66	0.9 \pm 9.2	1.5	23.0 \pm 9.9	mittel
44	3.7 \pm 7.9	4.4	30.5 \pm 10.0	mittel
71	11.0 \pm 4.3	13.8	29.9 \pm 8.0	hoch
80	13.9 \pm 6.1	16.4	52.7 \pm 6.9	hoch

^aAnfangskonzentration im Donorkompartiment = 50 μM , Inkubationszeit max. 3h;

^bKonzentration der Testsubstanzen im Akzeptorkompartiment nach Inkubation; ^c P_{app} = Permeabilitätskoeffizient; ^dSumme der Konzentrationen der Testsubstanz in Donor- und Akzeptorkompartiment nach Inkubation in Bezug auf die Anfangskonzentration; SD = Standardabweichung

3.4.4.3 Diskussion *in vitro* und Caco-2 Assay

Bei allen getesteten Verbindungen ist aufgrund der P_{app} -Werte von über 10^{-6} cm/sec eine mittlere bis hohe Permeabilität zu erwarten. Allerdings ergaben diese Daten keine erwartete Korrelation mit den Hemmdaten der an der MCF7 Zelllinie getesteten Verbindungen.

Die Hemmeigenschaften der aktivsten Verbindungen wurden an mit 17 β -HSD1 stabil transfizierten MCF7 Zellen getestet. Es kam zu einem nicht erwarteten drastischen Verlust der Aktivität, dessen Ursache sehr unterschiedlicher Natur sein kann.

Von großer Bedeutung ist es den Testassay zu verifiziert, da sich gezeigt hatte, dass Hemmdaten nicht reproduzierbar sind. So wurde z.B. eine von Dr. Sandrine Oberwinkler-Marchais synthetisierte Verbindung (C) zweimal getestet. Die Hemmdaten des rekombinanten Assays waren vergleichbar. Die Werte für die Hemmung der Verbindung im Zellassay zeigten hingegen große Diskrepanzen, u.z. wurde für eine Konzentration von 1 μ M im ersten Durchgang eine Hemmung von 45% vergleichbar dem Hemmwert am rekombinant gewonnenen Enzym bestimmt und im zweiten Durchgang eine Hemmung von nur noch 6%. Eine Verbindung mit mittlerer Aktivität stellte sich plötzlich als inaktiv heraus. Aufgrund dieser Tatsache müssten alle Verbindungen noch einmal auf ihre Hemmwirkung im Zellassay getestet werden.

Zu überdenken ist auch, ob nicht eine andere Zelllinie für den Assay herangezogen werden sollte, z.B. T47D Brustkrebszellen, die erwiesenermaßen 17 β -HSD1 exprimieren¹⁷¹ und erfolgreich als Testsystem eingesetzt werden.

Wie oben bereits an Caco-2 Zellen gezeigt werden konnte, sind die Verbindungen mittel bis hoch permeabel und müssten dementsprechend auch ihre Wirkung im Zellassay zeigen. Allerdings könnten sie z.B. durch diverse Transportmechanismen wie z.B. Effluxpumpen sofort aus der Zelle ausgeschleust werden oder es kann in den MCF7 Zellen zur Metabolisierung der getesteten Verbindungen kommen, so dass keine therapeutisch wirksamen Konzentrationen erreicht werden. Die Verbindungen scheinen gegenüber Phase I Enzymen stabil zu sein, was anhand von Untersuchungen an Rattenlebermikrosomen gezeigt werden konnte. (siehe 4.3.2 Metabolisch Stabilität) Der aber im Grundgerüst vorhandene Hydroxyphenylsubstituent bietet einen Angriffspunkt für Phase II Metabolismus und damit die Möglichkeiten z.B. der Sulfatierung und Glucuronidierung, was eine schnelle Elimination nach sich zieht. Eine Möglichkeit dieses Problem zu beseitigen wäre die Synthese von Prodrugs, z.B. Ester der aktivsten Verbindungen, die erst in der Zelle durch diverse Esterasen gespalten werden und das aktive Produkt freisetzen. Des Weiteren könnten Untersuchungen

an Hepatocyten oder Leberzellhomogenaten, die das gesamte Spektrum der am Arzneimittelmetabolismus beteiligten Enzyme aufweisen, zur Klärung der Frage, ob tatsächlich Phase II Metabolismus der Grund für die schlechte Aktivität *in vitro* ist, beitragen.

3.4.5 Metabolische Stabilität

3.4.5.1 Ergebnisse

Die metabolische Stabilität von Verbindungen ist entscheidend in der Entwicklung von Wirkstoffen und sollte daher auf dem Weg zur Optimierung von potentiellen Pharmaka so früh wie möglich untersucht werden. Die metabolische Stabilität gegenüber Lebermikrosomen kann Informationen über das Ausmaß des Abbaus einer Substanz geben und es können Informationen über auftretende Metabolite gewonnen werden. Mit Hilfe dieser Angaben können Leitverbindungen hinsichtlich ihrer Pharmakokinetik verbessert werden. Zu diesem Zweck wurden einige der synthetisierten Verbindungen von der Firma Pharmacelsus auf ihre Stabilität gegenüber Rattenlebermikrosomen getestet.

Es handelt sich dabei um die Verbindungen **22**, **44**, **66**, **71** und **80**. Dazu wurden die Substanzen mit Rattenlebermikrosomen inkubiert und nach 15, 30 und 60 min der prozentuale Anteil der noch vorhandenen intakten Verbindung im Vergleich zu der zum Zeitpunkt $t = 0$ vorliegenden Verbindung mittels LC-MS bestimmt. Die daraus berechneten Halbwertszeiten (HWZ) wurden mit den HWZ von Diphenhydramin als high clearance Referenz und Diazepam als low clearance Referenz verglichen.

Die Ergebnisse der Tests sind in Abb. 70 wiedergegeben. Die aus den Untersuchungen resultierenden Halbwertszeiten (HWZ) sowie die intrinsische Clearance (maximale hepatische Clearance, die vorliegt, wenn Blutfluss und freie Substanzfraktion ihre Rate nicht limitieren) der Verbindungen sind in Tab. 26 dargestellt.

Tabelle 26: *Intrinsische Clearance (CL_{int}) und HWZ der Testverbindungen*

Verbindung	HWZ (min)	CL_{int} ($\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ Protein)
71	13.6	339.5
22	12.6	366.9
80	49.8	92.8
66	449.8	10.3
44	17.8	259.6
Diazepam	40.77	113.3
Diphenhydramin	6.80	679.6

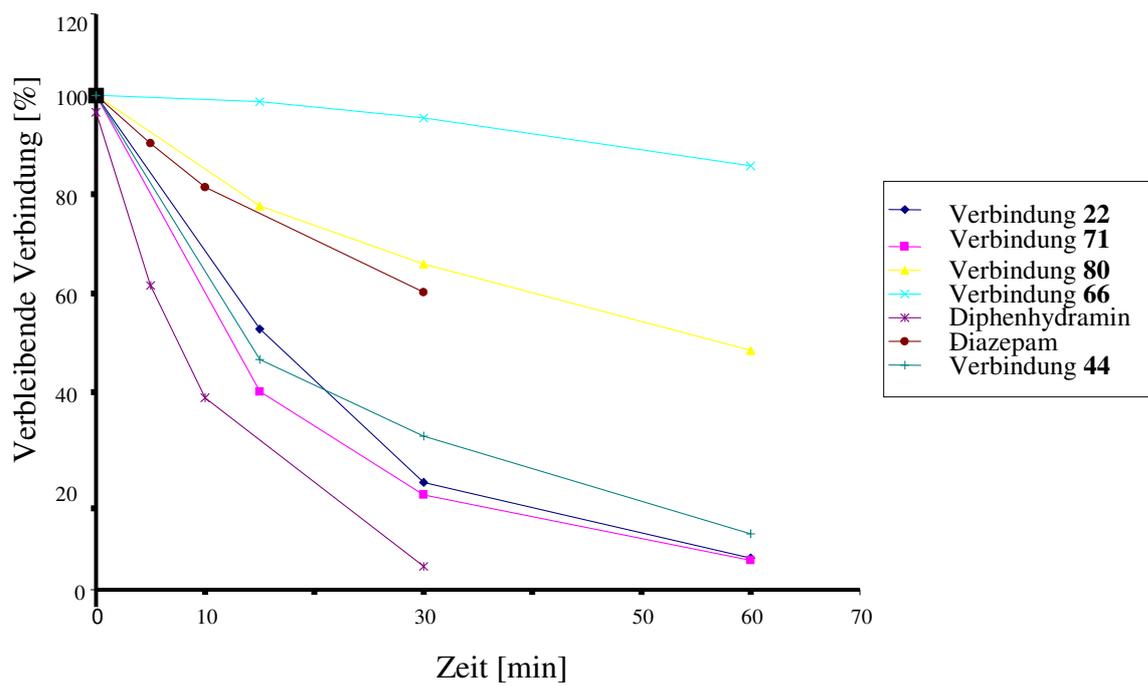


Abbildung 70: Verbindungen 22, 44, 66, 71, 80 und die Referenzen Diphenhydramin und Diazepam nach Inkubation mit Rattenlebermikrosomen

3.4.5.2 Diskussion

Die Mikrosomenfraktionen aus Rattenleber weisen zahlreiche membranständige Monooxygenasen der CYP450 Familie auf, die die meisten Phase I Reaktionen, wie z.B. Oxidation, Reduktion oder Hydrolyse zur Einführung von polaren Gruppen katalysieren. Der Phase I schließt sich ein Phase II Metabolismus an, währenddessen die Verbindungen in einer Konjugationsreaktion mittels Transferasen an endogene Moleküle wie z.B. Glucuronsäure, Gluthation oder Acetylgruppen gekoppelt werden, um anschließend eliminiert zu werden.

Alle Verbindungen zeigten im Vergleich zu der Referenz Diphenhydramin eine höhere metabolische Stabilität. Zwei Verbindungen (**80** und **66**) erwiesen sich sogar stabiler als die Referenz Diazepam und hatten eine HWZ von 49.8 bzw. 449.8 min. Damit konnte gezeigt werden, dass die synthetisierten Verbindungen stabil gegenüber Enzymen des Phase I Metabolismus sind, was allerdings eine Metabolisierung durch Phase II Enzyme keinesfalls ausschließt.

3.4.6 Hemmung von P450 Enzymen

3.4.6.1 Ergebnisse

Weitere Tests, die von der Firma Pharmacelsus durchgeführt wurden, war die Hemmung von diversen P450 Enzymen durch ausgesuchte Verbindungen. Durch Bestimmung der IC₅₀-Werte (siehe Tab. 27) an verschiedenen P450 Enzymen sollte die Selektivität der Verbindungen bestimmt werden. Interaktionen mit anderen Wirkstoffen sollten auf diese Art und Weise besser eingeschätzt und abgeklärt werden können.

Tabelle 27: *IC₅₀-Werte der Testverbindungen und Kontrollinhibitoren für die CYP Enzyme*

	IC ₅₀ (MW ± SD) [µM]					
<i>Isoenzym</i>	<i>CYP1A2</i>	<i>CYP2B6</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>CYP2C19</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP3A4</i>
71	0.014±0.00	5.34±0.39	0.15±0.03	0.88±0.03	22.90±1.85	0.221±0.00
22	3.99±0.25	13.4±0.45	1.05±0.02	7.54±0.51	32.56±0.72	1.58±0.04
80	10.45±0.29	10.4±0.14	1.25±0.07	0.680±0.06	40.00±0.08	1.07±0.05
44	0.26±0.01	Eigenfl. 405 nm	0.22±0.00	1.21±0.19	Eigenfl. 405 nm	2.05±0.18
66	37.50±0.79	13.60±1.08	0.03±0.00	8.83±0.49	39.35±0.14	2.25±0.12
Positiv- kontrolle	Furafyllin	Tranyl- cypramin	Sulfa- phenazol	Tranyl- cypramin	Quinidin	Keto- conazol
IC₅₀	3.04±0.08	6.96±0.03	0.250±0.03	3.04±0.17	0.011±0.00	0.054±0.00

3.4.6.2 Diskussion

Die Verbindungen **22**, **44**, **66**, **71** und **80** wurden auf Interaktionen mit verschiedenen CYP-Isoenzymen getestet. Denn z.B. die Isoenzyme CYP2C9, 2C19 und 2D6 werden polymorph exprimiert, d.h. es gibt einen Anteil der Bevölkerung, der für dieses Enzym defizient ist und somit Substrate des Enzyms nicht oder deutlich langsamer verstoffwechselt (poor metabolizer). Ein weiteres Extrem sind Personen, die das entsprechende Enzym überexprimieren (ultra rapid metabolizer) und damit höhere Dosen benötigen um einen therapeutischen Effekt zu erzielen. Des Weiteren wird die Funktionalität und Expression von CYPs durch mehrere Faktoren beeinflusst, z.B. comedizierte Arzneimittel. Zwei Effekte können auftreten, die Enzyminduktion und damit einhergehend eine erhöhte Stoffwechselaktivität mit der Folge subtherapeutischer Konzentrationen und die Enzyminhibition mit einer Wahrscheinlichkeit für Nebenwirkungen unter normalerweise „üblichen“ Dosen. Dementsprechend sollen bereits in einer frühen Phase der Arzneimittelentwicklung Tests auf Interaktion mit CYPs Aufschluss darüber geben, ob der potentielle Wirkstoff Substrat eines der polymorph exprimierten CYPs ist und/oder ob relevante Arzneimittelinteraktionen zu befürchten sind.

Es stellte sich heraus, dass Verbindung **22** hohe IC_{50} -Werte für die verschiedenen CYP-Isoenzyme aufweist und damit die Gefahr von Arzneistoffwechselwirkungen gering ist. Für Verbindung **80** wurde eine mittlere bis hohe Arzneistoffwechselwirkung bestimmt aufgrund des 4fach niedrigeren CYP2C19 IC_{50} -Wertes im Vergleich zur Referenz Tranylcypramin. Verbindung **66** stellte sich als potenter Inhibitor von CYP2C9, ein polymorph exprimiertes Enzym, heraus. Positiv ist zu bemerken, dass es sich bei dieser Verbindung mit einem IC_{50} von 37.5 μ M um den schwächsten Inhibitor von CYP1A2 handelt. Für Verbindung **44** konnten keine IC_{50} -Werte für CYP2B6 und CYP2D6 aufgrund von Eigenfluoreszenz bestimmt werden. Für die anderen CYP Enzyme wurden z.T. ähnliche oder aber niedrigere IC_{50} -Werte ermittelt, was auf höhere Arzneistoffinteraktionen hinweist. Die Verbindung mit dem schlechtesten Profil ist Verbindung **71**. Die durch den Test erhaltenen Ergebnisse verblüffen nicht unbedingt, denn diese Verbindung enthält einen 3-Pyridinrest und damit einen Stickstoff mit freiem Elektronenpaar, der eine koordinative Bindung zum Hämeisen der CYP-Enzyme ausbilden kann.

Positiv zu bemerken ist, dass alle Verbindungen einen Selektivitätsfaktor von 20 bis 40 an CYP3A4 aufweisen, ein Enzym, das mit 40-50% der gesamten hepatischen CYPs das wichtigste menschliche hepatische CYP-Enzym ist mit für den intestinalen Metabolismus größter Relevanz.^{172, 173} Des Weiteren handelt es sich bei dem überwiegenden Teil der Verbindungen um Substanzen, die ein niedriges bis mittleres Interaktionsrisiko aufweisen und als Leitstrukturen zur Synthese von aktiven und selektiven Inhibitoren dienen können.

3.4.7 *In vivo* Aktivität der Verbindungen 71 und 80

3.4.7.1 Ergebnisse

Das Wissen um pharmakokinetische Parameter von Leitverbindungen ist sehr wichtig, daher wurden mit zwei ausgesuchten Verbindungen von der Firma Pharmacelsus *in vivo* Studien an männlichen Ratten durchgeführt. Damit sollte die Menge an oral applizierter Verbindung untersucht werden, die sich im Plasma der Versuchstiere wieder findet. Die Konzentration an Verbindung im Plasma wurde mittels LC-MS in vorgegebenen Zeitabständen bestimmt. Die Plasmakonzentrationen der Verbindung **71** und **80** sind in Abb. 71 dargestellt. Die pharmakokinetischen Eigenschaften der beiden getesteten Verbindungen sind in Tab. 28 wiedergegeben.

Tabelle 28: Pharmakokinetische Eigenschaften der Verbindungen 71 und 80

<i>Parameter</i>	71	80
Applikation	PO	PO
Dosis (mg/kg)	50	50
C_z (ng/ml)	18.0	13.5
t_z (h)	8.0	8.0
$t_{1/2}$ (h)	1.54	1.59
MRT (h)	6.2	5.5
C_{max} (ng/ml)	15.7	44.1
t_{max} (h)	2.0	2.0
AUC_{0-t_z} (ng*h/ml)	203.4	336.7
CL (l/kg/h)	245.7	148.5

PO = per oral

C_z = niedrigste quantifizierbare Konzentration an Substanz

t_z = Zeit der Entnahme der Probe mit der niedrigsten quantifizierbaren Substanzkonzentration

$t_{1/2}$ = Halbwertszeit (HWZ)

C_{max} = maximale gemessene Konzentration

t_{max} = Zeit bis zum Erreichen der C_{max}

AUC_{0-t_z} = Fläche unter der Konzentrations/Zeit Kurve bis zu der Zeit t_z der letzten Probe

CL = Clearance

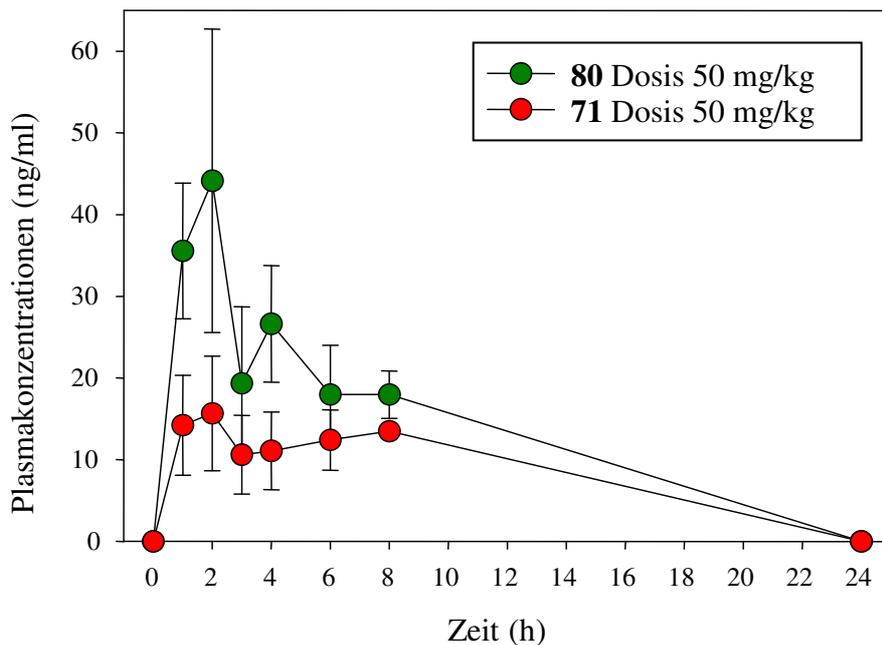


Abbildung 71: Plasmakonzentrationen der Verbindungen 71 und 80

3.4.7.2 Diskussion

Der *in vivo* Test, der von der Firma Pharmacelsus mit den Verbindungen 71 und 80 durchgeführt wurde, zeigt akzeptable Halbwertszeiten von 1.5h. Trotz guter Permeabilität im Caco-2 Assay haben die Verbindungen aber nur eine sehr geringe orale Bioverfügbarkeit, werden also schnell verstoffwechselt. Die Ergebnisse zur Untersuchung der metabolischen Stabilität an Rattenlebermikrosomen, ein System zur Abklärung des Phase I Metabolismus, hatten gezeigt, dass es sich bei den beiden Verbindungen um gegenüber Enzymen des Phase I Metabolismus stabile Strukturen handelt, so dass das Augenmerk dem Phase II Metabolismus gelten sollte.

Da es sich aber nur um eine kleine Auswahl an synthetisierten Verbindungen handelt, sollten zur Verifizierung weitere Verbindungen herangezogen werden und eventuell die Synthese von Prodrugs in Erwägung gezogen werden, die erst in der Zelle selbst in die aktiven Verbindungen umgewandelt werden. Um besser nachvollziehen zu können, was mit den nach oraler Applikation verabreichten Verbindungen passiert, wäre eine künftige Identifizierung der Metabolite von großem Nutzen.

4 Zusammenfassung

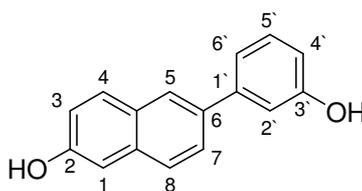
Als Basis zur Entwicklung von Therapeutika zur Behandlung von estrogenabhängigen Erkrankungen wie Endometriose oder Brustkrebs, um nur einige hier zu nennen, wurden nichtsteroidale Inhibitoren der 17 β -HSD1 dargestellt und anschließend auf ihre Hemmwirkung gegenüber 17 β -HSD1, 17 β -HSD2 und dem ER getestet. Zahlreiche pharmakokinetische Parameter sollten Aufschluss über das *in vivo* Verhalten der Verbindungen geben.

Es wurden verschiedene Verbindungen synthetisiert, denn es ging zunächst um die Entwicklung einer Leitstruktur, die durch Derivatisierung zu einem potentiellen Hemmstoff der 17 β -HSD1 weiterentwickelt werden kann. Es sollte ein geeignetes Grundgerüst gefunden werden, die in diesem Molekül ideale Position zur Einführung diverser Substituenten und der für Aktivität und Selektivität ideale Substituent.

Als Grundgerüste wurden z.B. 6-Methoxy- oder 6-Hydroxynaphthaline und 6-oder 7-Methoxy- respektive Hydroxychinoline gewählt, die in Position 2 oder 3 phenylsubstituiert wurden. Durch Variation der Positionen von Methoxygruppen bzw. deren durch Etherspaltung entsprechenden Hydroxygruppen und Testung all dieser Verbindungen konnte gezeigt werden, dass Verbindungen mit Methoxygruppen keine Hemmwirkung zeigen. Die Position und Zahl der Hydroxygruppen scheint von entscheidender Bedeutung für die Hemmung des Enzyms zu sein. Es konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein von zwei Hydroxysubstituenten essentiell für eine gute Hemmung des Enzyms ist. Der Abstand dieser beiden Gruppen ist allerdings auch wichtig. Idealerweise sollten sie sich in der 2 Position des Naphthalins befinden, um Interaktionen mit den Aminosäuren His221 und Glu282 einzugehen, und der 3' Position am Phenylring für Wechselwirkungen mit den Aminosäuren Tyr155 und Ser142 oder umgekehrt (siehe Bindungsmodus A und B, Abb. 67). Mit einem entsprechend substituierten unpolaren Grundgerüst, wie z.B. 6-Phenyl-naphthalin wird eine höhere Hemmwirkung erreicht, als mit dem vergleichbaren 2/3-Phenylchinolin (Verbindung **1** vs. **22**). Anhand der Hemmwerte konnte nämlich gezeigt werden, dass ein Chinolingrundgerüst keinen Vorteil gegenüber dem Naphthalingrundgerüst mit sich bringt, es also offensichtlich zu keinen zusätzlichen Interaktionen des Stickstoffs im Chinolin mit den polaren Aminosäuren Tyr218, Ser222 oder Asn152 in der Substratbindungsstelle des Enzyms kommt. Eine Begründung hierfür liefern die durchgeführten Molecular Modelling Studien. Es zeigte sich nämlich, dass der Stickstoff im Molekül eine zu große Entfernung zu den

genannten Aminosäuren aufweist, um mit diesen zu interagieren. Damit kann bei der Synthese selektiver Hemmstoffe auf die aufwendige und problematische Synthese von Chinolinen verzichtet werden und stattdessen auf die im Handel erhältlichen Naphthalinedukte zurückgegriffen werden.

Alle gewünschten Verbindungen zur Darstellung eines geeigneten Grundgerüsts konnten mittels der gewählten Syntheserouten dargestellt werden. Dabei ragte eine Verbindung aufgrund ihrer guten Hemmeigenschaften hervor. Es handelt sich um Verbindung **22**:



6-(3-Hydroxyphenyl)-naphthalin-2-ol

94% Hemmung in einer Konzentration von 1 μ m

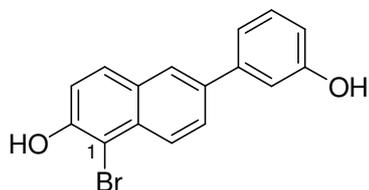
91% Hemmung in einer Konzentration von 100 nM

Mit 6-(3-Hydroxyphenyl)-naphthalin-2-ol war ein Grundgerüst gefunden worden, welches auf der Suche nach aktiven und selektiven Verbindungen weiter derivatisiert wurde.

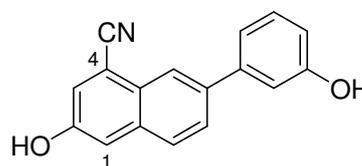
Dieses Grundgerüst wurde in verschiedenen Positionen substituiert. Zwei Bindungsmodi schienen wahrscheinlich (siehe Abb. 67), so dass Substituenten am Phenyl- oder dem Naphthalinrest möglich sein sollten, ohne einen Verlust an Aktivität und Selektivität zu verzeichnen. Es wurden zunächst eine Reihe unterschiedlicher Substituenten am Phenylrest des Grundgerüsts in 5' Position eingeführt. Keine der synthetisierten Verbindungen zeigte eine Hemmung des Enzyms. Die Substitution der 4' Position durch Dr. Sandrine Oberwinkler-Marchais lieferte auch keine aktiven Verbindungen. Damit war der Phenylrest auf der Suche nach aktiven und selektiven Verbindungen zur Substitution ungeeignet und der Beweis für Bindungsmodus B im Falle dieser Klasse an Verbindungen war erbracht.

Als Konsequenz wurden Substituenten in verschiedenen Positionen des Naphthalinrestes eingeführt. Es konnten drei Stellen identifiziert werden, nämlich die Position 8, deren Substitution eine mittelaktive Verbindung lieferte und die Positionen 1 und 4 die Möglichkeiten der Substitution ohne einen Verlust der Aktivität im Vergleich zum Grundgerüst eröffnen.

Damit waren auch die zur Einführung von Substituenten geeigneten Stellen gefunden und gleichzeitig mit dem Halogen- (Verbindung **67**) bzw. CN-Substituenten (Verbindung **44**) Reste, die einen guten synthetischen Zugang zur Derivatisierung des Grundgerüsts bieten.



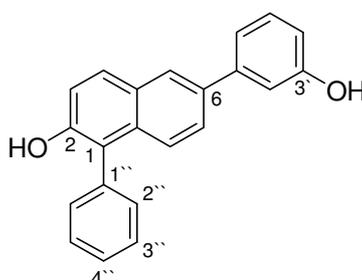
Verbindung 67



Verbindung 44

83% Hemmung bei einer Konzentration von 100 nM

In einem letzten Schritt wurden nun in Position 1 zahlreiche sehr unterschiedliche Substituenten eingeführt. Es konnte gezeigt werden, dass flexible Substituenten oder aber polare Reste wie z.B. Säureamidfunktionen in dieser Position vom Enzym nicht toleriert werden. Ein rigider Rest wie z.B. ein Phenylsubstituent sind nötig, um π - π Wechselwirkungen mit dem Nicotinamidring des Cofaktors zu bewirken und damit zusätzliche für die Hemmwirkung notwendige, stabilisierende Interaktionen des potentiellen Hemmstoffs mit dem Enzym/Cofaktor auszubilden.



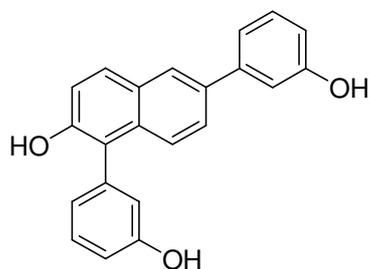
Verbindung 68

76% Hemmung in einer Konzentration von 100 nM

Es konnte gezeigt werden, dass die 4'' Position des zweiten Phenylrestes für große Substituenten ungeeignet ist. Ein Methoxysubstituent wird noch toleriert, aber durch Einführen großer rigider oder auch flexibler Reste geht die Hemmwirkung verloren.

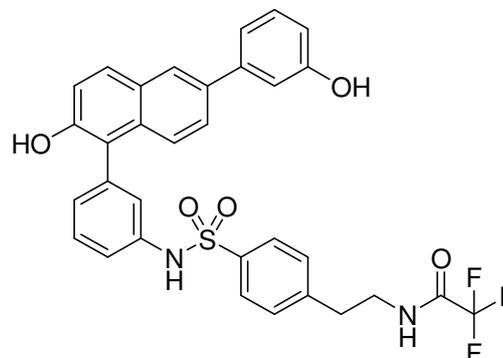
Dieser zusätzliche Phenylrest bietet aber in der 3'' Position sogar unter teilweise leichter Erhöhung der inhibitorischen Aktivität, die Möglichkeit der Substitution (Verbindungen **69** und **96**). In diesem Bereich des Enzyms, ist genügend Platz vorhanden, um selbst sehr große Substituenten unter Erhalt der Aktivität einführen zu können (siehe Verbindung **96**). Von

dieser Position ausgehend scheinen die Reste die Cofaktorstelle oder den Kanal zu erreichen, wo sie in der Lage sein sollten zusätzliche Interaktionen mit Aminosäuren der Cofaktorbindungsstelle, des Kanals und mit dem Cofaktor selbst eingehen zu können.



Verbindung 69

*83% Hemmung in einer Konzentration
von 100 nM*



Verbindung 96

*77% Hemmung in einer Konzentration
von 100 nM*

Damit war nicht nur die ideale Substitutionsposition gefunden, sondern auch der ideale Substituent in Position 1, nämlich ein in 3'' Position substituierter Phenylring.

Zur Erhöhung der Selektivität wurde eine Verbindung synthetisiert, die sowohl am Naphthalin- in 1 Position als auch am Phenylrest in 2' Position substituiert wurde. Die Verbindung zeigte eine gute Aktivität an 17 β -HSD1, leider aber auch an 17 β -HSD2 und konnte damit die erwartete Selektivität nicht bestätigen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass mit dem Naphthalinderivat ein gutes Grundgerüst zur Synthese von Inhibitoren der 17 β -HSD1 gefunden werden konnte. Von Verbindung **22** ausgehend sind Weiterentwicklungen des Moleküls vorgenommen worden. Komplexere Verbindungen mit dieser Struktur als Grundlage konnten synthetisiert werden, die nicht nur mit Aminosäuren der Substratbindungsstelle in Wechselwirkung treten sondern auch mit Aminosäuren in der Cofaktorbindungsstelle, dem Kanal und dem Cofaktor selbst. Bindungsmodus B konnte für diese Substanzklasse anhand der durchgeführten Substitution bestätigt werden und das Selektivitätsproblem gegenüber 17 β -HSD2 konnte möglicherweise durch Synthese von Verbindungen, die sowohl am Naphthalin- als auch am Phenylrest substituiert sind, überwunden werden.

Die zu synthetisierenden Verbindungen sollten keine agonistische Wirkung am ER zeigen, metabolisch stabil sein, nicht mit CYP450 Enzymen interagieren und oral bioverfügbar sein. Es wurden verschiedene Tests durchgeführt, die die genannten Parameter analysieren sollten. Die Verbindungen wurden auf ihre Bindung am ER getestet und sie zeigten alle nur eine sehr geringe Affinität zum ER α und β . Gerade die geringe Affinität zum ER α ist ein Indiz dafür, dass keine die Proliferation von z.B. estrogenabhängigen Brustkrebszellen stimulierenden Effekte zu befürchten sind. Alle getesteten Verbindungen wiesen eine hohe metabolische Stabilität und sehr gute Halbwertszeiten von z.T. 49 und 449 min auf sowie keine bis mittlere Affinitäten zu zahlreichen CYPs, was auf eine niedrige bis mittlere Arzneimittelinteraktion hinweist. Im Caco-2 Assay als Modell für die orale Bioverfügbarkeit wiesen die Verbindungen eine mittlere bis hohe Permeabilität auf. Allerdings korrelierten diese so ermittelten Daten nicht mit den *in vitro* Daten der Verbindungen. Denn trotz nachgewiesener Permeabilität konnten im MCF7 Zellassay keine guten Hemmwirkungen erreicht werden, was allerdings verschiedene Ursachen haben kann, wie z.B. Metabolisierung durch Phase II Enzyme oder nicht auszuschließen ein nicht reproduzierbarer Testassay.

Zwei Verbindungen wurden auch *in vivo* getestet. Sie zeigten eine schnelle Absorption und eine akzeptable Halbwertszeit von 1.5h. Allerdings konnten nur geringe Plasmaspiegel verzeichnet werden, ein Indiz für eventuell gesteigerten Metabolismus.

5 Summary

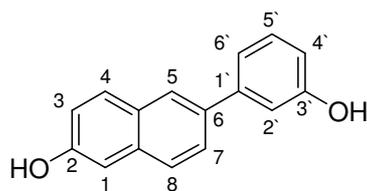
Nonsteroidal inhibitors of 17 β -HSD1 were designed and synthesized as potential therapeutics for the treatment of estrogen-dependent diseases like breast cancer or endometriosis. These compounds were tested for their ability to inhibit 17 β -HSD1 and as selectivity criteria inhibition against 17 β -HSD2 and ER was determined. Furthermore different pharmacokinetic parameters were checked and finally two compounds were tested *in vivo*.

In a first step it was necessary to find a core structure with possibilities of substitution and variation. In a second step a lead structure was established, which was diversely substituted in a last step in a specified position.

As potential core structures 2-methoxynaphthalenes and 6/7-methoxyquinolines substituted in the positions 6 respectively 2 or 3 with a methoxyphenyl were chosen. The methoxy- or corresponding hydroxyl groups were placed in different positions of the unpolar core. Methoxy compounds showed no inhibition of the enzyme and one hydroxyl group seem not to be sufficient for strong interactions. Two hydroxyl groups within a distance of 10-12 Å are necessary to gain good inhibitory activity against 17 β -HSD1. Ideally the hydroxyl groups should be in position 2 of the naphthalene for interactions with the amino acids His221 and Glu282 and in 3' position of the phenyl ring to gain hydrogen bonds to the amino acids Tyr155 and Ser142 or vice versa (see binding mode A and B, figure 67).

The 6-phenylnaphthalene core turned out to be a better inhibitor than the 2/3-phenylquinoline. The quinoline (compound **1**) showed an approximately 50% reduced activity when compared to the corresponding naphthalene (compound **22**). The quinoline nitrogen is too far away from the polar amino acids Tyr218, Ser222 and Asn152 in the substrate binding site in order to gain further interactions and to stabilize the ligand-protein complex. By molecular dynamics simulations it was shown, that indeed, the distance of the quinoline nitrogen to the Ser222 oxygen is 6.8 Å, definitely unreachable.

One compound synthesized in the process of core finding showed a high inhibition of 17 β -HSD1 and a good selectivity against 17 β -HSD2, compound **22**.



6-(3-Hydroxyphenyl)-naphthalene-2-ol

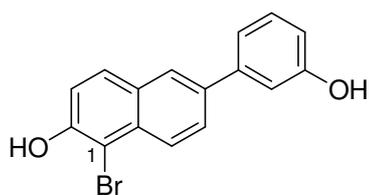
94% inhibition at a concentration of 1 μ m

91% inhibition at a concentration of 100 nM

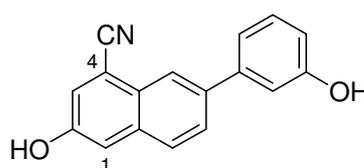
This compound was therefore chosen as core structure and further substituted in order to maybe gain more active and selective inhibitors of 17 β -HSD1.

Two possible binding modes for the core structure were predicted by molecular modelling (figure 67). As a consequence substitution of the phenyl and the naphthalene ring should be possible without loss of activity and selectivity.

First the substitution of the phenyl ring was exploited, e.g. position 5C. Unfortunately none of the synthesized compounds showed inhibitory activity at a concentration of 100 nM as compounds with substituent in 4' position. Thus substitution of the naphthalene was done. Three positions turned out to allow the introduction of substituents without total loss of inhibition. Substitution of position 8 resulted in a middle active compound and the introduction of halogen in 1 (compound **67**) or CN (compound **44**) in 4 position led to highly active inhibitors of 17 β -HSD1. Thus being an incidence for binding mode B.



compound 67



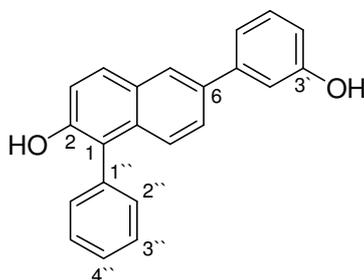
compound 44

83% inhibition at a concentration of 100 nM

The right positions for substitution were identified and the advantage of a halogen respectively CN group are the good synthetic access to a diverse range of different compounds.

In a third step a broad variety of substituents was introduced in position 1 of the naphthalene. Amides directly linked or linked by a C2 chain to the naphthalene showed only less or no inhibition. A lead structure could finally be synthesized by introduction of a rigid phenyl ring

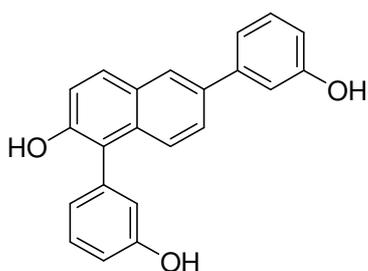
(compound **68**). This aromatic is able to build π - π interactions with the nicotinamide of the cofactor and therefore stabilize the ligand-enzyme complex.



compound 68

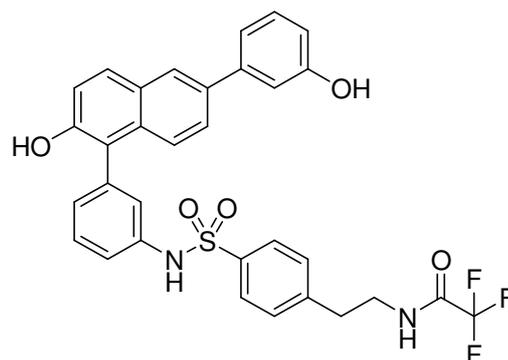
76% inhibition at a concentration of 100 nM

In a last step, the second phenyl ring of the core structure was substituted in different positions. Position 4'' turned out to allow only small substituents e.g. methoxy group without loss in activity. Introducing bigger rigid or flexible groups led to total decrease of inhibition. But the 3'' position seem to allow substitution with a partially increase in activity. By synthesis of a broad variety of compounds substituted in this position excellent inhibitors could be gained. Even high substituents in this position showed good activity indicating, that the substituents reach free space in the enzyme, probably the cofactor binding site or the above mentioned channel.



compound 69

*83% inhibition at a concentration
of 100 nM*



compound 96

*77% inhibition at a concentration
of 100 nM*

During this work, a core structure, the right position for the introduction of substituents and the right substituent could be identified. Furthermore selectivity problems could maybe be overcome by synthesis of compounds substituted in 2' position of the core. The compound

showed high activity but unfortunately the expected selectivity could not be shown, a reason being probably a wrong substituent in this 2' position.

As potential drugs the synthesized compounds should have no affinity to the ER, be stable against metabolic active enzymes, not interact with CYP450 enzymes and be orally bioavailable. Different tests were done in order to determine necessary pharmacokinetic properties.

All compounds showed no affinity to ER α and β thus no proliferative activity of e.g. breast cancer cells is expected. They were metabolic stable against rat liver microsomes, showing high half life's of e.g. 49 and 449 min and no or less affinity to CYP450 isoenzymes. Thus indicating no or low drug-drug interactions.

In a Caco-2 assay as model for oral bioavailability they showed medium to high permeability, but the compounds showed no inhibition in the cell assay. Reasons therefore could be e.g. a high phase II metabolism or a not well working test assay.

Two compounds were tested *in vivo*, too. They showed a fast absorption and a good half life of 1.5h. Unfortunately only low plasma drug levels were measured, indicating high metabolism.

6 Experimenteller Teil

6.1 Biochemischer Teil

6.1.1 17 β -HSD1 Testassay

Von Mitarbeitern der Firma Hormos wurde aus Sf9 Insektenzellen gewonnenes rekombinantes Protein (0.1 μ g/ml) mit 20 mM KH_2PO_4 pH 7.4, 30 nM ^3H -Estron und 1 mM NADPH für 30 min bei RT in Gegenwart des potentiellen Inhibitors in einer Konzentration von 1 μ M oder 100 nM inkubiert. Die Stocklösungen der Verbindungen wurden in DMSO hergestellt, so dass die Endkonzentration an DMSO in der Probe 1% betrug. Nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von Trichloressigsäure (10% Endkonzentration) gestoppt. Die Proben wurden in Microtiterplatten bei 4000rpm für 10 min zentrifugiert und die Überstände auf eine reverse Phase HPLC gegeben, die mit einer Waters Symmetrie C18 Säule und Waters Sentry Guard Säule ausgestattet war. Der isokratische HPLC Lauf wurde bei RT mit einer Flussrate von 1 ml/min und Acetonitril/Wasser 48:52 als Eluent durchgeführt und die Radioaktivität mittels Packard Flow Scintillations Analyzer gemessen. Die Gesamtradioaktivität von Estron und Estradiol konnte mittels folgender Formel berechnet werden:

$$\% \text{ Umsetzung} = 100 * \frac{\frac{\text{cpm Estradiol in Probe mit Inhibitor}}{(\text{cpm Estron in Probe mit Inhibitor}) + (\text{cpm Estradiol in Probe mit Inhibitor})}}{\frac{\text{cpm Estradiol in Probe ohne Inhibitor}}{(\text{cpm Estron in Probe ohne Inhibitor}) + (\text{cpm Estradiol in Probe ohne Inhibitor})}}$$

Die prozentuale Hemmung ergab sich daraus wie folgt:

$$\% \text{ Hemmung} = 100 - \% \text{ Umsetzung}$$

6.1.2 17 β -HSD2 Testassay

Von Mitarbeitern der Firma Hormos wurde aus Sf9 Insektenzellen gewonnenes rekombinantes Protein (0.1 $\mu\text{g/ml}$) mit 20 mM KH_2PO_4 pH 7.4, 30 nM ^3H -Estradiol und 1 mM NAD^+ für 30 min bei RT in Gegenwart des potentiellen Inhibitors in einer Konzentration von 1 μM oder 100 nM inkubiert. Die Stocklösungen der Verbindungen wurden in DMSO hergestellt, so dass die Endkonzentration an DMSO in der Probe 1% betrug. Nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von Trichloressigsäure (10% Endkonzentration) gestoppt. Die Proben wurden in Microtiterplatten bei 4000rpm für 10 min zentrifugiert und die Überstände auf eine reverse Phase HPLC gegeben, die mit einer Waters Symmetrie C18 Säule und Waters Sentry Guard Säule ausgestattet war. Der isokratische HPLC Lauf wurde bei RT mit einer Flussrate von 1 ml/min und Acetonitril/Wasser 48:52 als Eluent durchgeführt. Die Radioaktivität wurde mittels Packard Flow Scintillations Analyzer gemessen und die prozentuale Hemmung mittels der oben angegebenen Formeln berechnet.

6.1.3 *In vitro* Zellassay¹¹⁰

Der Zellassay wurde von der Firma Hormos durchgeführt. MCF7 Zellen, in denen 17 β -HSD1 stabil exprimiert wurde, wurden in Wachstumsmedium mit den zu testenden Verbindungen in einer Konzentration von 100 nM und 1 μM und dem tritiummarkierten Substrat (2 nM Estron) inkubiert. Nach exakter Inkubationszeit von 30 min wurde die Reaktion durch Zugabe von Trichloressigsäure gestoppt und Proben entnommen, die mittels HPLC getrennt und anschließend analysiert wurden. Die Berechnung der Hemmung erfolgte wie bereits oben beschrieben.

6.1.4 Estrogen-Rezeptor-Bindungsassay

Die prozentuale Bindung eines im Vergleich zu Estradiol in 5fachem Überschuss eingesetzten Inhibitors an den Estrogenrezeptor α und β wurden entsprechend der von Zimmermann et al.¹⁶⁶ beschriebenen Methode bestimmt. Es wurden geringfügige Änderungen vorgenommen, u.z. die Bindungsinubation wurde 2h bei RT unter Schütteln vorgenommen und nach Zugabe von Hydroxyl-Appatit (HAP) für 15 min auf Eis inkubiert und alle 5 min gevortext.

6.1.5 Bestimmung der IC₅₀-Werte

Die Bestimmung der IC₅₀-Werte wurde mit aus humaner Plazenta isoliertem Enzym durchgeführt.^{174, 175} Die durch Aufarbeitung erhaltene mikrosomale Fraktion enthielt das Enzym 17β-HSD2, während in der cytosolischen Fraktion das für den Test benötigte 17β-HSD1 zu finden war. Zu diesem partiell gereinigten 17β-HSD1 wurde 20 mM KH₂PO₄ pH 7.4, 10 nM [³H] Estron/490 nM Estron, 500 μM NADH und die zu testende Verbindung in verschiedenen Konzentrationen dazugegeben. Diese Lösung wurde unter Schütteln 30 min bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 10 mM HgCl₂ gestoppt. Nach Zugabe von 1 ml Diethylether und 10 min schütteln, wurden die Proben für 5 min bei 6000rpm zentrifugiert. Die Etherphase wurde überführt und abgedampft. Der Rückstand wurde in Acetonitril gelöst und das darin enthaltene Estron/Estradiol Gemisch mittels HPLC aufgetrennt. Die Radioaktivität wurde mittels Szintillationsmessung bestimmt. Mit Hilfe der so erhaltenen Werte war es möglich die Menge an Estron, die zu Estradiol umgewandelt wird, und die prozentuale Hemmung zu berechnen.

6.1.6 Caco-2 Assay

Caco-2 Zellkultur- und Transportexperimente wurden gemäß Yee¹⁷⁰ durchgeführt, allerdings wurden geringfügige Modifikationen vorgenommen. Die Kultivierungszeiten wurden von 21 auf 10 Tage reduziert durch Erhöhung der Aussaatdichte von $6.3 \cdot 10^4$ auf $1.65 \cdot 10^5$ Zellen pro well. Vier Referenzverbindungen (Atenolol, Testosteron, Ketoprofen und Erythromycin) wurden in jedem Assay zur Validierung der Transporteigenschaften der Caco-2 Zellen herangezogen. Die Anfangskonzentration der Verbindungen im Donorkompartiment war 50 μM (in Puffer mit 1% Ethanol oder DMSO). Nach 60, 120 und 180 min wurden Proben von der Akzeptorseite entnommen und nach 0 und 180 min von der Donorseite. Zu Glykoprotein P (P-gp) Studien wurden bidirectionale Experimente durchgeführt. Es wurde die absorptive und sekretorische Permeabilität ($P_{app(a-b)}$ und $P_{app(b-a)}$) bestimmt. Hierzu wurde Erythromycin als Substrat und Verapamil als Inhibitor von P-gp verwendet. Jedes Experiment wurde dreimal durchgeführt. Die Integrität des Monolayers wurde mittels TEER (transepithelialer elektrischer Widerstand) und für jeden Assay die Permeabilität mittels Lucifer Yellow bestimmt. Alle Proben der Caco-2 Transport Experimente wurden mittels LC-MS/MS nach Verdünnung mit Puffer (1:1, mit 2% Essigsäure) analysiert. Der apparente Permeabilitätskoeffizient (P_{app}) wurde mittels der unten aufgeführten Formel berechnet, wobei

dQ/dt die Wiederfindungsrate der Masse im Akzeptorkompartiment widerspiegelt, A die Oberfläche der Transwellmembran und c_0 die Anfangskonzentration im Donorkompartiment.

$$P_{\text{app}} = \frac{dQ}{dt \cdot A \cdot c_0}$$

6.1.7 Test auf metabolische Stabilität

Der Test wurde von Mitarbeitern der Firma Pharmacelsus in Saarbrücken durchgeführt.

LC-MS

Als Startlösung für die durchgeführte LC-MS wurde eine 1 mg/ml Lösung in Acetonitril verwendet, die mit einer Mischung aus Acetonitril und 10 mM Ammoniumacetat/0.1% Ameisensäure (1:1, V:V) bis zu einer Endkonzentration von 10 µg/ml verdünnt wurde. Full scan Massenspektren wurden im positiven Modus aufgenommen. Charakteristische Fragmente wurden unter Verwendung folgender Parameter aufgenommen: 350°C Temperatur der Ionenquelle, 3.8 kV Kapillarspannung, 0.8 mbar Argon.

Metabolische Stabilität

Die Stocklösungen (10 mM in Acetonitril) wurden verdünnt, so dass Arbeitskonzentrationen in 20% Acetonitril erhalten wurden, die um das 10fache höher sind als die Inkubationskonzentrationen der Verbindungen. Der Assay wurde mit Lebermikrosomen von Ratten durchgeführt.

Die Inkubationslösung (180 µl) setzte sich aus 90 µl einer mikrosomalen Suspension aus 0.33 mg/ml Protein in Phosphatpuffer 100 mM pH 7.4 mit 90 µl NADP-regenerierendem System (1 mM NADP⁺, Glucose-6-phosphat 5 mM, Glucose-6-phosphat dehydrogenase 5 U/ml, MgCl₂ 5 mM) zusammen.

Die Reaktion wurde durch Zugabe von 20 µl der zu testenden Verbindung in 20% Acetonitril zu der bei 37°C preinkubierten Mikrosomen/Puffer Mischung gestartet. 200 µl Probenlösung wurden nach 0, 15, 30 und 60 Minuten entnommen und einer Acetonitril Präzipitation unterzogen. Die Isolierung der Verbindungen erfolgt durch Zugabe von 200 µl Acetonitril, welches den internen Standard (1 µM) enthielt, zu 200 µl Probenlösung und Kalibrierungsstandard. Nach 10 s Schütteln und Zentrifugation bei 4000g wird ein Aliquot

des Überstandes der LC-MS/MS zugeführt. Es wurden zwei Kontrollen mitlaufen gelassen, u.z. eine Positivkontrolle mit 7-Ethoxycoumarin als Referenz zur Kontrolle der Mikrosomenenzymaktivität und eine Negativkontrolle, bei der Mikrosomen benutzt wurden, die für 25 Minuten erhitzt wurden, ohne regenerierendes System, um sicher zu stellen, dass der Substanzverlust tatsächlich auf Metabolisierung zurückzuführen ist.

Die Menge an Verbindung einer Probe wurde ausgedrückt als prozentualer Anteil der verbleibenden Verbindung im Vergleich zu der zum Zeitpunkt $t = 0$ (100%) vorhandenen Verbindung. Der prozentuale Anteil der vorhandenen Verbindung wurde gegen die Zeit aufgetragen und ist in Abb. 70 dargestellt.

6.1.8 Hemmung von P450 Enzymen

Die Hemmung von P450 Enzymen wurde von Mitarbeitern der Firma Pharmacelsus untersucht. Die im Test vorhandenen Endkonzentrationen an verwendeten Reagenzien sind in Tab. 29 übersichtlich wiedergegeben.

Tabelle 29: Endkonzentrationen im CYP450 Hemmassay

	<i>CYP1A2</i>	<i>CYP2B6</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>CYP C19</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP3A4</i>
<i>Substrate</i>	CEC	EFC	MFC	CEC	AMMC	BFC
	5 µM	2.5 µM	75 µM	25 µM	1.5 µM	50 µM
<i>Metabolite</i>	CHC	HFC	HFC	CHC	AHMC	HFC
<i>NADP⁺</i>	1.3 mM	1.3 mM	1.3 mM	1.3 mM	8.2 µM	1.3 mM
<i>Glucose-6-Phosphat</i>	3.3 mM	3.3 mM	3.3 mM	3.3 mM	0.41 mM	3.3 mM
<i>MgCl₂*6H₂O</i>	3.3 mM	3.3 mM	3.3 mM	3.3 mM	0.41 mM	3.3 mM
<i>GPD</i>	0.4 U/ml	0.4 U/ml	0.4 U/ml	0.4 U/ml	0.4 U/ml	0.4 U/ml
<i>PO₄³⁻, pH 7.4</i>	100 mM	100 mM	25 mM	50 mM	100 mM	200 mM
<i>Enzym</i>	2.5pmol/ml	5 pmol/ml	5 pmol/ml	2.5pmol/ml	7.5pmol/ml	15pmol/ml
<i>Positiv- kontrolle</i>	F	T	S	T	Q	K
	100 µM	125 µM	10 µM	100 µM	0.5 µM	5 µM
<i>Testkonz.</i>	2 µM	5 µM	0.3 µM	2 µM	0.02 µM	0.05 µM
<i>Verbind.</i>	20 µM	50 µM	3 µM	20 µM	0.2 µM	0.5 µM

Abkürzungen:

GPD Glucose-6-Phosphat-Dehydro-genase, CEC 3-Cyano-7-ethoxycoumarin, MFC 7-Methoxy-4-trifluoromethylcoumarin, AMMC 3-[2-(*N,N*-diethyl-*N*-methylamino)ethyl]-7-methoxy-4-methylcoumarin, BFC 7-benzyloxy-trifluoromethyl coumarin, CHC 3-Cyano-7-hydroxycoumarin, HFC 7-Hydroxytrifluoromethyl coumarin, EFC 7-Ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin und AHMC 3-[2-(*N,N*-diethyl-amino)ethyl]-7-hydroxy-4-methylcoumarin, F Furafyllin, T Tranylcypromin, S Sulfaphenazol, Q Quinidin, K Ketoconazol

Der Assay wurde in 96-well Platten durchgeführt. Die zu testenden Verbindungen wurden in Acetonitril in einer Konzentration von 50 mM gelöst, wobei die Löslichkeit der Verbindungen durch Zugabe von 3% (v/v) 1N HCl bei Bedarf erhöht werden kann. Für die Bestimmung der IC₅₀-Werte wurde die 50 mM Stocklösung im ersten well um das 50fache verdünnt, gefolgt von einer 1:3 Verdünnung von well 1 bis well 8. Für CYP1A2 wurde eine 1 mM Stocklösung verwendet. Als Cofaktor-Mix wurde ein Gemisch aus NADP⁺-regenerierendem System und Cofaktor-Acetonitril-Mix verwendet. Die Endkonzentration an

Acetonitril betrug 1%.

Nach 10 min Preinkubation bei 37°C wurde die Reaktion durch Zugabe der vorgewärmten Enzym/Substrat-Mischung gestartet. Die Inkubation der 200 µl/well erfolgte bei 37°C für 15 min. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 75 µl/well Stopplösung bestehend aus 60% Acetonitril und 40% 0.1 M Tris pH 9 gestoppt.

Die fluoreszierenden Metabolite werden mittels Wallac Victor bestimmt. Anregungs- und Emissionswellenlänge sind in Tab. 30 wiedergegeben.

Tabelle 30: Anregungs- und Emissionswellenlängen

	<i>CYP1A2</i>	<i>CYP2B6</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>CYP C19</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP3A4</i>
<i>Metabolite</i>	CHC	HFC	HFC	CHC	AHMC	HFC
<i>Anregungs- wellenlänge</i>	405 nm	409 nm	405 nm	405 nm	380 nm	405 nm
<i>Emissions- wellenlänge</i>	460 nm	530 nm	535 nm	460 nm	460 nm	535 nm

Die IC₅₀ Berechnung erfolgte nach der unten angegebenen Formel.

$$IC_{50} = \frac{50\% - \% \text{ Hemmung bei niedrigster Konzentration}}{\% \text{ Hemmung bei höchster Konz.} - \% \text{ Hemmung bei niedrigster Konz.}} * (\text{höchste Konz.} - \text{niedrigste Konz.}) + \text{niedrigste Konz.}$$

6.1.9 *In vivo* Studien

Von Mitarbeitern der Firma Pharmacelsus wurden für die *in vivo* Studien pro Gruppe jeweils 5 männliche Wistar Ratten mit einem Gewicht von 210-290 g untersucht, denen oral der in Labrasol als Vehikel gelöste Hemmstoff in einer Konzentration von 50 mg/kg appliziert wurde. Nach 1, 2, 3, 4, 6, 8 und 24h wurden jeweils 200 µl Blut entnommen, die in heparinisierten Behältern auf Eis bewahrt wurden. Nach 10 min zentrifugieren bei 3000g und 4°C wird das Plasma gesammelt und bei -20°C bis zur Untersuchung gelagert.

Zu 50 µl Rattenplasma werden 100 µl Methanol, welches den internen Standard enthält dazugegeben. Die Proben werden geschüttelt und nach 5 min bei RT für weitere 5 min bei 20°C und 6000g zentrifugiert. 100 µl des Überstandes wurden mit 100 µl Wasser verdünnt und Aliquots einer Untersuchung mittels LC-MS/MS unterzogen.

6.2 Chemie

Chemische Bezeichnungen

Die chemischen Bezeichnungen der Verbindungen entsprechen der IUPAC Nomenklatur.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Alugram® SilG/UV₂₅₄ Platten verwendet, dabei handelt es sich um 0.2 mm dicke mit Kieselgel 60 und Fluoreszenzindikator versetzte Aluminiumplatten der Firma Macherey-Nagel.

Zur präparativen DC wurden mit Kieselgel 60 und Fluoreszenzindikator versetzte Glasplatten (SilG25/ UV₂₅₄) der Firma Macherey-Nagel verwendet. Die Schichtdicke betrug 0.25 mm bzw. 1 mm.

Säulenchromatographie (SC)

Als Füllmaterial für die mit Druck durchgeführte Säulenchromatographie diente Kieselgel 60, 35/40-63/70 µm der Firma Merck und für die ohne Druck durchgeführte Säulenchromatographie diente Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm.

Infrarotspektroskopie (IR)

Die IR-Spektren der Reinsubstanzen wurden mit einem Bruker „Vektor 33“ aufgenommen und die Wellenzahl ν in 1/cm angegeben.

Reaktionen in der Mikrowelle

Bei der zur Synthese verwendeten Mikrowelle handelte es sich um eine Emrys Optimizer Workstation bzw. ein Gerät der Firma biotage.

Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Spektren wurden mit einem Bruker AM 500 bei 300K aufgenommen, wobei ¹H-NMR-Spektren bei 500 MHz und ¹³C-NMR-Spektren bei 125 MHz vermessen wurden. Die Messungen wurden in Tetradeuteromethanol (CD₃OD), Deuteriochloroform (CDCl₃) oder deuteriertem DMSO durchgeführt und deren im Spektrum auftauchenden Peaks gleichzeitig als Referenzen benutzt (CDCl₃: $\delta = 7.24$ ppm im ¹H-NMR und $\delta = 77$ ppm im ¹³C-NMR, CD₃OD: $\delta = 3.35$ ppm im ¹H-NMR und $\delta = 49.3$ ppm im ¹³C-NMR). Die chemischen Verschiebungen sind in δ -Werten (ppm) angegeben und die Kopplungskonstanten (J) in Hertz

(Hz). Es wurden die üblichen Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Duplett, dd = Duplett vom Duplett, ddd = Duplett vom Duplett vom Duplett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett

Massenspektroskopie (LC/ MS-MS)

Die Massenspektren wurden an einem TSQ Quantum (Thermo Finnigen) aufgenommen. (ESI = Elektrosprayionisation)

Chemikalien

Chemikalien zur Synthese wurden von den Firmen Aldrich, Acros und Fluka verwendet und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

Allgemeine Reaktionsmethoden

Methode A: Suzuki Reaktion

Unter Stickstoffatmosphäre wurde das Halogenderivat (1 eq) zusammen mit Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (0) (0.1 eq) in Toluol oder DME gelöst und nach Zugabe einer 2%-igen Natriumcarbonatlösung (2 eq) etwa 10 min lang gerührt. Anschließend wurde die in Methanol gelöste Boronsäure (1 eq) dazugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für bis zu 24h bei 80°C unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung der Reaktion wurden hydrophile und lipophile Phase voneinander getrennt und die hydrophile Phase mit Dichlormethan oder Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden anschließend mit einer 2%-igen Salzsäurelösung gewaschen, um die noch eventuell vorhandene Boronsäure zu entfernen sowie mit 2%-iger Natriumcarbonatlösung zum Alkalisieren. Nach weiterem Waschen mit Wasser und sich anschließender Trocknung mittels Magnesiumsulfat, wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Eine Reinigung des erwünschten Produktes erfolgt meistens mittels Säulenchromatographie unter Verwendung von Druck.

Methode B: Suzuki Reaktion

In einem trockenen Reaktionsgefäß wurden das Halogenderivat (0.2 mmol), Boronsäure (0.4 mmol), K_2CO_3 (0.6 mmol) und $Pd(OAc)_2$ (0.02 mmol) in 5 ml DME/Wasser/Ethanol 7/3/2 suspendiert und einer Mikrowelleneinstrahlung für 300 sec bei 150°C unterzogen. Die Reaktionsmischung wurde anschließend filtriert und im Vakuum einrotiert. Die Aufreinigung erfolgte mittels präparativer HPLC (Waters Fraktion Lynx Autopurification System, Varian Inertsil C18-Säule 50x21mm, Partikelgröße 3 μm , Gradient mit isokratischer Endperiode, Lösungsmittel: Acetonitril, Wasser, Ameisensäure (0.01%) 0-100%)

Methode C: Suzuki Reaktion

Bromderivat (1 eq), Boronsäure (1.3 eq) und $Pd(PPh_3)_4$ (0.05 eq) wurden in 1.5 ml DMF in einem 10 ml Reaktionsgefäß mit Magnetrührer suspendiert. Dazu wurden $NaHCO_3$ (3 eq) in 1.5 ml Wasser gegeben und die Mischung 15 min bei 140°C und 100W einer Mikrowellenstrahlung ausgesetzt. Danach wurde die Reaktionsmischung in 20 ml Ethylacetat und 20 ml Wasser aufgenommen und die entstehende wässrige Phase wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet,

filtriert und im Vakuum einrotiert. Eine Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung von Druck mit Kieselgel als stationärer Phase.

Methode D: Amidbildung

Eine Lösung der entsprechenden Säure (1 eq) und Amin (1 eq) in 20 ml Dichlormethan wurde tropfweise zu einer auf 0°C gekühlten Mischung aus EDC·HCl (1 eq) und HOBt (1 eq) in 150 ml Dichlormethan dazugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1-4 Tage bei RT gerührt. Nach Einrotieren des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt in Ethylacetat gelöst und mit einer gesättigten Natriumcarbonatlösung und Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Eine Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Kieselgel als stationäre Phase.

Methode E: Etherspaltung

Die entsprechende Methoxyverbindung (1 eq) wurde in 15 ml Toluol gelöst und Aluminiumchlorid (5 eq) dazugegeben. Das Gemisch wurde für 2 Stunden unter Rückfluss und Stickstoffatmosphäre gekocht und nach dem Abkühlen mit 2%-iger Na₂CO₃-Lösung versetzt. Hydrophile und lipophile Phasen wurden getrennt und die Wasserphase wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abfiltrieren und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erfolgte die Reinigung mittels Säulenchromatographie unter Verwendung von Druck.

Methode F: Etherspaltung

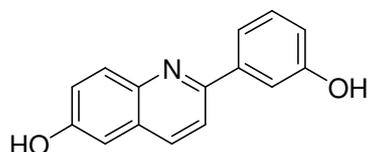
Eine Lösung der entsprechenden Methoxyverbindung in Dichlormethan unter Stickstoffatmosphäre wurde auf -78°C gekühlt. Bortribromidlösung (1M in Dichlormethan) wurde langsam dazugetropft und die Mischung bei -78°C für 1h und bei RT über Nacht gerührt. Nach Zugabe von Wasser erfolgte eine Extraktion mit Ethylacetat. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Eine Aufreinigung der Produkte erfolgte wenn nicht anders angegeben säulenchromatographisch unter Verwendung von Druck.

Methode G: Amidbildung

Die Verbindungen **81-97** wurden alle entsprechend dieser Methode dargestellt.

In 2 ml THF gelöstes Sulfonylchlorid (0.06 mmol, 1.2 eq) wurde zu einer Lösung aus 1-(3-Aminophenyl)-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (0.05 mmol, 25 mg, 1 eq) und 55 mg PS-Morpholin in 2 ml THF gegeben. Die Reaktionsmischungen wurden 15h bei RT gerührt. Danach wurde zu allen Ansätzen eine Spatelspitze PS-DMAP dazugegeben und eine weitere Nacht bei RT gerührt. Die Reaktionsansätze zur Darstellung von Verbindung **83**, **85** und **89** wurden nach dieser Nacht wie folgt aufgearbeitet: um überschüssiges Säurechlorid abzufangen wurde eine Spatelspitze polymergebundenes Tris(2-aminoethyl)-amin und zum Abfangen des überschüssiges Amins wurde eine Spatelspitze polymergebundenes Isocyanat eingesetzt. Nach Filtration und Eindampfen wurden diese Ansätze mittels präparativer HPLC aufgereinigt (Waters Fraktion Lynx Autopurification System, Varian Inertsil C18-Säule 50x21mm, Partikelgröße 3µm, Gradient mit isokratischer Endperiode, Lösungsmittel: Acetonitril, Wasser, Ameisensäure (0.01%) 0-100%). Die verbleibenden 14 Ansätze (**81**, **82**, **84**, **86-88**, **90-97**) wurden über Nacht bei 60°C gerührt und danach in gleicher Weise wie die 3 Ansätze aufgearbeitet. Die Aufreinigung erfolgte in diesen Fällen über eine Combiflash-Anlage mit einem Gradienten Hexan/Ethylacetat 2/1 bis 1/1 als Eluent.

2-(3-Hydroxyphenyl)quinolin-6-ol (1)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 6-methoxy-2-(3-methoxyphenyl)chinolin (77 mg, 0.29 mmol, 1 eq) mit Bortribromid (15 eq) entsprechend der Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Hexan/Ethylacetat 7/3 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 10% (7 mg).

C₁₅H₁₁NO₂, MW 237; R_F-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.8; gelblicher Feststoff

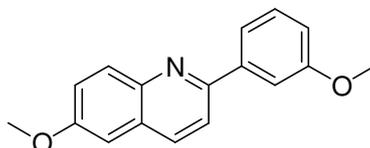
¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.27 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 8.22 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 2.5 Hz, J = 9.1 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.52 (ddd, J = 1.3 Hz, J = 1.9 Hz, J = 7.9 Hz, 1H), 7.46 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 7.20 (ddd, J = 1.3 Hz, J = 2.5 Hz, J = 8.2 Hz, 1H);

¹³C-NMR (CD₃OD): δ 155.3, 154.9, 153.0, 141.3, 138.2, 133.6, 127.6, 127.5, 125.9, 120.2, 117.5, 116.5, 114.1, 111.7, 102.7;

IR: 3182, 1625, 1589, 1487 1/cm;

MS (ESI): 238 (M+H)⁺

6-Methoxy-2-(3-methoxyphenyl)chinolin (1a)



Zweischrittreaktion:

Grignard:

Zu 231 mg (9.63 mmol, 6 eq) gereinigtem Magnesium in 10 ml trockenem Ether wurden 2 Kristalle Iod sowie die 1.5 g (8.02 mmol, 5 eq) in 10 ml trockenem Ether gelöstes Bromanisol gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei 30°C unter Reflux und Stickstoffatmosphäre gekocht.

Kupplung:

281 mg (1.60 mmol, 1 eq) 6-Methoxychinolin-*N*-oxid gelöst in 80 ml Toluol wurden zu dem Grignardgemisch gegeben und 2h bei 90°C erhitzt. Nach Abkühlen des Rundkolbens wurde die Reaktionsmischung auf Eis gegeben und nach dessen Wegschmelzen so lange 2N Salzsäure und Wasser dazugegeben, bis sich der entstandene Niederschlag gelöst hatte. Die Wasserphase wurde mit Ether gewaschen und mit einer 10%-igen KOH-Lösung alkalisiert. Nach einer Extraktion mit Chloroform wurden die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Eine Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie ohne Druck mit Hexan/Ethylacetat 95/5 als Eluent. Das gewünschte Produkt wurde in einer Ausbeute von 47% (199 mg) erhalten.

C₁₇H₁₅NO₂; MW 265; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 9/1): 0.4; gelber Feststoff

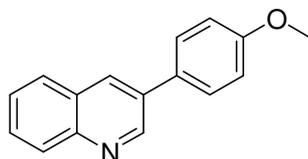
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.91 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 7.57 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.24 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 2.7 Hz, J = 9.1 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.82 (dd, J = 2.7 Hz, J = 8.2 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.74 (s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 160.1, 157.7, 154.8, 144.3, 141.3, 135.5, 131.1, 129.8, 128.3, 122.4, 119.8, 119.4, 115.0, 112.5, 105.0, 55.5, 55.4;

IR: 2964, 2839, 1621, 1600, 1583, 1559, 1478, 1455, 1430 1/cm;

MS (ESI): 266 (M+H)

3-(4-Methoxyphenyl)chinolin (2)



Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-Bromchinolin (500 mg, 2.40 mmol, 1 eq) mit 4-Methoxyphenylboronsäure (365 mg, 2.40 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A in 18h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit einem Gemisch Hexan/Ethylacetat 9/1 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 89% (504 mg).

C₁₆H₁₃NO; MW 235; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.4; weißer Feststoff

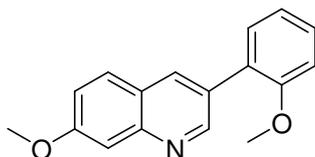
¹H-NMR (CDCl₃): δ 9.09 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 1.3 Hz, 3H), 7.50 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 159.8, 149.9, 147.1, 132.4, 130.3, 129.2, 129.1, 128.5, 127.9, 127.0, 114.7, 55.4;

IR: 3062, 2999, 2930, 2833, 1602, 1517, 1460, 1254 1/cm;

MS (ESI): 236 (M+H)⁺

7-Methoxy-3-(2-methoxyphenyl)chinolin (3)



Die Verbindung wurde in einer Reaktion von 3-Brom-7-methoxychinolin (25 mg, 0.11 mmol, 1 eq) und 2-Methoxyphenylboronsäure (16 mg, 0.11 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A in 22h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit einem

Gemisch Hexan/Ethylacetat 9/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 17%, 5 mg.

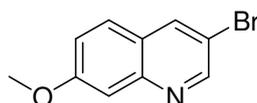
$C_{17}H_{15}NO_2$; MW 265; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 98/2): 0.7; gelblicher Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 7.33 – 7.29 (m, 2H), 7.24 (m, 1H), 7.23 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.00 – 6.95 (m, 4H), 3.75 (s, 3H), 3.83 (s, 3H);

IR: 2965, 2932, 2837, 1591, 1482, 1456 $1/cm$;

MS (ESI): 266 ($M+H$)⁺

3-Brom-7-methoxychinolin (3a)



Zur Synthese dieser Ausgangsverbindung wurden zunächst 1.80 g (12.3 mmol, 1.1 eq) Bromomalondialdehyd in 30 ml Ethanol gelöst und 1.25 ml *m*-Anisidin (11.2 mmol, 1 eq) hinzugefügt. Diese Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT und nach Zugabe von Essigsäure (20 ml) bei 100°C 10 Tage gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend im Vakuum abrotiert und der verbleibende Feststoff zwischen einer Wasser- und Ethylacetatphase geteilt. Die wässrige Phase wurde mit einer Ammoniaklösung alkalisiert und nichtlösliche Partikel abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Ethylacetat extrahiert und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Gereinigt wurde das Produkt mittels Säulenchromatographie ohne Druck mit einem Gemisch Hexan/Ethylacetat 8/2 als Eluent in einer Ausbeute von 20% (700 mg).

$C_{10}H_8BrNO$; MW 239/237; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.6

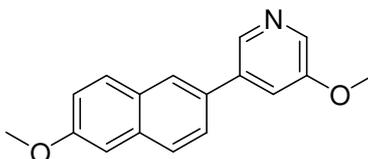
1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.76 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.88 (s, 3H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 159.9, 150.4, 147.1, 135.9, 126.9, 123.4, 119.9, 113.6, 106.3, 54.6;

IR: 2961, 1620, 1581, 1491, 1462, 1417, 1261, 1027, 796 $1/cm$;

MS (ESI): 238-240 (M+H)

3-Methoxy-5-(6-methoxynaphthalin-2-yl)pyridin (4)



Die Verbindung wurde durch Reaktion von 6-Methoxynaphthalinboronsäure (258 mg, 1.28 mmol, 1.2 eq) mit 3-Brom-5-methoxypyridin (200 mg, 1.06 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A in 24h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit einem Gemisch Hexan/Ethylacetat 2/1 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 84% (237 mg).

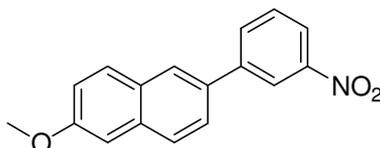
C₁₇H₁₅NO₂; MW 265; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 2/1): 0.3; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (Aceton-d₆): δ 8.58 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.94 – 7.90 (m, 2H), 7.81 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.67 (dd, J = 1.9 Hz, J = 2.5 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.95 (s, 3H);

¹³C-NMR (Aceton-d₆): 159.2, 157.0, 141.1, 137.9, 137.2, 135.4, 133.6, 130.6, 130.1, 128.5, 126.8, 126.4, 120.2, 118.9, 106.5, 56.0, 55.7;

IR: 3359, 1586, 1444, 1268 1/cm

2-Methoxy-6-(3-nitrophenyl)-naphthalin (5)



Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-Bromnitrobenzen (1 g, 4.95 mmol, 1 eq) mit 6-Methoxynaphthalinboronsäure (1 g, 4.95 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A innerhalb von 20h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Hexan als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 40% (557 mg).

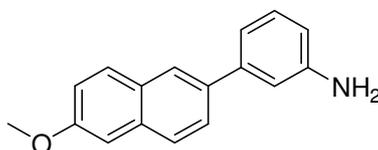
C₁₈H₁₇NO₃; MW 295; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.7; gelber Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 8.54 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.18 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.01 – 7.99 (m, 2H), 7.84 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.70 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.63 – 7.59 (m, 1H), 7.20 (dd, $J = 2.8$ Hz, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.94 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 158.3, 148.8, 142.9, 134.4, 133.7, 133.0, 129.8, 129.7, 129.0, 127.8, 126.1, 125.3, 121.9, 121.7, 119.7, 105.6, 55.4;

IR: 1602, 1528, 1351 $1/\text{cm}$

3-(6-Methoxynaphthalin-2-yl)-phenylamin (6)



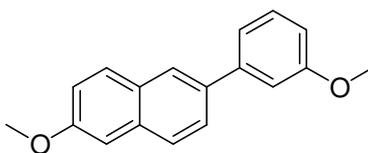
Zu einer Lösung aus 2-Methoxy-6-(3-nitrophenyl)-naphthalin (200 mg, 0.71 mmol, 1 eq) in 100 ml trockenem THF wurde Pd/C gegeben und das Gemisch über Nacht bei RT unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach Filtration über Celit und Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie wurde das Produkt in einer Ausbeute von 32% (48 mg) erhalten.

$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}$; MW 249; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.3; gelblicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CD}_3\text{OD} + 3$ Tropfen CDCl_3): δ 8.06 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.55 – 7.52 (m, 2H), 7.28 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.20 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.18 – 7.16 (m, 1H), 3.97 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{CD}_3\text{OD} + 3$ Tropfen CDCl_3): δ 159.9, 145.2, 136.0, 132.1, 131.9, 130.9, 130.8, 130.5, 128.9, 127.0, 126.9, 126.2, 122.4, 122.0, 120.6, 106.6, 55.8;

IR: 2923, 2854, 1461, 1377 $1/\text{cm}$

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (7)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 2-Brom-6-Methoxynaphthalin (500 mg, 2.11 mmol, 1 eq) mit 3-Methoxyphenylboronsäure (321 mg, 2.11 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A innerhalb von 22h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit einem Gemisch Hexan/Ethylacetat 9/1 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 81% (451 mg).

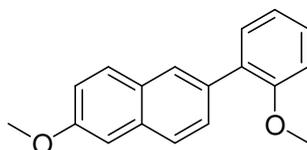
$C_{18}H_{16}O_2$; MW 264; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.6; weißer Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 7.95 (s, 1H), 7.78 (dd, $J = 4.4$ Hz, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.69 (dd, $J = 1.7$ Hz, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.37 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.88 (s, 3H);

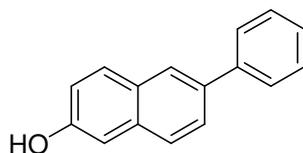
^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 128.7, 127.5, 127.2, 121.2, 120.7, 114.4, 114.0, 56.8;

IR: 2963; 2838; 1594; 1493; 1455; 1389; 1254; 1025 $1/cm$;

MS (ESI): 265 ($M+H$) $^+$

2-Methoxy-6-(2-methoxyphenyl)naphthalin (8)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 2-Brom-6-Methoxynaphthalin (300 mg, 1.26 mmol, 1 eq) mit 2-Methoxyphenylboronsäure (192 mg, 1.26 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A innerhalb von 18h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck erfolgte nicht, das Rohprodukt wurde zur folgenden Etherspaltung eingesetzt.

6-Phenyl-naphthalin-2-ol (9)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 6-Bromo-2-naphthol (500 mg, 2.24 mmol, 1 eq) mit Phenylboronsäure (1 eq) entsprechend der Methode A innerhalb von 20h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Hexan/Ethylacetat 7/3 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 87% (429 mg).

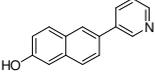
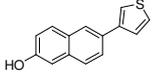
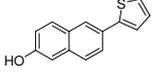
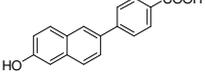
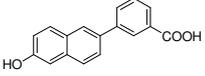
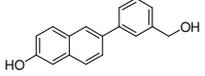
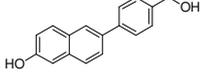
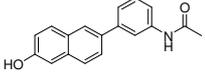
C₁₆H₁₂O; MW 220; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 2/1): 0.6; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.00 (bs, 1H), 7.82 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.76 – 7.73 (m, 3H), 7.71 (dd, J = 1.7 Hz, J = 8.4 Hz, 1H), 7.50 – 7.47 (m, 2H), 7.37 – 7.34 (m, 1H), 7.17 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 2.3 Hz, J = 8.7 Hz, 1H);

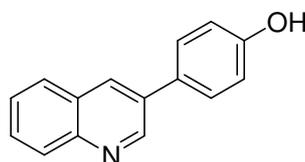
¹³C-NMR (CD₃OD): δ 155.3, 141.2, 135.5, 134.3, 129.4, 128.4, 126.5, 126.4, 125.2, 125.0, 118.3, 108.3;

IR: 3335, 1604, 1494, 1198 1/cm

Die Verbindungen **10-17** wurden entsprechend der Methode B dargestellt.

Verbindung	Struktur	MW	Area ELSD (%)	MS Retentionszeit
10		221	100	4.95
11		226	100	6.03
12		226	100	6.11
13		264	100	4.46
14		264	100	4.54
15		250	100	5.00
16		250	100	5.12
17		277	100	5.05

4-(Chinolin-3-yl)phenol (**18**)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-(4-Methoxyphenyl)chinolin (200 mg, 0.86 mmol, 1 eq) mit Aluminiumtrichlorid (564 mg, 4.23 mmol, 5 eq) entsprechend der Methode E. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Dichlormethan/Methanol 99/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 82% (156 mg).

$C_{15}H_{11}NO$; MW 221; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.5; leicht brauner Feststoff

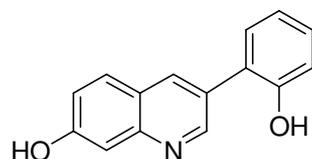
1H -NMR ($CDCl_3$): δ 9.04 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.8$ Hz, 3H); 7.63 (m, 1H), 6.92 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 149.6, 133.8, 133.7, 132.5, 132.4, 129.2, 128.7, 128.6, 127.9, 116.1;

IR: 2946, 1608, 1518, 1494, 1449, 1271, 1176 $1/cm$;

MS (ESI): 222 (M+H)⁺

3-(2-Hydroxyphenyl)chinolin-7-ol (19)

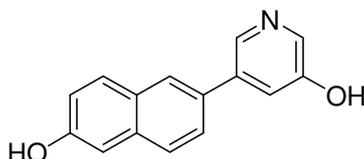


Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 7-Methoxy-3-(2-methoxyphenyl)chinolin (108 mg, 0.40 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (0.5 ml, 0.5 mmol, 15 eq) entsprechend der Methode F. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 99/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 50% (4 mg). Aufgrund der geringen Menge wurde die Verbindung nicht auf Hemmung der 17 β -HSD1 getestet.

C₁₅H₁₁NO₂; MW 237; R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol 99/1): 0.3; gelblicher Feststoff

IR: 3270, 1483, 1442 1/cm;

5-(6-Hydroxynaphthalin-2-yl)pyridin-3-ol (20)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-Methoxy-5-(6-methoxynaphthalin-2-yl)pyridin (200 mg, 0.75 mmol, 1 eq) mit Aluminiumtrichlorid (803 mg, 6.04 mmol, 8 eq) entsprechend der Methode E. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 7% (13 mg).

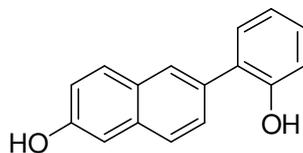
C₁₅H₁₁NO₂; MW 237; R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.4; leicht brauner Feststoff

¹H-NMR (Aceton-d₆): δ 8.50 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.21 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.55 – 7.54 (m, 1H), 7.26 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.8 Hz, 1H);

IR: 3359, 1586, 1444, 1268 1/cm;

MS (ESI): 238 (M+H)⁺

6-(2-Hydroxyphenyl)-2-naphthol (21)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(2-methoxyphenyl)naphthalin (150 mg, 0.57 mmol, 1 eq) mit Bortribromid (8.5 ml, 8.5 mmol, 15 eq) entsprechend der Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Hexan/Ethylacetat als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 7% (9 mg).

C₁₆H₁₂O₂; MW 236; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 8/2): 0.2; gelblicher Feststoff

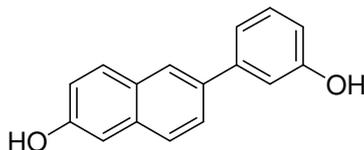
¹H-NMR (CD₃OD): δ 7.93 (s, 1H), 7.77 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.70 – 7.65 (m, 2H), 7.38 – 7.36 (m, 1H), 7.21 – 7.16 (m, 2H), 7.11 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 0.9 Hz, J = 7.0 Hz, 1H), 6.95 (dd, J = 0.9 Hz, J = 7.9 Hz, 1H);

¹³C-NMR (CD₃OD): δ 156.3, 155.5, 135.3, 134.9, 131.3, 130.7, 130.1, 129.3, 128.7, 126.6, 121.0, 119.3, 117.0, 109.7;

IR: 3490, 3368, 1611, 1496, 1446 1/cm;

MS (ESI): 237 (M+H)⁺

6-(3-Hydroxyphenyl)-2-naphthol (22)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (51 mg, 0.19 mmol, 1 eq) mit Bortribromid (0.6 ml, 0.60 mmol, 3 eq) entsprechend der Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Dichlormethan/Methanol 98/2 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 52% (23 mg).

C₁₆H₁₂O₂; MW 236; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 98/2): 0.2; weißer Feststoff

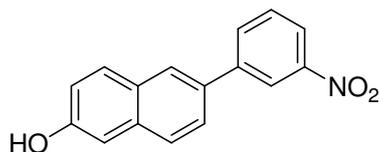
¹H-NMR (CDCl₃ + 3 Tropfen CD₃OD): δ 7.88 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.60 (dd, J = 1.6 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.16 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 1.6 Hz, J = 7.6 Hz, 1H), 7.11 (m, 2H), 7.08 (dd, J = 2.2 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 6.78 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 2.5 Hz, J = 7.8 Hz, 1H);

¹³C-NMR (CDCl₃ + 3 Tropfen CD₃OD): δ 142.8, 135.7, 129.9, 126.7, 125.9, 125.6, 118.9;

IR: 3198, 1606, 1592, 1573, 1498, 1449, 1366, 1284, 1149, 1083 1/cm;

MS (ESI): 237 (M+H)⁺

6-(3-Nitrophenyl)-naphthalin-2-ol (23)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 6-Methoxy-6-(3-nitro-phenyl)-naphthalin (200 mg, 0.72 mmol, 1 eq) mit Bortribromid (5.6 eq) entsprechend der Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ohne Druck mit Hexan/Ethylacetat 9/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 47% (90 mg).

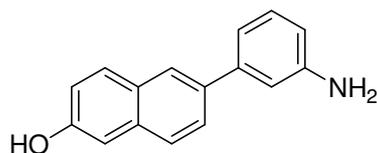
C₁₆H₁₁NO₃; MW 265; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.4; gelber Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.55 – 8.54 (m, 1H), 8.20 (ddd, J = 1.3 Hz, J = 2.5 Hz, J = 8.2 Hz, 1H), 8.11 (ddd, J = 1.3 Hz, J = 1.9 Hz, J = 7.9 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.73 – 7.68 (m, 2H), 7.18 – 7.14 (m, 2H);

¹³C-NMR (CD₃OD): δ 157.1, 150.0, 144.1, 136.0, 134.0, 133.8, 130.9, 129.7, 128.1, 126.8, 125.8, 122.3, 122.1, 119.9, 109.5;

IR: 3466, 1526, 1507, 1362 1/cm;

MS (ESI): 264 (M-H)⁻

6-(3-Aminophenyl)-naphthalin-2-ol (24)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-(6-Methoxy-naphthalin-2-yl)-phenylamin (87.9 mg, 0.35 mmol, 1 eq) mit Bortribromid (5 eq) entsprechend der Methode F. Eine präparative Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 9/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 14% (12 mg).

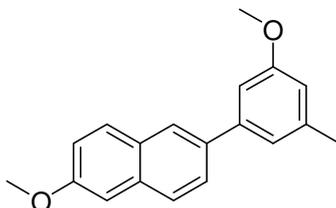
$C_{16}H_{13}NO$; MW 235; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.5; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 7.96 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.68 – 7.66 (m, 1H), 7.23 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.13 – 7.11 (m, 2H), 7.08 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.75 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 156.5, 143.5, 130.7, 130.5, 127.6, 126.7, 126.2, 119.6, 118.1, 115.4, 115.2, 109.7;

IR: 3369, 2926 $1/cm$;

MS (ESI): 236 ($M+H$) $^+$

2-Methoxy-6-(3-methoxy-5-methylphenyl)naphthalin (25)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-3-methoxy-5-methylbenzen (200 mg, 1.00 mmol, 1 eq) mit 6-Methoxynaphthalinboronsäure (201 mg, 1.00 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A in 22h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 9/1 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 60% (167 mg).

C₁₉H₁₈O₂; MW 278; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.2; weißer Feststoff

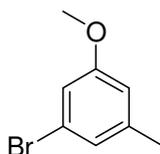
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.94 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.16 – 7.14 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 2.41 (s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 160.1, 157.7, 142.5, 139.8, 136.4, 133.9, 129.7, 129.1, 127.1, 126.1, 125.6, 120.7, 119.1, 113.4, 110.0, 105.6, 55.3, 21.7;

IR: 2994, 2939, 2834, 1590, 1453 1/cm;

MS (ESI): 279 (M+H)⁺

1-Brom-3-methoxy-5-methylbenzen (25a)



Die Reaktion wurde in einem Wasser/Eis Bad durchgeführt. Man löste 500 mg (2.31 mmol, 1 eq) 4-Brom-2-methoxy-6-methylanilin in einem Gemisch aus 7 ml Essigsäure und 3 ml Wasser, fügte 0.8 ml konzentrierte HCl dazu, sowie 207 mg (3.00 mmol, 1.5 eq) in 1 ml Wasser gelöstes Natriumnitrit. Die Mischung wurde 30 min gerührt und anschließend zu 8 ml eisgekühlter 50 Gew.-% unterphosphoriger Säure gegeben. Die Reaktion wurde 8 Stunden bei 0°C gerührt und über Nacht bei RT stehen gelassen.

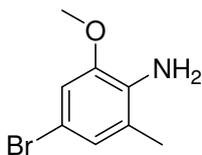
Zur Aufarbeitung wurde mit Ethylacetat extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum einrotiert. Das Rohprodukt wurde nicht weiter gereinigt (Ausbeute 90%, 418 mg).

C₈H₉BrO; MW 202/200; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.8; gelbliches Öl

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.45 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 6.18 (s, 1H), 3.30 (s, 3H), 1.83 (s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 160.2, 141.0, 124.5, 122.4, 114.1, 113.9, 55.4, 21.2;

IR: 2925, 1599, 1569, 1464 1/cm

4-Brom-2-methoxy-6-methylanilin (25b)

2-Methoxy-6-methylanilin 100 mg (0.73 mmol, 1 eq) wurde in einer Mischung aus 10 ml Dichlormethan und 4 ml Methanol gelöst. Nach Zugabe von 284.7 mg (0.73 mmol, 1 eq) BTMABr₃ und 292 mg (2.92 mmol, 4 eq) Calciumcarbonat wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Calciumcarbonat abfiltriert und es wurden 10 ml Wasser beigefügt. Hydrophile und lipophile Phase wurden getrennt und die Wasserphase vier Mal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum einrotiert. Eine Reinigung des Produktes war nicht nötig (Ausbeute quantitativ, 157 mg).

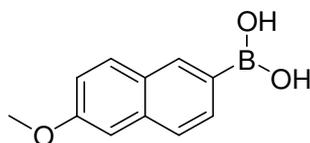
C₈H₁₀BrNO; MW 217/215; R_F-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.8; bräunlicher Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.83 – 6.82 (m, 1H), 6.77 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.12 (s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 147.5, 133.4, 125.1, 123.8, 111.5, 109.0, 55.8, 17.0;

IR: 3463, 3373, 2973, 1594, 1486, 1409 1/cm;

MS (ESI): (M+H) 216-218.

6-Methoxynaphthalin-2-boronsäure (25c)

Der Ansatz wurde unter Stickstoffatmosphäre in einem Kaltbad bestehend aus Trockeneis/Aceton (-78°C) durchgeführt, die Gefäße über Nacht im Trockenschrank aufbewahrt und zu Beginn der Reaktion 30 min lang Stickstoff in 20 ml trockenes THF geblasen.

In diesem trockenen THF wurden 500 mg 2-Bromo-6-methoxynaphthalin (2.11 mmol, 1 eq) gelöst und langsam 3.5 ml *sec*Butyllithium (4.54 mmol, 2.15 eq) in Cyclohexan dazugegeben. Diese sich langsam von gelb nach grün und dunkelgrün verfärbende Mischung wurde 30 min

bei -78°C gerührt. Anschließend wurden 3 ml Boronsäuretriisopropylester (12.66 mmol, 6 eq) beigelegt und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde gerührt.

Zur Aufarbeitung der Reaktion nach langsamem Erwärmen der Reaktionsmischung auf RT wurden zunächst 15 ml eisgekühlte 2N Salzsäure dazugegeben und 5 min lang gerührt. Diesem Prozedere, das sich noch mal wiederholte, schloss sich eine Extraktion des Reaktionsgemisches mit Ethylacetat an. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und bis fast zur Trockne im Vakuum eingengt. Durch Zugabe von Hexan wurde ein Auskristallisieren der Boronsäure erreicht, die anschließend filtriert und getrocknet wurde. Ausbeute: 298 mg, 70%.

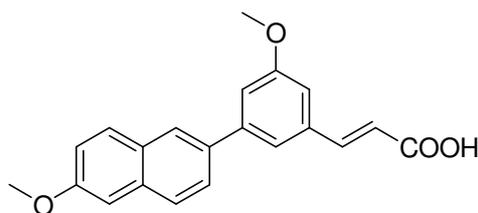
$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{BO}_3$; MW 202; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.3; hellrosa Pulver

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD + 3 Tropfen DMSO): δ 8.57 – 8.49 (m, 3H), 8.00 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.90 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.08 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD + 3 Tropfen DMSO): δ 159.6, 131.0, 129.5, 126.8, 119.5, 106.6, 55.8;

IR: 3391, 2841, 1624, 1482, 1411, 1342 $1/\text{cm}$

(E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-acrylsäure (26)



Die Verbindung wurde durch Reaktion von (E)-3-(3-Brom-5-methoxy-phenyl)-acrylsäure (751 mg, 2.92 mmol, 1 eq) mit 6-Methoxynaphthalinboronsäure (1 eq) entsprechend der Methode A in 26h dargestellt. Ansäuern der wässrigen Phase mit konz. HCl lieferte die gewünschte Verbindung als Niederschlag in einer Ausbeute von 64% (624 mg).

$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_4$; MW 334; R_f -Wert (Chloroform/Ethylacetat 1/2): 0.1; brauner Feststoff

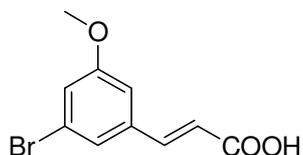
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): δ 8.24 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.67 – 7.66 (m, 1H), 7.61 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H),

7.57 (bs, 1H), 7.36 – 7.35 (m, 2H), 7.20 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.17 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.88 (s, 3H);

^{13}C -NMR (DMSO): δ 172.1, 168.0, 160.2, 159.9, 157.6, 142.2, 136.5, 134.4, 129.8, 128.7, 127.3, 125.5, 125.4, 121.8, 119.2, 119.0, 114.7, 111.7, 105.7, 55.4, 55.2;

IR: 3622, 2958, 2923, 2871, 1732, 1433, 1261, 1232 $1/\text{cm}$

(E)-3-(3-Brom-5-methoxyphenyl)acrylsäure (26a)



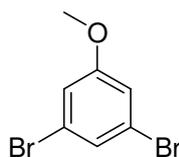
Zu einer Lösung von 1,3-Dibrom-5-methoxy-benzen (9.18 mmol, 1 eq) in 2 ml Xylol unter Stickstoffatmosphäre wurden Acrylsäure (0.63 ml, 9.18 mmol, 1 eq), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1 mol%, 20.7 mg), Triphenylphosphin (4 mol%, 69.2 mg) und Triethylamin (19.3 ml, 2.7, 2.1 eq) dazugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 11h bei 100°C gerührt. Danach wurden 20 ml Wasser und 2 g Natriumcarbonat beigelegt und einige Minuten bei 100°C gerührt. Die wässrige Phase wurde anschließend abgetrennt und angesäuert. Der sich dabei bildende Niederschlag wurde getrocknet und mittels Säulenchromatographie (Eluent Hexan/Ethylacetat 1/1) gereinigt. Das gewünschte Produkt wurde in einer Ausbeute von 32% (751 mg) isoliert.

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{Br}_3\text{O}$; MW 258/256; R_f -Wert (Ethylacetat): 0.6; gelblicher Feststoff

^1H -NMR (CD_3OD): δ 7.61 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.38 – 7.37 (m, 1H), 7.17 – 7.16 (m, 2H), 6.53 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 3.87 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 169.8, 162.3, 144.5, 138.9, 124.2, 121.4, 120.0, 113.4, 56.2;

IR: 2966, 2840, 1678, 1630, 1214, 1156 $1/\text{cm}$

1,3-Dibrom-5-methoxy-benzen (26b)

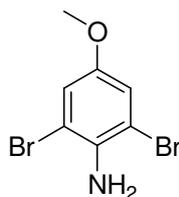
Zu einer Lösung 2,6-Dibromo-4-methoxy-phenylamin (3 g, 10.67 mmol, 1 eq) in 10 ml auf 0°C gekühltem Toluol wurden 6.6 ml konz. Schwefelsäure und 17.5 ml H₃PO₂ 50% (15 eq) dazugegeben. Der Reaktionsmischung wurde Natriumnitrit (1.47 mg, 21.35 mmol, 2 eq) beigelegt und alles 4.5h bei 0°C gerührt. Nach Neutralisation mit einer gesättigten Natriumhydroxidlösung erfolgte eine Extraktion mit Diethylether. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum zur Trockne einrotiert. Eine Aufreinigung des Rohproduktes war nicht nötig. Ausbeute 96% (2.7 g).

C₇H₆Br₂O; MW 268/266/264; R_f-Wert (Dichlormethan/Hexan 1/1): 0.8; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.23 – 7.22 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 3.75 (s, 3H);

¹³C-NMR: δ 160.8, 126.4, 123.1, 116.5, 55.7;

IR: 2925, 1599, 1569, 1464 1/cm

2,6-Dibrom-4-methoxy-anilin (26c)

Zu einer Lösung p-Anisidin (790 mg, 6.42 mmol, 1 eq) in einer Mischung aus 50 ml Dichlormethan und 20 ml Methanol wurden BTMABr₃ (5 g, 12.82 mmol, 2 eq) und 2 g Calciumcarbonat gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1h bei RT gerührt und anschließend das Calciumcarbonat abfiltriert und Wasser dazugegeben. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum zur Trockne einrotiert. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 50% (890 mg).

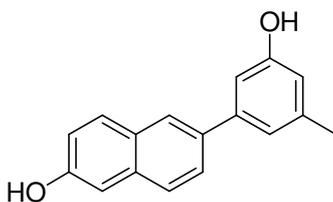
$C_7H_7Br_2NO$; MW 283/281/279; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 2/1): 0.7; weißer Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 7.06 (s, 2H), 4.18 (bs, 1H), 3.71 (s, 3H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 151.1, 135.2, 117.0, 108.1, 55.1;

IR: 3402, 3294, 1593, 1552, 1480 $1/cm$

6-(3-Hydroxy-5-methylphenyl)-2-naphthol (27)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxy-5-methylphenyl)naphthalin (26 mg, 0.10 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (1 ml, 1 mmol, 10 eq) entsprechend Methode F. Nach Extraktion mit Ethylacetat und Einrotieren des Lösungsmittels wurde die analytisch saubere Verbindung erhalten (Ausbeute quantitativ, 250 mg).

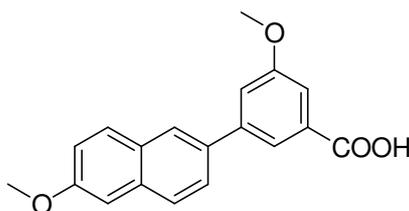
$C_{17}H_{14}O_2$; MW 250; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.2; gelblicher Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): δ 7.84 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.04 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 6.95 – 6.94 (m, 1H), 6.89 – 6.88 (m, 1H), 6.58 – 6.57 (m, 1H), 2.29 (s, 3H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): δ 156.8, 154.6, 142.5, 139.7, 135.7, 129.7, 128.5, 126.5, 125.8, 125.4, 119.6, 118.4, 114.6, 111.1, 108.8, 61.2;

IR: 3253, 2959, 1594, 1493, 1214, 1154 $1/cm$;

MS (ESI): 249 (M-H) $^-$

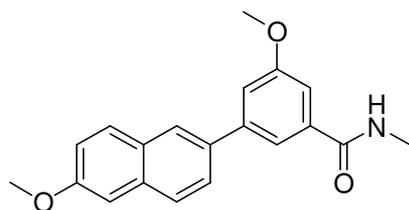
3-Methoxy-5-(6-methoxynaphthalin-2-yl)benzoesäure (28)

Zu einer Mischung aus 2-Methoxy-6-(3-methoxy-5-methylphenyl)naphthalin (1.3 g, 4.7 mmol, 1 eq) in 3.3 ml Pyridin und 10 ml Wasser wurde bei 75°C Kaliumpermanganat (3.2 eq) in kleinen Portionen dazugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 42h bei 75°C gerührt und anschließend noch heiß filtriert. Die gewünschte Verbindung wurde durch Ansäuern der wässrigen Phase und Trocknen des sich bildenden Niederschlages in einer Ausbeute von 50% (724 mg) erhalten.

C₁₉H₁₆O₄; MW 308; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.2; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.08 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.01 (m, 1H), 7.90 (d, J = 9.1, 1H), 7.88 (d, J = 9.1, 1H), 7.77 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.58 (dd, J = 1.3 Hz, J = 2.5 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 1.6 Hz, J = 2.5 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 2.5 Hz, J = 9.1 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.70 (s, 3H);

IR: 2936, 1690, 1591, 1489, 1459 1/cm;

3-Methoxy-5-(6-methoxynaphthalin-2-yl)-N-methyl-benzamid (29)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-benzoesäure (500 mg, 1.62 mmol, 1 eq) mit Methylaminlösung 33% (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 1/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 28% (148 mg).

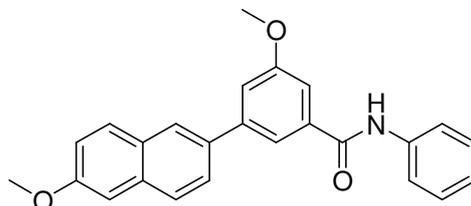
C₂₀H₁₉NO₃; MW 321; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.6; weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.96 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.32 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.17 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.03 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 158.0, 143.1, 136.7, 135.3, 129.0, 127.4, 125.8, 119.4, 117.8, 116.3, 110.7, 105.6, 55.6, 26.9;

IR: 3296, 2996, 2934, 1641, 1595, 1551, 1261, 1176 $1/\text{cm}$

3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-*N*-phenyl-benzamid (30)



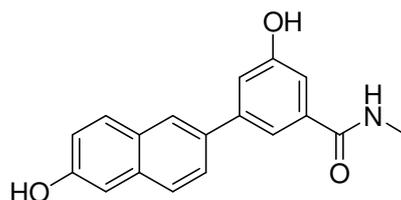
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-benzoesäure (500 mg, 1.62 mmol, 1 eq) mit Anilin (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Dichlormethan 1/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 11% (68 mg).

$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{NO}_3$; MW 383; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.5; gelber Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.97 (s, 1H), 7.93 (bs, 1H), 7.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.69 – 7.65 (m, 4H), 7.38 – 7.35 (m, 4H), 7.18 – 7.13 (m, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.91 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 160.4, 158.0, 137.9, 137.0, 134.1, 129.8, 129.1, 127.5, 125.9, 125.7, 124.6, 120.2, 119.4, 117.9, 116.7, 110.9, 105.6, 55.7;

IR: 3276, 2996, 2934, 1643, 1593, 1536, 1440, 1256, 1199 $1/\text{cm}$

3-Hydroxy-5-(6-hydroxy-naphthalin-2-yl)-*N*-methyl-benzamid (31)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-*N*-methyl-benzamid (110 mg, 0.34 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (5 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung war nicht nötig. Das gewünschte Produkt wurde nach Aufarbeitung analytisch rein in quantitativer Ausbeute erhalten (100 mg).

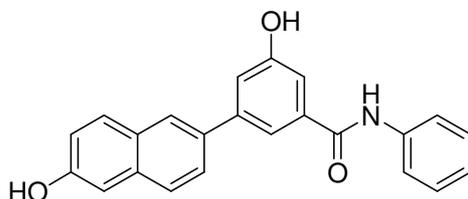
$C_{18}H_{15}NO_3$; MW 293; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.2; bräunlicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.03 (bs, 1H), 7.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.66 – 7.65 (m, 1H), 7.33 – 7.32 (m, 1H), 7.26 – 7.24 (m, 1H), 7.17 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 2.98 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 173.0, 170.9, 159.3, 156.9, 144.4, 137.5, 136.0, 130.9, 130.0, 127.9, 126.6, 126.4, 119.8, 117.9, 117.8, 113.8, 109.7, 26.9;

IR: 3392, 3156, 2927, 1632, 1587, 1551, 1292, 1192, 1153 $1/cm$;

MS(ESI): 292 ($M+H$) $^-$

3-Hydroxy-5-(6-hydroxy-naphthalin-2-yl)-*N*-phenyl-benzamid (32)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-*N*-phenyl-benzamid (300 mg, 0.78 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (5 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Dichlormethan 1/99 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 11% (32 mg).

C₂₃H₁₇NO₃; MW 355; R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.3; gelblicher Feststoff

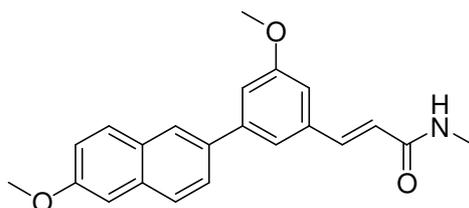
¹H-NMR (Aceton-d₆): δ 8.10 (bs, 1H), 7.89 – 7.87 (s, 1H), 9.48 (m, 3H), 7.82 (bs, 1H), 7.79 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.46 (bs, 1H), 7.42 (bs, 1H), 7.38 – 7.34 (m, 2H), 7.25 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 2.2 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.13 – 7.10 (m, 1H);

¹³C-NMR (Aceton-d₆): δ 170.9, 159.0, 156.6, 143.6, 135.5, 135.4, 130.8, 129.5, 127.7, 126.5, 126.3, 124.5, 120.9, 119.8, 117.9, 117.6, 114.1, 109.6;

IR: 3275, 1653, 1591, 1530, 1497, 1441, 1331, 1185 1/cm;

MS(ESI): 356 (M+H)⁺

(E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-methyl-acrylamid (33)

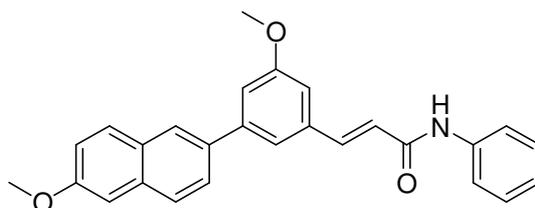


Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-acrylsäure (300 mg, 0.89 mmol, 1 eq) mit Methylamin 33% (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 2/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 53% (200 mg).

C₂₂H₂₁NO₃; MW 347; R_F-Wert (Hexan/Ethylacetat 1/2): 0.5; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (DMSO): δ 8.21 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.84 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 1.3 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.33 (dd, J = 1.9 Hz, J = 2.5 Hz, 1H), 7.21 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 1.6 Hz, J = 1.9 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 2.72 (s, 3H);

IR: 3279, 2931, 1734, 1656, 1579, 1260, 1219, 1199, 1162 1/cm

(E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-phenyl-acrylamid (34)

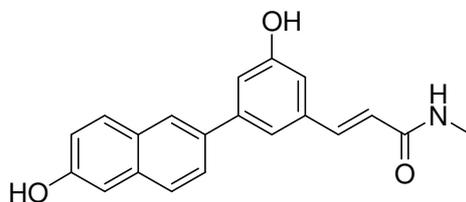
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-acrylsäure (300 mg, 0.89 mmol, 1 eq) mit Anilin (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 2/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 62% (227 mg).

$C_{27}H_{23}NO_3$; MW 409; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.7; gelbliches, zähes Öl

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 7.90 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.71 – 7.69 (m, 1H), 7.62 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.39 (m, 1H), 7.33 – 7.30 (m, 2H), 7.19 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.16 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.12 – 7.09 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 6.64 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.85 (s, 3H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 171.2, 167.7, 160.3, 157.9, 143.2, 142.3, 136.4, 135.5, 134.0, 130.9, 129.7, 129.1, 127.3, 125.8, 125.7, 119.6, 119.3, 114.7, 111.6, 105.6, 55.4;

IR: 3257, 2934, 1725, 1659, 1588, 1163 $1/cm$

(E)-3-[3-Hydroxy-5-(6-hydroxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-methyl-acrylamid (35)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-[3-methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-methyl-acrylamid (200 mg, 0.58 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (5 eq) entsprechend Methode F. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 90/10 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 13% (25 mg).

C₂₀H₁₇NO₃; MW 319; R_F-Wert (Hexan/Ethylacetat 1/2): 0.3; gelblicher Feststoff

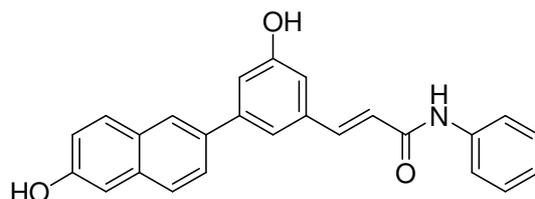
¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.00 (m, 1H), 7.83 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.69 (dd, J = 1.6 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.19 (m, 1H), 7.17 (m, 1H), 7.14 (dd, J = 2.2 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.01 (m, 1H), 6.66 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 2.90 (s, 3H);

¹³C-NMR (CD₃OD): δ 169.3, 159.9, 141.7, 136.3, 135.9, 133.6, 132.4, 130.9, 130.0, 129.9, 127.8, 126.5, 121.9, 119.8, 119.3, 116.5, 113.7, 109.7, 24.0;

IR: 3296, 1580, 1289, 1212, 1184 1/cm;

MS(ESI): 320 (M+H)⁺

(E)-3-[3-Hydroxy-5-(6-hydroxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-phenyl-acrylamid (36)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-[3-methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-phenyl-acrylamid (126 mg, 0.31 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (5 eq) entsprechend Methode F. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 98/2 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 14% (17 mg).

C₂₅H₁₉NO₃; MW 381; R_F-Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.2; gelb-brauner Feststoff

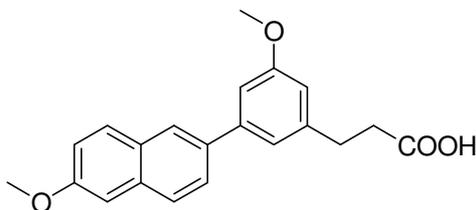
¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.03 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.74 – 7.71 (m, 4H), 7.47 (m, 1H), 7.40 – 7.37 (m, 2H), 7.23 – 7.22 (m, 1H), 7.18 – 7.14 (m, 3H), 7.07 (m, 1H), 6.89 (d, J = 15.4 Hz, 1H);

¹³C-NMR (CD₃OD): δ 183.1, 135.9, 130.9, 129.9, 127.9, 126.5, 121.2, 119.8, 119.5, 116.7, 109.7;

IR: 3478, 1594, 1440, 1185, 1155 1/cm;

MS (ESI): 382 (M+H)⁺

3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-propionsäure



Eine Suspension aus (E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-acrylsäure (100 mg, 0.30 mmol, 1 eq) und Pd(OH)₂ 2.82 mg in Ethanol 1 ml und THF 0.4 ml wurde 23h bei RT unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und im Vakuum einrotiert, was die Verbindung in quantitativer Ausbeute lieferte, 101 mg.

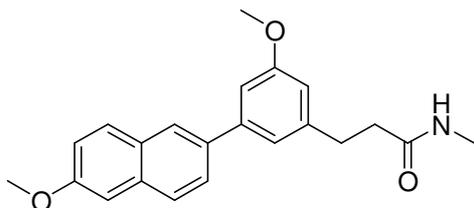
C₂₁H₂₀O₄; MW 336; R_f-Wert (Chloroform/Ethylacetat): 0.8; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (DMSO): δ 8.16 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.79 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.19 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.14 – 7.13 (m, 1H), 6.82 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.90 – 2.87 (m, 2H), 2.63 – 2.60 (m, 2H);

¹³C-NMR (DMSO): δ 163.1, 157.4, 150.3, 143.0, 135.1, 129.7, 128.7, 126.7, 119.2, 55.2, 55.1, 34.3, 30.4;

IR: 2956, 1702, 1594, 1198, 1152 1/cm

3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-methyl-propionsäureamid (37)



Eine Suspension aus (E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-N-methyl-acrylsäureamid (100 mg, 0.30 mmol, 1 eq) und Pd(OH)₂ 2.82 mg in 1 ml Ethanol und 0.4 ml

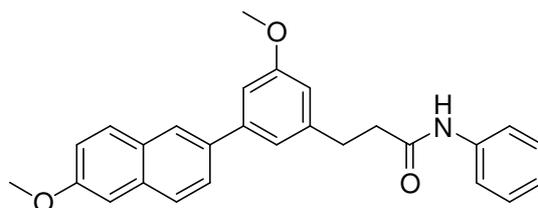
THF wurde 19h bei RT unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Filtration und Einrotieren der Reaktionsmischung lieferte das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute.

$C_{22}H_{23}NO_3$; MW 349; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/2): 0.5; gelblicher Feststoff

1H -NMR (DMSO): δ 8.12 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.78 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.20 – 7.18 (m, 2H), 7.13 – 7.12 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 2.89 – 2.86 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.44 – 2.41 (m, 2H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 160.4, 157.9, 142.8, 142.6, 129.3, 128.4, 126.9, 125.4, 125.0, 124.7, 119.3, 118.7, 112.3, 110.2, 106.6, 105.2, 54.4, 38.8, 37.4, 29.5;

IR: 3326, 2935, 1561 $1/cm$

3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-*N*-phenyl-propionsäureamid (38)

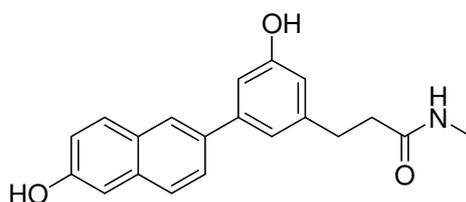
Eine Suspension aus (E)-3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-*N*-phenyl-acrylsäureamid (70 mg, 0.17 mmol, 1 eq) und Pd(OH)₂ 2.5 mg in 1 ml Ethanol und 0.4 ml THF wurde 20h bei RT unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Filtration und Einrotieren der Reaktionsmischung lieferte das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute (70 mg).

C₂₇H₂₅NO₃; MW 411; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.7; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.90 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.65 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.5 Hz, 1H), 7.44 – 7.42 (m, 2H), 7.29 – 7.26 (m, 2H), 7.16 – 7.14 (m, 3H), 7.09 – 7.06 (m, 2H), 6.78 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.12 – 3.09 (m, 2H), 2.72 – 2.69 (m, 2H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 136.1, 129.0, 126.0, 125.7, 125.6, 119.9, 119.2, 105.6, 55.4, 55.3, 38.9, 37.5;

IR: 3313, 2958, 1593 1/cm

3-[3-Hydroxy-5-(6-hydroxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-*N*-methyl-propionamid (39)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-*N*-methyl-propionamid (47.8 mg, 0.16 mmol, 1 eq) mit Aluminiumtrichlorid (213.3 mg, 1.60 mmol, 10 eq) entsprechend Methode E. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 98/2 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 35% (16 mg).

C₂₀H₁₉NO₃; MW 321; R_f-Wert (Ethylacetat): 0.8; gelblicher Feststoff

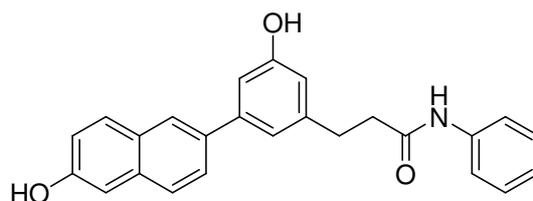
$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 7.96 (bs, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 1.5$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.09 (m, 1H), 7.00 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.68 (m, 1H), 2.97 – 2.94 (m, 2H), 2.74 (s, 3H), 2.66 – 2.53 (m, 2H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 175.9, 159.0, 156.6, 144.2, 144.1, 136.9, 130.8, 127.7, 126.7, 126.3, 119.7, 119.5, 115.0, 112.8, 109.7, 99.9, 38.9, 33.1, 26.3;

IR: 3416, 1721, 1618, 1593, 1153 $1/\text{cm}$;

MS (ESI): 322 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

3-[3-Hydroxy-5-(6-hydroxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-*N*-phenyl-propionamid (40)



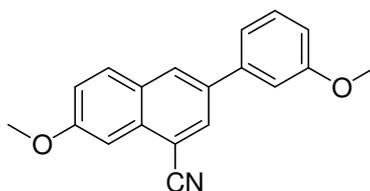
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 3-[3-Methoxy-5-(6-methoxy-naphthalin-2-yl)-phenyl]-*N*-phenyl-propionamid (55 mg, 0.13 mmol, 1 eq) mit Aluminiumtrichlorid (291.3 mg, 2.19 mmol, 12 eq) entsprechend Methode E. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Hexan/Ethylacetat 1/1 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 34% (17 mg).

$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{NO}_3$; MW 383; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.3; gelblicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 7.91 (m, 1H), 7.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.64 (dd, $J = 1.8$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.57 – 7.56 (m, 2H), 7.34 – 7.31 (m, 2H), 7.14 – 7.10 (m, 4H), 7.01 – 7.00 (m, 1H), 6.74 (m, 1H), 3.08 – 3.05 (m, 2H), 2.76 – 2.73 (m, 2H);

IR: 3351, 1728, 1596, 1444, 1244, 1160 $1/\text{cm}$;

MS (ESI): 382 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$

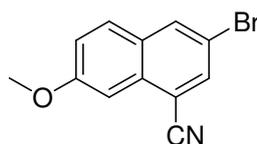
7-Methoxy-3-(3-methoxyphenyl)-1-naphthonitril (41)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-Brom-7-methoxy-1-naphthonitril (1.4 g, 1.76 mmol, 1 eq) mit 3-Methoxyphenylboronsäure (320 mg, 2.11 mmol, 1.2 eq) entsprechend der Methode A in 24h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 9/1 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 53% (300 mg).

$C_{20}H_{18}NO_4$; MW 322; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.5; weißer Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.10 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.35 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.18 – 7.16 (m, 1H), 7.11 – 7.10 (m, 1H), 6.88 (ddd, $J = 0.6$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.83 (s, 3H);

IR: 2950, 2836, 1729, 1599, 1490, 1463 $1/cm$.

3-Brom-7-methoxy-1-naphthonitril (41a)

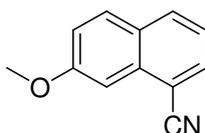
7-methoxy-1-naphthonitril (6.6 g, 36 mmol, 1 eq) wurde in 66 ml Essigsäure gelöst und auf $45^\circ C$ erhitzt. Über einen Zeitraum von 15 min wurde Brom (34 g, 10.9 ml, 213 mmol, 5.9 eq) langsam dazugegeben, so dass die Temperatur $55^\circ C$ nicht überschritt, und das Gemisch 3h unter Reflux gekocht. Nach Abkühlen wurde eine Natriumhydrogensulfit ($NaHSO_3$)–Lösung (17.16 g in 40 ml Wasser) dazugegeben, so dass die Temperatur $40^\circ C$ nicht überschritt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und in 60 ml Essigsäure gelöst. Zinnchlorid-Dihydrat (13.7 g, 72 mmol, 2 eq) wurde dazugegeben und 28 ml konz. HCl über einen Zeitraum von 90 min bei $100^\circ C$ dazugetropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt, der resultierende Niederschlag abfiltriert und jeweils zweimal mit 11 ml 1%-iger HCl und Wasser gewaschen (Ausbeute 70%, 6.6 g).

$C_{12}H_8BrNO$; MW: 263/261; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 8/2): 0.8;

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.12 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.26 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.97 (s, 3H);

IR: 3355, 2835, 2221 $1/cm$

7-Methoxy-1-naphthonitril (41b)

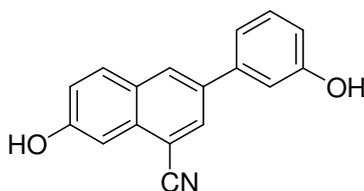


7-Methoxy-1-tetralon (8.16 g, 46 mmol, 1 eq) und ZnI_2 (0.365 g, 1 mmol, 0.03 eq) wurden in 25 ml Toluol gelöst und auf $45^\circ C$ erhitzt. Trimethylsilylcyanid (TMSCN) (5.0 g, 50 mmol, 1.1 eq) wurde über einen Zeitraum von 20 min hinzugefügt und alles 3h refluxiert. Nach Abkühlen der Mischung auf ca. $35^\circ C$ wurde Pyridin (5.5 ml, 69 mmol, 1.5 eq) und $POCl_3$ (6.4 ml, 69 mmol, 1.5 eq) dazugegeben und für weiter 6h unter Reflux gekocht. Danach wurde in einem Zeitraum von 15 min 80 ml einer auf $3^\circ C$ gekühlten 3N NaOH hinzugefügt. Die wässrige Phase wurde mit 48 ml Toluol extrahiert und die organische Phase zweimal mit 40 ml 1N NaOH, einmal mit 40 ml Wasser, dreimal mit 40 ml 3N HCl, einmal mit 40 ml Wasser, einmal mit 40 ml einer gesättigten $NaHCO_3$ -Lösung und einmal mit einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde nach Zugabe von 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) (8.41 g, 37 mmol, 0.8 eq) über 20 min für 2h unter Reflux gekocht. Nach Abkühlen wurde der Niederschlag abfiltriert und zweimal mit 32 ml 1N NaOH und einmal mit 32 ml einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Trocknen des Niederschlages lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 78% (6.6 g).

$C_{12}H_9NO$; MW 183; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 8/2): 0.7;

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 7.97 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J = 0.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.36 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 3.98 (s, 3H);

IR: 3003, 2943, 2839, 2218, 1505, 1259, 1243, 1025 $1/cm$

7-Hydroxy-3-(3-hydroxyphenyl)-1-naphthonitril (42)

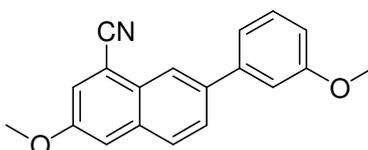
7-Methoxy-3-(3-methoxyphenyl)-1-naphthonitril (110 mg, 0.39 mmol, 1 eq) und Pyridiniumhydrochlorid (4.76 mmol, 12.2 eq) wurden 3h unter Reflux gekocht. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wurde mit 1N HCl angesäuert, der resultierende Niederschlag filtriert und in einer kleinen Menge Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Bei dem übrig bleibenden Rückstand handelte es sich um das gewünschte Produkt (Ausbeute 62%, 63 mg).

$C_{17}H_{11}NO_2$; MW 261; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.3; weißer Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.30 (bs, 1H), 8.18 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.47 – 7.46 (m, 1H), 7.36 – 7.33 (m, 1H), 7.28 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.24 – 7.22 (m, 1H), 7.17 – 7.16 (m, 1H), 6.87 – 6.85 (m, 1H);

IR: 3274, 2239, 1599, 1588 $1/cm$;

MS (ESI): 260 (M-H) $^-$

3-Methoxy-7-(3-methoxyphenyl)-1-naphthonitril (43)

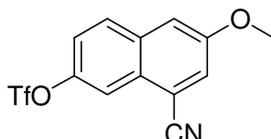
Die Verbindung wurde durch Reaktion von 8-Cyano-6-methoxynaphthalin-2-yl trifluoromethanesulfonat (466 mg, 1.4 mmol, 1 eq) mit 3-Methoxyphenylboronsäure (260 mg, 1.7 mmol, 1.2 eq) entsprechend der Methode A über Nacht dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 7/3 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 25% (113 mg).

$C_{19}H_{15}NO_2$; MW 289 R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.5; weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.24 (m, 1H), 7.79 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (s, 3H);

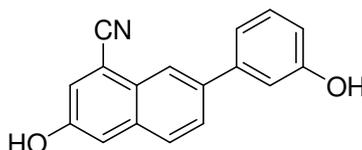
IR: 2362, 2225 $1/\text{cm}$

8-Cyano-6-methoxynaphthalin-2-yl trifluoromethansulfonat (43a)



Die Verbindung wurde entsprechend einer Vorschrift aus *J Med Chem*, 2005, 48, 3953-3979 dargestellt.

3-Hydroxy-7-(3-hydroxyphenyl)-1-naphthonitril (44)



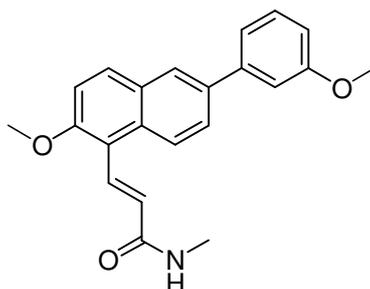
3-Methoxy-7-(3-methoxyphenyl)-1-naphthonitril (100 mg, 0.35 mmol, 1 eq) und Pyridiniumhydrochlorid (492 mg, 4.3 mmol, 12.2 eq) wurden 3h unter Reflux gekocht. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wurde mit 1N HCl angesäuert, der resultierende Niederschlag filtriert und in einer kleinen Menge Ethylacetat gelöst. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Der entstehende Rückstand war das gewünschte Produkt (Ausbeute 64%, 58 mg).

$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_2$; MW 261; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.2; weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.20 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.24 (m, 1H), 7.20 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H);

IR: 3413, 3293, 3204, 2240, 791, 781, 702 $1/\text{cm}$;

MS (ESI): 260 (M-H) $^-$

(E)-3-(2-hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-methylacrylamid (45)

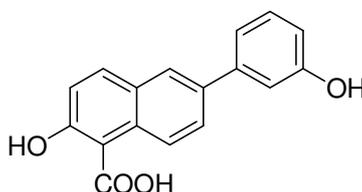
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäure (200 mg, 0.60 mmol, 1 eq) mit Methylamin 33% (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung war nicht nötig. Die gewünschte Verbindung wurde in quantitativer Ausbeute erhalten (208 mg).

$C_{21}H_{22}NO_3$; MW 347; R_f -Wert (Ethylacetat): 0.6; gelblicher Feststoff

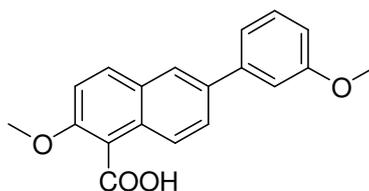
1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.25 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.37 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.29 – 7.27 (m, 1H), 7.22 (m, 1H), 6.90 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 2.93 (s, 3H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 163.7, 160.1, 142.2, 136.3, 133.8, 131.1, 130.0, 129.3, 126.7, 126.2, 126.0, 124.2, 119.7, 117.4, 113.4, 112.9, 112.7, 56.3, 55.4, 26.5;

IR: 3278, 2927, 2853, 1643, 1577 $1/cm$;

2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-1-naphthoesäure (45a)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (200 mg, 0.65 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (4 ml, 3.89 mmol, 6 eq) entsprechend Methode F. Ansäuern der wässrigen Phase mit konz. HCl lieferte das gewünschte Produkt als Niederschlag in einer Ausbeute von 57%. Die Verbindung wurde nicht weiter charakterisiert, sondern gleich zur Synthese von Verbindung **60** eingesetzt.

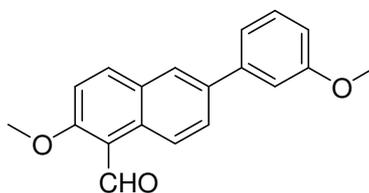
2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (45b)

200 mg der Verbindung 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthaldehyd (0.68 mmol, 1 eq) wurden in einer Mischung aus 8 ml Wasser und 17 ml Aceton gelöst. Zu der gekühlten Reaktionsmischung wurden Amidosulfonsäure ($\text{H}_2\text{NSO}_3\text{H}$) (1.51 mmol, 2.21 eq) und Natriumhypochlorit (0.78 mmol, 1.1 eq) dazugegeben. Nach 30 min Rühren wurde das Aceton im Vakuum einrotiert und Dichlormethan hinzugefügt. Organische und wässrige Phase wurden getrennt und die organische Phase dreimal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Das gewünschte Produkt wurde nach Trocknen und Einrotieren der organischen Phase als gelber Feststoff in quantitativer Ausbeute erhalten, 209 mg.

$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$; MW 308; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.1, leicht brauner Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 8.54 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.23 (m, 1H), 6.94 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.8$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.13 (s, 3H), 3.90 (s, 3H);

IR: 3061, 2993, 2938, 1672, 1597, 1576, 1493, 1282, 1256, 1210, 1073 $1/\text{cm}$

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthaldehyd (45c)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 6-Brom-2-methoxy-1-naphthaldehyd (2 g, 7.55 mmol, 1 eq) mit 3-Methoxyphenylboronsäure (1.3 g, 8.30 mmol, 1.1 eq) entsprechend der Methode A dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 1/1 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 86% (1.9 g).

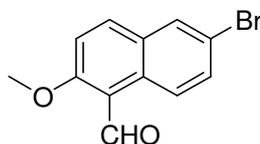
$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_3$; MW 292; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.4; gelber Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 10.9 (s, 1H), 9.32 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.38 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.28 – 7.27 (m, 1H), 7.22 – 7.21 (m, 1H), 6.91 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.88 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 163.9, 160.1, 142.0, 137.8, 137.2, 130.8, 130.0, 129.9, 129.4, 125.9, 125.5, 119.7, 113.0, 112.8, 56.6, 55.4;

IR: 2946, 2882, 2844, 2806, 1662 $1/\text{cm}$

6-Brom-2-methoxy-1-naphthaldehyd (45d)



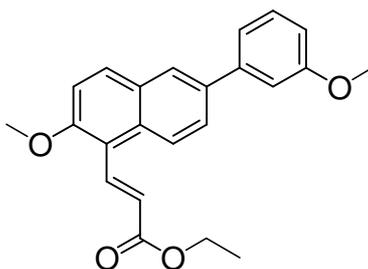
9.7 ml Titan-tetrachlorid (0.08 mol, 2.1 eq) und 4.2 ml Dichlormethylmethylether (0.05 mol, 1.1 eq) wurden in 20 ml Dichlormethan bei 0°C gelöst. Dazu wurde eine Lösung aus 10 g 2-Brom-6-methoxynaphthalin (0.04 mol, 1 eq) getropft, so dass die Temperatur 5°C nicht überstieg. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend 300 ml 1%-ige HCl dazugegeben. Organische und wässrige Phase wurden getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne einrotiert, das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute, 10.5 g, liefernd.

$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BrO}_2$; MW 266/264; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 2/1): 0.9, leicht grünlicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 10.80 (s, 1H), 9.16 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.05 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 191.6, 163.8, 136.3, 132.8, 130.0, 129.7, 126.8, 118.5, 116.6, 116.6, 113.7, 56.6;

IR: 2973, 2887, 2807, 1661 $1/\text{cm}$

(E)-3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäureethylester

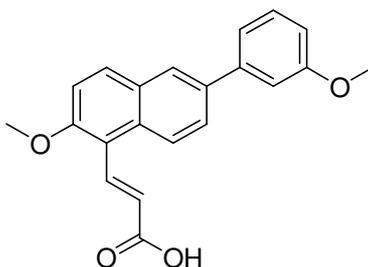
NaH (55-65%) (9.9 mg, 0.21 mmol, 1.2 eq) wurde unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml trockenem DME suspendiert, anschließend Phosphonoacetat (46.0 mg, 0.21 mmol, 1.2 eq) dazugegeben und nach 15 min Rühren 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthaldehyd (50 mg, 0.17 mmol, 1 eq) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 1h bei RT gerührt, Wasser dann dazugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Der resultierende Feststoff war das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute (62 mg).

C₂₃H₂₂O₄; MW 362; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 2/1): 0.5; gelber Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.36 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.77 (dd, J = 2.1 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.29 – 7.27 (m, 1H), 7.22 – 7.22 (m, 1H), 6.91 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 2.4 Hz, J = 8.2 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 4.31 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 1.37 (t, J = 7.0 Hz, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 167.9, 160.1, 156.8, 142.1, 137.5, 136.3, 132.0, 131.8, 129.9, 129.2, 127.0, 126.3, 123.9, 123.4, 119.7, 116.6, 113.1, 112.9, 112.7, 60.4, 56.2, 55.3, 14.4;

IR: 2937, 2839, 1712, 1705, 1273, 1170 1/cm

(E)-3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäure

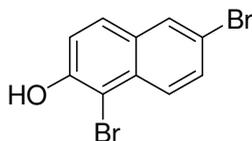
Lithiumhydroxid (407.7 mg, 9.94 mmol, 6 eq) wurde zu einer auf 0°C gekühlten Lösung aus (E)-3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalen-1-yl)acrylsäureethylester (600 mg, 1.66 mmol, 1 eq) in einer Mischung aus THF/Wasser 3/1 (20 ml) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht unter Reflux gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum einrotiert und zu dem Rückstand 2N HCl dazugegeben. Diese Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Bei dem übrig bleibenden Feststoff handelte es sich um das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute (554 mg).

C₂₁H₁₈O₄; MW 334; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.5; gelber Feststoff

¹H-NMR (Aceton-d₆ + 3 Tropfen CD₃OD): δ 8.30 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 8.26 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.89 (dd, J = 2.2 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.39 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.35 – 7.34 (m, 1H), 7.32 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.95 – 6.92 (m, 1H), 6.74 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 4.06 (s, 3H), 3.87 (s, 3H);

IR: 3382, 2946, 2837, 1678 1/cm

1,6-Dibrom-2-naphthol



6-Brom-2-naphthol (500 mg, 2.242 mmol, 1 eq) und NBS (558.7 mg, 3.319 mmol, 1.4 eq) wurden in Aceton 4.4 ml und HCl 1N 22µl 15 min bei RT gerührt. Ethylacetat wurde dazugegeben und diese organische Phase mit 1N HCl dreimal gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat, Filtrieren und Einrotieren im Vakuum wurde das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute erhalten (676 mg).

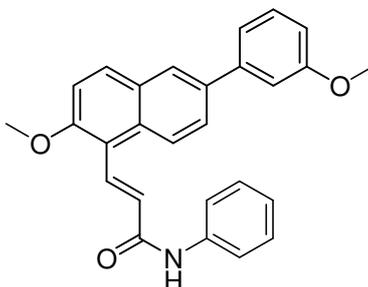
C₁₀H₆Br₂O; MW 300/302/304; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 2/1): 0.6; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.90 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.59 (dd, J = 1.8 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8.8 Hz, 1H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 177.5, 151.0, 131.0, 130.6, 130.1, 128.4, 128.3, 127.2, 118.0, 106.1;

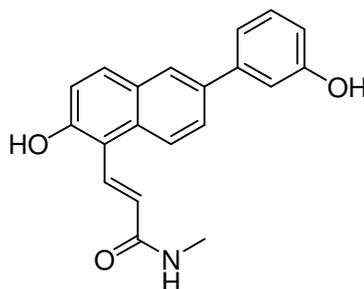
IR: 3443, 1688, 1617, 1586, 1382, 1209, 1183, 1130 1/cm

(E)-3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-phenylacrylamid (46)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)acrylsäure (200 mg, 0.60 mmol, 1 eq) mit Anilin (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine Charakterisierung der Verbindung wurde nicht vorgenommen. Das Rohprodukt wurde direkt einer Etherspaltung unterzogen.

(E)-3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-methylacrylamid (47)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-methylacrylamid (127 mg, 0.37 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (2.9 ml, 2.31 mmol, 8 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 60% (71 mg).

$C_{20}H_{17}NO_3$; MW 319; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.5; gelblicher Feststoff

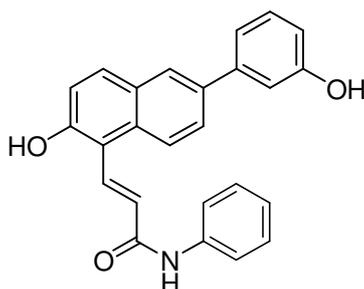
1H -NMR (CD_3OD): δ 8.29 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J = 7.91$ Hz, 1H), 7.24 – 7.21 (m, 1H), 7.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.20 – 7.19 (m, 1H), 7.11 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 6.82 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 2.93 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 170.8, 158.9, 156.7, 143.5, 137.0, 134.6, 134.0, 132.4, 131.0, 130.3, 127.4, 127.3, 126.0, 124.3, 119.5, 119.4, 115.3, 114.9, 26.7;

IR: 3064, 1730, 1643, 1581, 1465, 1023 $1/\text{cm}$;

MS (ESI): 320 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

(E)-3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-phenylacrylamid (48)



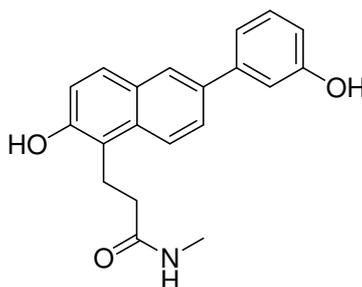
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von (E)-3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-phenylacrylamid (50 mg, 0.12 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (0.98 mmol, 8 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 13% (6 mg).

$\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{NO}_3$; MW 381; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.6; gelblicher Feststoff

^1H -NMR (CD_3OD): δ 8.47 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 8.34 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.40 – 7.36 (m, 3H), 7.34 – 7.31 (m, 1H), 7.26 – 7.24 (m, 1H), 7.24 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.21 – 7.20 (m, 1H), 7.17 – 7.14 (m, 1H), 6.83 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

IR: 3353, 1710, 1646, 1575, 1498, 1441, 1179 $1/\text{cm}$;

MS (ESI): 382 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-methylpropanamid (49)

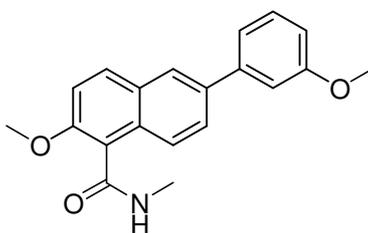
(E)-3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-methylacrylamid (40 mg, 0.13 mmol, 1 eq) wurde mit Pd(OH)₂ (2.5 mg) in Ethanol/THF 2/1 1.5 ml unter Wasserstoffatmosphäre bei RT über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum einrotiert. Das gewünschte Produkt wurde in quantitativer Ausbeute erhalten (42 mg).

C₂₀H₁₉NO₃; MW 321; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.6; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.04 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.31 (t, J = 7.91 Hz, 1H), 7.23 – 7.22 (m, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.16 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.80 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 2.5 Hz, J = 7.9 Hz, 1H), 3.41 – 3.38 (m, 2H), 2.74 (s, 3H), 2.60 – 2.57 (m, 2H);

IR: 3272, 2951, 1611, 1494, 1278 1/cm;

MS (ESI): 322 (M+H)⁺

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-*N*-methyl-1-naphthamid (50)

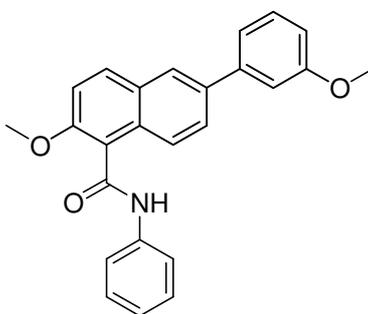
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (300 mg, 0.97 mmol, 1 eq) mit Methylamin 33% (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung war nicht nötig. Die gewünschte Verbindung wurde in quantitativer Ausbeute erhalten (311 mg).

$C_{20}H_{19}NO_3$; MW 321; R_f -Wert (Ethylacetat): 0.6; gelblicher Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.00 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 1.8$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.39 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.28 (m, 1H), 7.22 (m, 1H), 6.94 (ddd, $J = 0.6$ Hz, $J = 2.7$ Hz, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.14 (s, 3H);

IR: 2992, 2939, 1637, 1595, 1528 $1/cm$

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-*N*-phenyl-1-naphthamid (51)

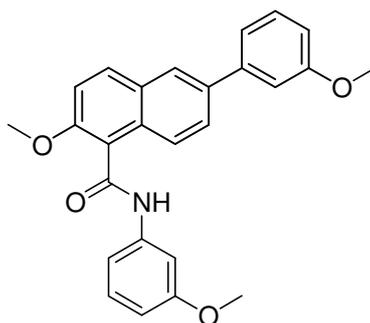


Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (300 mg, 0.97 mmol, 1 eq) mit Anilin (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 2/1 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 85% (316 mg).

$C_{25}H_{21}NO_3$, MW 383, R_f -Wert (Ethylacetat): 0.9; gelblicher Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): 8.15 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 1.8$, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.40 (q, $J = 8.2$ Hz, 3H), 7.35 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.29 (m, 1H), 7.19 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 6.93 (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.89 (s, 3H);

IR: 3324, 2944, 2844, 1650, 1597, 1532, 1491, 1438, 1250 $1/cm$

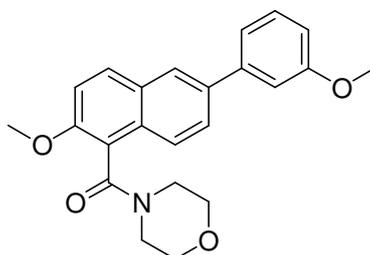
2-Methoxy-*N*-6-bis(3-methoxyphenyl)-1-naphthamid (52)

Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (300 mg, 0.97 mmol, 1 eq) mit *m*-Anisol (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 2/1 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 29% (116 mg).

$C_{26}H_{23}NO_4$, MW 413, R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.5; weißer Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.14 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 1.8$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.56 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.23 (m, 1H), 7.15 (dd, $J = 0.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.93 (ddd, $J = 0.6$ Hz, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.73 (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H);

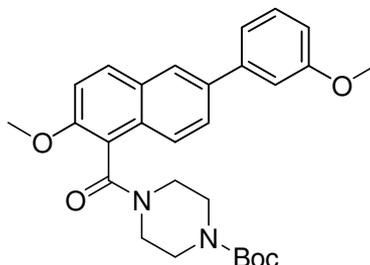
IR: 2941, 2842, 1651, 1595, 1537, 1490 $1/cm$

(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)(morpholino)methanon (53)

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (200 mg, 0.65 mmol, 1 eq) wurde mit 5 ml Thionylchlorid unter Stickstoffatmosphäre 30 min unter Reflux gekocht. Danach wurde das überschüssige Thionylchlorid einrotiert. Der Rückstand wurde in trockenem THF gelöst und zu 1 ml auf 0°C gekühltem Morpholin (0.65 mmol, 1 eq) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht unter Reflux gekocht. Nach Einrotieren des Lösungsmittels wurde eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent

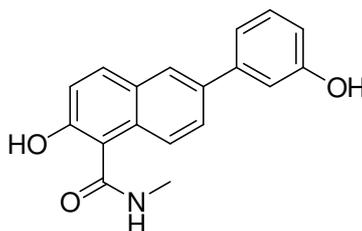
gemacht. Eine Charakterisierung der Verbindung wurde nicht vorgenommen. Das Rohprodukt wurde direkt zur Etherspaltung eingesetzt.

Tert-butyl 4-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoyl)piperazin-1-carboxylat (54)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoesäure (300 mg, 0.97 mmol, 1 eq) mit Boc-Piperazin (1 eq) entsprechend der Methode D. Eine Charakterisierung der Verbindung wurde nicht vorgenommen. Das Rohprodukt wurde direkt zur Etherspaltung eingesetzt.

2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-*N*-methyl-1-naphthamid (55)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-*N*-methyl-1-naphthamid (250 mg, 0.78 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (3.89 mmol, 5 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 98/2 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 95% (217 mg).

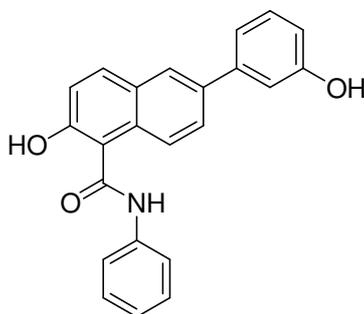
$C_{18}H_{15}NO_3$; MW 293; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.4; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.01 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.90 (q, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.76 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.19 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.82 (ddd, $J = 0.6$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 3.06 (s, 3H);

IR: 3281, 1608, 1580, 1492 $1/cm$;

MS (ESI): 292 (M+H)⁻

2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-*N*-phenyl-1-naphthamid (56)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-*N*-phenyl-1-naphthamid (217 mg, 0.57 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (3.39 mmol, 6 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 23% (47 mg).

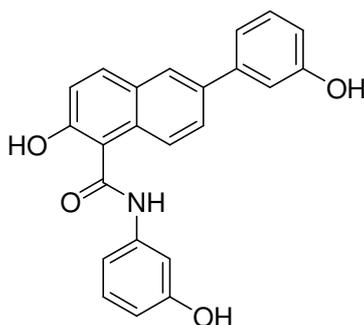
C₂₃H₁₇NO₃; MW 355; R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.4; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 7.99 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.74 (dd, J = 1.8 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.27 (m, 1H), 7.21 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.78 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 2.4 Hz, J = 7.9 Hz, 1H);

IR: 3271, 1628, 1596, 1494 1/cm;

MS (ESI): 356 (M+H)⁺

2-Hydroxy-*N*,6-bis(3-hydroxyphenyl)-1-naphthamid (57)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-methoxy-*N*,6-bis(3-methoxyphenyl)-1-naphthamide (150 mg, 0.36 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (2.9 ml, 2.9 mmol, 8 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 93/7 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 75% (100 mg).

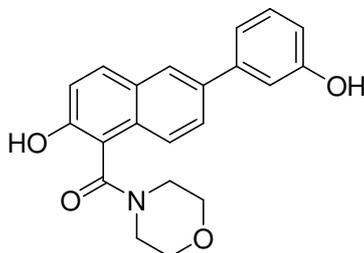
C₂₃H₁₇NO₄; MW 371; R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol 93/7): 0.4; gelber Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.00 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.44 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 7.27 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.18 (m, 5H), 6.78 (m, 1H), 6.61 (m, 1H);

IR: 3278, 1602, 1493 1/cm;

MS (ESI): 372 (M+H)⁺

(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)(morpholino)methanon (58)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)(morpholino)methanon (195 mg, 0.52 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (2.6 ml, 2.58 mmol, 5 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 93% (169 mg).

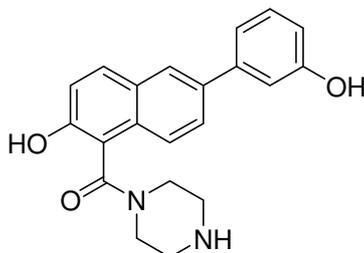
C₂₁H₁₉NO₄; MW 349; R_F-Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.2; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.04 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.79 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.33 – 7.30 (m, 1H), 7.23 – 7.21 (m, 1H), 7.21 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.83 – 6.81 (m, 1H), 3.97 (m, 2H), 3.88 – 3.87 (m, 2H), 3.71 – 3.70 (m, 1H), 3.59 – 3.57 (m, 1H), 3.41 – 3.36 (m, 1H), 3.31 (m, 1H);

IR: 3216, 2923, 1595, 1575, 1273, 1113 1/cm;

MS (ESI): 348 (M+H)⁻

(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)(piperazin-1-yl)methanon (59)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von tert-Butyl-4-(2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthoyl)piperazine-1-carboxylate (200 mg, 0.42 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (2.5 ml, 2.52 mmol, 6 eq) entsprechend Methode F. Eine säulenchromatographische Aufreinigung war nicht nötig. Eine Extraktion der wässrigen Phase mit Ethylacetat lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 60% (88 mg).

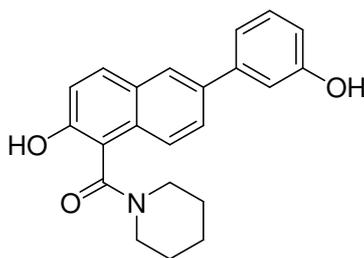
C₂₁H₂₀N₂O₃, MW 348; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 85/15): 0.1; weißer Feststoff

¹H-NMR (CD₃OD): δ 8.05 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.79 (dd, J = 1.6, J = 8.5 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.31 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.21 – 7.20 (m, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.84 – 6.82 (m, 1H), 4.38 – 4.35 (m, 1H), 4.08 – 4.05 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.59 – 3.58 (m, 1H), 3.48 – 3.47 (m, 1H), 3.42 – 3.41 (m, 1H), 3.40 – 3.31 (m, 1H), 3.20 – 3.19 (m 1H);

¹³C-NMR (CD₃OD): δ 187.0, 175.3, 170.0, 152.8, 148.8, 137.9, 132.8, 131.0, 128.2, 124.7, 119.4, 119.0, 114.9;

IR : 3219, 1712, 1600, 1492, 1440 1/cm;

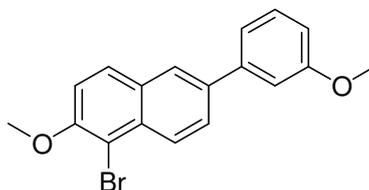
MS (ESI): 349 (M+H)⁺

(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)(piperidin-1-yl)methanon (60)

2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-1-naphthoesäure (160 mg, 0.57 mmol, 1 eq) wurde mit 140 μ l Thionylchlorid bei 0°C 1h gerührt. Danach wurde das überschüssige Thionylchlorid einrotiert. Der Rückstand wurde in 5 ml trockenem DME gelöst und zu einer auf 0°C gekühlten Mischung von Piperidin (0.57 mmol, 1 eq) in 5 ml trockenem Dichlormethan gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Einrotieren des Lösungsmittels gefolgt von einer säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 8% (16 mg).

$C_{22}H_{21}NO_3$, MW 347; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 93/7): 0.4; bräunlicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): 8.04 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.30 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.23 – 7.21 (m, 1H), 7.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.82 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.87 – 3.83 (m, 1H), 3.69 – 3.67 (m, 1H), 3.31 – 3.29 (m, 1H), 1.81 – 1.79 (m, 3H), 1.75 – 1.36 (m, 3H);

1-Brom-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (61)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1,6-Dibrom-2-methoxynaphthalin (5.75 g, 18.20 mmol, 1 eq) mit 3-Methoxyphenylboronsäure (2.77 g, 18.20 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 81% (5 g).

$C_{18}H_{15}BrO_2$; MW 344/342; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 8/2): 0.6; gelblicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.80(d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.25 – 7.23 (m, 1H), 7.23 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.20 – 7.19 (m, 1H), 6.88 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.84 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 160.1, 153.9, 142.0, 136.9, 132.5, 130.0, 129.9, 129.2, 127.4, 126.7, 125.8, 119.8, 114.0, 113.1, 112.8, 57.1, 55.4;

IR: 2939, 1596, 1493, 1268, 1221, 1063, 1034 $1/\text{cm}$

1,6-Dibrom-2-methoxynaphthalin (61a)



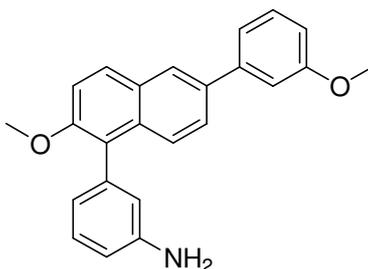
6-Brom-2-methoxynaphthalin (5.9 g, 24.81 mmol, 1 eq) und NBS (4.41, 24.81 mmol, 1 eq) wurden in 50 ml THF 2h unter Reflux gekocht. Nach Waschen mit 1N HCl wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Die Verbindung wurde in quantitativer Ausbeute erhalten (7.8 g).

$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{Br}_2\text{O}$; MW 318/316/314; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.8; leicht brauner Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.98 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J = 2.1$ Hz, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 182.9, 157.9, 135.6, 134.8, 134.5, 133.7, 132.0, 131.9, 118.4, 60.9;

IR: 2964, 1708, 1587, 1490, 1344, 1272, 1070 $1/\text{cm}$

3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)benzenamin (62).

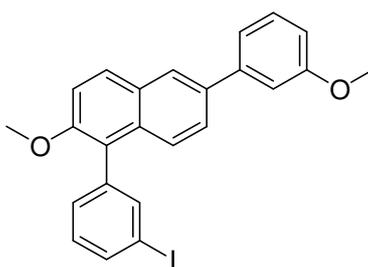
Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von Verbindung **61** (110 mg, 0.29 mmol, 1 eq) mit 3-Aminophenylboronsäure (50.4 mg, 0.29 mmol, 1 eq) in Gegenwart von Na_2CO_3 (124 mg, 4 eq) als Base, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.26 mg, 0.004 eq) als Katalysator und TBAB (93.9 mg, 1 eq) als Phasentransferkatalysator in 1 ml Wasser für 10 min in einem auf 150°C vorgeheizten Ölbad. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Ethylacetat extrahiert, das Lösungsmittel einrotiert und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie aufgereinigt. Das Produkt wurde in einer Ausbeute von 81% erhalten (83 mg).

$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_2$; MW 355; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.2; leicht brauner Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.99 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.30 – 7.26 (m, 2H), 7.21 – 7.20 (m, 1H), 6.90 – 6.88 (m, 1H), 6.77 – 6.74 (m, 2H), 6.71 – 6.70 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 160.0, 153.8, 146.2, 137.5, 136.0, 133.0, 129.8, 129.2, 129.1, 126.1, 125.9, 125.7, 125.6, 121.4, 119.8, 117.7, 114.4, 114.1, 113.0, 112.5, 56.9, 55.3;

IR (neat): 3448, 3365, 2963, 2936 $1/\text{cm}$

1-(3-Iodophenyl)-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (63)

3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)phenylamin (191 mg, 0.54 mmol, 1 eq) wurde in einer kleinen Menge Dichlormethan gelöst. 160 μ l konz. HCl und 80 μ l Essigsäure werden zu der auf 0°C gekühlten Mischung dazugegeben, gefolgt von Natriumnitrit (41 mg, 0.59 mmol, 1.1 eq), welches in 500 μ l Wasser gelöst wurde. Die Reaktionsmischung wurde 10 min bei 0°C gerührt. Danach wurde Kaliumiodid (134 mg, 0.81 mmol, 1.5 eq) in kleinen Portionen hinzugefügt und 1h bei RT gerührt. Nach Extraktion mit Dichlormethan wurde die organische Phase mit einer 5%-igen Na₂SO₃-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Das gewünschte Produkt wurde als Rückstand in einer Ausbeute von 85% (214 mg) erhalten.

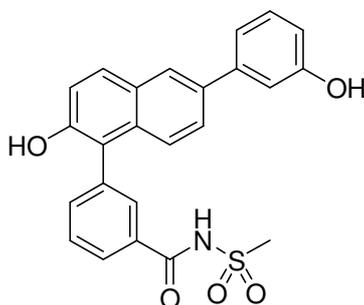
C₂₄H₁₉IO₂; MW 466; R_F-Wert (Hexan/Ethylacetat 8/2): 0.7; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.00 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.61 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.45 – 7.40 (m, 2H), 7.39 – 7.35 (m, 3H), 7.28 – 7.26 (m, 2H), 7.22 – 7.21 (m, 1H), 6.90 (ddd, J = 0.9, J = 2.5 Hz, J = 8.2 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 160.1, 153.9, 142.5, 139.7, 138.3, 136.2, 134.1, 132.6, 131.1, 129.9, 129.8, 129.4, 129.3, 127.3, 126.3, 125.8, 125.4, 123.7, 119.7, 114.0, 113.0, 112.6, 56.7, 55.3;

IR: 2935, 2835, 1591, 1254 1/cm

3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(methylsulfonyl)benzamid (64)



3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(methylsulfonyl)benzamid (80 mg, 0.17 mmol, 1 eq) wurde mit Pyridiniumhydrochlorid (302 mg, 2.6 mmol, 15 eq) bei 190°C für 2h gerührt. Nach Zugabe von 2 ml HCl 1N wurde 10 min bei RT gerührt und die Wasserphase mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und zur Trockne im Vakuum einrotiert. Eine sich anschließende

säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 90/10 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 42% (31 mg).

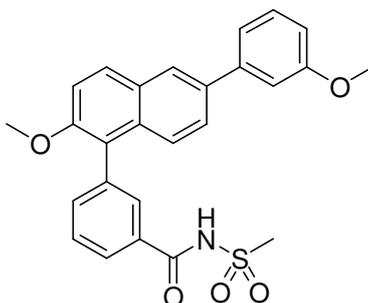
$C_{24}H_{19}NO_5S$; MW 433; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.2; weißer Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): δ 8.04 – 8.03 (m, 1H), 7.95 – 7.89 (m, 2H), 7.72 – 7.71 (m, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 2H), 7.48 – 7.45 (m, 1H), 7.31 – 7.28 (m, 1H), 7.20 – 7.17 (m, 1H), 7.14 (dd, $J = 3.8$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.09 – 7.07 (m, 1H), 7.05 – 7.04 (m, 1H), 6.73 – 6.71 (m, 1H), 1.93 (s, 3H);

IR: 3265, 1705, 1382, 1275, 1160 $1/cm$;

MS (ESI): 432 (M-H) $^-$

3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(methylsulfonyl)benzamid (64a)



Ein 5 ml Reaktionsgefäß mit 1-(3-Iodphenyl)-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (150 mg, 0.32 mmol, 1 eq), $Mo(CO)_6$ (85 mg, 0.32 mmol, 1 eq), $Pd(OAc)_2$ (7.2 mg, 0.03 mmol, 0.01 eq), DBU (145 μ l, 0.96 mmol, 3 eq), Methylsulfonamid (91.7 mg, 0.96 mmol, 3 eq) und 1,4-Dioxan 1 ml wurde 15 min bei 110°C einer Mikrowellenstrahlung von 100W ausgesetzt. Danach wurde das Reaktionsgefäß gekühlt und die Mischung konzentriert. Das in einer kleinen Menge Dichlormethan gelöste Rohprodukt lieferte nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 98/2 das gewünschte Produkt in quantitativer Ausbeute, 148 mg.

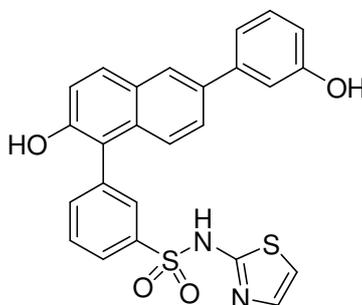
$C_{26}H_{23}NO_5S$; MW 461; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.7; weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CD}_3\text{OD} + 3$ Tropfen CDCl_3): δ 8.05 (m, 1H), 8.02 – 7.98 (m, 2H), 7.96 (bs, 1H), 7.63 – 7.60 (m, 3H), 7.46 – 7.43 (m, 2H), 7.40 – 7.36 (m, 1H), 7.29 – 7.28 (m, 1H), 7.23 – 7.22 (m, 1H), 6.93 – 6.91 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.05 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{CD}_3\text{OD} + 3$ Tropfen CDCl_3): δ 160.4, 154.2, 142.7, 136.5, 131.3, 130.4, 130.2, 129.6, 126.5, 126.1, 125.6, 120.0, 114.3, 113.2, 112.9, 56.8, 55.5, 41.4;

IR: 3328, 3254, 2935, 1693, 1323, 1153 $1/\text{cm}$

3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (65)



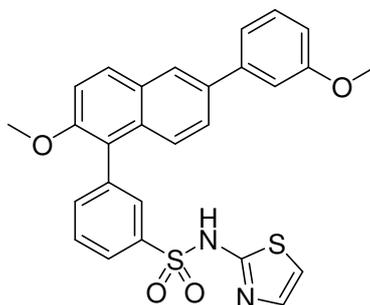
Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (75.3 mg, 0.15 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (14.1 ml, 14.1 mmol, 5 eq) entsprechend der Methode F dargestellt. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 93/7 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 27% (19 mg).

$\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$; MW 474; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.6; gelblicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 7.90 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.86 – 7.84 (m, 1H), 7.82 (m, 1H), 7.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.55 (t, $J = 7.6$, 1H), 7.51 – 7.50 (m, 1H), 7.45 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz), 7.25 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J = 7.9$, 1H), 7.13 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.08 – 7.07 (m, 1H), 7.03 – 7.02 (m, 1H), 7.01 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.68 – 6.66 (m, 1H), 6.62 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H);

MS (ESI): 273 (M-H) $^-$

3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (65a)



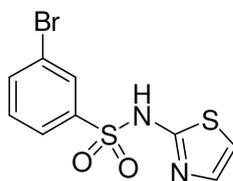
Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-Brom-N-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (88.8 mg, 0.28 mmol, 1 eq) mit 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-ylboronsäure (100 mg, 0.36 mmol, 1.3 eq) entsprechend der Methode C dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 14% (19 mg).

$C_{24}H_{18}N_2O_4S_2$; MW 474; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.6; gelber Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 7.99 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.96 – 7.95 (m, 1H), 7.94 – 7.93 (m, 1H), 7.92 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.56 – 7.52 (m, 3H), 7.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.33 (m, 2H), 7.24 – 7.22 (m, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.97 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 6.98 – 6.87 (m, 1H), 6.43 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.76 (s, 3H);

IR: 3054, 1535, 1255, 1148, 1130 $1/cm$

3-Brom-N-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (65b)



3-Brombenzen-1-sulfonylchlorid (1 g, 3.91 mmol, 1 eq) und Aminothiazol (429.7 mg, 4.30 mmol, 1.1 eq) in 50 ml trockenem Dichlormethan und 0.75 ml trockenem Pyridin wurden unter Stickstoffatmosphäre über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktionsmischung wurde danach eingeeengt und eine sich anschließende säulenchromatographische Aufreinigung mittels Flashapparatur mit Dichlormethan/Methanol 98/2 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 64% (798 mg).

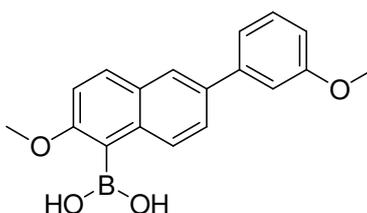
$C_9H_7BrN_2O_2S_2$; MW 320/318; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.7; bräunliche Kristalle

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.04 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.89 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.76 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 1H), 7.16 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 171.2, 144.8, 136.6, 131.7, 130.7, 126.3, 125.0, 124.0, 109.7;

IR: 3084, 1561, 1505, 1315, 1152 $1/cm$

2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-ylboronsäure (65c)



Der Ansatz wurde unter Stickstoffatmosphäre in einem Kaltbad bestehend aus Trockeneis/Aceton ($-78^\circ C$) durchgeführt, die Gefäße über Nacht im Trockenschrank aufbewahrt und zu Beginn der Reaktion 30 min lang Stickstoff in 15 ml trockenes THF geblasen.

In diesem trockenen THF wurden 1-Brom-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (500 mg, 1.46 mmol, 1 eq) gelöst und langsam *n*Butyllithium (1.3 ml, 175 mmol, 1.5 M Lösung in Hexan) dazugegeben. Diese Mischung wurde 30 min bei $-78^\circ C$ gerührt. Anschließend wurde Boronsäuretriisopropylester (0.5 ml, 1.5 eq) beigelegt und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung der Reaktion wurden zunächst 15 ml 2N HCl dazugegeben und 5 min lang gerührt. Diesem Prozedere schloss sich eine Extraktion des Reaktionsgemisches mit Ethylacetat an. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und bis fast zur Trockne im Vakuum eingengt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 1/1 als Eluent lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 66% (297 mg).

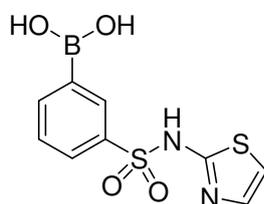
$C_{18}H_{17}BO_4$; MW 308; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.3; weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.76 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.34 (ddd, $J = 1.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.00 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.91 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 161.7, 160.8, 137.4, 136.5, 132.3, 130.9, 128.1, 127.1, 120.5, 114.3, 113.7, 113.6, 56.7, 55.8;

IR: 3505, 3317, 2938, 2837, 1338 $1/\text{cm}$

3-Boron-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (65d)



Der Ansatz wurde unter Stickstoffatmosphäre in einem Kaltbad bestehend aus Trockeneis/Aceton (-78°C) durchgeführt, die Gefäße über Nacht im Trockenschrank aufbewahrt und zu Beginn der Reaktion 30 min lang Stickstoff in 15 ml trockenes THF geblasen.

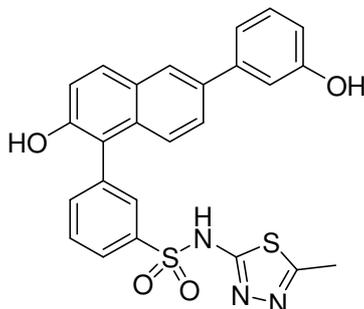
In diesem trockenen THF werden 3-Brom-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid (200 mg, 0.62 mmol, 1 eq) gelöst und langsam *tert*-Butyllithium (1.7 ml, 2.49 mmol, 1.5 M Lösung in Pentan) dazugegeben. Diese Mischung wurde 30 min bei -78°C gerührt. Anschließend wurde Boronsäuretriisopropylester (0.9 ml, 6 eq) beigelegt und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung der Reaktion wurden zunächst 15 ml 2N HCl dazugegeben und 5 min lang gerührt. Diesem Prozedere schloss sich eine Extraktion des Reaktionsgemisches mit Ethylacetat an. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und eingengt. Nach Zugabe von Hexan fiel die gewünschte Boronsäure aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Ausbeute 50% (88 mg)

$\text{C}_9\text{H}_9\text{BN}_2\text{O}_4\text{S}_2$; MW 284; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.1; gelblicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 7.94 – 7.92 (m, 2H), 7.56 – 7.54 (m, 2H), 7.13 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H);

IR: 3216, 1338, 1320, 1136 1/cm

3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid (66)



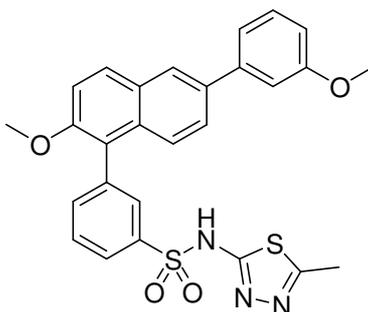
Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid (0.28 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (2.8 ml, 2.8 mmol, 10 eq) entsprechend der Methode F dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 47% (64 mg).

$C_{25}H_{19}N_3O_4S_2$; MW 489; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.5; gelblicher Feststoff

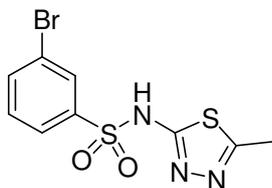
1H -NMR (CD_3OD): δ 8.05 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.97 – 7.95 (m, 1H), 7.93 – 7.92 (m, 1H), 7.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.70 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.67 – 7.66 (m, 1H), 7.60 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.32 – 7.28 (m, 1H), 7.27 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.22 – 7.21 (m, 1H), 7.17 – 7.16 (m, 1H), 6.81 (d, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.50 (s, 3H);

IR: 3317, 1541, 1274, 1140, 1122 1/cm;

MS (ESI): 490 (M+H)⁺

3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid (66a)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-Brom-*N*-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid (92.4 mg, 0.28 mmol, 1 eq) mit 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-ylboronsäure (100 mg, 0.36 mmol, 1.3 eq) entsprechend der Methode C dargestellt. Das Rohprodukt wurde nicht charakterisiert, sondern direkt einer Etherspaltung unterzogen.

3-Brom-*N*-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzensulfonamid (66b)

5-Methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amin (224.6 mg, 1.95 mmol, 1 eq) wurde unter Stickstoffatmosphäre in 2 ml trockenem Pyridin suspendiert und 3-Brombenzen-1-sulfonylchlorid (500 mg, 1.95 mmol, 1 eq) wurde langsam dazugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2h bei ca. 75°C gerührt. Nach Abkühlen wird Natriumcarbonat (85.9 mg, 2.14 mmol, 1.1 eq) in 2 ml gelöst beigefügt und diese Mischung 5 min erhitzt. Pyridin wurde im Vakuum entfernt und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Das gewünschte Produkt wurde als Rückstand in einer Ausbeute von 62% (403 mg) erhalten.

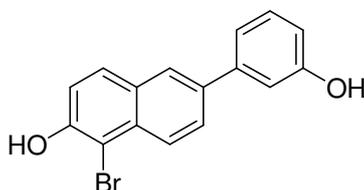
C₉H₈BrN₃O₂S₂; MW 335/333; R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 98/2): 0.1; gelbe Kristalle

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.00 – 7.99 (m, 1H), 7.83 – 7.81 (m, 1H), 7.63 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.76 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.41 – 7.38 (m, 1H), 2.59 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): δ 134.1, 131.3, 130.0, 125.8, 15.7;

IR: 3250, 1644, 1187 $1/\text{cm}$

1-Brom-6-(3-hydroxy-phenyl)-naphthalin-2-ol (67)



Die Verbindung wurde dargestellt durch Reaktion von 1-Brom-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (500 mg, 1.46 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (7.3 ml, 7.3 mmol, 5 eq) entsprechend Methode F. Eine Aufreinigung des Rohproduktes war nicht nötig. Das gewünschte Produkt wurde in quantitativer Ausbeute erhalten.

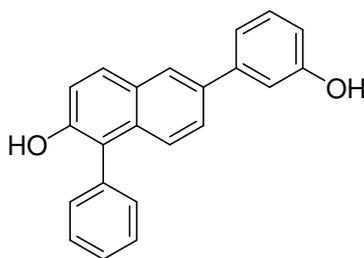
$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{BrO}_2$; MW 316/314; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.6, weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.19 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 0.9$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.25 – 7.23 (m, 1H), 7.19 (m, 1H), 6.83 (ddd, $J = 1.3$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): 156.1, 145.8, 140.2, 136.3, 133.5, 132.8, 130.4, 129.5, 129.2, 121.9, 117.8, 117.4, 112.4;

IR: 3222, 1595, 1583, 1448, 1207, 1187 $1/\text{cm}$;

MS (ESI): 313 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

6-(3-Hydroxyphenyl)-1-phenyl-2-naphthol (68)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)-2-naphthol (50 mg, 0.16 mmol, 1 eq) mit Phenylboronsäure (19.4 mg, 0.16 mmol, 1 eq) entsprechend der Methode A dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 7/3 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 30% (15 mg).

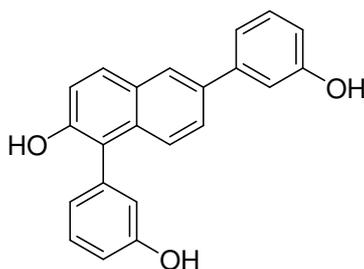
$C_{22}H_{16}O_2$; MW 312; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.6; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.01 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.56 – 7.53 (m, 2H), 7.48 – 7.45 (m, 2H), 7.42 – 7.40 (m, 2H), 7.30 – 7.27 (m, 1H), 7.26 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.21 – 7.19 (m, 1H), 7.17 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.80 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 161.4, 155.2, 146.3, 140.3, 139.2, 137.1, 134.8, 133.4, 132.8, 131.9, 130.7, 129.1, 129.0, 128.7, 125.7, 122.0, 121.9, 117.5, 117.3;

IR: 3421, 1597, 1494, 1271, 1170 $1/cm$

MS (ESI): 311 (M-H) $^-$

1,6-Bis(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (69)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1,6-Dibromnaphthalin-2-ol (200 mg, 0.66 mmol, 1 eq) mit 3-Hydroxybenzenboronsäure (182.8 mg, 1.32 mmol, 2 eq) entsprechend Methode A in 21h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 99/1 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 5% (11 mg).

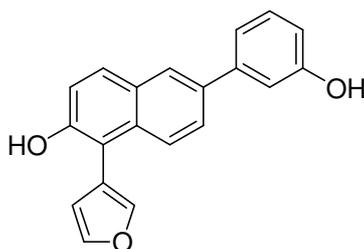
$C_{22}H_{16}O_3$; MW 328; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 98/2): 0.2; gelblicher Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): δ 7.92 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.39 – 7.36 (m, 1H), 7.26 – 7.23 (m, 1H), 7.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.16 – 7.14 (m, 1H), 7.11 – 7.10 (m, 1H), 6.92 (ddd, $J = 0.9$, Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.89 – 6.87 (m, 1H), 6.85 – 6.84 (m, 1H), 6.78 (ddd, $J = 0.9$, Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): 157.5, 156.9, 150.3, 142.6, 135.9, 135.8, 132.5, 130.5, 129.8, 129.5, 125.7, 125.2, 122.4, 121.0, 118.9, 117.9, 117.8, 115.3, 114.0;

IR: 3355, 1702, 1581, 1494, 1447, 1203, 1154 $1/cm$;

MS (ESI): 327 (M-H) $^-$

1-(Furan-3-yl)-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (70)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (80 mg, 0.25 mmol, 1 eq) mit 3-Furanboronsäure (28.4 mg, 0.25 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 21h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 98/2 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 46% (35 mg).

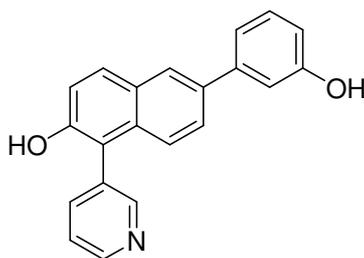
$C_{20}H_{14}O_3$; MW 302; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.8; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD + 3 Tropfen $CDCl_3$): δ 7.98 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.64 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.31 – 7.28 (m, 1H), 7.23 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.81 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 0.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD + 3 Tropfen $CDCl_3$): δ 161.3, 156.1, 146.6, 146.3, 145.8, 139.4, 137.2, 133.5, 133.0, 132.8, 129.4, 128.7, 122.5, 122.1, 121.9, 117.7, 117.5, 116.9, 116.1;

IR: 3340, 1601, 1493 $1/cm$;

MS (ESI): 301 (M-H) $^-$

6-(3-Hydroxyphenyl)-1-(pyridin-3-yl)naphthalin-2-ol (71)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) mit 3-Pyridinboronsäure (39 mg, 0.32 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 21h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 7/3 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 59% (59 mg).

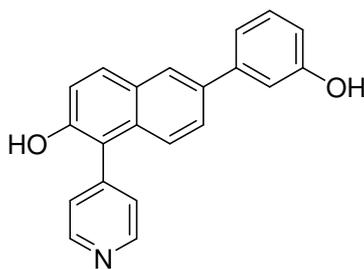
$C_{21}H_{15}NO_2$; MW 313; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.5; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 9.03 (m, 1H), 8.95 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 8.81 – 8.79 (m, 1H), 8.30 (dd, $J = 5.7$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.23 – 7.21 (m, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.83 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 159.1, 154.1, 151.0, 144.8, 143.2, 140.8, 133.3, 133.1, 131.0, 130.3, 128.4, 128.2, 127.2, 124.1, 119.3, 119.1, 115.4, 114.8;

IR: 3091, 1581, 1493, 1276, 1209, 1180 $1/cm$;

MS (ESI): 314 ($M+H$) $^+$

6-(3-Hydroxyphenyl)-1-(pyridin-4-yl)naphthalin-2-ol (72)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) mit 4-Pyridinboronsäure (39 mg, 0.32 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 1h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 8/2 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 44% (44 mg).

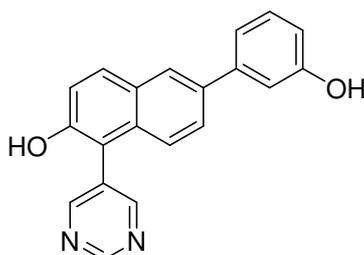
$C_{21}H_{15}NO_2$; MW 313; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.1; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.95 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 8.26 (d, $J = 2.6$ Hz, 2H), 8.13 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.77 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.34 – 7.31 (m, 1H), 7.24 - 7.22 (m, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.84 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 159.0, 153.0, 149.9, 148.1, 143.5, 137.1, 133.8., 133.1, 133.0, 131.6, 130.9, 130.0, 129.9, 128.4, 127.2, 126.8, 125.2, 119.4, 119.3, 115.2, 114.8;

IR: 3080, 1631, 1596, 1580, 1359, 1276, 1201, 1179 $1/cm$;

MS (ESI): 314 ($M+H$) $^+$

6-(3-Hydroxyphenyl)-1-(pyrimidin-5-yl)naphthalin-2-ol (73)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (150 mg, 0.48 mmol, 1 eq) mit 3-Pyrimidinboronsäure (59.0 mg, 0.48 mmol, 1 eq) entsprechend

Methode A in 15h dargestellt. Der Ansatz wurde allerdings nicht unter sauerstofffreien Bedingungen durchgeführt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 99/1 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 9% (14 mg).

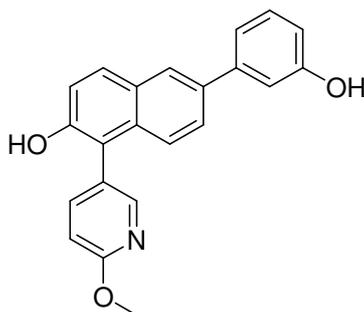
$C_{20}H_{14}N_2O_2$; MW 314; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.4; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 9.29 (s, 1H), 9.22 (s, 2H), 8.09 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.28 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.20 (ddd, $J = 1.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.18 – 7.15 (m, 2H), 6.87 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 159.4, 156.5, 154.5, 144.0, 142.,1 130.3, 126.7, 126.6, 126.4, 119.7, 119.4, 119.3, 116.1, 114.9, 114.8;

IR: 3202, 2922, 1728, 1596, 1580, 1274 $1/cm$;

MS (ESI): 313 (M-H) $^-$

6-(3-Hydroxyphenyl)-1-(6-methoxy-pyridin-3-yl)naphthalin-2-ol (74)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) mit 6-Methoxy-pyridin-3-ylboronsäure (48.6 mg, 0.32 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 3h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 8/2 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 84% (92 mg).

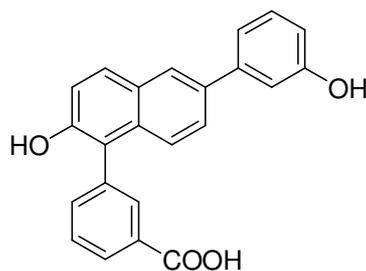
$C_{22}H_{17}NO_3$; MW 343; R_f -Wert(Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.6; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.72 (dd, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.29 – 7.26 (m, 1H), 7.26 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.98 (dd, $J = 0.6$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.81 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.02 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 164.8, 158.9, 153.6, 149.5, 143.7, 143.5, 136.8, 134.7, 130.9, 130.3, 126.9, 126.8, 125.5, 119.4, 118.9, 115.1, 114.8, 111.2, 54.2;

IR: 3357, 2917, 2849, 1586, 1493, 1177 $1/cm$;

MS (ESI): 344 (M+H) $^+$

3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)benzoesäure (75)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) mit 3-Carboxybenzenboronsäure (52.7 mg, 0.32 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A über Nacht dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 3/2 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 15% (17 mg).

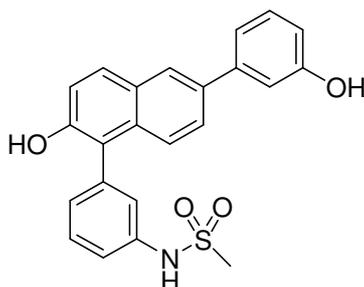
$C_{23}H_{16}O_4$; MW 356; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.2; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.14 – 8.12 (m, 1H), 8.08 (m, 1H), 8.04 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.66 – 7.65 (m, 2H), 7.62 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 7.28 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.23 – 7.21 (m, 1H), 7.18 – 7.17 (m, 1H), 6.80 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): 158.9, 143.7, 138.3, 137.0, 136.8, 134.3, 133.6, 130.8, 130.7, 129.5, 126.8, 126.7, 125.8, 119.5, 119.3, 115.0, 114.8;

IR: 2967, 1676, 1595, 1282, 1158 $1/cm$;

MS (ESI): 355 (M-H) $^-$

***N*-(3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)phenyl)methansulfonamid (76)**

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) mit *N*-(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)methansulfonamid (94.3 mg, 0.32 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 2h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 3/2 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 64% (83 mg).

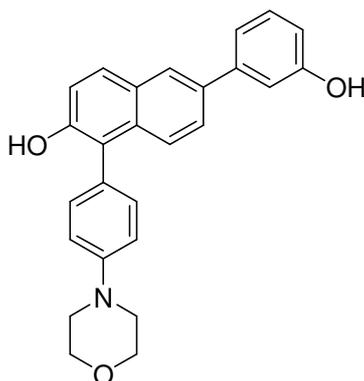
$C_{23}H_{19}NO_4S$; MW 405; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.3; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD + 3 Tropfen $CDCl_3$): δ 8.01 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.53 – 7.50 (m, 2H), 7.39 – 7.37 (m, 1H), 7.32 (m, 1H), 7.29 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.23 – 7.20 (m, 2H), 7.17 - 7.16 (m, 1H), 6.82 – 6.80 (m, 1H), 3.07 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD + 3 Tropfen $CDCl_3$): 161.4, 155.3, 146.3, 142.1, 141.7, 139.3, 136.8, 133.4, 133.1, 133.0, 132.8, 131.2, 129.3, 129.2, 128.6, 127.0, 124.9, 123.0, 122.0, 121.9, 117.6, 117.4, 64.1;

IR: 3406, 1600, 1585, 1323, 1268, 1149 $1/cm$;

MS (ESI): 404 (M-H) $^-$

6-(3-Hydroxyphenyl)-1-(4-morpholinphenyl)naphthalin-2-ol (77)

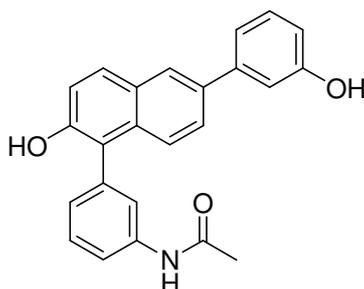
Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (150 mg, 0.48 mmol, 1 eq) mit 4-Morpholinphenylboronsäure (98.6 mg, 0.48 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 21h dargestellt. Der Ansatz wurde allerdings nicht unter sauerstofffreien Bedingungen durchgeführt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 99/1 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 7% (13 mg).

$C_{26}H_{13}NO_3$; MW 397; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.4; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.01 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.33 – 7.31 (m, 2H), 7.28 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.22 – 7.20 (m, 1H), 7.18 – 7.16 (m, 3H), 6.80 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 3.94 – 3.92 (m, 4H), 3.29 – 3.27 (m, 4H);

IR: 3367, 2924, 1598, 1448, 1237, 1114 $1/cm$;

MS (ESI): 398 (M+H) $^+$

***N*-(3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)phenyl)acetamid (78)**

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (150 mg, 0.48 mmol, 1 eq) mit *N*-(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)acetamid (124.3 mg, 0.48 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 2h dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 8/2 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 77% (136 mg).

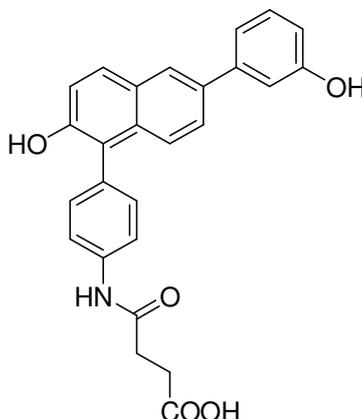
$C_{24}H_{19}NO_3$; MW 369; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.2; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.02 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.72 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 2.2$ Hz, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.56 – 7.55 (m, 1H), 7.51 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.29 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.21 – 7.19 (m, 1H), 7.17 – 7.15 (m, 2H), 6.80 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.18 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 175.5, 174.3, 161.4, 155.2, 146.3, 142.5, 141.0, 139.2, 137.0, 133.4, 132.9, 132.8, 132.3, 130.7, 129.1, 128.7, 126.7, 125.2, 122.8, 122.0, 121.9, 117.5, 117.3, 17.0;

IR: 3329, 1706, 1665, 1600, 1585, 1489, 1241, 1043 $1/cm$;

MS (ESI): 370 ($M+H$) $^+$

4-(4-(2-hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)phenylamino)-4-oxobutansäure (79)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 1-Brom-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (100 mg, 0.32 mmol, 1 eq) mit 4-Oxo-4-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenylamino)butansäure (101.3 mg, 0.32 mmol, 1 eq) entsprechend Methode A in 10 min dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 90/10 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 12% (16 mg).

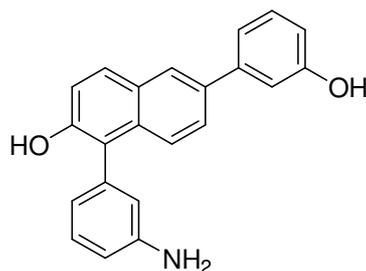
$C_{26}H_{21}NO_5$; MW 427; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.5; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.02 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.74 – 7.72 (m, 2H), 7.60 (dd, $J = 1.8$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.38 – 7.36 (m, 2H), 7.30 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.22 – 7.20 (m, 1H), 7.17 – 7.16 (m, 1H), 6.80 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.4$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H), 2.81 – 2.75 (m, 4H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 171.3, 142.4, 132.0, 131.3, 129.4, 128.9, 125.1, 124.7, 121.2, 119.8, 118.1, 117.9, 113.3, 30.8, 28.5;

IR: 3322, 2923, 1711, 1665, 1595, 1521, 1260, 1170 $1/cm$;

MS (ESI): 445 ($M+H_2O$) $^+$

1-(3-Aminophenyl)-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-2-ol (80)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)benzenamin (1 g, 2.82 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (14.1 ml, 14.1 mmol, 5 eq) entsprechend der Methode F dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung war nicht nötig, das gewünschte Produkt wurde nach Aufarbeitung in quantitativer Ausbeute erhalten (922 mg).

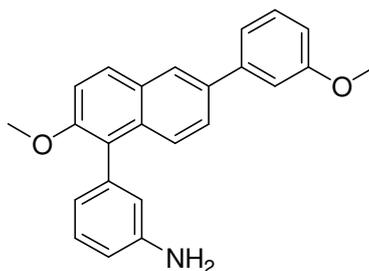
$C_{22}H_{17}NO_2$; MW 327; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.5; leicht brauner Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.00 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.32 – 7.29 (m, 1H), 7.29 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.22 – 7.20 (m, 1H), 7.17 – 7.16 (m, 1H), 6.87 – 6.85 (m, 1H), 6.81 – 6.79 (m, 2H), 6.75 – 6.73 (m, 1H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): 158.9, 152.4, 148.9, 143.9, 136.6, 134.6, 130.8, 130.2, 130.0, 126.5, 126.4, 126.3, 123.5, 122.1, 119.5, 119.4, 119.3, 115.7, 115.0, 114.8;

IR: 3387, 3282 $1/cm$;

MS (ESI): 326 (M-H) $^-$

3-(2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin-1-yl)phenylamin (80a)

Ein Rundkolben mit einer Mischung aus 1-Brom-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (2.2 g, 6.4 mmol, 1 eq), 3-Aminobenzonboronsäure (1 g, 6.4 mmol, 1 eq), Natriumcarbonat

(81.4 g, 12.8 mmol, 2 eq), TBAB (2.08 g, 6.4 mmol, 1 eq), Pd(OAc)₂ (57.6 mg, 0.26 mmol, 0.04 eq) und 14 ml Wasser wurde 1h in einem auf 150°C vorgeheizten Ölbad gerührt. Nach Abkühlen wurde Wasser dazugegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 99/1 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 81% (1.8 g).

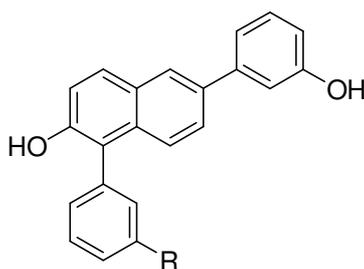
C₂₄H₂₁NO₂; MW 355; R_f-Wert (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.2; gelblicher Feststoff

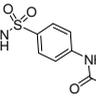
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.99 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.57 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.36 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.30 – 7.26 (m, 2H), 7.21 – 7.20 (m, 1H), 6.90 – 6.88 (m, 1H), 6.77 – 6.74 (m, 2H), 6.71 – 6.70 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (s, 3H);

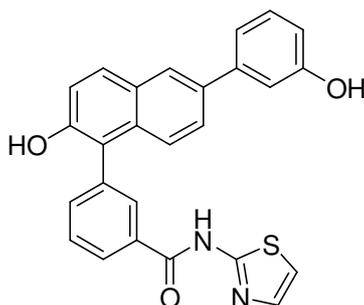
¹³C-NMR (CDCl₃): δ 160.0, 153.8, 146.2, 137.5, 136.0, 133.0, 129.8, 129.2, 129.1, 126.1, 125.9, 125.7, 125.6, 121.4, 119.8, 117.7, 114.4, 114.1, 113.0, 112.5, 56.9, 55.3;

IR: 3448, 3365, 2963, 2936 1/cm

Verbindungen 81-97



<i>Verbindung</i>	<i>R</i>	<i>MW</i>	<i>Area ELSD (%)</i>	<i>MS Retentionszeit</i>
81		518	100	5.88
82		507	100	6.14
83		512	99.54	5.94
84		492	90.12	5.78
85		546	100	6.12
86		561	100	5.90
87		524	99.2	5.43
88		597	100	6.15
89		512	98.93	5.95
90		629	100	6.50
91		580	97.93	6.25
92		547	93.1	5.78
93		628	95.93	6.42
94		524	100	5.68
95		473	100	5.81
96		606	100	5.92
97		581	99.73	6.23

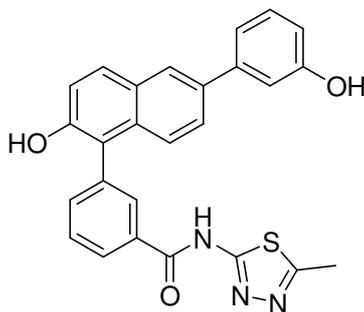
3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(thiazol-2-yl)benzamid (98)

Zu 3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)benzoesäure (79 mg, 0.22 mmol, 1 eq), welches unter Stickstoffatmosphäre in 2 ml trockenem DME gelöst wurde, wurden 100 μ l Thionylchlorid (6 eq) dazugegeben und 2h bei RT gerührt. Nach Einrotieren des überschüssigen Thionylchlorid im Vakuum, wurde der Rückstand in trockenem DME gelöst und zu einer auf 0°C gekühlten Suspension von 2-Aminothiazol (22.2 mg, 0.22 mmol, 1 eq) in trockenem Dichlormethan getropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel einrotiert. Eine säulenchromatographische Aufreinigung des Rohproduktes mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 13% (13 mg).

$C_{26}H_{18}N_2O_3S$; MW 438; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.7; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD + 3 Tropfen $CDCl_3$): δ 8.19 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.06 – 8.04 (m, 2H), 8.00 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.83 – 7.80 (m, 2H), 7.59 – 7.56 (m, 2H), 7.54 – 7.53 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.24 – 7.22 (m, 1H), 7.18 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.83 (ddd, $J = 0.9$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H);

IR: 3260, 1651, 1599, 1543, 1322, 1291 $1/cm$;

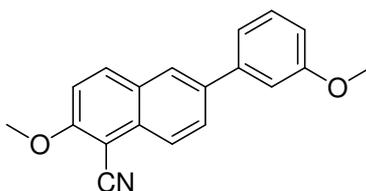
3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)-N-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzamid (99)

Zu 3-(2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin-1-yl)benzoesäure (220 mg, 0.62 mmol, 1 eq), welches unter Stickstoffatmosphäre in 5 ml trockenem DME gelöst wurde, wurde Thionylchlorid 600 μ l (13 eq) dazugegeben und 2h bei RT gerührt. Nach Einrotieren des überschüssigen Thionylchlorid im Vakuum, wurde der Rückstand in trockenem THF gelöst und zu einer auf 0°C gekühlten Suspension von 5-Methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amin (42.6 mg, 0.74 mmol, 1.2 eq) in trockenem Dichlormethan getropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel einrotiert. Eine säulenchromatographische Aufreinigung des Rohproduktes mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 47% (132 mg).

$C_{26}H_{19}N_3O_3S$; MW 453; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 90/10): 0.7; gelblicher Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): δ 8.07 – 8.05 (m, 1H), 7.97 – 7.96 (m, 2H), 7.87 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 1.9 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.55 – 7.54 (m, 1H), 7.48 – 7.45 (m, 2H), 7.16 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.14 – 7.13 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.77 (ddd, J = 0.9 Hz, J = 2.5 Hz, J = 8.2 Hz, 1H), 2.65 (s, 3H);

IR: 3406, 1541, 1247, 1140, 1122 $1/cm$;

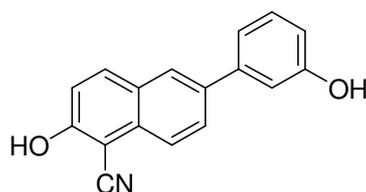
2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthonitril (100)

1-Brom-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (300 mg, 0.87 mmol, 1 eq), $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ (139.5 mg, 0.33 mmol, 0.22 eq), Na_2CO_3 (159 mg, 1.5 mmol, 1 eq), $Pd(OAc)_2$ (3.3 mg, 0.015 mmol, 0.01 eq) wurden in DMAC (9 ml) unter Stickstoffatmosphäre über Nacht auf 120°C erhitzt. Anschließend wurde für drei weitere Stunden auf 170°C erhitzt. Nachdem das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde mit Ethylacetat (30 ml) verdünnt und filtriert. Das Filtrat wurde mit Wasser (2*30 ml) und 5% NH_4OH -Lösung (30 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedunstet. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 7/3 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 52% (131 mg).

$C_{19}H_{15}NO_2$; MW 289; R_f (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.4; gelber Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$): δ 8.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.40 – 7.36 (m, 1H), 7.28 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.26 – 7.24 (m, 1H), 7.19 – 7.18 (m, 1H), 6.92 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 0.7$ Hz, 1H), 4.07 (s, 3H), 3.87 (s, 3H);

IR: 2943, 2838, 2219, 1643, 1595, 1493, 1280, 1261, 1043 $1/cm$

1-Cyano-2-hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)naphthalin (101)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-naphthonitril (28 mg, 0.10 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (0.50 ml, 0.50 mmol, 5 eq) entsprechend der Methode F dargestellt. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 90/10 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 84% (22 mg).

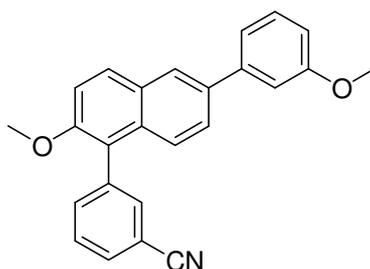
$C_{17}H_{11}NO_2$; MW 261; gelblicher Feststoff

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 8.01 – 7.99 (m, 2H), 7.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J = 8.6$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.26 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.17 – 7.14 (m, 2H), 7.12 (m, 1H), 6.80 – 6.78 (m, 1H);

IR: 3475, 3187, 2981, 2228, 1735, 1703, 1496, 1282, 1262, 817 $1/\text{cm}$

MS (ESI): 260 (M-H^-)

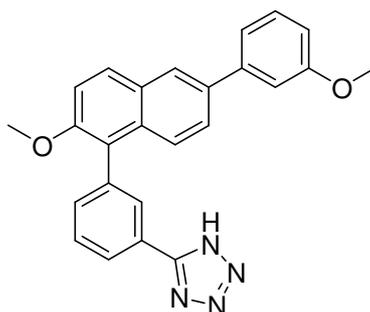
1-(3-Cyanophenyl)-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (102)



1-Brom-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (159 mg, 0.46 mmol, 1 eq), 3-Cyanophenylboronsäure (88 mg, 0.6 mmol, 1.3 eq), 10% Pd/C (4.9 mg, 0.0046 mmol, 0.01 eq), Na_2CO_3 (180 mg, 1.7 mmol, 3.7 eq) und TBAB (148 mg, 0.46 mmol, 1 eq) wurden zusammen mit Wasser (2 ml) in einem verschließbaren Mikrowellen-Reaktionsgefäß gemischt. Das Gefäß wurde mit Stickstoff gespült und verschlossen. Die Reaktion wurde mit Hilfe von Mikrowellenstrahlung initiiert (300W, von RT auf 120°C in 1 min, 25 min bei 120°C). Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch mit Ethylacetat ($3 \cdot 20$ ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Hexan 1/1 lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 32% (70 mg).

$\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{NO}_2$; MW 365; R_f (Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.4; gelbes Öl

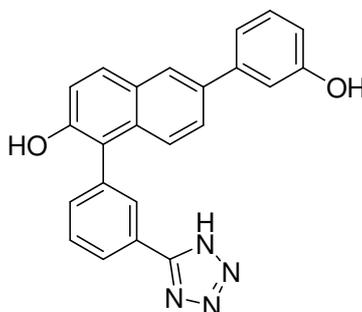
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 8.04 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.73 – 7.71 (m, 2H), 7.65 – 7.61 (m, 3H), 7.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 7.28 – 7.27 (m, 1H), 7.22 – 7.21 (m, 1H), 6.92 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H);

1-(3-Tetrazolphenyl)-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (103)

1-(3-Cyanophenyl)-2-methoxy-6-(3-methoxyphenyl)naphthalin (50 mg, 0.14 mmol, 1 eq), NaN₃ (107 mg, 1.64 mmol, 12 eq) und NH₄Cl (88 mg, 1.64 mmol, 12 eq) wurden zusammen mit DMF (1 ml) in einem verschließbaren Mikrowellen-Reaktionsgefäß gemischt. Das Gefäß wurde mit Stickstoff gespült und verschlossen. Die Reaktion wurde mit Hilfe von Mikrowellenstrahlung initiiert (100W, von RT auf 150°C in 1 min, 45 min bei 120°C, 10 bar max). Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt und mit Ethylacetat gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und die Lösemittel im Vakuum eingedampft. Die Aufreinigung erfolgte mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 95/5 als Eluent. Ausbeute: 66% (38 mg)

C₂₅H₂₀N₄O₂; MW 408; R_f (Dichlormethan/Methanol 95/5): 0.4; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (Aceton-d₆): δ 8.22-8.21 (m, 2H), 8.13 – 8.10 (m, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.77 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 8.9 Hz, J = 1.9 Hz, 1H), 7.61 – 7.59 (m, 2H), 7.54 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.41 – 7.38 (m, 1H), 7.35 – 7.31 (m, 2H), 6.94 (ddd, J = 8.0 Hz, J = 2.5 Hz, J = 0.9 Hz, 1H), 3.88 (s, 6H);

2-Hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-1-(3-tetrazolphenyl)-naphthalin (104)

Die Verbindung wurde durch Reaktion von 2-Methoxy-6-(3-methoxyphenyl)-1-(3-tetrazolphenyl)-naphthalin (37 mg, 0.09 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (0.54 ml, 0.54

mmol, 6 eq) entsprechend der Methode F dargestellt. Eine Aufreinigung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan/Methanol 90/10 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 81% (28 mg).

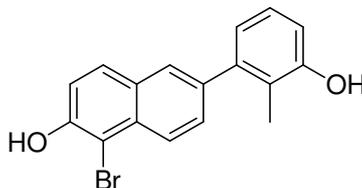
$C_{23}H_{16}N_4O_2$; MW 380; gelblicher Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 8.10 – 8.09 (m, 1H), 8.06 – 8.05 (m, 1H), 8.04 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.60 – 7.57 (m, 2H), 7.46 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.26 – 7.23 (m, 2H), 7.17 – 7.16 (m, 1H), 7.12 – 7.11 (m, 1H), 6.76 – 6.74 (ddd, $J = 8.0$ Hz, $J = 2.4$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1H);

IR: 3414, 2961, 2927, 2513, 1702, 1591, 1262, 1042 $1/cm$;

MS (ESI): 379 (M-H) $^-$

1-Brom-6-(3-hydroxy-2-methylphenyl)naphthalin-2-ol (105)



Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-(5-Brom-6-methoxynaphthalin-2-yl)-2-methylphenol (147 mg, 0.43 mmol, 1 eq) mit Bortribromidlösung (5 eq) entsprechend der Methode F dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan/Methanol 99/1 als Eluent lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 51% (72 mg).

$C_{17}H_{13}BrO_2$; MW 330/328; R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 98/2): 0.4; weißer Feststoff

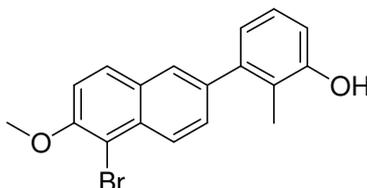
1H -NMR (CD_3OD): δ 8.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.11 – 7.08 (m, 1H), 6.84 – 6.81 (m, 2H), 2.15 (s, 3H);

^{13}C -NMR (CD_3OD): 156.9, 153.5, 144.3, 139.0, 133.4, 130.5, 130.4, 130.0, 129.0, 127.0, 126.0, 123.5, 122.3, 119.3, 114.7, 106.0, 13.6;

IR: 3346, 2925, 1601, 1580, 1461, 1355, 1270, 1198, 1104, 1012 1/cm;

MS (ESI): 327/329 (M-H)⁻

3-(5-Brom-6-methoxynaphthalin-2-yl)-2-methylphenol (105a)

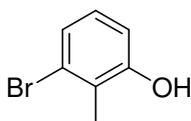


Die Verbindung wurde durch Reaktion von 3-Brom-2-methylphenol (200 mg, 1.07 mmol, 1 eq) mit 5-Brom-6-methoxynaphthalin-2-ylboronsäure (421 mg, 1.50 mmol, 1.4 eq) entsprechend der Methode A in DME über Nacht dargestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 1/1 lieferte die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 16% (59 mg).

C₁₈H₁₅BrO₂, MW 344/342, R_f-Wert (Eluent Hexan/Ethylacetat 7/3): 0.4, gelblicher Feststoff

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.04 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.36 (dd, J = 1.8 Hz, J = 8.8 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 6.92 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.66 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 1.97 (s, 3H);

3-Brom-2-methylphenol (105b)



10 ml H₂SO₄ konz. wurden in einen Rundkolben gegeben und unter Rühren auf 5°C abgekühlt. Dazu gab man in kleinen Portionen die abgewogene Menge an NaNO₂ (690 mg, 0,01 mol, 1 eq) hinzu. Es sollte eine klare Lösung entstehen. Wenn dies nicht der Fall ist, wird diese Lösung kurz auf 70°C erhitzt. Die entstandene klare Lösung wurde wieder auf 5°C abgekühlt. Nachdem die Lösung die Temperatur erreicht hatte, gab man langsam 3-Bromo-2-methylanilin (1.2 ml, 0.01 mol, 1 eq.) hinzu und rührte bei 5°C für 5-10 Minuten.

Währenddessen kühlte man eine Lösung aus 10 ml Wasser und 2 ml H₂SO₄ konz. ebenfalls auf 5°C. Diese Wasser-Schwefelsäure-Mischung gab man nach den 5-10 Minuten langsam dem Reaktionsansatz zu.

Nach der Zugabe des Wasser-Schwefelsäure-Gemisches erhitzte man den Ansatz für 1h auf 70°C. Das Reaktionsgemisch wurde mit Hexan ausgeschüttelt und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und zur Trockne einrotiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mittels Hexan/Ethylacetat 8/2 wurde das gewünschte Produkt in 75% Ausbeute (1.4 g) erhalten.

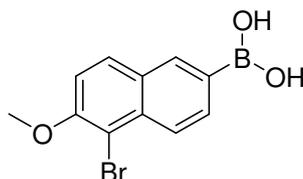
C_7H_7BrO , MW 188/186, R_f -Wert (Eluent H/E 7/3): 0.4, weißer Feststoff

1H -NMR (CD_3OD): δ 7.04 – 7.03 (m, 1H), 6.92 – 6.89 (m, 1H), 6.77 – 6.75 (m, 1H), 2.30 (s, 3H)

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ 157.6, 128.3, 114.7, 15.7

IR: 3295, 2924, 706 $1/cm$

5-Brom-6-methoxynaphthalinboronsäure (105c)



6-Methoxynaphthalinboronsäure (400 mg, 1.98 mmol, 1 eq) und NBS (1.1 eq) wurden in 8 ml THF 1h unter Reflux gekocht. Nach Waschen mit 1N HCl wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum einrotiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Hexan/Ethylacetat 1/1 wurde die Verbindung in einer Ausbeute von 96% erhalten (534 mg).

$C_{11}H_{10}BBrO_3$; MW 282/280; R_f -Wert (Hexan/Ethylacetat 1/1): 0.3; weißer Feststoff

1H -NMR ($CDCl_3$ + 3 Tropfen CD_3OD): δ 8.09 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.76 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.69 – 7.67 (m, 1H), 7.20 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H);

IR: 3193, 2941, 1690, 1624, 1478, 1375, 1338, 1273, 1244 $1/cm$

7 Literatur

1. Deroo, B. J.; Korach, K. S., Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest* **2006**, 116, (3), 561-70.
2. Fernandez, S. V.; Russo, I. H.; Russo, J., Estradiol and its metabolites 4-hydroxyestradiol and 2-hydroxyestradiol induce mutations in human breast epithelial cells. *Int J Cancer* **2006**, 118, (8), 1862-8.
3. Gangloff, A.; Garneau, A.; Huang, Y. W.; Yang, F.; Lin, S. X., Human oestrogenic 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase specificity: enzyme regulation through an NADPH-dependent substrate inhibition towards the highly specific oestrone reduction. *Biochem J* **2001**, 356, (Pt 1), 269-76.
4. Bulun, S. E.; Yang, S.; Fang, Z.; Gurates, B.; Tamura, M.; Zhou, J.; Sebastian, S., Role of aromatase in endometrial disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2001**, 79, (1-5), 19-25.
5. Labrie, C.; Belanger, A.; Labrie, F., Androgenic activity of dehydroepiandrosterone and androstenedione in the rat ventral prostate. *Endocrinology* **1988**, 123, (3), 1412-7.
6. Labrie, F.; Belanger, A.; Simard, J.; Luu-The, V.; Labrie, C., ["Intracrinology". Autonomy and freedom of peripheral tissues]. *Ann Endocrinol (Paris)* **1995**, 56, (1), 23-9.
7. Labrie, F.; Luu-The, V.; Labrie, C.; Pelletier, G.; El-Alfy, M., Intracrinology and the skin. *Horm Res* **2000**, 54, (5-6), 218-29.
8. Miyoshi, Y.; Ando, A.; Shiba, E.; Taguchi, T.; Tamaki, Y.; Noguchi, S., Involvement of up-regulation of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in maintenance of intratumoral high estradiol levels in postmenopausal breast cancers. *Int J Cancer* **2001**, 94, (5), 685-9.
9. Gunnarsson, C.; Olsson, B. M.; Stal, O., Abnormal expression of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in breast cancer predicts late recurrence. *Cancer Res* **2001**, 61, (23), 8448-51.

10. Kitawaki, J., Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* **2003**, 83, 149-155.
11. Vihko, P.; Harkonen, P.; Oduwole, O.; Torn, S.; Kurkela, R.; Porvari, K.; Pulkka, A.; Isomaa, V., 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases and cancers. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2002**, 83, (1-5), 119-22.
12. Vihko, P.; Harkonen, P.; Soronen, P.; Torn, S.; Herrala, A.; Kurkela, R.; Pulkka, A.; Oduwole, O.; Isomaa, V., 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases--their role in pathophysiology. *Mol Cell Endocrinol* **2004**, 215, (1-2), 83-8.
13. Santner, S. J.; Feil, P. D.; Santen, R. J., In situ estrogen production via the estrone sulfatase pathway in breast tumors: relative importance versus the aromatase pathway. *J Clin Endocrinol Metab* **1984**, 59, (1), 29-33.
14. Urdl, W., Der derzeitige Stand der konservativen Therapie der Endometriose. *J Reproduktionsmed Endokrinol* **2006**, 3, (1), 24-30.
15. Meyer, R., Über den Stand der Frage der Adenomyositis und Adenome im allgemeinen und insbesondere über Adenomyositis seoepithelialis und Adenomyometritis sarcomatosa. *Zentralbl Gynäkol* **1919**, 43, 745-750.
16. Nap, A. W.; Groothuis, P. G.; Demir, A. Y.; Evers, J. L.; Dunselman, G. A., Pathogenesis of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* **2004**, 18, (2), 233-44.
17. Halme, J.; Hammond, M. G.; Hulka, J. F.; Raj, S. G.; Talbert, L. M., Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* **1984**, 64, (2), 151-4.
18. Sampson, J., Ovarien hematomas of endometrial type (perforating hemorrhagic cysts of the ovary) and implantation adenomas of endometrial type. *Boston Med Surg J* **1922**, 186, 445-473.

19. Sampson, J., Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* **1927**, 14, 422-469.
20. Leyendecker, G.; Herbertz, M.; Kunz, G.; Mall, G., Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. *Hum Reprod* **2002**, 17, (10), 2725-36.
21. Karaer, O.; Oruc, S.; Koyuncu, F. M., Aromatase inhibitors: possible future applications. *Acta Obstet Gynecol Scand* **2004**, 83, (8), 699-706.
22. Zeitoun, K.; Takayama, K.; Sasano, H.; Suzuki, T.; Moghrabi, N.; Andersson, S.; Johns, A.; Meng, L.; Putman, M.; Carr, B.; Bulun, S. E., Deficient 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17 β -estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* **1998**, 83, (12), 4474-80.
23. Fagotti, A.; Ferrandina, G.; Fanfani, F.; Legge, F.; Lauriola, L.; Gessi, M.; Castelli, P.; Barbieri, F.; Minelli, L.; Scambia, G., Analysis of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in different sites of endometriosis and correlation with clinico-pathological parameters. *Hum Reprod* **2004**, 19, (2), 393-7.
24. Hayes, E. C.; Rock, J. A., COX-2 inhibitors and their role in gynecology. *Obstet Gynecol Surv* **2002**, 57, (11), 768-80.
25. Dogne, J. M.; Hanson, J.; Supuran, C.; Pratico, D., Coxibs and cardiovascular side-effects: from light to shadow. *Curr Pharm Des* **2006**, 12, (8), 971-5.
26. Rice, V., Conventional medical therapies for endometriosis. *Ann NY Acad Sci* **2001**, 955, 343-359.
27. Bulun, S.; Lin, Z.; Imir, K.; Amin, S.; Demura, M.; Yilmaz, B.; Martin, R.; Utsunomiya, H.; Thung, S.; Gurates, B.; Tamura, M.; Langoi, D.; Deb, S., Regulation of Aromatase Expression in Estrogen-Responsive Breast and Uterine Disease: From Bench to Treatment. *Pharmacol Rev* **2005**, 57, (3), 359-383.

28. Soysal S., S. M., Ozer S., Gul N., Gezgin T., The effects of postsurgical administration of goserelin plus anastrozole compared with goserelin alone in patients with severe endometriosis: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* **2004**, 19, 160-167.
29. Geisler, J.; Lonning, P. E., Aromatase inhibitors as adjuvant treatment of breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* **2006**, 57, (1), 53-61.
30. Nicholls, P. J., Breast cancer management: science and care together. *Pharm J* **1997**, 259, 459-470.
31. Coulson, C., Molecular Mechanism of Drug Action. *Steroid biosynthesis and action, 2nd edition* **1994**, 95-122.
32. Lower, E. E.; Blau, R.; Gazder, P.; Stahl, D. L., The effect of estrogen usage on the subsequent hormone receptor status of primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **1999**, 58, (3), 205-11.
33. Recchione, C.; Venturelli, E.; Manzari, A.; Cavalleri, A.; Martinetti, A.; Secreto, G., Testosterone, dihydrotestosterone and oestradiol levels in postmenopausal breast cancer tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* **1995**, 52, (6), 541-6.
34. Yoshimura, N.; Harada, N.; Bukholm, I.; Karesen, R.; Borresen-Dale, A. L.; Kristensen, V. N., Intratumoural mRNA expression of genes from the oestradiol metabolic pathway and clinical and histopathological parameters of breast cancer. *Breast Cancer Res* **2004**, 6, (2), R46-55.
35. Miettinen, M.; Mustonen, M.; Poutanen, M.; Isomaa, V.; Wickman, M.; Soderqvist, G.; Vihko, R.; Vihko, P., 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in normal human mammary epithelial cells and breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* **1999**, 57, (2), 175-82.
36. Sasano, H.; Frost, A. R.; Saitoh, R.; Harada, N.; Poutanen, M.; Vihko, R.; Bulun, S. E.; Silverberg, S. G.; Nagura, H., Aromatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in human breast carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* **1996**, 81, (11), 4042-6.

37. Sasano, H.; Suzuki, T.; Takeyama, J.; Utsunomiya, H.; Ito, K.; Ariga, N.; Moriya, T., 17- β -hydroxysteroid dehydrogenase in human breast and endometrial carcinoma. A new development in intracrinology. *Oncology* **2000**, 59 Suppl 1, 5-12.
38. Vihko, P.; Isomaa, V.; Ghosh, D., Structure and function of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2. *Mol Cell Endocrinol* **2001**, 171, (1-2), 71-6.
39. Pasqualini, J. R.; Chetrite, G.; Blacker, C.; Feinstein, M. C.; Delalonde, L.; Talbi, M.; Maloche, C., Concentrations of estrone, estradiol, and estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* **1996**, 81, (4), 1460-4.
40. Paepke, S.; Kiechle, M., [Palliative therapy of breast cancer]. *Onkologie* **2003**, 26 Suppl 7, 4-10.
41. Holzgrabe, U., [Selective estrogen receptor modulators]. *Pharm Unserer Zeit* **2004**, 33, (5), 357-9.
42. Pasqualini, J. R., The selective estrogen enzyme modulators in breast cancer: a review. *Biochim Biophys Acta* **2004**, 1654, (2), 123-43.
43. Sexton, M. J.; Gherman, R. B., Selective estrogen receptor modulators: the ideal estrogen replacement?(2)(2). *Prim. Care Update Ob Gyns* **2001**, 8, (1), 25-30.
44. Osborne, K. C.; Coronado, E.; Allred, C. D.; Wiebe, V.; DeGregorio, V., Acquired Tamoxifen Resistance: Correlation with Reduced Breast Tumor Levels of Tamoxifen and Isomerization of *Trans*-4-Hydroxytamoxifen. *JNCI* **1991**, 83, (20), 1477-1482.
45. Goss, P. E.; Qi, S.; Cheung, A. M.; Hu, H.; Mendes, M.; Pritzker, K. P., Effects of the steroidal aromatase inhibitor exemestane and the nonsteroidal aromatase inhibitor letrozole on bone and lipid metabolism in ovariectomized rats. *Clin Cancer Res* **2004**, 10, (17), 5717-23.
46. Nunez, N. P.; Jelovac, D.; Macedo, L.; Berrigan, D.; Perkins, S. N.; Hursting, S. D.; Barrett, J. C.; Brodie, A., Effects of the antiestrogen tamoxifen and the aromatase inhibitor

letrozole on serum hormones and bone characteristics in a preclinical tumor model for breast cancer. *Clin Cancer Res* **2004**, 10, (16), 5375-80.

47. Howell, A.; Cuzick, J.; Baum, M.; Buzdar, A.; Dowsett, M.; Forbes, J. F.; Hocht-Boes, G.; Houghton, J.; Locker, G. Y.; Tobias, J. S., Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* **2005**, 365, (9453), 60-2.

48. Abul-Hajj, Y. J.; Iverson, R.; Kiang, D. T., Aromatization of androgens by human breast cancer. *Steroids* **1979**, 33, (2), 205-22.

49. Lipton, A.; Santner, S. J.; Santen, R. J.; Harvey, H. A.; Feil, P. D.; White-Hershey, D.; Bartholomew, M. J.; Antle, C. E., Aromatase activity in primary and metastatic human breast cancer. *Cancer* **1987**, 59, (4), 779-82.

50. Perel, E.; Daniilescu, D.; Kharlip, L.; Blackstein, M.; Killinger, D. W., Steroid modulation of aromatase activity in human cultured breast carcinoma cells. *J Steroid Biochem* **1988**, 29, (4), 393-9.

51. Ciobanu, L. C.; Luu-The, V.; Martel, C.; Labrie, F.; Poirier, D., Inhibition of estrone sulfate-induced uterine growth by potent nonestrogenic steroidal inhibitors of steroid sulfatase. *Cancer Res* **2003**, 63, (19), 6442-6446.

52. Hanson, S. R.; Best, M. D.; Wong, C. H., Sulfatases: structure, mechanism, biological activity, inhibition, and synthetic utility. *Angew Chem Int Ed Engl* **2004**, 43, (43), 5736-63.

53. Woo, L. W. L.; Sutcliffe, O. B.; Bubert, C.; Grasso, A.; Chander, S. K.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V., First Dual Aromatase-Sulfatase Inhibitors. *J Med Chem* **2003**, 46, 3193-3196.

54. Allan, G. M.; Bubert, C.; Vicker, N.; Smith, A.; Tutill, H. J.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V., Novel, potent inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, 248, (1-2), 204-7.

55. Penning, T. M., Molecular endocrinology of hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocr Rev* **1997**, 18, (3), 281-305.
56. Sawicki, M. W.; Erman, M.; Puranen, T.; Vihko, P.; Ghosh, D., Structure of the ternary complex of human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 with 3-hydroxyestra-1,3,5,7-tetraen-17-one (equilin) and NADP⁺. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1999**, 96, (3), 840-5.
57. Miettinen, M.; Isomaa, V.; Peltoketo, H.; Ghosh, D.; Vihko, P., Estrogen metabolism as a regulator of estrogen action in the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **2000**, 5, (3), 259-70.
58. Payne, A. H.; Hales, D. B., Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr Rev* **2004**, 25, (6), 947-70.
59. Peltoketo, H.; Luu-The, V.; Simard, J.; Adamski, J., 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD)/17-ketosteroid reductase (KSR) family; nomenclature and main characteristics of the 17HSD/KSR enzymes. *J Mol Endocrinol* **1999**, 23, (1), 1-11.
60. Suzuki, T.; Miki, Y.; Nakamura, Y.; Moriya, T.; Ito, K.; Ohuchi, N.; Sasano, H., Sex steroid-producing enzymes in human breast cancer. *Endocr Relat Cancer* **2005**, 12, (4), 701-20.
61. Mindnich, R.; Moller, G.; Adamski, J., The role of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* **2004**, 218, (1-2), 7-20.
62. Lukacik, P.; Kavanagh, K.; Oppermann, U., Structure and function of human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, 248, 61-71.
63. Luu-The, V., Analysis and characteristics of multiple types of human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2001**, 76, (1-5), 143-51.
64. Ghosh, D.; Pletnev, V. Z.; Zhu, D. W.; Wawrzak, Z.; Duax, W. L.; Pangborn, W.; Labrie, F.; Lin, S. X., Structure of human estrogenic 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase at 2.20 Å resolution. *Structure* **1995**, 3, (5), 503-13.

65. Kissinger, C. R.; Rejto, P. A.; Pelletier, L. A.; Thomson, J. A.; Showalter, R. E.; Abreo, M. A.; Agree, C. S.; Margosiak, S.; Meng, J. J.; Aust, R. M.; Vanderpool, D.; Li, B.; Tempczyk-Russell, A.; Villafranca, J. E., Crystal structure of human ABAD/HSD10 with a bound inhibitor: implications for design of Alzheimer's disease therapeutics. *J Mol Biol* **2004**, 342, (3), 943-52.
66. Zhou, M.; Qiu, W.; Chang, H. J.; Gangloff, A.; Lin, S. X., Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction results of human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 5. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **2002**, 58, (Pt 6 Pt 2), 1048-50.
67. Geissler, W. M.; Davis, D. L.; Wu, L.; Bradshaw, K. D.; Patel, S.; Mendonca, B. B.; Elliston, K. O.; Wilson, J. D.; Russell, D. W.; Andersson, S., Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nat Genet* **1994**, 7, (1), 34-9.
68. Ferdinandusse, S.; Ylianttila, M. S.; Gloerich, J.; Koski, M. K.; Oostheim, W.; Waterham, H. R.; Hiltunen, J. K.; Wanders, R. J.; Glumoff, T., Mutational Spectrum of D-Bifunctional Protein Deficiency and Structure-Based Genotype-Phenotype Analysis. *The American Journal of Human Genetics* **2006**, 78, 112-124.
69. van Grunsven, E. G.; van Berkel, E.; Ijlst, L.; Vreken, P.; de Klerk, J. B.; Adamski, J.; Lemonde, H.; Clayton, P. T.; Cuebas, D. A.; Wanders, R. J., Peroxisomal D-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency: resolution of the enzyme defect and its molecular basis in bifunctional protein deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1998**, 95, (5), 2128-33.
70. Maxwell, M. M.; Nearing, J.; Aziz, N., Ke 6 gene. Sequence and organization and aberrant regulation in murine polycystic kidney disease. *J Biol Chem* **1995**, 270, (42), 25213-9.
71. He, X. Y.; Merz, G.; Mehta, P.; Schulz, H.; Yang, S. Y., Human brain short chain L-3-hydroxyacyl coenzyme A dehydrogenase is a single-domain multifunctional enzyme. Characterization of a novel 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Biol Chem* **1999**, 274, (21), 15014-9.

72. He, X. Y.; Wegiel, J.; Yang, Y. Z.; Pullarkat, R.; Schulz, H.; Yang, S. Y., Type 10 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase catalyzing the oxidation of steroid modulators of gamma-aminobutyric acid type A receptors. *Mol Cell Endocrinol* **2005**, 229, (1-2), 111-7.
73. He, X. Y.; Yang, Y. Z.; Peehl, D. M.; Lauderdale, A.; Schulz, H.; Yang, S. Y., Oxidative 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity of human type 10 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2003**, 87, (2-3), 191-8.
74. Yan, S. D.; Fu, J.; Soto, C.; Chen, X.; Zhu, H.; Al-Mohanna, F.; Collison, K.; Zhu, A.; Stern, E.; Saido, T.; Tohyama, M.; Ogawa, S.; Roher, A.; Stern, D., An intracellular protein that binds amyloid-beta peptide and mediates neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* **1997**, 389, (6652), 689-95.
75. Jornvall, H.; Persson, B.; Krook, M.; Atrian, S.; Gonzalez-Duarte, R.; Jeffery, J.; Ghosh, D., Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR). *Biochemistry* **1995**, 34, (18), 6003-13.
76. Langer, L. J.; Engel, L. L., Human placental estradiol-17 β dehydrogenase. I. Concentration, characterization and assay. *J Biol Chem* **1958**, 233, (3), 583-8.
77. Alho-Richmond, S.; Lilienkamp, A.; Wahala, K., Active site analysis of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 enzyme complexes with SPROUT. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, 248, (1-2), 208-13.
78. Jin, J. Z.; Lin, S. X., Human estrogenic 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase: predominance of estrone reduction and its induction by NADPH. *Biochem Biophys Res Commun* **1999**, 259, 489-493.
79. Labrie, F.; Luu-The, V.; Lin, S. X.; Simard, J.; Labrie, C.; El-Alfy, M.; Pelletier, G.; Belanger, A., Intracrinology: role of the family of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in human physiology and disease. *J Mol Endocrinol* **2000**, 25, (1), 1-16.

80. Peltoketo, H.; Isomaa, V.; Maentausta, O.; Vihko, R., Complete amino acid sequence of human placental 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase deduced from cDNA. *Febs Lett* **1988**, 239, 73-77.
81. Miettinen, M. M.; Mustonen, M. V.; Poutanen, M. H.; Isomaa, V. V.; Vihko, R. K., Human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2 isoenzymes have opposite activities in cultured cells and characteristic cell- and tissue-specific expression. *Biochem J* **1996**, 314 (Pt 3), 839-45.
82. Jarabak, J.; Adams, J. A.; Williams-Ashman, H. G.; Talalay, P., Purification of a 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase of human placenta and studies on its transhydrogenase function. *J Biol Chem* **1962**, 237, 345-57.
83. Labrie, F., Intracrinology. *Mol Cell Endocrinol* **1991**, 78, (3), C113-8.
84. Poirier, D., Inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Curr Med Chem* **2003**, 10, (6), 453-77.
85. Poulin, R.; Labrie, F., Stimulation of cell proliferation and estrogenic response by adrenal C19-delta 5-steroids in the ZR-75-1 human breast cancer cell line. *Cancer Res* **1986**, 46, (10), 4933-7.
86. Puranen, T.; Poutanen, M.; Ghosh, D.; Vihko, R.; Vihko, P., Origin of substrate specificity of human and rat 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 using chimeric enzymes and site-directed substitutions. *Endocrinology* **1997**, 138, 3532-3539.
87. Betz, G., Reaction mechanism of 17 β -estradiol dehydrogenase determined by equilibrium rate exchange. *J Biol Chem* **1971**, 246, (7), 2063-8.
88. Neugebauer, A.; Hartmann, R. W., Protein dynamics of 17 β -Hydroxy Steroid Dehydrogenase type 1. *Bioorg Med Chem* **2005**, submitted.

89. Labrie, F.; Luu-The, V.; Lin, S. X.; Labrie, C.; Simard, J.; Breton, R.; Beranger, A., The key role of the 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid biology. *Steroids* **1997**, *62*, 148-158.
90. Nahoum, V.; Gangloff, A.; Shi, R.; Lin, S. X., How estrogen-specific proteins discriminate estrogens from androgens: a common steroid binding site architecture. *Faseb J* **2003**, *17*, (10), 1334-6.
91. Husen, B.; Huhtinen, K.; Poutanen, M.; Kangas, L.; Messinger, J.; Thole, H., Evaluation of inhibitors for 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in vivo in immunodeficient mice inoculated with MCF-7 cells stably expressing the recombinant human enzyme. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, *248*, (1-2), 109-13.
92. Allan, G. M.; Lawrence, H. R.; Cornet, J.; Bubert, C.; Fischer, D. S.; Vicker, N.; Smith, A.; Tutill, H. J.; Purohit, A.; Day, J. M.; Mahon, M. F.; Reed, M. J.; Potter, B. V., Modification of estrone at the 6, 16, and 17 positions: novel potent inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *J Med Chem* **2006**, *49*, (4), 1325-45.
93. Deluca, D.; Moller, G.; Rosinus, A.; Elger, W.; Hillisch, A.; Adamski, J., Inhibitory effects of fluorine-substituted estrogens on the activity of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, *248*, (1-2), 218-24.
94. Gege, C.; Regenhardt, W.; Peters, O.; Tabarz, D. E.; Hillisch, A.; Adamski, J.; Möller, G.; Deluca, D.; Elger, W.; Schneider, B. Neue 2-substituierte D-Homo-estra-1,3,5(10)-triene als Inhibitoren der 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ 1. DE102004032673, **2006**.
95. Hillisch, A.; Peters, O.; Gege, C.; Regenhardt, W.; Rosinus, A.; Adamski, J.; Moeller, G. New 2-substituted estra-1,3,5(10)-trien-17-ones as inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. WO2006003013, **2006**.
96. Berube, M.; Poirier, D., Synthesis of simplified hybrid inhibitors of type 1 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase via cross-metathesis and sonogashira coupling Reactions. *Org Lett* **2004**, *6*, (18), 3127-30.

97. Fischer, D. S.; Allan, G. M.; Bubert, C.; Vicker, N.; Smith, A.; Tutill, H. J.; Purohit, A.; Wood, L.; Packham, G.; Mahon, M. F.; Reed, M. J.; Potter, B. V., E-ring modified steroids as novel potent inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *J Med Chem* **2005**, 48, (18), 5749-70.
98. Lawrence, H. R.; Vicker, N.; Allan, G. M.; Smith, A.; Mahon, M. F.; Tutill, H. J.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V., Novel and potent 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors. *J Med Chem* **2005**, 48, (8), 2759-62.
99. Qiu, W.; Campbell, R. L.; Gangloff, A.; Dupuis, P.; Boivin, R. P.; Tremblay, M. R.; Poirier, D.; Lin, S. X., A concerted, rational design of type 1 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors: estradiol-adenosine hybrids with high affinity. *Faseb J* **2002**, 16, (13), 1829-31.
100. Cushman, M.; He, H. M.; Katzenellenbogen, J. A.; Lin, C. M.; Hamel, E., Synthesis, antitubulin and antimetabolic activity, and cytotoxicity of analogs of 2-methoxyestradiol, an endogenous mammalian metabolite of estradiol that inhibits tubulin polymerization by binding to the colchicine binding site. *J Med Chem* **1995**, 38, (12), 2041-9.
101. Leese, M. P.; Hejaz, H. A.; Mahon, M. F.; Newman, S. P.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V., A-ring-substituted estrogen-3-O-sulfamates: potent multitargeted anticancer agents. *J Med Chem* **2005**, 48, (16), 5243-56.
102. Makela, S.; Poutanen, M.; Kostian, M. L.; Lehtimaki, N.; Strauss, L.; Santti, R.; Vihko, R., Inhibition of 17 β -hydroxysteroid oxidoreductase by flavonoids in breast and prostate cancer cells. *Proc Soc Exp Biol Med* **1998**, 217, (3), 310-6.
103. Makela, S.; Poutanen, M.; Lehtimaki, J.; Kostian, M. L.; Santti, R.; Vihko, R., Estrogen-specific 17 β -hydroxysteroid oxidoreductase type 1 (E.C. 1.1.1.62) as a possible target for the action of phytoestrogens. *Proc Soc Exp Biol Med* **1995**, 208, (1), 51-9.
104. Brooks, J. D.; Thompson, L. U., Mammalian lignans and genistein decrease the activities of aromatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in MCF-7 cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2005**, 94, (5), 461-7.

105. Nogowski, L., Effects of phytoestrogen-coumestrol on lipid and carbohydrate metabolism in young ovariectomized rats may be independent of its estrogenicity. *J Nutr Biochem* **1999**, 10, (11), 664-9.
106. Van der Jagt, D. L. 11- β Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Inhibitors as Anti-Obesity/Anti-Diabetes Compounds and 17- β Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Inhibitors as useful Agents for the Treatment of Cancers, especially Breast Cancer. Oct. 13, **2005**.
107. Brown, W. M.; Metzger, L. E.; Barlow, J. P.; Hunsaker, L. A.; Deck, L. M.; Royer, R. E.; Vander Jagt, D. L., 17- β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1: computational design of active site inhibitors targeted to the Rossmann fold. *Chem Biol Interact* **2003**, 143-144, 481-91.
108. Deluca, D.; Krazeisen, A.; Breitling, R.; Prehn, C.; Moller, G.; Adamski, J., Inhibition of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases by phytoestrogens: comparison with other steroid metabolizing enzymes. *J Steroid Biochem Mol Biol* **2005**, 93, (2-5), 285-92.
109. Jarabak, J.; Sack, G. H., Jr., A soluble 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase from human placenta. The binding of pyridine nucleotides and steroids. *Biochemistry* **1969**, 8, (5), 2203-12.
110. Hirvelä, L. Novel Compounds and their Use in Therapy. WO2005032527, 14.04.2005, **2005**.
111. Messinger, J.; Hirvela, L.; Husen, B.; Kangas, L.; Koskimies, P.; Pentikainen, O.; Saarenketo, P.; Thole, H., New inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, 248, (1-2), 192-8.
112. Vihko, P.; Isomaa, V. Method for prognosticating the progress of breast cancer and compounds useful for prevention or treatment thereof. WO2004080271, **2004**.

113. Wähälä, K.; Lilienkamp, A.; Alho, S.; Huhtinen, K.; Johansson, N.; Koskimies, P.; Vihko, K. Thiophenopyrimidinones as 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors. WO2004110459, **2004**.
114. Messinger, J.; Thole, H.; Husen, B.; Van Steen, B. J.; Schneider, G.; Hulshof, J.; Koskimies, P. Novel 17 β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors. WO2005047303, **2005**.
115. Höfle, G.; Steglich, W.; Vorbrüggen, H., 4-Dialkylaminopyridines as highly active acylation catalysts. [New synthetic method]. *Angew Chem Int Ed* **1978**, 17, (8), 569-583.
116. Sheehan, J. C.; Cruickshank, P. A.; Boshart, G. L., A convenient synthesis of water-soluble carbodiimides. *J Org Chem* **1961**, 26, (7), 2525-2528.
117. Mewshaw, R. E.; Edsall, R. J., Jr.; Yang, C.; Harris, H. A.; Keith, J. C., Jr.; Albert, L. M. Substituted phenyl naphthalenes active as estrogenic agents, their preparation, pharmaceutical compositions, and use. WO2003051805, **2003**.
118. Wu, Y.; Ren, J.; Ghosh, M.; Levent, M.; Sutherland, K. W.; Raveendranath, P. Process for the synthesis of 3-(3-fluoro-4-hydroxyphenyl)-7-hydroxynaphthonitrile. **2004**.
119. Chan, J. H.; Hong, J. S.; Hunter, R. N., 3rd; Orr, G. F.; Cowan, J. R.; Sherman, D. B.; Sparks, S. M.; Reitter, B. E.; Andrews, C. W., 3rd; Hazen, R. J.; St Clair, M.; Boone, L. R.; Ferris, R. G.; Creech, K. L.; Roberts, G. B.; Short, S. A.; Weaver, K.; Ott, R. J.; Ren, J.; Hopkins, A.; Stuart, D. I.; Stammers, D. K., 2-Amino-6-arylsulfonylbenzotrioles as non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of HIV-1. *J Med Chem* **2001**, 44, (12), 1866-82.
120. Kajigaeshi, S., Halogenation using quaternary ammonium polyhalides. Bromination of aromatic amines by use of benzyltrimethylammoniumtribromide. *Bull Chem Soc Jpn* **1988**, 61, 597-599.
121. Carreno, C.; Garcia Ruano, J. L.; Sanz, G.; Toledo, M. A.; Urbano, A., N-Bromosuccinimide in Acetonitrile: A Mild and Regiospecific Nuclear Brominating Reagent for Methoxybenzenes and Naphthalenes. *J Org Chem* **1995**, 60, 5328-5331.

122. Day, J. C.; Lindstrom, M. J.; Skell, P. S., Succinimidyl radical as a chain carrier. Mechanism of allylic bromination. *J Am Chem Soc* **1974**, 96, 5616-5617.
123. Larock, R. C., *Comprehensive Organic Transformations. A Guide to Funktional Group Preparations*. VCH: New York, 1989.
124. Alterman, M.; Hallberg, A., Fast microwave-assisted preparation of aryl and vinyl nitriles and the corresponding tetrazoles from organo-halides. *J Org Chem* **2000**, 65, 7984-7989.
125. Weissmann, S. A.; Zewge, D.; Chen, C., Ligand-free Palladium-Catalyzed Cyanation of Aryl Halides. *J Org Chem* **2005**, 70, 1508-1510.
126. Hyalarides, M. D.; Mettler, F. A. Deamination of aromatic amines. 4577046, **1986**.
127. Burwell, R., The cleavage of ethers. *Chem Rev* **1954**, 54, 615.
128. Bhatt, M. V., Cleavage of ethers. *Synthesis* **1983**, 249-282.
129. Green, T., Protective groups inorganic synthesis. *Wiley Intersciences* **1999**.
130. Marchais, S.; Nowicki, B.; Wikstrom, H.; Brennum, L. T.; Halldin, C.; Pike, V. W., Short and efficient syntheses of analogues of WAY-100635: new and potent 5-HT_{1A} receptor antagonists. *Bioorg Med Chem* **2001**, 9, (3), 695-702.
131. Mensonides-Harsema, M. M.; Liao, Y.; Bottcher, H.; Bartoszyk, G. D.; Greiner, H. E.; Harting, J.; de Boer, P.; Wikstrom, H. V., Synthesis and in vitro and in vivo functional studies of ortho-substituted phenylpiperazine and N-substituted 4-N-(o-methoxyphenyl)aminopiperidine analogues of WAY100635. *J Med Chem* **2000**, 43, (3), 432-9.
132. Kuehne, P., Studies in biomimetic alkaloid syntheses: Syntheses of iboxyphylline and related alkaloids. *J Org Chem* **1989**, 4, 4553-4569.

133. Beletskaya, I. P.; Cheprakov, A. V., The Heck Reaction as a Sharpening Stone of Palladium Catalysis. *Chem Rev* **2000**, 100, 309-3066.
134. Patel, B. A.; Ziegler, C. B.; Cortese, N. A.; Plevyak, J. E.; Zebovitz, T. C.; Terpko, M.; Heck, R. F., Palladium-Catalyzed Vinylic Substitution reactions with Carboxylic Acid Derivatives. *J Org Chem* **1977**, 42, (24), 3903-3907.
135. Wadsworth, W. S.; Emmons, W. D., The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis. *J Am Chem Soc* **1961**, 83, 1733-1736.
136. Brown, F. L.; Cronk, L. A.; Aharony, D.; Snyder, D. W., 1,3,6-Trisubstituted indoles as peptidoleukotriene antagonists: benefits of a second, polar, pyrrole substituent. *J Med Chem* **1992**, 35, (13), 2419-2439.
137. Royer, R. E.; Buisson, J. P., Studies on nitro derivatives of biological interest. Synthesis of methoxy- or halo-2-nitronaphthofuranes. *Eur J Med Chem* **1980**, 15, (3), 275-278.
138. Clark, R. C.; Lin, C. M.; Sansom, R. T., Anticonvulsant Activity of 2- and 3-Aminobenzanilides. *J Med Chem* **1986**, 29, 1534-1537.
139. Hwang, K. J.; O'Neil, J. P.; Katzenellenbogen, J. A., 5, 6, 11, 12-Tetrahydrochrysenes: synthesis of rigid stilbene systems designed to be fluorescent ligands for the estrogen receptor. *J Org Chem* **1992**, 57, (4), 1262-1271.
140. Claudi, F.; Di Stefano, A.; Napolitani, F.; Cingolani, G. M.; Giorgioni, G.; Fontenla, J. A.; Montenegro, G. Y.; Rivas, M. E.; Rosa, E.; Michelotto, B.; Orlando, G.; Brunetti, L., Binding and preliminary evaluation of 5-hydroxy- and 10-hydroxy-2,3, 12,12a-tetrahydro-1H-[1]benzoxepino[2,3,4-ij]isoquinolines as dopamine receptor ligands. *J Med Chem* **2000**, 43, (4), 599-608.
141. Fatiadi, A. J., The classical permanganate ion: Still a novel oxidant in organic chemistry. *Synthesis* **1987**, 85-125.

142. Tao, B., Practical preparation of 2-carboxyphenylboronic acid and its application for the preparation of biaryl-2-carboxylic acids using Suzuki coupling reactions. *Synthesis* **2001**, 8, 1043-1046.
143. Meier, P., Synthesis of formylphenylpyridinecarboxylic acids using Suzuki-Miyaura coupling reactions. *Synthesis* **2003**, 4, (551-554).
144. Gao, Y.; Voigt, J.; Zhao, H.; Pais, G. C. G.; Zhang, X.; Wu, L.; Zhang, Z. Y.; Burke, T. R., Utilization of a peptide lead for the discovery of a novel PTP1B-binding motif. *J Med Chem* **2001**, 44, 2869-2878.
145. Heinz, G. O.; Berger, W.; Domschke, W.; Fanghänel, E.; Faust, J.; Fischer, M.; Gentz, F.; Gewalt, K.; Gluch, R.; Mayer, R.; Müller, K.; Pavel, D.; Schmidt, H.; Schollberg, K.; Schwetlick, K.; Seiler, E.; Zeppenfeld, G., *Organikum*. **1993**.
146. Carrico, D.; Ohkanda, J.; Kendrick, H.; Yokoyama, K.; A., B. M.; Bucher, C. J.; Buckner, F. S.; Van Voorhis, W. C.; Chakrabarti, D.; Croft, S.; Gelb, M. H.; Said, S.; Hamilton, A. D., In vitro and in vivo antimalarial activity of peptidomimetic protein farnesyltransferase inhibitors with improved membrane permeability. *Bioorg Med Chem* **2004**, 12, 6517-6526.
147. Stanforth, S. P., Catalytic cross coupling reactions in biaryl synthesis. *Tetrahedron* **1998**, 54, 263-303.
148. Miyaura N., Y. T., Suzuki A., The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Phenylboronic Acid with Haloarenes in the Presence of Bases. *Synth. Commun.* **1981**, 11, 513-519.
149. Miyaura, N., Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organiboron Compounds. *Chem.Rev.* **1995**, 95, 2457-2483.
150. Kotha, S., Recent applications of the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction in organic synthesis. *Tetrahedron* **2002**, 58, 9633-9695.

151. Li, C. J., "Befreite" Suzuki-Reaktion: Kupplung in Wasser bei hoher Temperatur ohne Übergangsmetallreagens. *Angew Chem* **2003**, 115, 5004-5006.
152. Alimardanov, A.; Schmieder-van de Vondervoort, L.; de Vries, A. H. M.; de Vries, J. G., Use of "Homeopathic" Ligand-free Palladium as Catalyst for Aryl-Aryl Coupling Reactions. *Adv Synth Catal* **2004**, 346, 1812-1817.
153. Appukkuttan, P.; Orts, A. B.; Chandran, P.; Goeman, J. L.; Van der Eycken, J.; Dehaen, W.; Van der Eycken, E., Generation of a Small Library of Highly Electron-Rich 2-(Hetero)Aryl-Substituted Phenethylamines by the Suzuki-Miyaura Reaction: A Short Synthesis of an Apogalanthamine Analogue. *Eur JOC* **2004**, (15), 3277-3285.
154. Arvela, R. K.; Leadbeater, N. E., Suzuki Coupling of Aryl Chlorides with Phenylboronic Acid in Water, Using Microwave Heating with Simultaneous Cooling. *Org Lett* **2005**, 7, (11), 2101-2104.
155. Hartmann, R. W.; Heindl, A.; Schneider, M. R.; Schonenberger, H., Influence of alkyl-chain fluorination on the action of mammary tumor inhibiting 2,3-bis(hydroxyphenyl)butanes and 2,3-bis(hydroxyphenyl)but-2-enes. *J Med Chem* **1986**, 29, (3), 322-8.
156. Baston, E.; Klein, C. D.; Grimminger, W.; Hebecker, N.; Hartmann, R. W., Synthesis, evaluation and QSAR studies of highly potent aromatase inhibitors of the piperidinedione type. *Anticancer Drug Des* **2001**, 16, (1), 37-47.
157. Le Borgne, M.; Marchand, P.; Delevoye-Seiller, B.; Robert, J. M.; Le Baut, G.; Hartmann, R. W.; Palzer, M., New selective nonsteroidal aromatase inhibitors: synthesis and inhibitory activity of 2,3 or 5-(alpha-azolybenzyl)-1H-indoles. *Bioorg Med Chem Lett* **1999**, 9, (3), 333-6.
158. Leze, M. P.; Le Borgne, M.; Marchand, P.; Loquet, D.; Kogler, M.; Le Baut, G.; Paluszczak, A.; Hartmann, R. W., 2- and 3-[(aryl)(azoly)methyl]indoles as potential nonsteroidal aromatase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* **2004**, 19, (6), 549-57.

159. Hutschenreuter, T. U.; Ehmer, P. B.; Hartmann, R. W., Synthesis of hydroxy derivatives of highly potent non-steroidal CYP17 inhibitors as potential metabolites and evaluation of their activity by a non cellular assay using recombinant human enzyme. *J Enzyme Inhib Med Chem* **2004**, 19, (1), 17-32.
160. Zhuang, Y.; Wachall, B. G.; Hartmann, R. W., Novel imidazolyl and triazolyl substituted biphenyl compounds: synthesis and evaluation as nonsteroidal inhibitors of human 17 α -hydroxylase-C17, 20-lyase (P450 17). *Bioorg Med Chem* **2000**, 8, (6), 1245-52.
161. Hartmann, R. W.; Muller, U.; Ehmer, P. B., Discovery of selective CYP11B2 (aldosterone synthase) inhibitors for the therapy of congestive heart failure and myocardial fibrosis. *Eur J Med Chem* **2003**, 38, (4), 363-6.
162. Ulmschneider, S.; Muller-Vieira, U.; Klein, C. D.; Antes, I.; Lengauer, T.; Hartmann, R. W., Synthesis and evaluation of (pyridylmethylene)tetrahydronaphthalenes/-indanes and structurally modified derivatives: potent and selective inhibitors of aldosterone synthase. *J Med Chem* **2005**, 48, (5), 1563-75.
163. Ulmschneider, S.; Muller-Vieira, U.; Mitrenga, M.; Hartmann, R. W.; Oberwinkler-Marchais, S.; Klein, C. D.; Bureik, M.; Bernhardt, R.; Antes, I.; Lengauer, T., Synthesis and evaluation of imidazolylmethylenetetrahydronaphthalenes and imidazolylmethyleneindanes: potent inhibitors of aldosterone synthase. *J Med Chem* **2005**, 48, (6), 1796-805.
164. Ulmschneider, S.; Negri, M.; Voets, M.; Hartmann, R. W., Development and evaluation of a pharmacophore model for inhibitors of aldosterone synthase (CYP11B2). *Bioorg Med Chem Lett* **2006**, 16, (1), 25-30.
165. Voets, M.; Antes, I.; Scherer, C.; Muller-Vieira, U.; Biemel, K.; Barassin, C.; Marchais-Oberwinkler, S.; Hartmann, R. W., Heteroaryl-substituted naphthalenes and structurally modified derivatives: selective inhibitors of CYP11B2 for the treatment of congestive heart failure and myocardial fibrosis. *J Med Chem* **2005**, 48, (21), 6632-42.

166. Zimmermann, J.; Liebl, R.; von Angerer, E., 2,5-Diphenylfuran-based pure antiestrogens with selectivity for the estrogen receptor α . *J Steroid Biochem Mol Biol* **2005**, 94, (1-3), 57-66.
167. Mewshaw, R. E.; Edsall, R. J., Jr.; Yang, C.; Manas, E. S.; Xu, Z. B.; Henderson, R. A.; Keith, J. C., Jr.; Harris, H. A., ER β ligands. 3. Exploiting two binding orientations of the 2-phenylnaphthalene scaffold to achieve ER β selectivity. *J Med Chem* **2005**, 48, (12), 3953-79.
168. Artursson, P.; Karlsson, J., Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochem Biophys Res Commun* **1991**, 175, 880-885.
169. Rubas, W.; Cromwell, M. E.; Mrsny, R. J.; Ingle, G.; Elias, K. A., An integrated method to determine epithelial transport and bioactivity of oral drug candidates *in vitro*. *Pharm Res* **1996**, 13, 23-26.
170. Yee, S., In Vitro Permeability Across Caco-2 Cells (Colonic) Can Predict In Vivo (Small Intestinal) Absorption in Man-Fact or Myth. *Pharm Res* **1997**, 14, (6), 763-766.
171. Day, J. M.; Tutill, H. J.; Newman, S. P.; Purohit, A.; Lawrence, H. R.; Vicker, N.; Potter, B. V.; Reed, M. J., 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase Type 1 and Type 2: association between mRNA expression and activity in cell lines. *Mol Cell Endocrinol* **2006**, 248, (1-2), 246-9.
172. Badyal, D. K.; Dadhich, A. P., Cytochrome P450 and drug interactions. *Ind J Pharmacol* **2001**, 33, 248-259.
173. Shimada, T.; Yamazaki, H.; Mimura, M.; Yukihar, I.; Guengerich, F. P., Interindividual variations in human liver cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* **1994**, 270, 414-423.

174. Luu-The, V.; Zhang, Y.; Poirier, D.; Labrie, F., Characteristics of human types 1, 2 and 3 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activities: oxidation/reduction and inhibition. *J Steroid Biochem Mol Biol* **1995**, 55, (5-6), 581-7.

175. Sam, K. M.; Boivin, R. P.; Tremblay, M. R.; Auger, S.; Poirier, D., C16 and C17 derivatives of estradiol as inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1: chemical synthesis and structure-activity relationships. *Drug Des Discov* **1997**, 15, (3), 157-80.

8 Abkürzungsverzeichnis

Chemische Formeln:

CDCl_3	Deuteriochloroform
CD_3OD	Deuteromethanol
CuBr	Kupferbromid
HCl	Salzsäure
H_2SO_4	Schwefelsäure
K_2CO_3	Kaliumcarbonat
$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN}_6) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Kaliumhexacyanoferrat(II) Trihydrat
KI	Kaliumiodid
KOH	Kaliumhydroxid
LiBr	Lithiumbromid
$\text{Mo}(\text{CO})_6$	Molybdänhexacarbonyl
NaH	Natriumhydrid
Na_2HCO_3	Natriumhydrogencarbonat
NaN_3	Natriumazid
NaNO_2	Natriumnitrit
NaOH	Natriumhydroxid
Na_2SO_4	Natriumsulfat
Na_2SO_3	Natriumsulfit
NH_4OH	Ammoniumhydroxid
NH_4Cl	Ammoniumchlorid
$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Palladium(II)-acetat

Pd(PPh ₃) ₄	Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0)
POCl ₃	Phosphoroxchlorid
ZnI ₂	Zinkiodid

Abkürzungen:

bp	Basenpaare
B(Oisoprop) ₃	Boronsäuretriisopropylester
BTMABr ₃	Benzyltrimethylammoniumtribromid
COX2	Cyclooxygenase 2
DMAC	Dimethylacetamid
DME	Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO-d ₆	Dimethylsulfoxid-d ₆
EDC*HCl	N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid Hydrochlorid
ELSD	Evaporating light scattering Detektor (Verdampfungs- Lichtstredetektor)
eq	Äquivalente
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HSD	Hydroxysteroid Dehydrogenase
Hz	Hertz
kb	Kilobasen
LDL	low density lipoprotein
LH	Luteinisierendes Hormon
MeO-	Methoxygruppierung
MHz	Mega-Hertz

NADH	Nicotinamidadenindinucleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NBS	N-Bromsuccinimid
PO	peroral
ppm	parts per million
PS-DMAP	Dimethylaminopyridin auf Polystyrol
RT	Raumtemperatur
SDR	Short chain Dehydrogenasen Reduktasen
TBAB	Tetrabutylammoniumtribromid
THF	Tetrahydrofuran
Aminosäuren:	
Asp	Asparaginsäure
Asn	Asparagin
Gly	Glycin
Glu	Glutamin
His	Histidin
Leu	Leucin
Lys	Lysin
Met	Methionin
Ser	Serin
Thr	Threonin
Tyr	Tyrosin
Xaa	beliebige Aminosäure

9 Danksagung

Prof. Dr. R.W. Hartmann danke ich für dieses sehr interessante Thema und die Möglichkeit aktuelle Forschung in enger Zusammenarbeit mit der Industrie zu betreiben.

Dr. Sandrine Oberwinkler-Marchais danke ich zutiefst für die hervorragende Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Dr. Martin Frotscher danke ich für die hervorragende Unterstützung und die Zeit und Mühe, die er die gesamte Zeit investiert hat.

Dr. Alexander Neugebauer bin ich für die Hilfe bei den Molecular Modelling Versuchen sowie für die ganzen „bunten Bildchen“ dankbar.

Dr. Josef Messinger und Dr. Uwe Schön danke ich für die sehr nette Zusammenarbeit und für die Gelegenheit durch den Aufenthalt bei Solvay Pharmaceuticals das Unternehmen und die Leute etwas besser kennengelernt zu haben. Des Weiteren bedanke ich mich für die netten Abende, die ich in Hannover verbringen durfte. Vielen Dank für Eure Zeit.

Für die Durchführung der Testassays danke ich der Firma Hormos, Pharmacelsus sowie ganz besonders Patricia Kruchten und Emmanuel Bey.

Den Wahlpflichtpraktikanten Thomas Dembski, Thomas Mendgen, Christian Bukovec, Max Seiler und Husam Itani möchte ich für die nette und kooperative Zusammenarbeit danken.

Für die Durchführung der MS (ES)-Messungen danke ich Dr. Stefan Boettcher.

Für die Durchführung der NMR-spektroskopischen Messungen danke ich Dr. Zapp.

Für die Geduld sowie physische und psychische Unterstützung möchte ich ganz herzlich meinen beiden Lieblingschemikern Marcel Holzer und Mariano Pinto-Bazurco danken. Vielen Dank für die netten und lustigen Gespräche und die Unterstützung jeglicher Art. Das Arbeiten mit euch hat sehr viel Spaß gemacht.

Marcel vielen Dank für die sehr harmonische Zusammenarbeit am Abzug, ich weiß, dass es keine Selbstverständlichkeit ist.

Mariano vielen lieben Dank für die musikalische Unterstützung und deine unermüdliche Hilfe bei jeglichen elektronischen Problemen.

Danken möchte ich auch Christiane Scherer und Dr. Thomas Bild für die gemeinsame Praktikumsbetreuung. Christiane möchte ich auch für die zusätzliche Mühe, die Ihr das HSD Projekt bereitet hat, danken.

Des Weiteren möchte ich ganz herzlich dem ganzen Arbeitskreis Hartmann für die Hilfe und die amüsanten Gespräche in der Kaffeeküche danken.

Für die prompte Erledigung von Chemikalienbestellungen und die Hilfe rund um die Uhr danke ich den Mitarbeitern des Zentralen Chemikalienlagers.

Meinen Eltern sage ich Danke für die fortwährende Unterstützung und Hilfe, die Sie mir zuteil haben kommen lassen.

Meiner Schwester möchte ich ganz besonders danken. Es war nicht immer leicht, aber ich hoffe die Bande die uns verbinden sind stärker, als alles was im Laufe des Lebens auf uns zukam, -kommt und noch -kommen wird.